

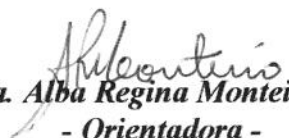
**Atividade Antiulcerogênica do Extrato
Etanólico Bruto obtido a partir das folhas de
Solanum variabile Mart.**

Aluno: José Marcelino Antônio

Orientadora: Prof^a Dra. Alba R. M. Souza Brito.

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia do Farmacêutico José Marcelino Antonio.

Campinas, 28 de setembro de 2001.


Prof^a. Dra. Alba Regina Monteiro Souza Brito
- Orientadora -

Campinas, setembro de 2001

José Marcelino Antonio

**Atividade Antiulcerogênica do Extrato Etanólico Bruto
obtido a partir das folhas de *Solanum variabile* Mart.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora:

Prof^a Dra. Alba Regina Monteiro Souza Brito

***Universidade Estadual de Campinas
Campinas, setembro de 2001.***

UNIDADE BO
Nº CHAMADA T/UNICAMP
An88a
V EX
TOMBO BCI 50495
PROC 16-837102
C DX
PREÇO R\$ 11,00
DATA 21/08/02
Nº CPD

CM00172419-1

BIB ID 253639

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

Antonio, José Marcelino

An88a Atividade antiulcerogênica do extrato etanólico bruto obtido a partir das folhas de *Solanum variable* Mart/José Antonio Marcelino. -- Campinas, SP:[s.n.], 2001

Orientadora: Alba Regina Monteiro Souza Brito
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Úlcera. 2. *Solanum variable*. I. Brito, Alba Regina Monteiro Souza II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



UNICAMP

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Profa. Dra. Alba Regina Monteiro Souza Brito

Membros:

Profa. Dra. Alba Regina Monteiro Souza Brito

Prof. Dr. Miguel Arcanjo

Profa. Dra. Clélia Akiko Hiruma-Lima

**Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: ---/---/---

“ Uma grande tentativa é gloriosa, mesmo quando fracassa..”

(Thomas Edson)

*A meus pais,
Francisco e Antonia;
esposa, Beatriz;
filhas Bruna e Rafaella ;
e familiares.*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Alba R. M. Souza Brito, pela orientação.

Ao Prof. Dr. Fernando Oliveira pelas informações etnobotânicas fornecidas, coleta e identificação do vegetal.

À Profa. Dra. Luciane Cruz Lopes pelos ensaios preliminares realizados.

À Profa. Dra. Mary Lucy, pela confiança.

Ao Juliano e a Hellen pela ajuda inicial e amizade.

Aos colegas de laboratório, Walber, Fernanda, Ana Beatriz e Ana Claudia.

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Fisiologia da Unicamp.

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Farmacologia da Unicamp, em especial ao Wanderlei e ao Eduardo.

A Beatriz pela paciência e apoio durante todos estes dias.

E à Universidade Católica de Santos pela confiança e apoio financeiro.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	32
1.1	Plantas medicinais e úlceras em geral.....	33
1.2.	Etnofarmacologia.....	33
1.3.	Farmacoepidemiologia da úlcera gástrica.....	35
1.4.	Plantas medicinais com atividade antiulcerogênica.....	38
1.5.	Fármacos utilizados atualmente para o tratamento de úlceras em geral.....	41
2.	A PLANTA.....	45
2.1.	Dados botânicos, distribuição geográfica e uso popular de espécies do gênero Solanum.....	46
3.	OBJETIVOS.....	50
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
4.1.	Preparação do extrato.....	54
4.2.	Drogas para determinação da atividade antiulcerogênica.....	54

4.3	Animais.....	55
4.4.	Modelos experimentais.....	56
4.4.1.	Toxicidade aguda e DL ₅₀	56
4.4.2.	Úlcera gástrica induzida por HCl/etanol	57
4.4.3.	Úlcera gástrica induzida por DAINÉ associado a um agente parassimpatomimético.....	58
4.4.4.	Úlcera gástrica induzida por estresse.....	59
	Análise dos parâmetros bioquímicos do	
4.4.5.	conteúdo gástrico de camundongos submetidos à ligadura do piloro.....	60
4.4.6.	Indução de úlcera duodenal em ratos.....	61
4.4.7.	Indução de úlcera crônica por ácido acético em ratos.....	62
4.5.	Análise Estatística.....	65
5.	RESULTADOS.....	66
5.1.	Toxicidade aguda e DL ₅₀	67
5.2.	Úlcera gástrica induzida por HCl/etanol.....	68

5.3.	Úlcera gástrica induzida por indometacina e betanecol.....	71
5.4.	Úlcera gástrica induzida por estresse.....	73
5.5.	Análise dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico de camundongos submetidos à ligadura do piloro.....	75
5.6.	Úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos.....	77
5.7.	Úlcera crônica induzida por ácido acético em ratos.....	80
6.	DISCUSSÃO	84
7.	CONCLUSÃO.....	105
8.	SUMMARY.....	108
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1	Duodenos de animais do grupo controle, tratados com cimetidina e com o EE bruto de <i>S. variable</i> .	79
Ilustração 2	Estômagos de animais do grupo controle, tratados com cimetidina e com o EE bruto de <i>S. variable</i> .	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1a	Índice de lesões ulcerativas induzidas por HCl/etanol em camundongos pré-tratados com EE bruto de <i>S.variabile</i> em doses de 100 e 250 mg/kg, por via oral.	69
Figura 1b	Índice de lesões ulcerativas induzidas por HCl/etanol em camundongos pré-tratados com EE bruto de <i>S.variabile</i> em doses de 500 e 1000 mg/kg, por via oral.	70
Figura 2	Índice de lesões ulcerativas induzidas por indometacina e betanecol em camundongos pré-tratados com EE bruto de <i>S.variabile</i> em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, por via oral.	72
Figura 3	Índice de lesões ulcerativas induzidas por estresse (contenção e frio) em camundongos pré-tratados com EE bruto de <i>S.variabile</i> em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, por via oral.	74
Figura 4	Índice de lesões ulcerativas induzidas por cisteamina em ratos pré-tratados com EE bruto de <i>S.variabile</i> em dose de 1000 mg/kg, por via oral.	78
Figura 5	Área da lesão ulcerativa induzida por ácido acético 30 % em ratos após tratamento com o EE bruto de <i>S.variabile</i> em dose de 1000 mg/kg, por via oral, durante 14 dias consecutivos.	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sobrevivência de camundongos após a administração do EE bruto de <i>Solanum variable</i> , por via oral, em diferentes doses.	67
Tabela 2	Determinação de parâmetros da secreção ácida de camundongos pré-tratados com o EE bruto de <i>S.variable</i> em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, por via intraduodenal.	76

RESUMO

Solanum variable é uma planta pertencente à família *Solanaceae* encontrada em países de clima tropical e subtropical, inclusive na região Sul e Sudeste do Brasil. Utiliza-se esta planta na medicina popular do Brasil para o tratamento de úlceras gástricas em geral. No entanto, a maioria das pessoas utilizam a *S. variable* como sendo a *S. paniculatum*, pois ambas são conhecidas popularmente como “jurubeba”, mas a farmacopéia brasileira só admite a verdadeira jurubeba como sendo a *S. paniculatum*. Os efeitos toxicológicos agudos do Extrato Etanólico (EE) bruto obtido a partir das folhas de *S. variable* foi analisado em diferentes doses e nenhuma morte ou sinal de toxicidade foi observada até a dose de 5000 mg/kg, administrada por via oral, em camundongos. O EE bruto foi testado em diferentes experimentos de indução de úlcera gástrica em camundongos e de úlcera duodenal e úlcera crônica em ratos para avaliação de seu potencial efeito antiulcerogênico. O EE bruto administrado em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg inibiu, respectivamente em 51, 49 e 60 % as lesões induzidas por HCl/etanol; em 33 e 40 % aquelas induzidas por estresse e em 60 e 72 %, as ocasionadas por indometacina e betanecol em

camundongos. O EE bruto aumentou o pH do conteúdo gástrico de 4,0 (controle) para 5,4; diminuiu a quantidade de íons H^+ ionizáveis no conteúdo gástrico de 7.1 (controle) para 4.2 mEq/ml/4h e, finalmente, reduziu o conteúdo gástrico total de 340 (controle) para 270 mg. Em relação aos experimentos realizados em ratos, o EE bruto foi capaz de inibir o aparecimento de úlceras duodenais em 64 % e reduziu a área da lesão ulcerativa crônica em 48 % no estômago dos animais tratados durante 14 dias consecutivos com o EE bruto em relação ao controle. Assim, o mecanismo de ação antiulcerogênico parece estar envolvido com o aumento dos mecanismos de defesa da mucosa gástrica e/ou por uma atividade antissecretora dos componentes do EE bruto de *S. variable*. O possível envolvimento com a liberação ou síntese de fatores de crescimento endoteliais também deve ser considerado. A baixa toxicidade observada em experimentos *in vivo* e os resultados obtidos nos experimentos de indução de úlcera, analisados em conjunto, confirmam as indicações populares da espécie para o tratamento de úlcera gástrica e duodenal.

INTRODUÇÃO

1. PLANTAS MEDICINAIS E ÚLCERAS EM GERAL

1.1. Etnofarmacologia

A recente “redescoberta” de plantas úteis do ponto de vista medicinal é decorrente, pelo menos em parte, da crise na medicina ocidental. Este fato é claramente relacionado às desvantagem impostas pelos altos custos das drogas produzidas sinteticamente, além de seus limitados efeitos em várias patologias crônicas. Atualmente, a Organização Mundial de Saúde estima que 80 % dos países em desenvolvimento confiam na medicina tradicional e destes, 85% fazem uso das plantas ou de seus extratos como substâncias potencialmente ativas em diversas patologias (SHELDON,et al., 1997). Entre 1959 e 1973 plantas ou seus extratos foram usados como fonte para a descoberta de mais de 40 % das drogas prescritas durante este período; este número dobrou em 1980 e continua a aumentar, apesar do curto espaço de tempo (MILNER, JR. et al., 1997).

Recentemente, novas abordagens sobre a utilização de plantas medicinais tem sido propostas; estas envolvem técnicas de monitoramento químico de substâncias farmacologicamente

ativas presentes nos extratos brutos ou em frações, na tentativa de objetivar a pesquisa a partir de matéria prima vegetal, para obtenção de novos fármacos (MCCHESENEY, 1996).

Na pesquisa com plantas medicinais, a experiência indica que para selecionar uma dada espécie a ser estudada, não basta apenas uma indicação popular de uso medicinal. É necessária a conjunção de vários profissionais em equipes multidisciplinares, compostas por etnobotânicos, etnofarmacólogos, fitoquímicos, químicos de síntese, bioquímicos, agrotecnólogos, farmacólogos e toxicologistas, além de alunos de pós-graduação em programas de mestrado e doutorado, envolvidos em um trabalho multidisciplinar e interativo, na busca de substâncias ativas com potencial terapêutico (SOUZA BRITO, 1996; SOUZA BRITO & NUNES, 1997).

É de acordo com esta filosofia de multidisciplinaridade que os trabalhos envolvendo uma planta com potencial farmacológico devem ser desenvolvidos. As razões que levaram à pesquisa da espécie selecionada, utilizando o tipo de abordagem citada, e aquelas pelas quais escolheu-se a atividade

antiulcerogênica como alvo farmacológico, serão descritas no contexto deste trabalho.

1.2. Farmacoepidemiologia da úlcera gástrica

O trato gastrointestinal é constituído pelo tubo digestivo e suas glândulas secretoras anexas, sendo responsável pela digestão e absorção dos nutrientes encontrados na dieta, funcionando ao mesmo tempo, como barreira seletiva de proteção entre o meio externo e o interno (SANIOTO, 1991).

O estômago, em particular, é um órgão especializado do trato gastrointestinal, cuja principal função é armazenar e misturar o alimento com as secreções gástricas para, subsequente, processá-lo, digerí-lo e prepará-lo para uma absorção adequada pelo intestino delgado (WOLFE & SOLL, 1988).

Os distúrbios do trato gastrointestinal são “companheiros” do homem moderno e incluem desde aqueles causados pela má alimentação até os provocados por estresse e ansiedade (BRUNTON, 1996). Estes distúrbios são tão comuns nos países

industrializados que passaram a representar virtualmente “estigmas da civilização moderna” (DAYAL & DELELLIS, 1991).

A úlcera péptica, que inclui tanto a úlcera gástrica quanto a duodenal, foi uma doença rara até final do século XVIII e, após este período, a úlcera passou a ser uma patologia que acomete populações do mundo inteiro. Em meados do século XIX, já eram relatadas perfurações resultantes de úlcera gástrica em mulheres jovens; nesta época, a úlcera duodenal superou a úlcera gástrica, principalmente em jovens do sexo masculino que foram encaminhados para serviços militares nos Estados Unidos.

Para os epidemiologistas, a busca para esclarecer a etiologia da úlcera péptica tem sido incessante, sempre visando relacioná-la ao sexo, idade, migração, nível sócio-econômico, variação geográfica e temporal (SONNENBERG, 1985). No entanto, a natureza heterogênea da úlcera dificulta, em muito, as investigações etiológicas (KURATA, 1989).

