



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO FERULATO DE ETILA SOBRE A MOTILIDADE  
GASTROINTESTINAL DE CAMUNDONGOS**

**TERESINA**

**2018**

**IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO FERULATO DE ETILA SOBRE A MOTILIDADE  
GASTROINTESTINAL DE CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

**Orientadora: Profa. Dra. ROSIMEIRE FERREIRA DOS SANTOS**

**TERESINA**

**2018**

**IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO FERULATO DE ETILA SOBRE A MOTILIDADE  
GASTROINTESTINAL DE CAMUNDONGOS**

**DATA: 16/04/2018**

**Banca Examinadora:**

  
Profa. Dra. ROSEMARIE BRANDIM MARQUES  
Examinador externo

  
Prof. Dr. MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA  
Examinador interno

  
Profa. Dra ROSIMEIRE FERREIRA DOS SANTOS  
Presidente

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde  
Serviço de Processamento Técnico

L732a Lima, Izabela Borges de Carvalho.  
Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre a motilidade gastrointestinal em camundongos / Izabela Borges de Carvalho Lima. -- 2018.  
84 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Teresina, 2018.

“Orientação: Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos.”

1. Ferulato de etila. 2. Fenilpropanóide. 3. Trânsito gastrointestinal. 4. Íleo pós-operatório. I. Título.

CDD 615.1

# Dedicatória

---

À minha querida mãe Ana Maria e aos meus irmãos Miriã, David e Daniela pelo apoio, incentivo e entusiasmo em cada passo dado na minha vida.

Ao meu pai José Borges (*In memoriam*). Saudades eternas.

Ao meu amado esposo Marconny, por todo o amor, carinho, paciência e companheirismo. Obrigada por existir, por ser meu confidente e meu maior amigo. Te amo!

***“O segredo de progredir é começar. O segredo de começar é dividir as tarefas árduas e complicadas em tarefas pequenas e fáceis de executar, e depois começar pela primeira”.***

***(Mark Twain)***

# **Agradecimentos**

---

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por todas as coisas. Por ter me dado a vida, por ter me proporcionado vivenciar coisas boas e ruins, por ter me possibilitado conviver com diferentes pessoas e ter absorvido o melhor de cada uma delas.

À UFPI (Universidade Federal do Piauí) junto ao NPPM (Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais) e ao PPGF (Programa de Pós- Graduação em Farmacologia) pelo subsídio à realização deste trabalho, aliado a seu potencial científico e tecnológico.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão de financiamento do projeto de pesquisa e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pelo apoio financeiro e suporte técnico através do Portal de Periódicos.

A minha querida Orientadora, Profa Dra Rosimeire Ferreira pela oportunidade e confiança, por ter me acolhido desde a disciplina farmacologia básica, no segundo ano de graduação. Obrigada pelos ensinamentos e pela paciência.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Farmacologia: Elisângela Cláudia, Aldeídia Pereira, Amilton Raposo, Fernanda Regina Almeida, Rita de Cássia Meneses, Moisés Tolentino, Salete Brito, Fernando Aécio Amorim e Francisco Oliveira, por todos os ensinamentos compartilhados

Aos meus companheiros de turma de mestrado (2016) no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia: Karol Brito, Rodrigo Gonçalves, Ruan Pablo, Erick Bryan, Polyana Negreiros, Ana Rita, Aline Nunes, Sávio Matins, Simone de Araújo, Yara Pires e Layane Amorim, por todo suporte sempre que precisei, pelos momentos que passamos juntos, sejam eles de estudos, risadas e descontrações, lamentações ou nostalgia.

Agradeço em especial ao doutorando Douglas Soares, por ter colaborado grandiosamente para realização e viabilização deste trabalho, pelos ensinamentos e pelo entusiasmo contagiante. Aos amigos de laboratório Maísa, Layane, Teresa, Valdelania, Lorranya, Tayane, Daniel Nunes, Raísa Santos, Maria Clara, José Vitor, Suylane, Celyane e Francilene, por toda ajuda, sorrisos e boas energias sempre.

À Dra Talita Cavalcante Morais, que mesmo sem me conhecer, generosamente contribuiu para realização deste trabalho com sua experiência, me tirando dúvidas e me dando dicas sempre que precisei.

À Gleyce Lima, Patrícia Portela e Josy por seu trabalho desempenhado com dedicação junto à secretaria.

Ao Sr. Carlos Alberto, Kalina, Daniel e Rosilda pelos cuidados ao biotério, de grande importância para o êxito dos trabalhos experimentais.

Ao Prof. Dr. Paulo Humberto Moreira Nunes pelo fornecimento do carvão ativado e carboximetilcelulose.

Ao Prof. Dr Moisés Tolentino pela disponibilidade do seu laboratório para realização dos testes de esvaziamento gástrico.

Ao prof. Dr. Jand Venes Medeiros, ao doutorando Luan Souza e à mestranda Kerolayne Melo, pelo suporte e disponibilidade do Laboratório de farmacologia da inflamação e desordens gastrointestinais (LAFIDG).

Ao prof Dr. Damião Pergentino da Universidade Federal da Paraíba, pelo fornecimento da substância-teste.

Muitíssimo Obrigada!