As úlceras pépticas são comuns e cerca de 10% da população carrega, ao longo de suas vidas, seqüelas dessa patologia (LEWIS & HANSON, 1991). Nos países ocidentais

acredita-se que 10 a 15% dos homens e 4 a 15% das mulheres adultas, foram portadores dessa doença pelo menos uma vez em suas vidas sendo, para muitos, uma doença crônica. Além disso, sabe-se que a conseqüência social e econômica da úlcera péptica pode ser bastante grave, tendo-se em vista que esta doença é crônica e que muitas pessoas a adquirem durante os anos mais produtivos de suas vidas (JENSEN, 1984).

Um ponto importante a ser analisado, quando se decide pelo trabalho aplicado à uma dada classe terapêutica em particular, é a incidência da morbidade na população; este tipo de dado reflete o binômio importância em saúde pública e mercado local (SOUZA BRITO, 1994).

As drogas antiulcerogênicas são tão importantes do ponto de vista de utilização e mercadológico, que elas representaram, só no ano de 1992 nos Estados Unidos, um volume total de vendas em torno de US\$ 4 bilhões (ALPER, 1993). Este fato deve-se, principalmente, a cinco fatores ambientais relacionados ao desenvolvimento da úlcera péptica no homem: (i) a utilização de drogas antiinflamatórias não- esteroidais (DAINE); (ii) a presença, na mucosa do TGI, de *Helicobacter pylori*; (iii) o hábito

de fumar; (iv) o estresse ambiental e (v) os hábitos alimentares das populações (LAM, 1994). Atualmente, a estes fatores podem ser adicionados o fenômeno das migrações populacionais e o estresse a elas associado (SONNENBERG, 1985; 1995), a morte de parentes próximos e o aumento crescente da participação da mulher no mercado de trabalho (PETERSEN, et al., 1995).

1.3. Plantas medicinais com atividade antiulcerogênica

Nos últimos anos, muitas substâncias puras ou extratos fracionados de origem vegetal tem sido citados como fontes de compostos com atividade antiulcerogênica. Os compostos obtidos de plantas, que possuem atividade antiulcerogênica, apresentam os mais variados tipos de estruturas químicas e diferentes mecanismos de ação tem sido propostos para estes compostos. Entre as principais classes químicas de compostos com atividade antiulcerogênica encontram-se os terpenos, triterpenos, flavonóides, alcalóides e glicosídeos mas outras substâncias, incluindo saponinas, também podem apresentar este tipo de atividade (LEWIS & HANSON, 1991).

Em geral, os compostos antiulcerogênicos obtidos de plantas exercem seu efeito estimulando os fatores de proteção da mucosa gástrica, como por exemplo, aumentando o conteúdo de prostaglandinas e/ou estimulando a secreção de muco e bicarbonato. Outros fatores incluem a inibição dos mecanismos responsáveis pela secreção gástrica (LEWIS & HANSON, 1991; SOUZA-FORMIGONI, et al., 1991).

Diversos modelos experimentais foram desenvolvidos visando estudar o possível efeito antiulcerogênico (curativo e preventivo) de extratos de plantas e compostos puros com potencial terapêutico. Os modelos disponíveis de indução experimental de úlcera gástrica em animais são múltiplos e podem ser conduzidos de diferentes formas, utilizando diversos agentes indutores.

As úlceras causadas por um agente irritante como o etanol aparecem devido à sua ação necrotizante na mucosa gástrica, independentemente da secreção gástrica (LEWIS & HANSON, 1991; MORIMOTO, 1991, EVANS, 1996). A ligadura do piloro induz a formação das lesões gástricas pelo estímulo e acúmulo da secreção ácida no lúmen do estômago (SHAY, et al., 1945;

LEWIS & HANSON, 1991). Já a indometacina, bem como a maioria dos antiinflamatórios não esteroidais como a aspirina, atuam inibindo a síntese de prostaglandinas e, conseqüentemente, diminuindo os mecanismos de citoproteção da mucosa gástrica mediados por estas substâncias (LEWIS & HANSON, 1991; MORIMOTO, et al.,1994; EVANS, 1996). Agentes parassimpatomiméticos, atuam sensibilizando a mucosa gástrica através do estímulo da secreção ácida e de pepsina, facilitando assim, a irritação gástrica causada pelos DAINES (RAINSFORD, 1978). No modelo de úlcera induzida por estresse, as alterações circulatórias na mucosa gástrica e o estímulo para a secreção ácida têm sido apontados como os principais fatores responsáveis pelo aparecimento das lesões (YANO, et al, 1978; RAFFATULLAH, et al., 1990; EVANS, 1996).

Apesar do *Helicobacter pylori* ser considerado, atualmente, o principal causador das úlceras gástricas na raça humana, os fatores ambientais acima citados, desencadeiam alterações na fisiologia gástrica, como por exemplo, aumento da secreção ácida e/ou diminuição da citoproteção da mucosa contribuindo, assim, para o desenvolvimento e aumento da lesão gástrica,

bem como dificultando sua cicatrização e ocasionando reincidência da patologia.

1.4. Fármacos utilizados atualmente para o tratamento de úlceras em geral

Até 1970, a única solução terapêutica para a úlcera péptica era a cirurgia. Este procedimento envolvia gastos elevados, com possíveis complicações, além do desconforto imposto ao paciente. No caso da opção pela cirurgia, além do custo direto (consulta médica, hospitalização, enfermagem e medicamentos), havia um custo indireto como consequência da ausência no trabalho, durante o período de hospitalização (JENSEN, 1984).

Dentre os primeiros fármacos utilizados na terapêutica da úlcera gástrica estão as drogas que neutralizam o ácido clorídrico, os antiácidos. O hidróxido de alumínio e de magnésio são os agentes mais empregados. No entanto, ambos com o inconveniente de alcalinizarem o pH gástrico e, portanto, deixarem o estômago suscetível a infecções, como aquelas causadas por *Helicobacter pylori* (CASPARY, 1982).

No início da década de 70, uma grande revolução modificou a prática terapêutica no tratamento das úlceras pépticas. Black, et al. , 1972, relataram os resultados obtidos, utilizando drogas que antagonizavam seletivamente os receptores H_2 da histamina. Estas drogas inibem tanto a secreção ácida gástrica estimulada pela histamina como aquela induzida pela gastrina e, em menor grau, pelos agonistas muscarínicos (POWELL & DONN, 1984). Os principais representantes deste grupo de drogas são a cimetidina e a ranitidina.

Algum tempo depois, devido ao papel fisiológico desempenhado por alguns prostanóides na manutenção da integridade da mucosa gástrica, principalmente a prostaglandina E_2 e as prostaciclina, desenvolveram-se drogas citoprotetoras como o misoprostol que, além de inibirem a secreção ácida gástrica, estimulam a secreção de muco e bicarbonato (MONK & CLISSOLD, 1987).

Na década de 80, surgiram os inibidores da bomba protônica ou H^+/K^+ ATPase. A substância padrão deste grupo de fármacos é o omeprazol que é capaz de inibir a secreção ácida

por inativação da bomba secretora de H^+ por meio de ligações de dissulfeto das moléculas reagentes do omeprazol com a enzima (HIRSCHOWITZ, et al., 1995).

Concomitantemente ao desenvolvimento do omeprazol, surgiu a pirenzepina, um antagonista seletivo do receptor muscarínico M_1 , que também contribuiu para o tratamento da úlcera péptica, com efeitos colaterais pouco pronunciados. Contudo, a redução da secreção basal de ácido clorídrico, utilizando-se esta classe de fármacos, pode chegar a valores entre 40 a 50 % da secreção normal (TEXTER & REYLLY, 1982). No entanto, o receptor muscarínico que parece estar diretamente relacionado à secreção gástrica e ao desenvolvimento de lesões, é o receptor do tipo M_3 (EHLERT, et al., 1999).

Outros agentes antiulcerogênicos incluem os colóides, utilizados nos distúrbios gastrointestinais (compostos bismúticos), os quais causam deslocamento da *Helicobacter pylori* do epitélio gástrico, com conseqüente lise da bactéria (BIANCHI et al., 1986). Outra droga é a carbenoxolona que altera a composição do muco e aumenta sua secreção,

reforçando a proteção da mucosa contra a difusão ácida. Esta droga é obtida do extrato de *Glycyrrhiza glabra* ou alcaçuz e atua aumentando a síntese de glicoproteínas, além de inibir as enzimas que inativam as PG's e suprimem a ativação de pepsinogênio (BARROWMAN & PFEIFFER, 1982).

Atualmente, para o tratamento das lesões ulcerativas causadas pelo *H. pylori* e, visando também sua erradicação, são associadas às drogas anti-secretoras e citoprotetoras, drogas como a amoxicilina e o metronidazol (MAKINO , et al., 1998).

Mesmo com a diversidade de fármacos conhecidos para o tratamento das úlceras pépticas, o índice de recidivas quando a terapia medicamentosa cessa é ainda muito elevado.

Assim, como não há ainda uma droga que produza 100% de remissão nas úlceras pépticas (ALPER, 1993) e por existir, só no Brasil, centenas de milhares de casos envolvendo este tipo de morbidade, o que significa um problema de saúde pública enorme, estudar substâncias com potencial atividade antiulcerogênica é, não só importante, como vital.

2. A PLANTA

2.1. Dados botânicos, distribuição geográfica e uso popular de espécies do gênero *Solanum*

As Solanáceas são plantas que ocorrem em todo o planeta, sendo particularmente abundantes nas Américas. Esta família apresenta um grande número de espécies com propriedades medicinais e tóxicas, além de outras de interesse bromatológico. Muitas espécies do gênero *Solanum* são conhecidas vulgarmente por jurubeba, porém, este nome vulgar não define uma espécie única, mas sim um grupo de espécies do gênero *Solanum*. Apesar disso, a Farmacopéia Brasileira (1ª edição) oficializa como jurubeba, a *Solanum paniculatum* L.. Vários autores, entretanto, utilizam a mesma sinonímia popular para outras espécies do gênero *Solanum*, o que causa confusão tanto na indicação popular quanto na investigação química-farmacológica desta espécie (RIADO, et al., 1996).

Apesar das jurubebas já serem utilizadas quando o Brasil foi descoberto pelos portugueses, a primeira notícia escrita do uso desta planta como medicamento é de autoria dos médicos naturalistas holandeses, Pies e Marggravi, que aqui estiveram

durante o domínio holandês. Tais informações estimularam e ainda estimulam a pesquisa com estas espécies. A espécie *S. paniculatum*, a mais conhecida das jurubebas, foi bastante investigada em relação às atividades hepatoprotetora (RIADO, et al., 1996) e antissecretora gástrica (SANTOS, et al., 1994).

Como diversos tipos de *Solanum* são comercializados com a denominação de jurubeba, decidiu-se estudar uma das espécies deste gênero que ainda não foi investigada quanto as suas indicações terapêuticas.

Solanum variabile Mart., é uma das espécies referidas como jurubeba mas que ainda não foi estudada, portanto, é o objeto deste estudo, realizar uma avaliação farmacológica desta espécie, já que a mesma é comercializada e utilizada como sendo *S. paniculatum*. Esta planta além de jurubeba pode receber outras denominações vulgares, dependendo da região; dentre elas estão joveva, jurubeba-da-bona (SC); jurubeba-falsa, jurubeba-velame, japicanga (SP); jupicanga, juveva (MG) e velame-de-capoeira (RS) (BLANCO & FRATTINI, 1978).

A área de dispersão se dá em todo o Estado de Santa Catarina, menos nos municípios litorâneos do centro e norte

deste Estado, até o Rio Grande do Sul, chegando a países vizinhos como o Paraguai e Uruguai. É encontrada também nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Sua ocorrência é campestre, onde chega a formar grandes aglomerados; sua preferência é por solos arenosos não muito úmidos (SMITH & DOWNS, 1966; SACCO, 1985).

A *S. variable* apresenta-se como arbusto ou árvore de até 3 m de altura, inerme ou com acúleos pequenos e esparsos, sendo os ramos jovens densamente ferrugíneo-tomentosos com pêlos recto-estrelados curtos estreitados. As folhas são de forma muito variável, desde largamente ovadas até estreito-lanceoladas, de ápice agudo ou acuminado, geralmente inteiras; às vezes, as folhas apresentam-se sinuadas ou lobadas, quase sempre inermes, densamente cobertas com pelos porrecto-estrelados e estreitados em ambas as faces, com 5-22 cm de comprimento e 1-8 cm de largura. A espécie floresce de outubro até março e, às vezes, no resto do ano (SMITH & DOWNS, 1966; SACCO, 1985), frutificando de outubro a dezembro (LEITÃO FILHO, 1972).

De acordo com sua composição fitoquímica, apresenta baixas concentrações de um glicoalcalóide, a solasodina (WEILER, 1980), além de saponinas, conforme determinado por testes preliminares para formação de espuma.

Dentre as aplicações terapêuticas deste gênero, destacam-se a utilização das folhas e raízes como tônico, diurético e no combate da icterícia e outras doenças hepáticas (PIO CORREA, 1984). Porém, apesar de não descrito em livros, a indicação para o tratamento de indigestão e úlceras gástricas para *S. variable* também é bastante frequente.

3- OBJETIVOS

Considerando-se: a) os usos populares do gênero *Solanum* incluindo aquele para o tratamento da indigestão e úlceras em geral; b) os métodos utilizados na seleção da espécie; c) a importância farmacológica de se estudar substâncias potencialmente ativas em úlceras em geral; d) a variedade de substâncias químicas ainda desconhecidas para a espécie selecionada e, por último, e) a indicação popular confusa em relação a utilização desta espécie como sendo a espécie *Solanum paniculatum* L., foram objetivos deste trabalho:

- 1- Determinar a DL_{50} e a toxicidade aguda “*in vivo*”, em camundongos, do Extrato Etanólico (EE) bruto obtido a partir das folhas de *S. variable*;
- 2- Determinar a atividade antiulcerogênica gástrica do EE em camundongos.
- 3- Determinar a atividade antiulcerogênica duodenal do EE em ratos.
- 4- Determinar a atividade curativa do EE na lesão ulcerosa crônica em ratos.

- 5- Propor possíveis mecanismos de ação envolvidos com as atividades antiulcerogênicas gástrica (preventiva ou curativa) e duodenal, e
- 6- Confirmar se a espécie *Solanum variable* possui as mesmas propriedades medicinais relacionadas ao tratamento de úlceras como indicado para a “jurubebas” em geral.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Preparação do extrato

Partes aéreas de *S. variable* foram coletadas em Bragança Paulista – SP e identificada pelo Prof. Dr. Fernando Oliveira, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, São Paulo, Brasil. A excicata foi depositada no Herbário “ Frei Velloso ” com o número 000077, na mesma cidade.

Depois de secas, 5 kg das partes aéreas de *S. variable* foram maceradas com etanol absoluto (4l/kg) durante 7 dias em temperatura ambiente ($\pm 22^{\circ}\text{C}$). Depois de filtrado, o extrato foi liofilizado, obtendo um rendimento final de 8 %.

Sempre antes da administração o extrato foi dissolvido em Tween 80 a 12 %, administrado em doses de 100, 250, 500 e 1000 mg/kg, por via oral ou intraduodenal, em volume final de 10 ml/kg.

4.2. Drogas para a determinação da atividade antiulcerogênica.

Para a determinação da atividade antiulcerogênica gástrica e duodenal da espécie selecionada, foram utilizadas as

seguintes drogas: cimetidina, lanzoprazol, betanecol hidrocloreto, indometacina, cisteamina, etanol, ácido clorídrico, ácido acético, cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, hidróxido de sódio e fenolftaleína. Todas as drogas foram preparadas imediatamente antes do uso.

4.3. Animais

Para a realização de todos os experimentos, os animais (ratos ou camundongos), foram provenientes do Centro de Bioterismo (CEMIB) da UNICAMP. Estes foram aclimatados às condições do laboratório por pelo menos 7 dias antes da manipulação experimental, com temperatura (23 ± 2 °C) e ciclos claro-escuro (12 h) controlados, alimentados com ração nuvital (Nuvilab) e água *ad libitum*. Os animais foram distribuídos, ao acaso, nos diferentes grupos experimentais e submetidos a jejum de pelo menos 12 h, dependendo do tipo de experimento. O projeto teve seu protocolo experimental submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (CEEA/IB/UNICAMP),

antes do início dos experimento e só foi realizado após aprovação do mesmo.

4.4. Modelos experimentais

4.4.1. Toxicidade aguda e DL₅₀

O teste para avaliação da toxicidade aguda do EE bruto de *S. variable* foi realizado de acordo com o método descrito por Souza-Brito, 1994. Grupos de camundongos pesando entre 30 e 35 g foram tratados, em dose única, com 500, 1000, 2500 e 5000 mg/kg do EE bruto de *S. variable*. Procedeu-se à observação diária durante 14 dias, para avaliar alterações de peso corporal, consumo de água e ração, fezes e urina bem como alterações dos pelos e mucosas, presença de estereotipia, diarreia, convulsões e estados de depressão ou excitação nervosa. O número de morte de animais em cada grupo, se alguma, será utilizada para o cálculo e determinação da DL₅₀ (dose letal 50 %).

4.4.2- Úlcera gástrica induzida por HCl-Etanol

Este método foi baseado na metodologia descrita por Mizui e Doteuchi (1993). Após 24h de jejum, grupos de camundongos foram tratados com 30 mg/kg de Lansoprazol (controle positivo), 10 ml/kg de Tween 80 a 12% (controle negativo) e 100, 250, 500 e 1000 mg/kg do EE bruto de *S. variable*, 50 min antes da indução da lesão gástrica. Todos os tratamentos foram feitos por via oral, em dose- volume final de 10 ml/kg.

A lesão gástrica foi induzida pela administração, via oral, de 0,2 ml de uma solução de HCl 0,3 M / etanol 60 %. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical 1 hora após a administração do agente lesivo; os estômagos foram retirados e inflados com 2,0 ml de solução fisiológica NaCl 0,9 % e abertos ao longo da grande curvatura. Após este procedimento, os estômagos permaneceram em formalina 5 %, durante um período adicional de 30 min para fixação. Logo em seguida é determinado o Índice de Lesões Ulcerativas (ILU) para cada grupo conforme descrito por Szeleni & Thimer, 1978.

4.4.3- Úlcera gástrica induzida por DAINÉ associada a um agente parassimpatomimético

Realizou-se o experimento segundo a metodologia descrita por Rainsford (1978). Utilizaram-se grupos de camundongos Swiss, machos, pesando entre 30 e 35 g, deixados em jejum por um período de 24h. A estimulação parassimpática foi realizada pela administração i.p. de betanecol, na dose de 5mg/kg, preparado em solução de NaCl 0,15 M, estéril, imediatamente antes do uso. A indometacina foi administrada concomitante ao betanecol, na dose de 30 mg/kg, por via subcutânea, preparada em solução de 5 % de NaHCO₃, estéril, imediatamente antes da utilização.

Os tratamentos nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg do EE bruto de *S. variable* ou 100 mg/kg de cimetidina (como controle positivo) e 10 ml/kg de Tween 80 a 12% (controle negativo), foram realizados 30 min antes da administração dos agentes indutores, por via oral. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, 4 h após ao estímulo lesivo. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da maior

curvatura, para contagem das lesões como descrito anteriormente.

4.4.4- Úlcera gástrica induzida por imobilização e frio (estresse)

A metodologia utilizada foi descrita por Levine (1971); no entanto, foram realizadas algumas modificações durante sua padronização em nosso laboratório. Após 36 h de jejum, camundongos, com peso entre 40 ± 2 g, foram tratados com 250, 500 e 1000 mg/kg do EE bruto de *S. variable*. Cimetidina 100 mg/kg foi utilizada como controle positivo e Tween 80, 10 ml/kg, como controle negativo, todos administrados por via oral, 30 min antes da indução da lesão gástrica por estresse.

Promoveu-se o estresse por meio da imobilização das patas dianteiras e traseiras do animal seguido da permanência individual dos animais em contêntores de PVC com tamanho de 9 cm de comprimento por 3,5 cm de diâmetro. Estes foram então acondicionados à temperatura de (4 °C), por um período de 3 h, sendo sacrificados por deslocamento cervical, após este período. Os estômagos foram retirados e abertos no sentido da

maior curvatura, para contagem das lesões gástricas como descrito anteriormente.

4.4.5- Análise dos parâmetros bioquímicos do conteúdo gástrico de camundongos submetidos à ligadura do piloro

Realizaram-se algumas modificações no método de ligadura de piloro descrito por Shay (1945) para ratos, no intuito de padronizar o método para camundongos. Após 36 h de jejum, grupos de camundongos pesando entre 35 e 38 g, sob anestesia de éter, sofreram uma incisão longitudinal logo abaixo da apófise xifóide para ligadura do piloro. A administração das amostras, 250, 500 e 1000 mg/kg de *S. variable*, 100 mg/kg de cimetidina (controle positivo) e 10 ml/kg de Tween 80 a 12% (controle negativo), foram realizadas, por via intraduodenal, logo após a ligadura do piloro (MORIMOTO, et al., 1991).

Os animais tiveram as incisões suturadas, logo após as administrações. Três horas após a cirurgia os camundongos foram sacrificados, as incisões reabertas e, após ligadura da cárdia (para preservação do conteúdo gástrico), os estômagos

foram retirados. O conteúdo estomacal de cada animal foi coletado e, em seguida, foram determinados; volume, pH e concentração de íons hidrogênio do suco gástrico. Para tal, adicionou-se água destilada ao conteúdo do estômago até completar volume final de 10 ml; esta solução foi então centrifugada por 10 min a 3000 rpm e o sobrenadante foi titulado com NaOH 0.01 N, utilizando-se fenolftaleína como indicador. A concentração total de ácido foi expressa em mEq/ml.

4.4.6- Indução de úlcera duodenal em ratos

A experimento foi realizado em acordo com o método descrito por Szabo, 1978. Foram utilizados ratos albinos machos pesando entre 200 e 220g; neste experimento o jejum não foi necessário para a indução das lesões. A úlcera duodenal foi induzida por duas administrações de uma solução aquosa de cisteamina hidrocloreídrica (400 mg/kg), por via oral, em intervalos de 4 horas, num total de 2 administrações. A droga padrão cimetidina 100 mg/kg (controle positivo), veículo 10 ml/kg (controle negativo) e a amostra vegetal na dose de 1000

mg/kg, foram administradas 30 minutos antes de cada dose de cisteamina. Todos os animais foram sacrificados 24 horas após a primeira dose de cisteamina. O duodeno foi retirado e aberto do lado oposto ao do mesentério. As úlceras foram contadas utilizando-se uma escala arbitrária de 0 a 3, onde 0 foi atribuído para a ausência de lesão; 1 para lesão superficial; 2 para úlcera profunda e 3 para úlcera perfurada ou com penetração em órgãos adjacentes (pâncreas ou fígado).

4.4.7- Indução de úlcera crônica por ácido acético em ratos

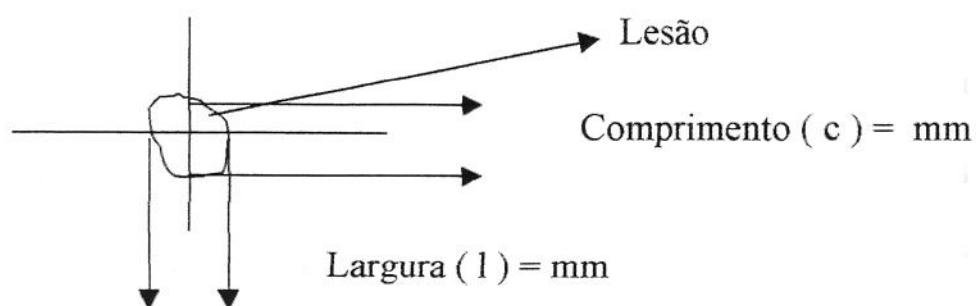
O ensaio foi realizado conforme a técnica descrita por Takagi et al, 1969. Ratos foram anestesiados com tionembutal para exposição do estômago através de uma incisão de aproximadamente 2 cm realizada abaixo da apófise xifóide do animal. Após exposto, foi injetado com o auxílio de uma microseringa, 0,05 ml de uma solução de ácido acético à 30 %, na camada subserosa da junção do fundo com o antro do estômago. Dois dias após a operação, foram iniciados os tratamentos, por via oral, com a amostra de *S. variable* na dose

de 1000 mg/kg, cimetidina (100 mg/Kg) e com o controle negativo (Tween 80 a 12 %) e persistiram durante 14 dias consecutivos.

Ao final do tratamento, os animais em jejum de 12 horas, foram sacrificados e seus estômagos removidos, abertos no sentido da maior curvatura e os estômagos retirados para determinação da área de lesão e para a seleção das amostras a serem fotografadas.

As úlceras foram determinadas através da medida do comprimento e da largura das lesões, observando-se os dois maiores eixos em ângulo de 90°, com auxílio de um paquímetro digital Digimatic (Mitutoyo Corporation da Caliper-Japão) sendo seu produto expresso em mm², denominado área da lesão ulcerativa (ALU).

A fórmula utilizada para obtenção da ALU neste experimento é descrita a seguir, sendo o produto final obtido através da multiplicação do eixo maior denominado comprimento (c) e do maior eixo que cruza o primeiro exatamente na metade e em 90 ° sendo, este eixo, o da largura (l) da lesão.



$$\text{Área da Lesão Ulcerativa} = (c) . (l) = \text{mm}^2$$

O efeito de drogas sobre as lesões foi calculado pela fórmula:

$$(\%) \text{ da taxa de cura} = \frac{(\text{ALU}) C - (\text{ALU}) T}{(\text{ALU}) C} \times 100$$

Onde: C = ALU dos animais do grupo controle

T = ALU dos animais do grupo tratado com EE

Fotografias

Para serem fotografadas, as amostras de estômago foram mantidas em solução salina 0,9% e, em seguida, colocadas numa mesa de reprodução com iluminação de 100 Watz. As fotos foram tiradas com uma lente macro de 50 mm e filme de 135 mm. Foi utilizada uma régua de escala de 1 cm como anteparo para real dimensão das lesões.

4.5. Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (dp) da média, dependendo do experimento. Os resultados foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), seguido pelo teste a posteriori de Dunnett, com nível de significância mínimo de $p < 0,05$ para ambas as análises.

5. RESULTADOS

5.1- Toxicidade aguda e DL_{50}

O índice de sobrevivência foi obtido após a observação de ausência de mortalidade dos animais até o 14º dia após uma única administração do EE bruto de *S. variable*, em doses de 500, 1000, 2500 e 5000 kg/kg.