**Izabela Borges de Carvalho Lima**

## RESUMO

As doenças gastrointestinais (GI) são um grave problema de saúde pública prevalentes em todo o mundo, e estima-se que em média 69% da população sofre algum tipo de distúrbio de motilidade GI. A maioria dos fármacos disponíveis podem provocar inúmeros efeitos adversos, dentre eles os mais comuns são as dores abdominais e o potencial cardiotoxico. O Ferulato de Etila (FE) é um fenilpropanóide derivado do ácido ferúlico, com atividades anti-inflamatória e antioxidante. É amplamente encontrado em vegetais e em grãos (arroz e milho). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do ferulato de etila sobre a motilidade gastrointestinal de camundongos. Para isso, foram utilizados camundongos swiss (25-30 g) e realizado o teste propulsão do carvão vegetal sobre o trânsito GI normal, com o pré-tratamento com atropina, verapamil e ondansetrona e sobre o retardo GI induzido por morfina. Além disso foi avaliado o efeito do FE sobre o esvaziamento gástrico. Em seguida, avaliamos o efeito de FE em modelos de Ileo Pós-Operatório (IPO), através de manipulação intestinal, onde foi analisado o trânsito GI, níveis de mieloperoxidase (MPO), nitrito (NO), superóxido dismutase (SOD), glutathione reduzida (GSH) e malondialdeído (MDA) em amostras de íleo. Foi observado aumento significativo do trânsito GI normal de camundongos nos grupos tratados com FE nas doses de 50 e 100 mg/kg ( $73,41 \pm 2,14$  % e  $67,82 \pm 3,68$  %, respectivamente) comparada com o controle veículo ( $42,48 \pm 1,61$  %), não havendo diferença significativa do grupo tratado com Tegaserode ( $73,03 \pm 3,3$  %). Os testes posteriores foram com FE na dose de 50mg/kg. O pré-tratamento com atropina inibiu significativamente o efeito procinético do FE ( $60,20 \pm 2,34$  %), quando comparado ao grupo tratado apenas com FE ( $79,03 \pm 4,12$  %), sugerindo o envolvimento da ativação muscarínica no efeito procinético. O pré-tratamento com verapamil reduziu significativamente tal efeito ( $47,68 \pm 2,15$  %), quando comparado ao grupo FE ( $76,83 \pm 1,88$  %), sugerindo envolvimento da ativação dos canais de cálcio. O pré-tratamento com FE não foi capaz de reverter o retardo causado pela morfina sobre o trânsito GI ( $17,35 \pm 2,07$  %) quando comparado ao grupo morfina ( $17,08 \pm 5,05$  %), isto sugere ausência de antagonismo opióide quando comparado ao grupo pré-tratado como a naloxona ( $54,13 \pm 10,44$  %), por isso outras vias de importante função no efeito de FE, podem estar envolvidas no efeito constipante da morfina. Não houve diferença significativa entre o grupo FE ( $71,76 \pm 4,1$ %) o grupo pré-tratado com Ondansetrona ( $72,18 \pm 5,76$  %), sugerindo não envolvimento serotoninérgico via ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> no efeito procinético de FE. Foi possível observar também que o FE (50mg/kg) não altera o perfil de esvaziamento gástrico nos animais, pois não houve diferença significativa nas percentagens de retenção gástrica entre o grupo veículo e o grupo FE. No modelo IPO, houve redução significativa do trânsito gastrointestinal ( $52,31 \pm 3,18$  %) no grupo veículo, quando comparado ao grupo sham ( $67,21 \pm 4,28$  %). O tratamento com FE restaurou o trânsito GI ( $76,08 \pm 2,24$  %), reduziu os níveis da MPO, NO e MDA, houve aumento de SOD e GSH comparado ao grupo veículo. O tratamento com FE reduziu a inflamação induzida por IPO e elevou os níveis de antioxidantes endógenos. Este estudo demonstra o efeito prócinético do ferulato de etila e sugere que pode ser uma alternativa para o tratamento de doenças que causam hipomotilidade intestinal e prevenção do IPO. No entanto, mais estudos são necessários para melhor elucidação do mecanismo de ação.

**Palavras-chave:** Ferulato de etila. Fenilpropanóide. Trânsito gastrointestinal. Íleo pós-operatório.

## ABSTRACT

Gastrointestinal (GI) diseases are a serious public health problem prevalent throughout the world, and it is estimated that on average 69% of the population suffers some type of GI motility disorder. Most of the available drugs can cause many adverse effects, among them the most common are abdominal pain, and cardiotoxic potential. Ferulic acid ethyl ester (FAEE) is a phenylpropanoide derived from ferulic acid, with anti-inflammatory and antioxidant activities. It is widely found in vegetables and grains (rice and corn). The aim of this study was to evaluate the effect of FAEE on the gastrointestinal motility of mice. For this, swiss mice (25-30 g) were used and charcoal propulsion test was performed on normal GI transit, on pre-treatment with atropine, verapamil and ondansetron and on GI delay induced by morphine. In addition, the effect of FAEE on gastric emptying was evaluated. Afterwards, we evaluated the effect of FAEE on Postoperative ileus (POI) models, through intestinal manipulation, where the GI transit, myeloperoxidase (MPO), nitrite (NO), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in ileum samples. A significant increase in normal GI transit of mice was observed in FAEE-treated groups at doses of 50 and 100 mg/kg ( $73.41 \pm 2.14$  % and  $67.82 \pm 3.68$  %, respectively) compared to vehicle control ( $42.48 \pm 1.61$ %), and there was no significant difference in the group treated with Tegaserode ( $73.03 \pm 3.31$ %). Subsequent tests were with FAEE at a dose of 50mg/kg. Pretreatment with atropine significantly inhibited the prokinetic effect of FAEE ( $60.20 \pm 2.34$  %), when compared to the group treated with FAEE alone ( $79.03 \pm 4.12$  %), suggesting the involvement of muscarinic activation in the effect prokinetic. The pre-treatment of verapamil was able to significantly reduce the prokinetic effect of FAEE ( $47.68 \pm 2.15$  %), when compared to the FAEE group ( $76.83 \pm 1.88$  %), suggesting involvement of the activation of the calcium. The pre-treatment with FAEE was not able to revert the delay of morphine on GI transit ( $17.35 \pm 2.07$  %) when compared to the morphine group ( $17.08 \pm 5.05$ %), this suggests absence of opioid antagonism when compared to the pre-treated group such as naloxone ( $54.13 \pm 10.44$  %), so where other pathways of important function in the effect of FAEE, are involved in the constipating effect of morphine. There was no significant difference between the FAEE group ( $71.76 \pm 4.1$ %) and the pre-treated group with ondansetron ( $72.18 \pm 5.76$  %), suggesting no serotonergic involvement via activation of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the prokinetic effect of FAEE. It was also possible to observe that FAEE (50mg/kg) does not alter the gastric emptying profile in the animals, since there was no significant difference in the percentages of gastric retention between the vehicle group and the FAEE group. In the POI model, there was a significant reduction in gastrointestinal transit ( $52.31 \pm 3.18$  %) in the vehicle group, when compared to the sham group ( $67.21 \pm 4.28$  %). FAEE treatment restored GI transit ( $76.08 \pm 2.24$  %), reduced levels of MPO, NO and MDA, increased SOD and GSH compared to vehicle group. FAEE treatment reduced IPO-induced inflammation and raised levels of endogenous antioxidants. This study demonstrates the prokinetic effect of Ferulic acid ethyl acid and suggests that it may be an alternative for the treatment of diseases that cause intestinal hypomotility and prevention of IPO. However more studies are needed to better elucidate the mechanism of action.