Tabela 1 – Sobrevivência de camundongos após administração do EE bruto de *Solanum variable*, por via oral, em diferentes doses.

Tratamento	Via	Dose (mg/kg)	n	Animais Mortos
<i>Solanum</i>		500	08	00
<i>variable</i>	p.o	1000	08	00
		2500	08	00
		5000	08	00
Controle	p.o	10ml/Kg	08	00

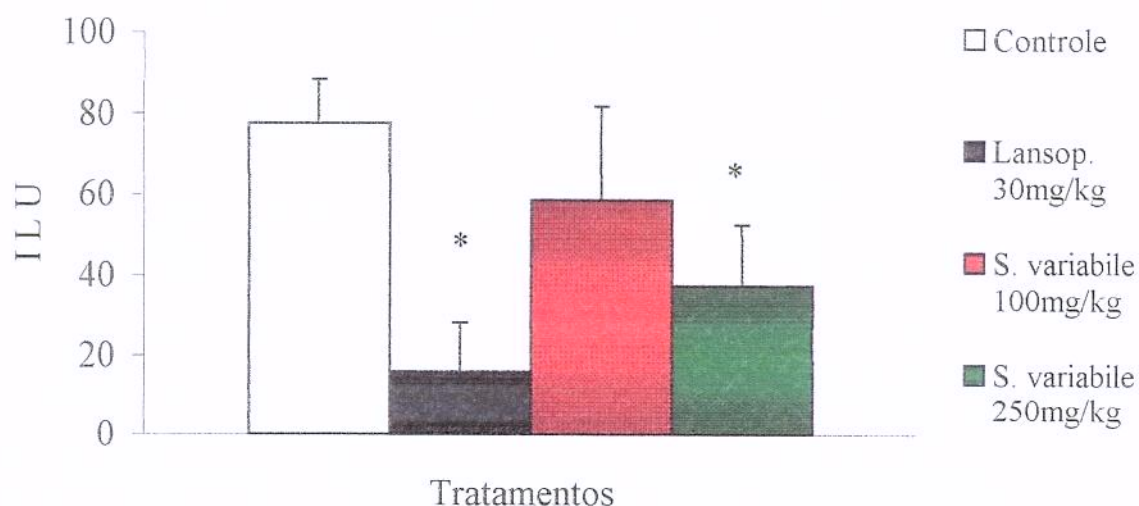
n = nº de animais

Nenhuma das doses administradas promoveu a morte dos animais. Não foi possível observar nenhum sinal de toxicidade com a administração do EE bruto em doses de 500, 1000, 2500 e 5000 mg/kg. Este resultado indica que o EE bruto desta espécie não é tóxico até a dose de 5000 mg/kg, quando administrado em dose única, por via oral, em camundongos.

5.2- Úlcera gástrica induzida por HCl/Etanol

Avaliou-se a atividade antiulcerogênica da amostra vegetal *S. variable* nas doses de 100, 250, 500 e 1000 mg/kg, utilizando-se um agente irritante da mucosa gástrica como indutor das lesões (solução 0,3M HCl / 60% etanol absoluto). A figura 1a mostra os resultados obtidos com as doses de 100 e 250 e os resultados com as doses de 500 e 1000 mg/kg estão expressos na figura 1b. Todos os dados estão apresentados na forma de média $\pm$ d. p. da média, em relação ao grupo controle de cada um dos experimentos realizados.

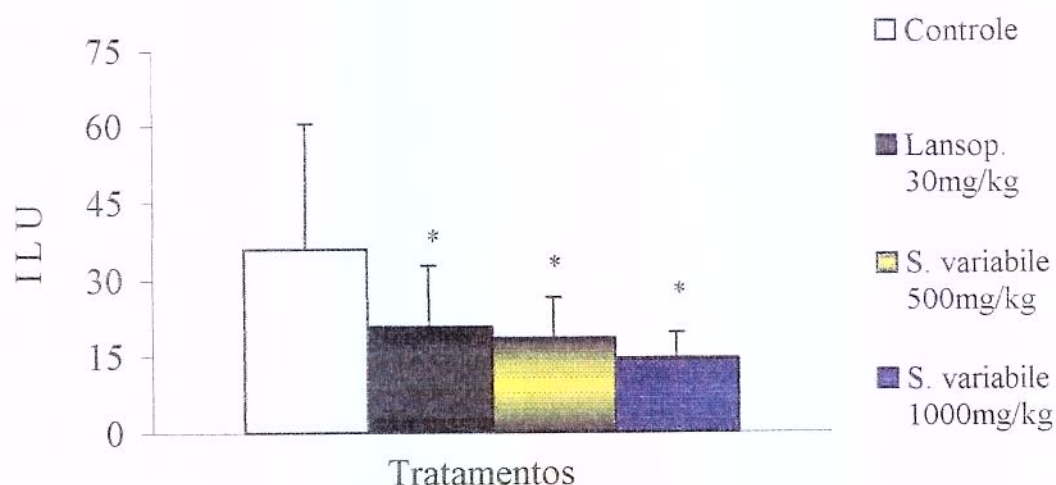
Figura 1a: Índice de lesões ulcerativas induzidas por HCl/etanol em camundongos pré-tratados com o EE bruto de *S. variable*, por via oral em doses de 100 e 250 mg/kg.



ANOVA: $F_{(3,24)}=17.656$ $p<0,05$; Teste de Dunnett:

* $p < 0,001$, ($n = 7$).

Figura 1b: Índice de lesões ulcerativas induzidas por HCl/etanol em camundongos pré-tratados com o EE bruto de *S. variable*, por via oral, em doses de 500 e 1000 mg/kg.



ANOVA: $F_{(3,28)} = 4.87$ $p < 0,05$; Teste de Dunnett:

* $p < 0,05$, (n = 8).

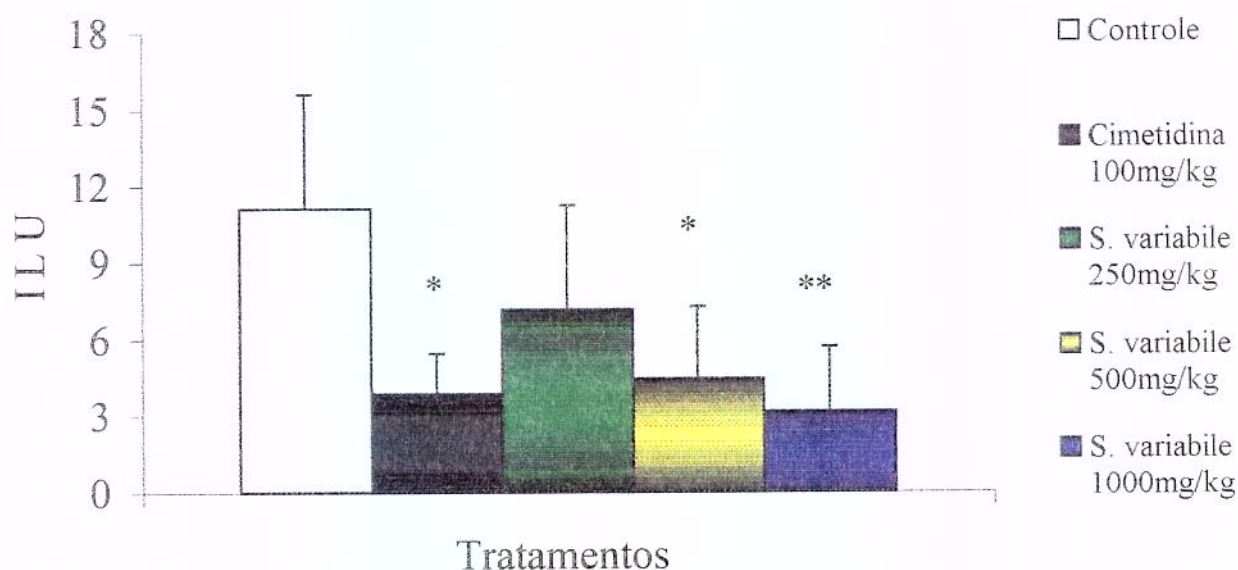
Foi possível observar que as doses de 250, 500 e 1000 mg/kg do EE bruto de *S. variable* foram eficazes em inibir significativamente, 51%, 49% e 60%, respectivamente, a formação das lesões ulcerativas induzidas pela associação destes agentes lesivos. O resultado obtido pela dose de 1000 mg/kg corresponde ao mesmo alcançado pela droga padrão,

lansoprazol, enquanto que a dose de 100 mg/kg não foi efetiva em inibir o aparecimento das lesões ulcerativas. A partir desses dados a dose de 100 mg/kg foi descartada nos experimentos subsequentes.

5.3- Úlcera gástrica induzida por DAINE associada a um agente parassimpatomimético

Neste experimento foi avaliada a atividade antiulcerogênica da amostra vegetal, administrada nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, no sentido de prevenir a formação das lesões ulcerativas pela associação de um agente parassimpatomimético (betanecol) a um DAINE (droga antiinflamatória não esteroideal), a indometacina. Os resultados obtidos para cada dose da amostra em estudo estão expressos na figura 2.

Figura 2: Índice de lesões ulcerativas induzidas por indometacina e betanecol em camundongos pré-tratados com o EE bruto de *S. variable*, em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, por via oral.



ANOVA: $F_{(4,30)} = 11.6$ ($P < 0.05$); indometacina e betanecol, Teste de Dunnett : * $P < 0.05$ e ** $P < 0.001$, ($n = 7$).

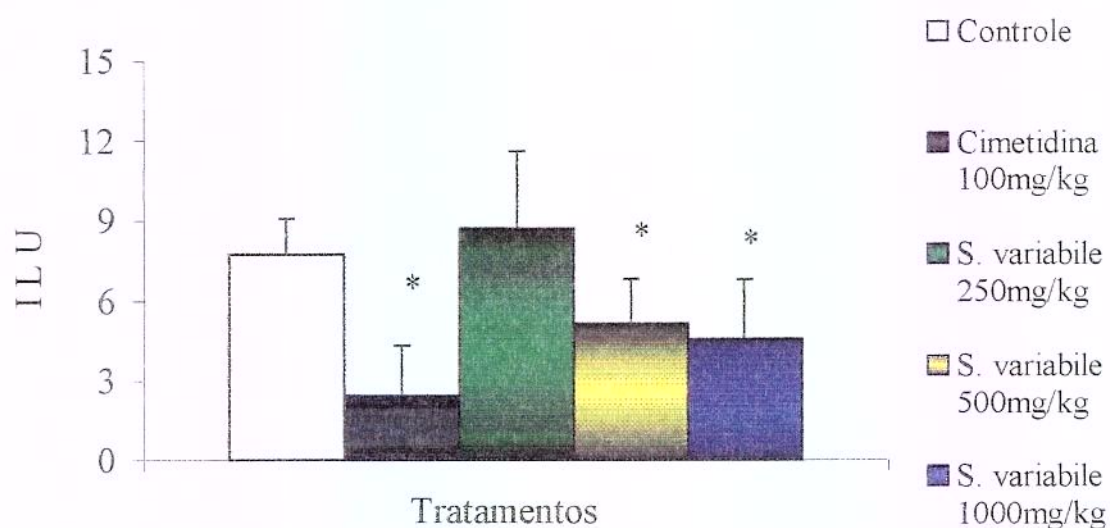
Os resultados obtidos demonstraram que o EE bruto de *S. variable*, nas doses de 500 e 1000 mg/kg, inibiu significativamente a formação das lesões ulcerativas induzidas

pela interação dos agentes lesivos, em 60 e 72 %, respectivamente. A dose de 500 mg/kg mostrou inibição à da cimetidina (65%), utilizada na dose de 100 mg/kg, enquanto que aquela da dose de 1000 mg/kg mostrou-se superior.

5.4- Úlcera gástrica induzida por estresse

Foi avaliada a atividade antiulcerogênica da amostra vegetal, nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, utilizando o método de indução de úlcera gástrica por estresse resultante da imobilização do animal e do frio. Os resultados obtidos estão expressos na figura 3, na forma da média $\pm$ d. p. da média, em relação aqueles do grupo controle.

Figura 3: Índice de lesões ulcerativas induzidas por estresse (imobilização e frio) em camundongos pré-tratados com o EE bruto de *S. variable*, em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, por via oral .



ANOVA: $F_{(4.30)} = 14.5$; Estresse (contenção e frio); Teste de Dunnett: * $P < 0.05$, (n=7).

Os resultados demonstraram que as doses de 500 e 1000 mg/kg foram eficazes em inibir significativamente a formação das lesões ulcerativas induzidas por estresse. A cimetidina apresentou inibição de 68 % sobre o ILU, enquanto que as porcentagens de inibição das amostras eficazes foram de 33 e

40 %, respectivamente. A dose de 250 mg/mg não inibiu as significativamente as lesões ulcerativas neste modelo.

5.5- Análise dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico de camundongos submetidos à ligadura do piloro

Neste experimento a atividade do EE bruto de *S. variable*, nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, em alterar os parâmetros bioquímicos do suco gástrico foi avaliada em camundongos, após administração intraduodenal das amostras vegetais. Os resultados obtidos neste experimento estão expressos na tabela 2. Nela estão resumidos os dados de pH, concentração de íons H^+ e conteúdo gástrico total (mg); todos dados estão apresentados como a média $\pm$ d.p. da média, sempre calculados em relação a aqueles do grupo controle.