**Keywords:** Ferulic acid ethyl Esther. Phenylpropanoid. Gastrointestinal transit. Postoperative ileus.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Estruturas que constituem o trato gastrointestinal	18
FIGURA 2	Controle intrínseco e extrínseco da motilidade gastrointestinal	19
FIGURA 3	Camadas da parede gastrointestinal e localização dos plexos do sistema nervoso entérico	20
FIGURA 4	Estrutura química dos fenilpropanóides	28
FIGURA 5	Estrutura molecular do Ferulato de Etila	30
FIGURA 6	Efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal normal de camundongos	45
FIGURA 7	Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por atropina em camundongos	46
FIGURA 8	Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por verapamil em camundongos	47
FIGURA 9	Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por morfina em camundongos	48
FIGURA 10	Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por ondansetrona em camundongos	49
FIGURA 11	Efeito do Ferulato de etila sobre o esvaziamento gástrico em camundongos.	50
FIGURA 12	Efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal em modelo de íleo pós-operatório (IPO)	51
FIGURA 13	Efeito do ferulato de etila sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos	52
FIGURA 14	Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de nitrito (NOx) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos	53
FIGURA 15	Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Superóxido dismutase (SOD) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos	54
FIGURA 16	Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Glutationa reduzida (GSH) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.	55
FIGURA 17	Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de Malondialdeído (MDA) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.	56

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
ATP	Trifosfato de adenosina
AMPC	Monofosfato cíclico de Adenosina
CEEA	Comissão de Ética em Experimentação Animal
DAG	Diacilglicerol
DF	Dispepsia funcional
DRGE	Doença do refluxo gastroesofágico
FDA	Food and Drug Administration
E.P.M.	Erro Padrão da Média
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
GI	Gastrointestinal
5-HT	5-Hidroxitriptamina
ICAM-1	Moléculas de adesão intracelular do tipo 1
IL-6	Interleucina-6
IL-1 $\beta$	Interleucina-1 $\beta$
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzível
IPO	Íleo Pós-Operatório
IP3	Trifosfato de inositol
MPO	Mieloperoxidase
NA	Noradrenalina
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido Nítrico
NPY	Neuropeptídeo Y
PLC	Fosfolipase C
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5 trifosfato
SII	Síndrome do intestino irritável
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNE	Sistema Nervoso Entérico
SP	Substância P
TGI	Trato Gastrointestinal
TK	Taquicinas
VIP	Peptídeo vasoativo intestinal

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
1.1 Problematização .....	16
1.2 Generalidades do trato gastrointestinal .....	17
1.3 Neurofisiologia entérica .....	18
1.4 Motilidade gastrointestinal .....	21
1.5 Distúrbios de motilidade gastrointestinal .....	23
1.5.1 Íleo pós-operatório (IPO).....	25
1.6 Tratamentos farmacológicos para distúrbios de motilidade GI .....	26
1.7 Plantas Medicinais, seus metabólitos e derivados .....	28
1.8 Fenilpropanóides e o ácido ferúlico .....	28
1.9 Ferulato de etila .....	29
2 OBJETIVOS.....	33
2.1. OBJETIVO GERAL.....	33
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	33
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Animais .....	35
3.2 Ferulato de etila .....	35
3.3 Drogas, Reagentes e equipamentos.....	35
3.4 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal normal de camundongos.....	36
3.5 Avaliação do efeito do ferulato de etila na presença de agentes farmacológicos diversos em camundongos. ....	37
3.5.1 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por atropina em camundongos.....	37
3.5.2 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por verapamil em camundongos.....	37
3.5.3 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por morfina em camundongos.....	38
3.5.4 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o pré-tratamento com ondansetrona em camundongos. ....	38
3.6 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o esvaziamento gástrico de camundongos. ....	38
3.7 Modelo de indução de íleo pós-operatório (IPO).....	40
3.7.1 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.....	40

3.7.2 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	41
3.7.3 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de nitrito (NOx) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	41
3.7.5 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre níveis da Superóxido redutase (SOD) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	42
3.7.6 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre níveis de glutathiona reduzida (GSH) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	42
3.7.7 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre níveis de Malondialdeído (MDA) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	43
3.8 Análise Estatística:.....	43
4. RESULTADOS.....	45
4.1 Efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal normal de camundongos. ....	45
4.2 Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por atropina em camundongos. ....	46
4.3 Efeito do ferulato de etila sobre retardo do trânsito gastrintestinal induzido por verapamil em camundongos. ....	47
_Toc5123267414.4 Efeito do ferulato de etila no retardo do trânsito gastrointestinal induzido por Morfina em camundongos. ....	48
4.5 Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por Ondasentrona em camundongos.....	49
4.6 Efeito do ferulato de etila sobre o esvaziamento gástrico de camundongos....	50
5. Modelo de íleo pós-operatório (IPO).....	50
5.1 Efeito do Ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	50
5.2 Efeito do ferulato de etila sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.....	51
5.3 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de nitrato/nitrito (NOx) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.....	52
5.4 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Superóxido dismutase (SOD) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.....	53
5.5 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Glutathiona reduzida (GSH) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.....	54
5.6 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de Malondialdeído (MDA) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos. ....	55
5. DISCUSSÃO .....	58
6 CONCLUSÕES .....	67
7 REFERÊNCIAS.....	69
ANEXO .....	82

# Introdução

---

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Problematização

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e com a Federação Brasileira de Gastroenterologia (FBG), é significativa a prevalência das doenças do trato gastrointestinal na população mundial e brasileira. Estima-se que em média 69% da população em geral sofre algum tipo de doença gastrointestinal. Dentre os principais distúrbios de motilidade estão a diarreia, Síndrome do Intestino Irritável (SII), constipação, Dispepsia funcional (DF) e gastroparesia, doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), íleo pós-operatório (IPO), dentre outras (MORAIS, 2015; OUYANG; CHEN., 2004; FARROKHAYAR et al., 2006; CAMILLERI., 2013).

Os distúrbios de motilidade gastrointestinal (GI) são caracterizados por sintomas agudos, recorrentes ou crônicos acompanhados de evidências objetivas de trânsito GI lento ou rápido ou obstrução do trato GI significativa, em decorrência de propulsão anormal de conteúdo ou funções anormais em diferentes regiões do intestino, causando uma ampla variedade de sintomas, principalmente dores abdominais, e ocorrem em qualquer parte do lúmen do trato gastrointestinal. (CAMILLERI, 2013; ALBUQUERQUE, 2015).

Pacientes com distúrbios de motilidade GI têm sua qualidade de vida afetada, além de acarretar ônus econômico tanto para o paciente como para os serviços de saúde. O Ministério da Saúde informou que em 2013 foram notificadas mais de 340 mil internações por doenças gastrointestinais no país. Os gastos do Sistema Único de Saúde (SUS) com as doenças gastrointestinais mostram que os custos com o tratamento das doenças chegam a R\$ 140 milhões anualmente. Em consequência desses distúrbios, 217 mil trabalhadores precisam se afastar de suas atividades devido a problemas gastrointestinais (DATASUS, 2013; LACY; WEISER, 2006).

As causas são as mais variadas, desde o comprometimento emotivo, idade avançada, dieta, estado pós-operatório, outras co-morbidades (doenças neurológicas, psiquiátricas, proctológicas, endócrinas e metabólicas), uso de medicamentos com propriedades anticolinérgicas até o casos idiopáticos, sem etiologia elucidada (LI et al., 2015).