Tabela 2: Determinação dos parâmetros bioquímicos da secreção ácida de camundongos pré-tratados com o EE bruto de *S. variable*, em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, administrados pela via intraduodenal.

Tratamentos	Dose (mg/kg)	N	Conteúdo (mg)	pH	H ⁺ (mEq/mL/4h)
Controle	-	7	370 ± 11	4.08 ± 0.91	7.16 ± 2.92
Cimetidina	100	7	340 ± 91	5.75 ± 0.82*	2.83 ± 0.70*
EE	250	7	360 ± 62	4.00 ± 0.77	6.90 ± 0.79
	500	7	350 ± 46	4.67 ± 0.40	6.50 ± 0.81
	1000	7	240 ± 66*	5.42 ± 0.91*	4.26 ± 2.01*

ANOVA; conteúdo gástrico (mg) $F_{(4,30)} = 3.92$; pH: $F_{(4,30)} = 18.3$;

H⁺: $F_{(4,30)} = 16$, Teste de Dunnett: * $P < 0.05$.

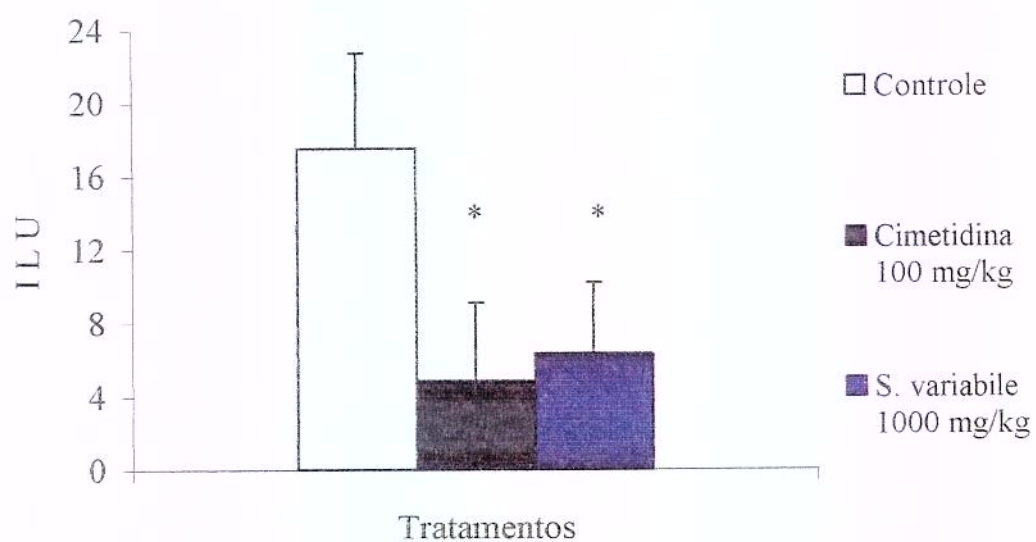
A análise dos resultados revelou que cimetidina e a dose de 1000 mg/kg do EE bruto de *S. variable* aumentaram significativamente o pH do conteúdo gástrico em relação ao

grupo controle e diminuíram a concentração do ácido gástrico, ambas apresentando praticamente os mesmos resultados quando comparadas em relação ao grupo controle. Finalmente, somente a dose de 1000 mg/kg foi eficaz em reduzir significativamente a quantidade do conteúdo gástrico dos estômagos dos animais. As doses de 250 e 500 mg/kg não foram significativamente eficazes em alterar nenhum dos parâmetros avaliados.

5.6- Úlcera duodenal induzida por cisteamine em ratos

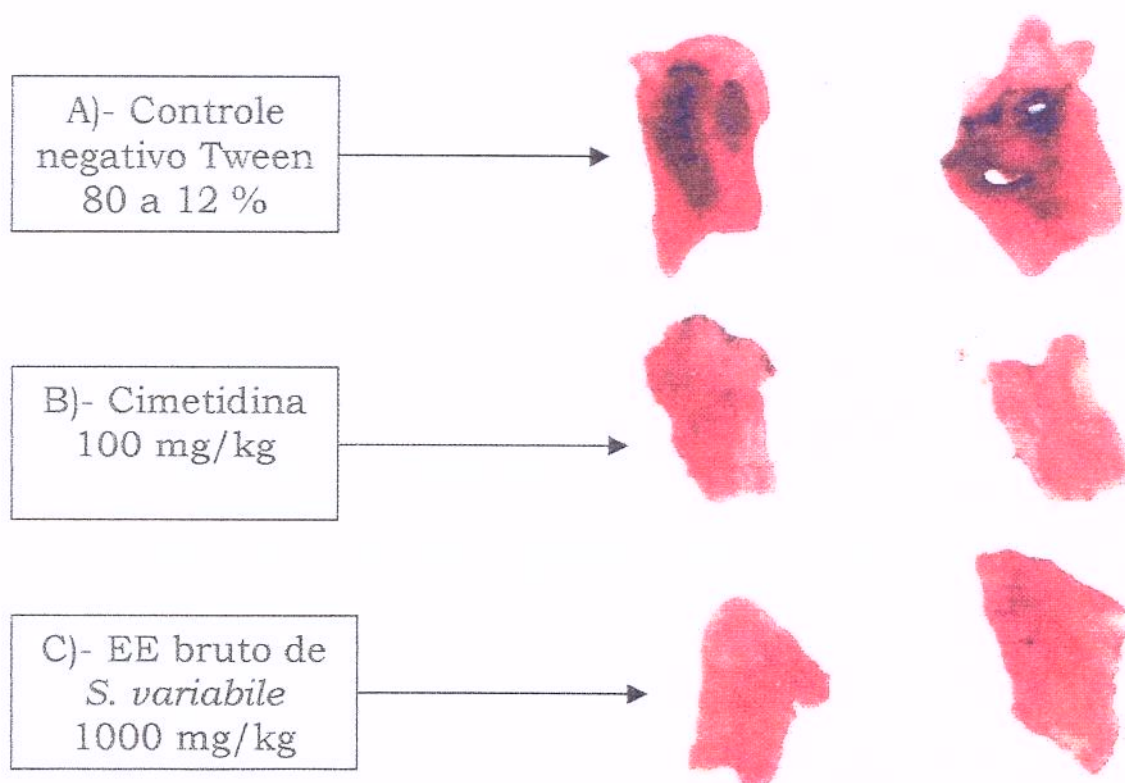
Neste experimento foi avaliada a atividade antiulcerogênica duodenal da dose de 1000 mg/kg do EE de *S. variable* em ratos. O tipo de lesão duodenal, bem como a inibição do seu aparecimento pelos tratamentos empregados, pode ser melhor visualizado na ilustração 1. Os resultados obtidos para a amostra vegetal e para a cimetidina estão expressos na figura 4, na forma da média $\pm$ d. p. da média, em relação aos resultados obtidos para o grupo controle.

Figure 4: Índice de lesões ulcerativas induzidas por cisteamina em ratos pré-tratados com 1000 mg/kg de EE bruto de *S. variable*, por via oral.



ANOVA: $F_{(2,21)} = 27.7$, Teste de Dunnett * $P < 0.05$, (n=8).

Ilustração 1: Porção do duodeno de animais do grupo controle (A), tratados com cimetidina (B) e tratados com o EE bruto de *S. variable* (C).

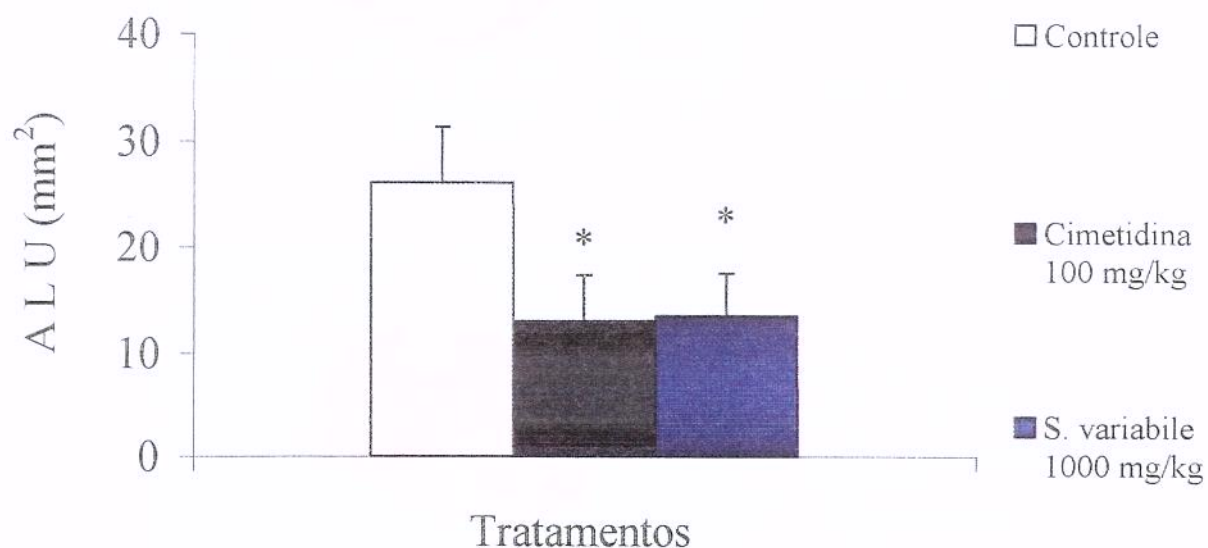


Os resultados obtidos demonstraram que o EE bruto, na dose de 1000 mg/kg de *S. variable*, inibiu significativamente a formação das lesões ulcerativas duodenais induzidas pela administração de cisteamina em 64 %. Este resultado foi muito próximo daquele obtido pela cimetidina (72 %) utilizada em dose dez vezes menor do que aquela do EE bruto de *S. variable*. A dimensão das lesões duodenais em animais do grupo controle, tornam-se imperceptível naqueles animais tratados com cimetidina e com o EE bruto de *S. variable*.

5.7- Úlcera Crônica induzida por ácido acético em ratos

A atividade curativa do EE bruto, administrado oralmente em doses de 1000 mg/kg durante 14 dias, foi avaliada em úlcera crônica induzida por ácido acético em ratos. Os resultados obtidos para a amostra e para a cimetidina estão expressos na figura 5, na forma da média $\pm$ d. p. da média, em relação aqueles obtidos para o grupo controle. O tipo de lesão gástrica que surge devido à administração do ácido acético, bem como efeito cicatrizante dos tratamentos empregados, podem ser melhor visualizados na ilustração 2.

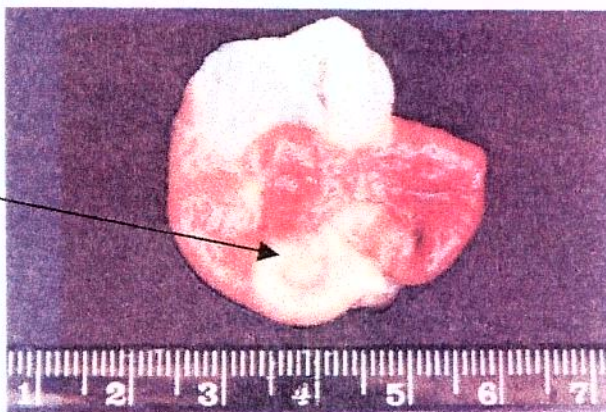
Figure 5: Área da lesão ulcerosa induzida pela administração de ácido acético 30 % em ratos após tratamento com o EE bruto de *S. variable*, em dose de 1000 mg/kg, por via oral, durante 14 dias consecutivos.



ANOVA: $F_{(2,21)} = 27.7$, Teste de Dunnett * $P < 0.05$, (n=8).

Ilustração 2: Estômagos de animais controle (A), tratados com cimetidina (B) e tratados com o EE bruto (C).

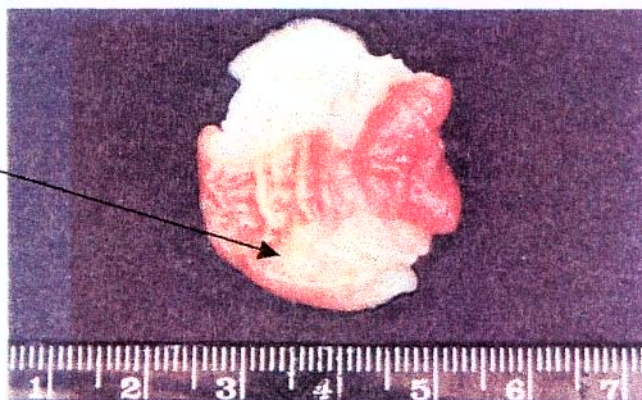
A)- Controle
negativo Tween
80 a 12 %



B)- Cimetidina
100 mg/kg



C)- Extrato
etanólico
1000 mg/kg



Foi possível observar que enquanto a área total de lesão gástrica nos estômagos de animais controle, após a injeção do ácido acético, foi de 26 mm², os estômagos de ratos tratados com o EE bruto de *Solanum variable*, na dose de 1000 mg/kg/dia, durante 14 dias consecutivos, apresentaram 48 % de remissão da área de lesão, o que corresponde a 15 mm²; a droga padrão utilizada, cimetidina, administrada durante o mesmo período que o EE bruto, porém em dose de 100 mg/kg, apresentou cicatrização em torno de 50 %, ou uma área de lesão de 13 mm². Na ilustração 2, observa-se que as dimensões das lesões ulcerativas em estômagos de animais do grupo controle, e daqueles tratados com EE bruto e também com cimetidina, após 14 dias de tratamento, são bastante diferentes.