Os fármacos atualmente disponíveis para tratamento das dismotilidades gastrointestinais podem provocar inúmeros efeitos adversos, principalmente dores

abdominais e potencial cardiotoxico. Por isso faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias terapêuticas seguras para prevenção e tratamento de tais sintomas (GIUDICESSI; ACKERMAN; CAMILLERI, 2018)

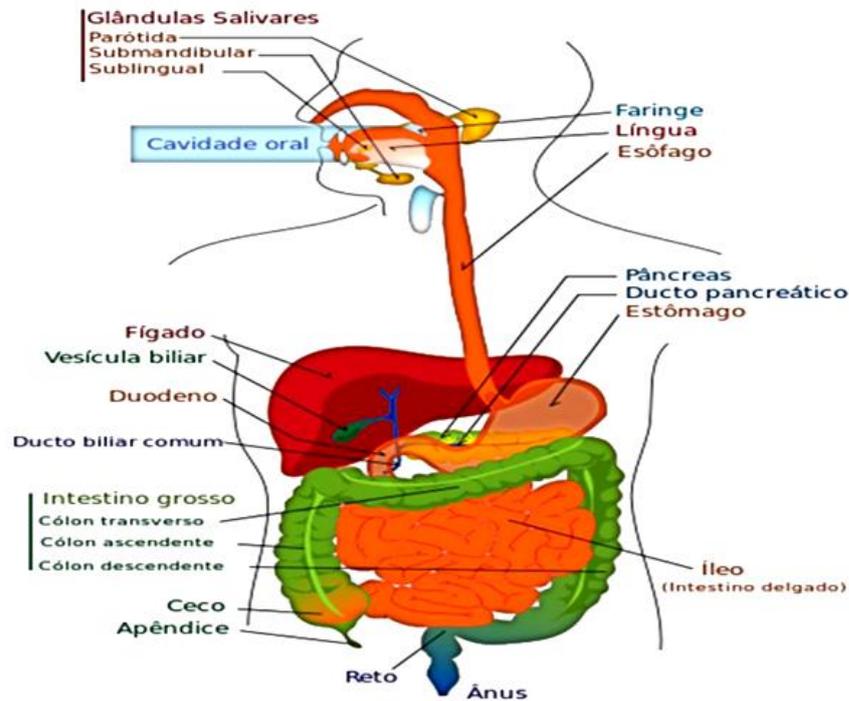
Nesse contexto o ferulato de etila é um composto fenólico pertencente a classe dos fenilpropanóides amplamente presente em vegetais e grãos como arroz e milho, com ampla variedade de efeitos promissores principalmente anti-inflamatório e antioxidante (CUNHA et al., 2016; TSAI et al., 2015).

## **1.2 Generalidades do trato gastrointestinal**

O trato gastrointestinal (TGI) é projetado para o processamento ideal do alimento que nutre todos os sistemas orgânicos. O ducto alimentar é constituído por esôfago, estômago (cárdia, fundo, corpo, antro e piloro), intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (ceco, cólon e reto) (Figura 1). Tais estruturas são tubos neuromusculares com esfíncteres que transportam os alimentos ingeridos de uma região para outra. As contrações peristálticas movem sólidos e líquidos do esôfago para o estômago, onde ocorre mistura dos nutrientes ingeridos em quimo e esvazia para o duodeno. O movimento para frente e para trás do intestino delgado maximiza a absorção de gordura, proteínas e carboidratos e as contrações peristálticas são necessárias para o funcionamento do cólon e defecação (RAO, 2010; KOCH; BITAR; FORTUNATO, 2012; MORAIS, 2015; KAHRILIS; PANDOLFINA, 2010).

Diferentes regiões do trato GI possuem diferentes tipos de contrações. As contrações tônicas são mantidas por minutos ou horas, ocorrem em alguns esfíncteres e na porção proximal do estômago. E as contrações fásicas são ciclos de contração-relaxamento que duram alguns segundos, presentes na porção distal do estômago e no intestino delgado (TÖRNBLÖM et al., 2015; KUSANO et al., 2014).

**Figura 01:** Estruturas que constituem o trato gastrointestinal



Fonte: (MATOS, 2015)

### 1.3 Neurofisiologia entérica

A motilidade GI é regulada por uma complexa rede neuronal autonômica intrínseca, o sistema nervoso entérico (SNE), e extrínseca através de inervação simpática e parassimpática (Figura 02). O SNE é classificado como sendo a terceira divisão do sistema nervoso autonômico (SNA), o qual mantém íntimas interconexões com as divisões simpática e parassimpática do SNA (GIBBINS, 2013).

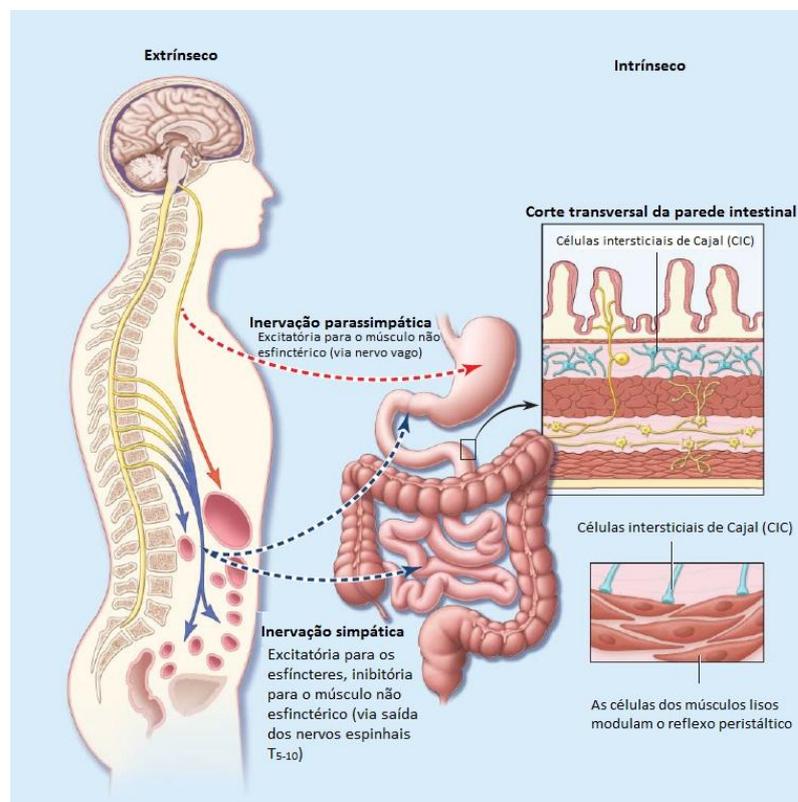
O componente simpático atua através do neurotransmissor noradrenalina, e é responsável por causar o retardo no TGI devido a presença majoritária de receptores  $\beta$ 2-adrenérgicos, que acoplados a proteína G estimulatória (Gs), estimula e enzima ciclase de adenilil (AC) a produzir monofosfato de adenosina cíclica (AMPC), que no músculo liso intestinal é inibitório (BOMBARDI et al., 2013)

O componente parassimpático atua através do nervo vago, e seu neurotransmissor, a acetilcolina, estimula o TGI, onde há grande quantidade de receptores muscarínicos do tipo  $M_3$  (FURNESS et al., 2014; GIBBINS, 2013; SOBCZAK et al., 2014). A ativação desses receptores muscarínicos induz ativação de fosfolipase C (PLC), que cliva fosfatidilinositol-4,5-bifosfato ( $PIP_2$ ) em diacilglicerol (DAG) e trifosfato de inositol ( $IP_3$ ), e conseqüente mobilização de Cálcio ( $Ca^{2+}$ )

extracelular e intracelular. O  $\text{Ca}^{2+}$  liberado de estoques intracelulares é o principal gatilho para a contração do músculo liso (WEGENER et al., 2006; MORAIS et al., 2015).