6. *DISCUSSÃO*

A preparação do extrato das folhas de *S. variable*, teve objetivo de confirmar a indicação popular da espécie para o tratamento de úlceras, em geral e direcionar estudos de fracionamentos fitoquímicos visando isolamento dos princípios ativos presentes nesta espécie vegetal. Assim, este trabalho consiste em ponto de partida para a pesquisa desta espécie vegetal visto que seu potencial como agente antiúlcera é bastante interessante.

Este projeto de pesquisa teve início com um extenso levantamento etnofarmacológico sobre a utilização deste vegetal como “remédio”. As informações obtidas indicaram que para todas as atividades farmacológicas encontradas havia sempre a preparação de um extrato de alta polaridade a partir das partes aéreas da espécie *Solanum variable*. Desta forma, o extrato etanólico (EE) bruto a partir das partes aéreas de *S. variable*, foi preparado; e o EE assim obtido foi sempre administrado aos animais em doses crescentes de 100, 250, 500 e 1000 mg/kg, nos diferentes experimentos realizados, por via oral ou intraduodenal, dependendo da técnica empregada. O objetivo de se utilizar diferentes doses do EE foi de verificar se os efeitos encontrados

eram doses-dependentes e também eleger a dose mais ativa em cada um dos experimentos realizados.

No ensaio para a determinação da toxicidade aguda do extrato, o EE foi administrado em doses de 500, 1000, 2500 e 5000 mg/kg, via oral, para os animais distribuídos ao acaso em cada um dos grupos experimentais. A administração do EE bruto, nestas doses, não provocou sinais de toxicidade em nenhum dos períodos de observação. Nenhuma alteração morfológica foi detectada após a retirada e pesagem dos órgãos dos animais tratados. Também não foram detectadas alterações no consumo de água e de ração, bem como na quantidade de excretas (fezes e urinas), durante o mesmo período de observação (dados não demonstrados).

Nenhuma morte foi observada pela administração da amostra vegetal até a dose de 5000 mg/kg, indicando que a DL₅₀ do EE bruto desta espécie, por via oral, é superior a 5000 mg/kg em camundongos. Estes resultados sugerem que tanto o método de extração empregado, quanto o solvente utilizado, não arrastaram compostos químicos com propriedades tóxicas, os quais algumas vezes encontram-se presentes em algumas espécies do gênero *Solanum*. Ainda, como tentativa de explicar a ausência de toxicidade

do extrato polar das partes aéreas desta espécie, a qual é ainda desconhecida e pouco estudada, tanto química quanto farmacologicamente, é possível supor que a mesma não expresse durante seu metabolismo, substâncias que sejam tóxicas para roedores. Não se pode descartar, porém, que as mesmas substâncias possam apresentar algum tipo de toxicidade para outras espécies de mamíferos.

Por outro lado, a ausência de efeitos tóxicos permitiu prosseguir com os ensaios farmacológicos utilizando-se o EE bruto de *S. variable* em ratos e camundongos, sem a preocupação de que futuras atividades farmacológicas possam estar ocorrendo como parte de efeito tóxico desencadeado pelos compostos presentes no EE bruto do vegetal.

Assim, foi iniciado o estudo da atividade antiulcerogênica, preventiva ou curativa, gástrica ou duodenal, do EE bruto obtido a partir das folhas de *S. variable*. O estudo destas atividades teve, como ponto de partida, a utilização medicinal das jerubebas, denominação que se dá as várias espécies do gênero *Solanum*, cuja atividade relaciona-se ao tratogastrointestinal.

Os modelos de indução de úlceras em roedores são ainda muito utilizados apesar da agressividade de algum deles porque estes modelos desencadeiam lesões ulcerativas, por diferentes mecanismos, semelhantes às que surgem nos seres humanos.

Como descrito inicialmente por Mizui e Doutechi (1981), as úlceras induzidas por um agente irritante moderado da mucosa gástrica, como o etanol em solução a 60 % associado ao ácido clorídrico na concentração de 0,3 M, se desenvolvem principalmente devido à remoção da camada mucoprotetora que protege a mucosa gástrica. O etanol solubiliza o muco protetor e deixa a mucosa gástrica indefesa à ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico, da pepsina ativa e do próprio etanol. Este agente pode induzir, ainda, um aumento na secreção do ácido gástrico e também, por contato direto, destituir e romper vasos sanguíneos que irrigam a mucosa gástrica, o que leva a uma necrose local.

Deste modo, a hipersecreção gástrica, juntamente com a fragilidade da rede vascular responsável pelo fluxo sanguíneo da mucosa e, a dissolução da camada muco-protetora, constituem os principais fatores envolvidos na instalação de uma úlcera gástrica induzida pelo etanol associado ao ácido clorídrico (OATES &

HAKKINEN, 1988; LEWIS & HANSON, 1991; EVANS, 1996; PANDOLFINO, HOWDEN & KAHRILAS, 2000).

No experimento de lesões gástricas induzidas por HCl/etanol em camundongos, o EE bruto obtido a partir das folhas de *S. variable*, foi eficaz em proteger a mucosa gástrica contra a ação lesiva destes dois agentes. Os resultados obtidos demonstraram que as doses de 250, 500 e 1000 mg/kg do EE bruto inibiram significativamente o aparecimento das lesões ulcerativas. Nenhuma das doses ativas, no entanto, apresentou-se diferente, do ponto de vista de eficácia, do lansoprazol. Desta forma, é possível sugerir, que lansoprazol e o EE bruto tem a mesma atividade preventiva em relação às úlceras desenvolvidas pela interação destes agentes, quando este método é empregado.

Todavia, é possível sugerir que o(s) princípio(s) ativo(s) só exibe(m) atividade a partir da dose de 250 mg/kg ou que somente a partir desta dose, seu(s) efeito(s) pode(m) ser detectado(s), já que na dose de 100 mg/kg nenhum efeito preventivo significativo foi observado.

Possivelmente, compostos ativos presentes no EE bruto atuem auxiliando na manutenção da integridade da mucosa gástrica,

aumentando o suprimento de muco e bicarbonato para a mucosa e/ou restabelecendo a integridade vascular que mantém o fluxo sanguíneo local. Além disso, os compostos poderiam ainda inibir a secreção do ácido clorídrico, o que, pelo menos em parte, já seria suficiente para reduzir o número de lesões induzidas pelo etanol.

Modelos experimentais utilizados para avaliação de atividade antiulcerogênica de extratos vegetais que utilizam antiinflamatórios não esteroidais (DAINEs) como indometacina, aspirina, piroxicam ou diclofenaco como indutores da lesão ulcerosa, baseiam-se no fato de que estas drogas tem como principal mecanismo de ação, a inibição da enzima ciclooxygenase. É esta inibição inespecífica sobre as ciclooxygenases do tipo 1 e 2 que leva ao aparecimento das lesões gástricas durante a realização destes modelos experimentais em animais e também em condições reais, em seres humanos (WALLACE, et al, 2000).

Como produto final da cascata enzimática, as ciclooxygenases geram, como produtos finais, autacóides e prostanóides que são compostos importantes no desenvolvimento da resposta inflamatória.

Um destes prostanóides, em específico, é a prostaglandina do tipo E₂ que, além de ser vasodilatadora e hiperalgésica no tecido inflamado, é responsável no estômago pela inibição parcial da secreção do ácido clorídrico, pela manutenção do fluxo sanguíneo para a mucosa gástrica e ainda, pela produção e secreção parcial de muco e bicarbonato. O conjunto destas ações é fundamental para a atividade denominada “citoprotetora” que é conferida às prostaglandinas nas mucosas gástrica e duodenal (ROBERT, et al, 1978; BECK, et al, 2000; WALLACE, et al, 2000).

Portanto, quando a cascata de formação de prostaglandinas é interrompida por ação dos DAINE's sobre as cicloxigenases, principalmente sobre aquela do tipo 1 (ciclooxigenase constitutiva responsável pelas atividades benéficas das prostaglandinas no estômago), todos os benefícios exercidos por estas prostaglandinas na mucosa gástrica são revertidos. Assim, a mucosa fica desprotegida e suscetível à ação do ácido clorídrico e da pepsina que, em questão de horas, levam ao aparecimento das lesões ulcerativas.

Ainda neste modelo, o betanecol, uma droga parassimpatomimética, é administrado concomitantemente à

indometacina estimulando ainda mais a secreção ácida e péptica, facilitando deste modo o desenvolvimento da lesão ulcerativa iniciada pelo DAINÉ (RAINSFORD, 1987).

Quando a associação destes agentes foi utilizada para indução das lesões ulcerativas em camundongos, ficou claro que o pré-tratamento dos animais com o EE bruto de *S. variable* foi efetivo em manter a integridade da mucosa gástrica. Neste modelo foi demonstrado que as doses de 500 e 1000 mg/kg do EE bruto de *S. variable*, inibiram o aparecimento das lesões ulcerativas. A eficácia do extrato bruto, administrado na dose de 1000 mg/kg, foi semelhante à da droga padrão utilizada neste modelo, a cimetidina.

Considerando-se os resultados obtidos com o extrato da espécie em estudo no modelo de indometacina e betanecol, foi possível supor que haja interferência da(s) substância(s) ativa(s) presente(s) no extrato, com o mecanismo ulcerativo da indometacina, ou seja, poderia existir interferência dos compostos presentes no EE bruto com a via das ciclooxygenases, ou algum de seus metabólitos, em especial as prostaglandinas. Desta forma, é possível ainda, que estes compostos atuem sobre os mecanismos de síntese ou liberação da prostaglandina do tipo E₂ na mucosa

gástrica ou quem sabe impedindo sua degradação, após liberada, já que a mucosa gástrica dos animais mantinha-se íntegra na maioria dos estômagos analisados.

No modelo de úlcera induzida por estresse, as alterações circulatórias na mucosa gástrica, com consequente redução do fornecimento de oxigênio para o tecido envolvido constituem-se num dos principais fatores para o início da lesão gástrica neste modelo. Por outro lado, alterações fisiológicas desencadeadas pelo estresse também envolvem estímulos exacerbados do sistema parassimpático. Estes estímulos promovem liberação exacerbada de acetilcolina e de histamina, as quais constituem-se nos principais estimulantes endógenos da secreção ácida e péptica no estômago. Assim, ácido clorídrico e pepsina aumentados, atuando sobre a mucosa fragilizada, iniciam e/ou promovem o desenvolvimento da lesão gástrica característica do estresse. Somando-se a estes fatores a diminuição do fluxo sanguíneo acarreta, dentre outros problemas, dificuldade para drenagem do ácido clorídrico hiperproduzido, o que contribui ainda mais para o desenvolvimento da lesão desencadeada durante o processo de estresse (YANO, et al, 1978; RAFFATULLAH,

et al, 1990; HIRSCHOWITZ, et al, 1995; EVANS, 1996 & WOLFE & SACHS, 2000).

Quando o EE bruto de *S. variable*, em doses de 250, 500 e 1000 mg/kg foi testado no modelo de úlcera gástrica induzida por estresse em camundongos, observou-se que duas das três doses testadas (500 e 1000 mg/kg) foram eficientes em inibir o aparecimento das lesões gástricas. Dentre as doses que promoveram inibição significativa das lesões, a dose de 1000 mg/kg foi aquela que apresentou resultados próximos aos alcançados pela cimetidina. Assim, neste experimento, os princípios ativos responsáveis pela atividade preventiva do EE bruto em relação à úlcera induzida por estresse apresentaram-se ativos a partir da dose de 500 mg/kg.

Do ponto de vista farmacológico é possível sugerir que, provavelmente, os compostos ativos presentes no EE bruto da espécie estudada poderiam regular o aumento da secreção do ácido gástrico estimulada pelo estresse, interferindo com a ação dos mediadores responsáveis por esta hipersecreção. Provavelmente, os compostos poderiam estar antagonizando a ação da acetilcolina e histamina em receptores M_3 e H_2 , respectivamente, na célula

parietal ou ainda na célula responsável pela liberação de histamina ou de gastrina, o que, indiretamente, estaria também reduzindo a hipersecreção ácida provocada pelo estresse.

Por outro lado, em se tratando de extrato bruto, poderiam existir também no EE, substâncias com propriedades antioxidantes que ajudariam a manter a integridade e o fluxo sangüíneo na mucosa gástrica, o que, de certa forma, auxiliaria na prevenção da indução da lesão ulcerativa pelo estresse. Este tipo de atividade tem sido recentemente descrita por pesquisadores que estudam substâncias, de origem vegetal, com propriedades antioxidantes *in vitro*; estas substâncias vem sendo demonstradas como capazes de prevenir úlceras *in vivo* (DI CARLO, 1995; HARDBORNE, 1996).