O sistema nervoso entérico (SNE) é a rede neuronal que supre o trato digestivo e medeia atividade reflexa complexa no TGI de forma independente do sistema nervoso central (SNC). Os processos de informação do SNE de receptores sensoriais, regula atividades de reflexo neural e coordena o complexo padrão de motilidade no TGI responsável pela mistura, movimentos propulsivos e as funções secretoras. Os neurônios sensoriais extrínsecos passam pelos nervos aferentes espinhais e vagais, transmitindo informações ao SNC. As fibras eferentes simpáticas (inibitória) e parassimpáticas (excitatória) em sinapse dos sistemas nervosos com fibras nervosas no SNE, modulam a atividade motora. Portanto, devido à sua complexa rede neuronal e funções diversificadas, o SNE é referido como o cérebro do TGI (VISCUSI, 2009; GIBBINS, 2013; TÖRNBLÖM et al., 2015).

**Figura 02:** Controle Extrínseco e Intrínseco da motilidade Gastrointestinal



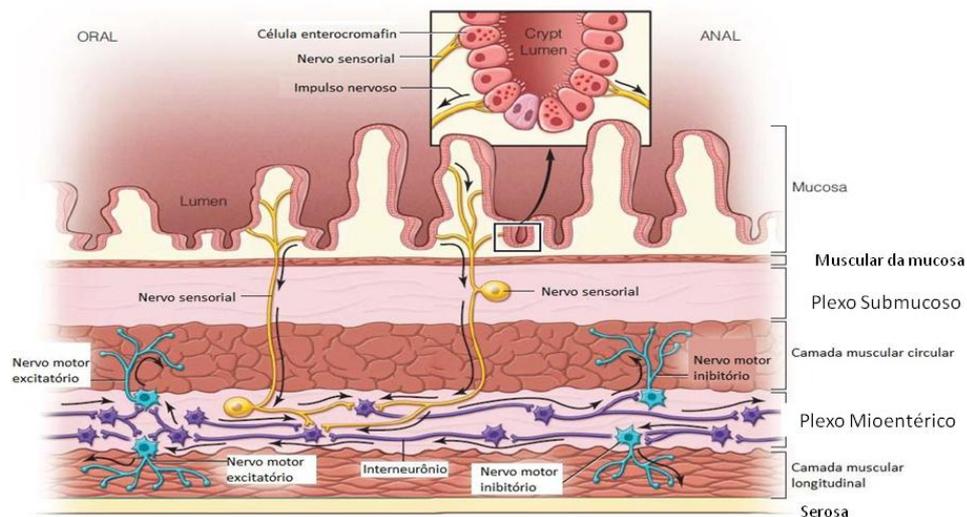
**Fonte:** (BHARUCHA; MIBBS, 2013)

O SNE compreende os plexos nervosos intrínsecos do TGI, e divide-se em: Plexo mioentérico e plexo submucoso (Figura 03). A localização do plexo

mioentérico (Auerbach), entre a camada muscular longitudinal e circular da parede intestinal, prediz o seu controle na atividade motora gastrointestinal e estímulo dos movimentos peristálticos. O plexo submucoso (Meissner) localizado na submucosa da parede intestinal, controla secreção, absorção, transporte de líquidos e o fluxo vascular (SOBCZAC et al., 2014).

Três tipos de neurônios medeiam a regulação de funções do SNE: neurônios sensoriais, interneurônios e neurônios motores (Figura 03). Os neurônios sensoriais entéricos recebem informação dos receptores sensoriais no epitélio intestinal, mucosa e muscular. Interneurônios servem como condutores entre o neurônio motor e sensorial e entre diferentes neurônios motores para permitir que o SNE funcione como uma rede de intercomunicação nos plexos intestinais. Os neurônios motores excitatórios e inibitórios funcionam em conjunto para promover peristaltismo efetivo através da interação e controle de células musculares lisas, células epiteliais, glândulas, e vasos sanguíneos (VISCUSI, 2009; SOBCZAC et al., 2014).

**Figura 03:** Camadas da parede gastrointestinal e localização dos plexos do sistema nervoso entérico



**Fonte:** (BHARUCHA; MIBBS, 2013)

## 1.4 Motilidade gastrointestinal

Os ciclos de contração e relaxamento são associados com ciclos de polarização e despolarização conhecidos como potenciais de ondas lentas. Quando um potencial de onda lenta atinge um limiar, canais de cálcio presentes nas fibras do músculo liso são abertos, o cálcio entra e a célula dispara um ou mais potenciais de ação. As ondas lentas são originadas em uma rede de células chamadas de células intersticiais de Cajal (CIC), também conhecidas como marcapasso do intestino. Essas células estão localizadas entre as camadas musculares lisas circulares e longitudinais ao nível do plexo mioentérico, e tem mostrado um papel crucial no controle nervoso da motilidade juntamente com o controle muscarínico (TOBIN; GIGLIO; LUNDGREN, 2009).

A motilidade gastrointestinal é regulada por um grande número de substâncias incluindo a acetilcolina (ACh), taquicininas (TK), serotonina (5-HT), óxido nítrico (NO), trifosfato de adenosina (ATP), peptídeo vasoativo intestinal (VIP), substância P (SP), neuropeptídeo Y (NPY), opióides endógenos, noradrenalina (NA) e dopamina (DA), peptídeos gastrointestinais como gastrina e grelina, muitos dos quais tem suas funções ainda parcialmente determinadas (SOBCZAC et al., 2014; MEERVELD et al., 2011).

Na junção efetora do músculo liso GI, acetilcolina (ACh), serotonina (5-HT) e taquicininas apresentam, na maioria das vezes atividade excitatória sobre a motilidade GI. Os neurotransmissores como VIP, GABA, ATP e NO exercem geralmente uma ação inibitória sobre a atividade motora GI (MARQUES, 2015).

A acetilcolina (ACh) é o principal neurotransmissor do SNA parassimpático, e é um dos mais importantes reguladores da motilidade gastrointestinal. Quando liberada das terminações nervosas, aumenta a contração muscular lisa gastrointestinal, principalmente por ativação dos receptores  $M_3$  (GIBBINS, 2013; HONS et al., 2013).

Os receptores  $M_2$  e  $M_3$  estão envolvidos sinergicamente na resposta contrátil do músculo liso GI. Receptores  $M_3$  interagem com a proteína Gq para desencadear a hidrólise dos fosfolípidos de membrana através da ativação da PLC e aumenta a mobilização de  $Ca^{2+}$  intracelular, o que promove a contração direta do músculo liso GI. Em contraste, os receptores  $M_2$  ligam-se a proteína Gi para inibir a enzima ciclase de adenilil (AC). A subunidade  $\beta\gamma$  da proteína Gi modula os canais de

potássio ativados por cálcio neutralizando qualquer estímulo hiperpolarizante e potencializando a liberação de cálcio intracelular (TOBIN; GIGLIO; LUNDGREN, 2009; EHLERT; OSTROM; SAWYER, 1997; TANAHASHI et al., 2013).

A noradrenalina (NA), principal neurotransmissor do SNA simpático ativa de forma tônica os receptores adrenérgicos  $\beta_2$ , que estimulam a enzima AC a produzir AMPc que é inibitório GI, induzindo diminuição da motilidade da musculatura lisa GI (KUSANO et al., 2014).

A Serotonina (5-HT) é um neurotransmissor de grande importância na regulação da função motora intestinal. 95% do total de serotonina de todo o organismo é encontrada no TGI. A serotonina é responsável por promover potenciais excitatórios pós- sinápticos rápidos ou lentos em neurônios entéricos a depender do microambiente farmacológico intestinal (GERSHON, 2013).

Receptores 5-HT<sub>3</sub> são canais de cátions que medeiam respostas rápidas de despolarização propensas a dessensibilização com ativação agonista prolongada. O complexo receptor é composto por cinco subunidades que cercam o canal iônico integral em um arranjo anelar. Os receptores 5-HT<sub>3</sub> possuem sítios moduladores alostéricos que influenciam a função do receptor. Os receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub> promovem a liberação de ACh do plexo mioentérico, elicitando peristaltismo (BARNES et al., 2015; GERSHON, 2013).

A substância P liberada por neurônios entéricos estimula a despolarização e a geração de ondas lentas espontâneas pelas células intersticiais de cajal e facilita a contração rítmica e espontânea do músculo liso intestinal. A ativação de neurônios entéricos inibitórios e a consequente liberação do óxido nítrico (NO) e do peptídeo vasoativo intestinal (VIP) amplifica a inibição da geração de ondas lentas espontâneas pelas células intersticiais de cajal, inibindo a contração e promovendo relaxamento muscular intestinal (OLSSON; HOLMGREN, 2001).

A ação da maioria dos neurotransmissores sobre o músculo liso GI é efetivada através da mobilização do cálcio (extracelular e intracelular), transcrição de canais de  $Ca^{2+}$  e/ou proteína, condutância do potássio intracelular e dos níveis de AMPc e GMPc intracelular (CATTERALL, 2011).

Existem duas fontes de cálcio na célula: uma extracelular, que permite o influxo de  $Ca^{2+}$  para o citoplasma através dos canais de cálcio dependentes de voltagem (CaV) e outra intracelular, compreendendo os estoques intracelulares, principalmente o retículo sarcoplasmático (RS), que liberam  $Ca^{2+}$  para o citosol. A

entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  no músculo liso é controlada, sobretudo, pelo potencial de membrana, uma vez que este determina a abertura de  $\text{CaV}$  (CATTERALL, 2011).

Os receptores opióides tem importante função na regulação do trânsito GI: transporte de eletrólitos e fluidos da mucosa e manutenção da homeostase GI. Os receptores  $\mu$  e  $\delta$  são os principais receptores opióides no trato gastrointestinal, são acoplados à proteína G inibitória ( $G_i$ ) e estão localizados predominantemente nos plexos submucoso e mioentérico (WILLIAMS et al., 2013).

Ambos os receptores causam a dissociação das porções  $\alpha$  e  $\beta\gamma$  da proteína  $G_i$ , e consequente hiperpolarização da membrana através da ativação dos canais de potássio ( $\text{K}^+$ ). Além da ativação direta de canais de  $\text{K}^+$ , a ativação de receptores opióides também causa inibição de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  e ciclase de adenilil (AC) e, portanto, diminuição da liberação de neurotransmissores excitatórios (GALLIGAN; AKBARALI, 2014; NELSON; CAMILLIERI, 2016).

## 1.5 Distúrbios de motilidade gastrointestinal

A diarreia é uma condição patológica onde o indivíduo apresenta cerca de três ou mais evacuações diárias, seguidas de alteração na consistência das fezes, geralmente de pastosas a líquidas, sendo que em casos graves onde há a presença de muco ou sangue, esta passa a ser denominada de disenteria (AWE et al., 2011). A OMS (Organização Mundial da Saúde) juntamente com a UNICEF (Fundo das Nações Unidas para Infância) estima que ocorra cerca de 1 bilhão de casos ao ano, com índice de mortalidade em torno de 3 milhões de pessoas por ano, principalmente crianças de até cinco anos de idade e idosos (ARAÚJO et al., 2015; UNICEF, 2015).

Dispepsia funcional (DF) e gastroparesia são dois comuns distúrbios de motilidade gástrica. A DF é caracterizada por sintomas de saciedade precoce pós-prandial, dor epigástrica e ardor. A gastroparesia é definida como severo retardo de esvaziamento gástrico na ausência de obstrução mecânica. As principais fisiopatologias da dispepsia funcional e gastroparesia incluem hipersensibilidade visceral, acomodação gástrica prejudicada e motilidade gástrica prejudicada (hipomotilidade antral, coordenação prejudicada, disritmia gástrica e esvaziamento gástrico retardado) (YIN; CHEN, 2010).

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), é caracterizada pelo retorno passivo do conteúdo gástrico (ácido, pepsina, etc.) para o esôfago causando sintomas de azia, regurgitação ácida, inflamação da mucosa e ferimentos. O desenvolvimento da DRGE é geralmente associado a uma diminuição da pressão no Esfíncter esofágico inferior, aumento no relaxamento esofágico e diminuição da capacidade de depuração esofágica. Os sintomas relacionados à doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) são extremamente comuns, visto que aproximadamente 20% dos adultos apresentam pirose e/ou regurgitação pelo menos uma vez por semana e 40%, mensalmente (FRAGA; MARTINS, 2012)

A síndrome do intestino irritável (SII) é uma desordem gastrointestinal funcional caracterizada por dor e desconforto abdominal e alterações do hábito intestinal. Sensações de desconforto (inchaço), distensão e defecação desordenada (com estados diarréicos e estados constipantes) são características geralmente associadas. A maior prevalência é observada na faixa etária entre 30 e 50 anos, com idade média de 40 anos. Apesar de ser tradicionalmente relacionada ao sexo feminino, estudos recentes apontaram para aumento da incidência desta síndrome entre os homens. No Brasil, a SII afeta, aproximadamente, 10% a 15% da população, com redução dessa proporção após 60 anos. A apresentação clínica mais prevalente é a constipação (SAHA, 2014; WGO, 2015).