É importante ressaltar que em todos os experimentos realizados até o momento, mesmo se tratando de extrato bruto, os resultados obtidos como o EE foram de eficácia próxima àquela da droga padrão utilizada, com doses 5 ou 10 vezes superior por exemplo aquela da cimetidina, uma das drogas padrão empregada na maior parte dos modelos. Assim, um futuro isolamento do princípio ativo torna promissor a caracterização de uma nova droga antiulcerogênica obtida a partir deste vegetal.

O método de ligadura do piloro, quando realizado em roedores, induz lesões gástricas principalmente por estímulo mecânico do conteúdo gástrico sobre a mucosa gástrica. O acúmulo de ácido e do conteúdo gástrico, em geral, promovido pela obstrução do piloro, induz uma distensão exagerada da mucosa gástrica e também uma hipersecreção ácida promovida pela acetilcolina, liberada por ramificações específicas do nervo vago, na mucosa gástrica.

A acetilcolina liberada induz hipersecreção do ácido clorídrico e de pepsina, atuando em receptores muscarínicos presentes nas células parietais e ainda, de forma indireta, induzindo a liberação de histamina e gastrina das células “enterocromafin-like” e células G de gastrina, respectivamente. Estes dois agentes irão estimular, de forma sinérgica, a secreção ácida atuando, respectivamente, em receptores H_2 e CCK-B presentes nas glândulas oxínticas da mucosa gástrica. A partir das interações ligante-receptor destes agentes o perfil fisiológico da secreção gástrica será completamente alterado, iniciando a formação das lesões ulcerativas (SHAY, et al, 1945; RAFFATULLAH, et al, 1994; HIRSCHOWITZ, et al, 1995; PANDOLFINO, et al, 2000).

Entretanto, não foi possível até o momento, em nossas condições experimentais, obter lesões ulcerativas passíveis de determinação com este modelo, quando se utiliza camundongos na experimentação. Por outro lado, a utilização deste método é indispensável, pois os principais parâmetros da secreção gástrica, tais como pH, concentração de íons H^+ e a quantidade de conteúdo gástrico, podem ser devidamente avaliados, com a sua utilização. Além disso, a avaliação destes parâmetros é importante, já que possíveis alterações neles auxiliam na fundamentação dos resultados obtidos nas outras metodologias e na seleção dos métodos para o estudo dos mecanismo de ação das substâncias em estudo.

Foi possível observar, através da administração intraduodenal do EE bruto, que somente em dose de 1000 mg/kg houve elevação significativa do pH e diminuição na concentração de íons H^+ e do conteúdo gástrico. Assim, como era o propósito deste experimento, foi possível comprovar provável atividade antissecretória, pois elevação de pH gástrico e diminuição na concentração de íons H^+ são, sem dúvida nenhuma, parâmetros determinantes para a atividade antiulcerogênica da maioria das drogas utilizadas na

terapêutica da úlcera gástrica em humanos (HIRSCHOWITZ, et al, 1995; WOLFE & SACHS, 2000). O EE bruto de *S. variable* apresenta estas características.

Assim, tal como a cimetidina, é possível que os compostos ativos presentes no EE sejam capazes de inibir a secreção ácida, principalmente aquela mediada pela histamina, interferindo com sua síntese e/ou liberação, ou ainda, bloqueando seu receptor específico H_2 na célula parietal, diretamente envolvido com a secreção ácida no estômago. Estes resultados, além de confirmarem a propriedade antiulcerogênica da planta, indicaram que o(s) composto(s) ativo(s) presente(s) na amostra vegetal são absorvidos no intestino e promovem estas alterações, certamente, por uma ação sistêmica.

Desta forma, analisando-se todos os resultados obtidos conjuntamente, é possível sugerir ainda que, além dos mecanismos inibitório da secreção ácida já descritos anteriormente, o(s) constituinte(s) ativo(s) presentes no EE bruto de *S. variable* poderia(m) atuar também inibindo a atividade da enzima responsável pelo fornecimento de íons H^+ ao lúmen gástrico para a formação do ácido clorídrico.

Este mecanismo é característico do lansoprazol e de todas as drogas inibidoras da bomba protônica $H^+/K^+ - ATPase$ localizada no canalículo da célula parietal, o que, por si só, seria suficiente para explicar todos os resultados obtidos até o momento.

Em continuação, agora utilizando-se ratos, o EE bruto de *S. variable* foi administrado no intuito de prevenir, nos animais, o aparecimento de lesões ulcerativas no duodeno, após a administração de cisteamina, um agente altamente lesivo, para este tipo de mucosa.

O método de indução de úlcera duodenal por cisteamina hidrocloreídrica oferece uma real contribuição para a investigação de substâncias com possível atividade farmacológica protetora sobre lesões duodenais. A patogenia da úlcera duodenal em humanos tem sido extensivamente estudada; sabe-se que vários componentes incluindo hipersecreção do ácido gástrico, aumento na liberação de gastrina e esvaziamento gástrico descontrolado, contribuem para a formação das lesões. Em contrapartida, a inibição da secreção de bicarbonato e do muco e também, de fatores de crescimento endotelial na mucosa duodenal, deixam esta mucosa susceptível a ação dos agentes lesivos descritos anteriormente; mecanismos de

citoproteção são essenciais para a manutenção e renovação do epitélio duodenal durante exposição a qualquer agente que possa induzir lesão nas mucosas gástrica e duodenal (SZABO, 1978).

Assim, a inibição destes elementos, pela administração da cisteamina, levaria ao desenvolvimento de lesões ulcerativas no duodeno em diferentes estágios, podendo-se observar desde úlceras superficiais e hemorrágicas ou até mesmo úlceras que perfuram o duodeno e causam danos a órgãos adjacentes (POULSEN, et al, 1985).

É possível então que componentes presentes no EE bruto de *S. variable* interfiram com o mecanismo patológico da cisteamina; deste modo a cisteamina seria impedida de aumentar a secreção do ácido clorídrico ou de alterar a motilidade gastroduodenal, regulando o esvaziamento gástrico ou ainda, aumentando os mecanismos de defesa da mucosa duodenal os quais, certamente, estão ausentes após a administração da cisteamina, na concentração utilizada.

Aumentos da liberação e síntese de fatores de crescimento vascular e endotelial, poderiam ser atribuídos também aos compostos presentes no EE bruto de *S. variable*; isto contribuiria

para a manutenção da integridade da mucosa duodenal após o pré-tratamento dos animais com a cisteamina. Independente de um mecanismo distinto, a inibição da secreção ácida, bem como o aumento dos fatores de proteção da mucosa (agora na mucosa duodenal), são sugeridos novamente como sendo importantes modos de ação antiúlcero-gênica para o(s) composto(s) presente(s) no EE bruto de *S. variable* já que o índice de lesões duodenais foi eficientemente reduzido com a administração do EE bruto na dose de 1000 mg/kg.

Geralmente, as doenças ulcerosas gástrica e duodenal, tem sido investigadas e relacionadas sempre com o aumento das substâncias lesivas da mucosa do estômago e duodeno (ácido clorídrico e pepsina), ou com a perda da capacidade protetora da mucosa (redução do muco, do bicarbonato e de prostaglandinas). Estes últimos agentes são responsáveis, em grande parte, pela manutenção da integridade tanto da mucosa gástrica, quanto da duodenal.

Por isso, a grande maioria das drogas disponíveis atualmente no mercado para tratamento destas patologias visam aumentar os fatores de proteção da mucosa ou inibir aqueles agentes que, por

ventura, levam à indução das lesões ulcerativas. A exceção, no caso analisado, é o emprego de antibióticos, na erradicação da *Helicobacter pylori* em tratamentos de pacientes com úlceras desencadeadas pela presença desta bactéria.

Por este motivo, pouquíssima ou quase que nenhuma atenção tem sido dada aos processos que poderiam estar relacionados à cura destas lesões ou que, pelo menos em parte, estariam auxiliando diretamente os mecanismos de cicatrização das lesões, uma vez que as mesmas já tenham sido instaladas. Com isso, não só a pesquisa de fármacos sintéticos, mas também aquela com substâncias de origem vegetal que por ventura possam apresentar atividade curativa ou cicatrizante, ficam prejudicadas pois nem sempre é possível estender os estudos até este estágio.

Atualmente, sabe-se que fatores de crescimento endotelial estimulam importantes elementos relacionados aos processos de cura de certos tipos de úlcera. Estes fatores de crescimento teriam extrema importância nos casos de úlceras crônicas, induzindo a angiogênese no local afetado, formação de tecido granular e, principalmente, restabelecendo a epitelização do local de maneira contínua e progressiva. Sabe-se também que quanto mais eficiente

for esta reepitelização, menores serão as chances de uma futura reincidência desta forma de lesão (SZABO & VINCZE, 2000).

Quando foi realizado o experimento de indução de úlcera crônica em estômagos de rato, através da injeção submucosa de ácido acético a 30 %, foi possível observar que o EE bruto, administrado durante 14 dias v.o. na dose de 1000 mg/kg, acelerou o processo de cicatrização da mucosa destes animais, reduzindo pela metade a área de lesão nos estômagos. Este resultado permite sugerir que, além da possível atividade antissecretora gástrica, que por si só já poderia estar contribuindo para uma redução na área de lesão dos estômagos dos animais tratados uma atividade curativa de EE poderia estar presente, possivelmente através da indução da produção e liberação dos fatores de crescimento.

Recentemente, alguns estudos demonstraram que determinadas substâncias vegetais, chás ou extratos brutos, apresentaram atividade cicatrizante em úlceras crônicas em animais. Estes resultados são atribuídos às propriedades curativas, destas substâncias, principalmente aquelas relacionadas ao aumento dos fatores de crescimento (SZABO & VINCZE, 2000).

Assim, a interação das substâncias presentes no EE bruto deveria ser avaliada no sentido de comprovar se as mesmas podem ou não induzir aumento dos fatores de crescimento em animais tratados cronicamente com o EE bruto. Até o momento, porém, em nossas condições de laboratório, estes testes não puderam ainda ser realizados.

Finalmente, a interferência do EE bruto com processos que modulam a secreção ácida gástrica e promovem citoproteção (produção e/ou liberação de prostaglandinas e muco citoprotetor), são os mecanismos antiulcerogênicos propostos para os compostos presentes no EE bruto de *S. variable*. No entanto, drogas apresentando ambas propriedades, citoprotetora e antissecretória, são raramente descritas, o que permite-nos sugerir que possa existir mais do que um princípio ativo responsável pelos efeitos farmacológicos demonstrados pelo EE desta espécie.

Os resultados obtidos até o momento validam a utilização popular da espécie *S. variable* para o tratamento de úlceras em geral, independente do fato desta espécie ser confundida com a espécie *S. paniculatum*, uma outra jurubeba com mesmas indicações populares.

7. CONCLUSÃO

- A administração em dose única, via oral, do extrato bruto obtido das folhas de *S. variable* não apresentou sinais de toxicidade em camundongos até a dose de 5000 mg/kg, indicando que o EE é seguro, quando mantidas as doses e métodos de preparação aqui demonstrados.

- O EE bruto de *S. variable* apresentou atividade preventiva em relação à ulceração gástrica em camundongos e ulceração duodenal em ratos. O EE apresentou também atividade curativa em relação a ulceração crônica em ratos.

- O significativo efeito antiulcerogênico do extrato bruto obtido das folhas de *S. variable* ocorreu provavelmente por favorecer os mecanismos de defesa da mucosa gástrica, embora uma atividade antissecretória ácida de EE também não possa ser descartada.

- A hipótese de que ambas propriedades, citoprotetora e antissecretória, ocorram em conjunto não pode ser descartada até o momento; provavelmente, estas propriedades podem dever-se a compostos químicos distintos.

- A atividade farmacológica demonstrada pela amostra vegetal provavelmente ocorre por ação sistêmica do(s) princípio(s)

ativo(s), como demonstrado no experimento de ligadura de piloro; no entanto, uma atividade mecânica local não pode ser descartada.

- O(s) princípio(s) ativo(s) responsável(is) por estas atividades certamente tem caráter polar.

- A baixa toxicidade demonstrada em experimentos '*in vivo*' e os resultados obtidos nos experimentos farmacológicos realizados, analisados conjuntamente, justificam a utilização popular da *S. variabile* para o tratamento de úlceras em geral, independente do fato de que esta espécie é confundida com *S. paniculatum*.

8. *SUMMARY*

S. variable is a plant belonging to the family Solanaceae which is found in countries with tropical and subtropical climate, including the south, southeast and central regions of Brazil. This plant is used in Brazilian folk medicine for the treatment of gastric ulcers in general. Same times the folk indication occur because the population thing that *the S. variable* is the truth “jurubeba” but the Brazilian pharmacopoeia defined the *Solanum paniculatam* as beem the truth “jurubeba”. The acute toxicological effect of the ethanolic extract (EE) leaves was studied on mice to evaluate its toxicological acute effects. None death or sign of toxicity was observed at doses higher than 5000 mg/kg administered orally to the animals. To evaluate the gastric antiulcerogenic activity of EE were used experiments of induced gastric lesion in mice and to evaluate the antiulcerogenic duodenal activity and the healing of chronic ulcer rats were used. The ulcerative index on the ethanol/HCl induced gastric ulcer by 51, 49 and 60 %, on the estresse-induced gastric ulcer by 33 and 40 % and on the indomethacin/bethanechol induced gastric ulcer by 60 and 72 %, at different used doses. On the pylorus ligature the EE administered by intraduodenal route respectively increased the pH of the gastric content from 4,0

(control) to 5,4 and reduced the amount of ionizable H^+ ions of the gastric content from 7,1 (control) to 4,2 mEq/ml/4h and finally, decrease the gastric content (mg) from 340 to 270 of the mice stomachs.