A constipação intestinal (CI) está entre as cinco desordens gastrointestinais mais comuns diagnosticadas pelos médicos. É caracterizada por frequência de evacuação inferior a 3 vezes por semana, fezes grumosas ou duras, esforço evacuatório e sensação de evacuação incompleta. Pode ser aguda ou crônica, sendo a constipação crônica definida como a duração superior a três meses (GRAY, 2011; GALVÃO-ALVES, 2013 OLIVON et al., 2016). O distúrbio tem como sintomas o desconforto abdominal, inchaço e distensão, sensação de obstrução anorretal durante a evacuação e necessidade de manobras manuais, e pode causar complicações como hemorróidas, fissuras, prolapso retal, sangramento anal, dor ao evacuar, entre outras (COSTILLA; FOXX-ORENSTEIN, 2014; BHARUCHA et al., 2013; JESUS; DINIZ, 2017; SBAHI; CASH, 2015).

### 1.5.1 Íleo pós-operatório (IPO)

O íleo pós-operatório (IPO) é definido como uma cessação transiente da motilidade intestinal após intervenção cirúrgica, que leva à estase de conteúdo intestinal (FARRO et al., 2016).

Para a maioria dos pacientes, a duração é de aproximadamente 3-5 dias com aumento da dor pós-operatória, náuseas e vômitos, distensão abdominal e intolerância à alimentação oral. Alguns pacientes sofrem com a hipomotilidade GI por um período de tempo maior, o que são difíceis de tratar, retarda a recuperação do paciente, aumenta a morbidade pós-operatória e prolonga a permanência no hospital (LI et al., 2013; BOECKXSTAENS; DE-JONGE., 2009; RAMIREZ et al., 2013).

A patogênese do IPO é multifatorial e decorre da falha na regulação neurohumoral da motilidade GI, que pode ser causada por anestesia e manipulação mecânica do intestino durante a cirurgia. Atualmente duas fases principais foram identificadas: Fase neurogênica inicial de curta duração, seguida pela fase inflamatória de duração prolongada (ZHANG et al., 2012)

A fase neurogênica é caracterizada pelo desequilíbrio no sistema nervoso autonômico: Trata-se de um reflexo inibitório espinal com hiperativação simpática. A incisão da pele e a abertura da parede abdominal desencadeiam um estímulo nociceptivo que, pela ativação do sistema simpático, e inibição do sistema nervoso parassimpático, leva à liberação de noradrenalina e à inibição da motilidade intestinal (MUELLER et al., 2011). Ao final da cirurgia, seria de esperar que a ausência de estímulos nociceptivos levasse o intestino a recuperar a sua motilidade normal, contudo, a adinamia intestinal perpetua-se devido à existência de uma fase inflamatória (GOULART; MARTINS, 2010).

A fase inflamatória é caracterizada pela ativação de macrófagos residentes na camada muscular externa da parede intestinal, que liberam citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6), quimiocinas (CCL2) e ativam moléculas de adesão (ICAM-1). CCL2 e o ICAM-1 recrutam leucócitos que juntamente com os macrófagos residentes ativados, aumentarão a liberação de óxido nítrico (NO) (BOECKXSTAENS; DE-JONGE, 2009). Os macrófagos residentes e os leucócitos recrutados produzem grandes quantidades de óxido nítrico (NO) e prostaglandinas (PGs), por meio de Óxido Nítrico Sintase induzível (iNOS) e Ciclo-oxigenase-2

(COX-2) respectivamente, que impedem a contração das fibras musculares lisas da parede intestinal (VAN BREE et al., 2013).

Farro e colaboradores (2016) identificaram ainda uma terceira fase no desenvolvimento do IPO caracterizada pelo desequilíbrio na neurotransmissão colinérgica e nitrérgica, que persistem mesmo após a recuperação da contratilidade da camada muscular intestinal.

Os fatores capazes de prolongar o IPO incluem as anormalidades eletrolíticas e metabólicas (em especial a hipocalcemia), uso de medicamentos (p. ex., opiáceos) e infecções (p. ex., peritonite). Atualmente, uma abordagem multimodal (p. ex., uso de quantidades mínimas de analgésicos narcóticos; uso de antagonistas de receptor de opiáceo de ação periférica; analgesia epidural contínua com anestésicos locais), são preconizadas para minimizar o IPO (GOMEZ; PARKMAN., 2009).

## **1.6 Tratamentos farmacológicos para distúrbios de motilidade GI**

Em casos de hipermotilidade GI, como na diarreia, os fármacos de escolha utilizados para tratamento quando o agente etiológico não é um microorganismo, são os fármacos hipocinéticos, que reduzem a motilidade gastrointestinal. Entre eles, a loperamida (IMOSEC® - Europa e América/ IMODIUM® Ásia e África) merece destaque pela facilidade de compra, preço baixo e eficiência farmacológica. O fármaco é um agonista dos receptores  $\mu$  opióides acoplado a proteína G inibitória (Gi) presentes no plexo mioentérico do intestino (REGNARD et al., 2011; AL-HASANI; BRUCHAS, 2011). As principais limitações para a prescrição da loperamida são: boca seca, retenção de líquidos, além da redução do esvaziamento gástrico, o que pode levar a episódios de náuseas e vômitos, e principalmente constipação (SCHILLER, 2005).

Fármacos prócinéticos estimulam direta ou indiretamente a função do músculo liso, ativando neurônios aferentes primários intrínsecos localizados no plexo mioentérico que desempenham um papel importante no controle do esvaziamento gástrico e do trânsito do intestino delgado e grosso (QUIGLEY., 2017).

Os agonistas colinérgicos foram os primeiros fármacos a serem utilizados como procinéticos. No entanto, devido a não-seletividade aos receptores muscarínicos (M3 músculo liso intestinal e M2 cardíaco) e conseqüente toxicidade cardíaca, a eficácia do betanecol e dos anticolinesterásicos (neostigmina,

piridostigmina) foi pouco impressionante, logo sendo substituídos por compostos mais seletivos (QUIGLEY, 2017; LACY; Z. H. HUSSAIN; MEARIN, 2014).

Os fármacos antagonistas dopaminérgicos têm como protótipos a metoclopramida (ação periférica – procinética - e central) e domperidona (ação periférica procinética). As ações centrais incluem: sonolência, irritabilidade, reações distônicas (Discinesia) e sintomas extrapiramidais (SCHEY et al., 2016). Uma revisão sistemática demonstrou que domperidona aumenta o risco de arritmia cardíaca e morte súbita. Ambas podem causar galactorrêa em indivíduos saudáveis (FROMMEYER et al., 2017). Além disso, os efeitos colaterais relacionados ao seu uso incluem boca seca, dores de cabeça, hiperprolactinemia e irregularidades menstruais (CAMILLERI et al., 2013).