The ulcerative index on the cysteamine induced duodenal ulcers in rats was reduced by 64 % and at the same dose the EE reduce the lesion area on the chronic gastric ulcer in rats by 48 %. Thus, the antiulcerogenic mechanism of these substances seems to be involved with an increase of the defense mechanisms of the gastric mucosa and/or to an antisecretory activity of the compounds present in EE of *S. variable*. The low toxicity observed in *in vivo* experiments and the data obtained on the pharmacological assays, analyzed as a whole, justify the popular indication of the species for the treatment of gastric and duodenal ulcers independent if really It is the truth “jurubeba”.

9. REFERÊNCIAS

- ALPER, J.. Ulcers as an infectious disease. **Science** 260(9): 159-160, 1993.
- BARROWMAN, J.A.; PFEIFFER, C.J. Carbenoxolone: A critical analysis of its clinical value in peptic ulcer. In:___ Drugs and Peptic Ulcer, Vol 1. ed. by C.J. Pfeiffer. CRC Press, Boca Raton, Fla., 1982. pp. 123-132.
- BECK, P. L., XAVIER, R., LU, N., NANDA, N. N., DINAUER, M., PODOLSKY, K. D. and SEED, B. Mechanisms of NSAID-Induced Gastrointestinal Injury defined using mutant mice. **Gastroenterology**, 119:699-705, 2000.
- BIANCHI PORRO, G.; PARENTE, F.; LAZZARONI, M.; PACE, F. Colloidal bismuth subcitrate and two different dosages of cimetidine in the treatment of resistant duodenal ulcer. **Scand. J. Gastroenterol.** 21(122):39-41, 1986.
- BLACK, J. W.; DUNCAN, W.A.M.; DURANT, C.J.; GANELLIN, C.R.; PARSONS, E.M. Definition and antagonism of histamine H₂ receptors. **Nature**, 236:385-390, 1972.
- BLANCO, H.G. & FRATTINI, M.P. Catálogo das espécies de mato infestantes de áreas cultivadas no Brasil; família da maria-preta (Solanaceae). **O Biológico**, 44(4): 71-90, 1978.

- BRUNTON, L.L.. Agents for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. In: *Goodman and Gilman's - The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Ed. by J. G. Hardman, L. E. Limbird, P. B. Molinoff, R. W. Ruddon and A. G. Gilman, 9th edition, Int. Edition, McGraw-Hill, New York, p. 663-691, 1996.
- CASPARY, W.F. Measurement of intragastric potential difference. In:___ *Antiacids in the eighties*. Ed. by F. Halter, Urban and Schwarzenberg, Munich. 1982, p. 64-69.
- DAYAL, Y. and DELELLIS, R.A.. Trato Gastrointestinal - Úlceras Pépticas. In:___ *Patologia Estrutural e Funcional*. Ed. by R. S. Cotran, V. Kumar and Robbins, S. L. Ed. Guanabara Koogan, 4^a ed., Rio de Janeiro, p. 698-701, 1991.
- DI CARLO, G., MASCOLO, N., IZZO, A. A. AND CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. ***Life Sciences***, 65:4, 337-353, 1999.
- EHLERT, F.J.; GRIFFIN, M.T.; SAWYER, G.W.; BAILON, R. A simple method for estimation of agonist activity at receptor subtypes: comparison of native and cloned M3 muscarinic receptors in guinea pig ileum and transfected cells. ***J. Pharmacol. Exp. Ther.*** 289(2):981-92, 1999.

- HARDBORNE, J.B., *The flavonoids: advances in research*. New York: Chapman and Hall, 1996.
- HIRSCHOWITZ, B.I.; KEELING, D.; LEWIN, M.; OKABE, S.; PARSONS, M.; SEWING, K.; WALLMARK, B.; SACHS, G. Pharmacological aspects of acid secretion. **Dig. Dis. Sci.** 40: 2 (Supplement):3S-23S, 1995.
- JENSEN, D.M.. Health and aspects of peptic ulcer disease. **Am. J. of Med.** 77(Suppl 5B): 8-14, 1984.
- KURATA, J.H. Ulcer epidemiology: An overview and proposed research framework. **Gastroenterology** 569-580, 1989.
- LAM-SK.. A etiological factors of peptic ulcer: perspectives of epidemiological observations this century. **J. Gastroenterol-Hepatol.** 9 (Suppl 1): S93-98, 1994.
- LEITÃO FILHO, H.F. - Plantas invasoras de culturas. São Paulo, HUCITEC: Ministério da Agricultura, Agiplan Banco Interamericano de Desenvolvimento, 1972. 549p. 2v.
- LEVINE, R.J.. A method for rapid production of stress ulcers in rats. In:___ *Peptic Ulcer*. Ed. C.J. Pfeiffer. Munksgaard, Copenhagen, p. 92-97. 1971.

- LEWIS, D.A. and HANSON, P.J.. Anti-ulcer drugs of plant origin. In:___ *Progress Medicinal Chemistry*. Ed. by G. P. Ellis and G. B. West, Elsevier Science Publishers, Vol 28: 201-231, 1991
- MAKINO, M.; KOGA, T.; ITO, K.; KAWADA, H.; TABATA, K. Delayed healing of chronic gastric ulcer after *Helicobacter pylori* infection in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 50:943-948, 1998.
- MCCHESENEY, J.D.. Biological diversity, chemical diversity, and the search for new pharmaceuticals. In:___ *Medicinal Resources of the Tropical Forest - Biodiversity and its importance to human health*. Ed. by M.J. Balick, E. Elisabetsky and S.A. Laird. Columbia University Press, New York, 11-17, 1996.
- MCINTOSH, J.H., BYTH, K. and PIPER, D.W.. Causes of death amongst a population of gastric ulcer patients in New South Wales, Australia. ***Scand. J. Gastroenterol.*** 26: 806-811, 1991.
- MILNER, JR. and FOREWORD, G.M. In:___ *Conclusion and Recommendations*. Medicinal Plants: Can Utilization and Conservation coexist? Sheldon, J.W., Balick, M.J., Laird, S.A. ed., New York Botanical Garden, New York pp. 87-92, 1997.

- MIZUI, T. and DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. **Jap. J. Pharmacol.** 33: 939-945, 1993.
- MONK, J.P. and CLISSOLD, S.P. Misoprostol: A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in the treatment of peptic ulcer disease. **Drugs.** 33:1-30, 1987.
- MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S., SUKAMOTO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of trepenone and cimetidine. **Japan. J. Pharmacol.** 57:495-505, 1991.
- OATES, P. J. and HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of Ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology*, 94:10-21, 1988.
- PANDOLFINO, J. E., HOWDEN, C. W. and KAHRILAS, J. P. Motility-modifying agents and manegement of disorders of gastrointestinal motility, **Gastroenterology**, 118:s32-s47.
- PETERSEN, H.; KRISTENSEN, P., OHANNESSEN, T., KLEVELAND, P.M., DYBDAHL, J.H. and MYRVOLD, H.. The

natural course of peptic ulcer disease and its predictors. Scand. **J. Gastroenterol.** 30: 17-24, 1995.

- PIO CORREA, M.. Dicionário da Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Imprensa Nacional, Vol. IV, 581, 1984.
- POULSEN, S. S, OLSEN, S. P. and KIRKEGAARD, P. Healing of cysteamine-induced duodenal ulcer in the rat. **Digest. Diseases. Sciences** 30(2):161-167, 1985.
- POWELL, J.R. and DONN, K.H. Histamine H₂-antagonist drug interactions in perspective: mechanistic concepts and clinical implications. **Am. J. Med.** 7(5B):57-84, 1984.
- RAFFATULLAH, S., TARIQ, M., AL-YAHYA, M. A., MOSSA, J. S., AGEEL, A. M. Evaluation of turmeric (Curcuma longa) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. **J. Ethnopharmacol.** 29:25-34, 1990.
- RAINSFORD, K. D. Gastric ulcerogenicity of non-sterioidal anti-inflammatory drugs in mice with mucosa sensitized by cholinomimetic treatment. **J. Pharm. Pharmacol.** 39: 669-672, 1978.
- RIADO, S.R; NOGUEIRA, L.F.; CHAVES, J.S.; SILVA, S.A.R.; ARAUJO, L.C.L.; FINKELFARB, E.; MACHADO, C.P.;

ARAUJO, C.E.P. Avaliação preliminar do extrato bruto de *Solanum paniculatum* L. como agente hepatoprotetor. In: Anais do encontro de Iniciação Científica da USF, 1º, Bragança Paulista. Trabalhos apresentados. p. 03.

- ROBERT, A., NEZAMIS, J. E., LANCASTER, C., HANCHAR, A. J. Cytoprotection by Prostaglandins in Rats. ***Gastroenterology*** 77: 433-443, 1979.
- SACCO, J.C. Ervas Daninhas do Brasil Solanaceae I Gênero *Solanum* L. Brasília, CNPDA, (EMBRAPA, Boletim Técnico, 1º).104 p. 1985.
- SANIOTO, D.L.. Sistema digestivo: secreção e digestão. In: *Fisiologia*, Ed. por M. Mello Aires, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1991.
- SANTOS, M.T.; NASSER, A.L.M.; MESIA, SANTOS, LAPA, ATAÍDE, A.J. Atividade antissecretora gástrica de *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba) e seus extratos semi-purificados. In: Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Xº, Serra Negra, Trabalhos apresentados. p. 248. 1995.
- SHAY, H., KOMAROV, S.A., FELS, S.S., MERANZE, D., GRUENSTEIN, M., SIPLET, H.. A simple method for the

uniform production of gastric ulceration in the rat. **Gastroenterology** 5:43-61, 1945.

- SHELDON, J.W., BALICK, M.J., LAIRD, S.A ed., New York Botanical Garden, New York pp. 87-92, 1997.
- SMITH, L.B. and DOWNS, R.J. Solanáceas. In: Reitz, R. Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, 1966. p. 1-321.
- SONNENBERG, A.. Geographic and temporal variation in the occurrence of peptic ulcer disease. Epidemiology of peptic ulcer. **Scand. J. Gastroenterol.** 20 (Suppl 110): 11-24, 1985.
- SONNENBERG, A.. A temporal trends and geographical variations of peptic ulcer disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.** 9 (Suppl .2): 3-12, 1995.
- SOUZA BRITO, A. R. M. Toxicidade Aguda (Dose Simples). In: *Manual de Ensaio Toxicológicos In Vivo*, Editora UNICAMP, Campinas, p. 15-22, 1994.
- SOUZA BRITO, A.R.M. and NUNES, D.S.. Ethnopharmacology and sustainable development of new

plant-derived drugs. *Ciência e Cultura*. 49(5-6), 402-408, 1997.

- SOUZA BRITO, A.R.M.. How to study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries. **J. Ethnopharmacol.** 54, 131-138, 1996.
- SOUZA-FORMIGONI, M. L. O., OLIVEIRA, M. G., MONTEIRO, M. G., SILVEIRA-FILHO, N. G., BRAZ, S., CARLINI, E. A.. Antulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **J. Ethnopharmacol.** 34:21-27, 1991.
- SZABO, S., Animal models of human disease: Cysteamine induced acute and cronic duodenal ulcers in the rat. **Am. J. Pathol.** 93:273-276, 1978.
- SZABO, S. and KUSSTATSCHER, S.; SAKOULAS, G.; SANDOR, Z.; VINCZE, A.; JADUS, M. Growth Factors: new endogenous drugs for ulcer healing. **Scand. J. Gastroenterol.** 30 (Suppl. 210):15-18, 1995.
- SZELENYI, and THIEMER, K.. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. **Arch. Toxicol.** 41: 99-105, 1978.

- TAKAGI, K.; OKABE, S. and SAZIKI, R.. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. **J. Pharmac.**19: 418-426, 1969.
- TEXTER, E.C; and REYLLY, P.A. The efficacy and selectivity of pirenzepine: review and commentary. **Scand. J. Gastroenterol.** 17(72):237-246, 1982.
- VINCZE, A. and SZABO, S.. Growth Factors. **Scand. J. Gastroenterol.** 30 (210):15-18, 2000.
- WALLACE, J. L., MCKNIGHT, W., REUTER, B. K. AND VERGNOLE, N. NSAID-induced gastric damage in rats: Requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. **Gastroenterology**, 119:706-714, 2000.
- WEILER, E.W. - Radioimmunoassay for the Determination of the Steroidal Alkaloid Solasodine and Related Compounds in Living Plants and Herbarium Specimens. **Planta Medica**, 39: 112-124, 1980.
- WOLFE, M. M. and SACHS, G. Acid suppression: Optimizing therapy for gastrroduodenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease, and stress-related erosive syndrome. **Gastroenterology**, 118:s9-s31, 2000.

- WOLFE, M.M. and SOLL, A.H.. The physiology of gastric acid secretion. ***N. Engl. J. of Med.*** 319 (26): 1707-15, 1988.
- YANO, S., AKAHANE, M., HARADA M. Role of gastric motility in development of stress-induced gastric lesions of rats. *Japan. J. Pharmacol.* 28:607-615, 1978.