Cisaprida, bromoprida, tegaserode e prucaloprida são agonistas serotoninérgicos 5-HT<sub>4</sub> com potentes efeitos serotoninérgicos. Porém, cisaprida e tegaserode foram retirados do mercado devido potencial arritmogênico cardíaco e prucaloprida demonstrou causar dor de cabeça, náuseas, dor abdominal, e diarreia, em um estudo randomizado (TACK et al., 2013). Em função da retirada da cisaprida do mercado, nos últimos anos houve um aumento na prescrição de metoclopramida em alguns centros (TOPOROVSKI, 2009).

Outra classe de compostos que tem mostrado efeito procinético são os agonistas da grelina (relamorelina e ulimorelina). Receptores de grelina são acoplados a proteína Gq (GPCR), e a sua ativação no músculo liso intestinal promove influxo de Ca<sup>2+</sup> através da ativação de PLC e clivagem de PIP<sub>2</sub> em DAG e IP<sub>3</sub> (ALEXANDER et al 2017). É conhecido por seu importante papel na saciedade. Até à data, a ulimorelina mostrou-se promissora na gastroparesia diabética e íleo pós-operatório (EJSKJAER et al., 2010; WO et al., 2011).

Uma outra abordagem interessante que está sendo estudada é a regulação negativa dos macrófagos residentes e, assim, prevenir o aparecimento da cascata inflamatória através da via anti-inflamatória colinérgica. O aumento do tônus vagal reduz a inflamação induzida pela manipulação intestinal. Isto é mediado pelos receptores nicotínicos alfa 7 de acetilcolina (alfa7-nACh) dos macrófagos residentes e receptores 5-HT<sub>4</sub> (5-HT<sub>4</sub>). A ativação dos receptores 5-HT<sub>4</sub> resulta no aumento da liberação de acetilcolina pelos neurônios colinérgicos sistêmicos. Isso permite a ativação dos receptores alfa7-nACh em monócitos e macrófagos e, portanto, reduz a resposta inflamatória. Por isso, a ativação da via anti-inflamatória colinérgica ou

mimetismo do seu efeito por agonistas de  $\alpha 7nAChR$  pode representar uma nova abordagem terapêutica para prevenção do IPO (BOECKXSTAENS; DE-JONGE., 2009; MUELLER., 2011; VENARA, et al., 2016).

### **1.7 Plantas Medicinais, seus metabólitos e derivados**

Planta medicinal é qualquer planta utilizada diretamente ou como fonte de uma droga para aliviar, prevenir ou curar uma doença ou alterar os estados fisiológicos ou patológicos do processo saúde-doença. Nesse sentido, chás, pós, tinturas e outras formas de preparações herbais são utilizadas para tratamento das mais diversas enfermidades (SILVA, 2016).

Óleos essenciais são misturas de constituintes voláteis de origem vegetal produzidos como metabólitos secundários de plantas aromáticas, com baixo peso molecular, caracterizados por forte odor e obtidos por hidrodestilação ou a vapor, ou por processo mecânico ou destilação a seco (BAKKALI et al., 2008; TUREK; STINTZING, 2012).

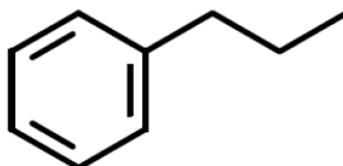
Os óleos essenciais têm sido apontados como importantes antioxidantes devido à atividade tamponadora de radicais livres de seus constituintes fenólicos (fenilpropanóides, flavonoides e terpenóides) que agem seja por via direta, ao ligar-se com o próprio radical livre ou de maneira indireta, ao quelar metais importantes para o processo de produção do radical livre, e portanto, têm sido propostos na terapêutica da doença de Alzheimer, câncer, diabetes, asma, doença de Parkinson e inflamação (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013).

### **1.8 Fenilpropanóides e o ácido ferúlico**

Os fenilpropanóides representam a maior classe de metabólitos secundários (KORKINA, 2007; VOGT, 2010). Consistem em um anel fenólico ligado a uma cadeia alquil, geralmente de três carbonos, de onde deriva o nome “fenilpropanóide” (C6-C3). Esta estrutura pode ainda ter substituintes ligados ao anel fenólico (alquilas e hidroxilas especialmente) ou ainda combinações da estrutura básica, formando oligômeros com estrutura (C6-C3-C6)<sub>n</sub> (HARMATHA et al., 2011) (Figura 04). São sintetizados a partir do aminoácido fenilalanina que é convertido em ácido cinâmico, a posterior redução do grupo carboxila deste gera um aldeído (cinamaldeído) e

reduções subsequentes monolignóis (fenilpropenos, como eugenol e safrol) (VOGT, 2010; SÁ et al, 2014).

**Figura 04** – Estrutura química dos fenilpropanóides.



Fonte: SÁ et al., 2014

Os fenilpropanóides e seus derivados estão entre os componentes ativos mais comuns de alimentos, aromas, fragrâncias, vinhos, óleos essenciais, cervejas e diversos segmentos da medicina tradicional chinesa. Estes compostos dietéticos demonstraram atividade antioxidante, anti-inflamatória, cardioprotetora e anticancerígenas (VOGT, 2010; GARRIDO et al., 2012). Tal cardioproteção característica pode ser benéfica em comparação aos procinéticos disponíveis que causam cardiotoxicidade (BADARY et al., 2006; SÁ et al, 2014).

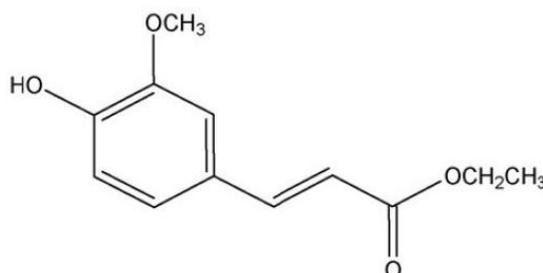
O ácido ferúlico é um fenilpropanóide derivado do ácido cinâmico que, em estudos anteriores apresentou atividade anti-inflamatória e antioxidante *in vitro*, mas devido a sua baixa lipofilicidade não expressou os mesmos resultados *in vivo*, apresentando pequena biodisponibilidade e estabilidade (SCAPAGNINI et al, 2004). Diante de dificuldades farmacocinéticas e farmacodinâmicas faz-se necessária a modificação estrutural a fim de preservar os efeitos farmacológicos e ao mesmo tempo melhorar o perfil de absorção, distribuição e especificidade da substância (GAUTAM; JACHAK, 2009). Os derivados estéricos do ácido ferúlico, como o ferulato de etila, possuem maior poder antioxidante, evidenciando a importância da modificação na molécula (ANSELMINI et al, 2004).

## 1.9 Ferulato de etila

O ferulato de etila (etil-3-hidroxi-4-metoxicinamato -  $C_{12}H_{14}O_4$ ) é um fenilpropanóide, derivado esterificado do ácido ferúlico, amplamente presente em vegetais e especialmente em grãos como arroz e milho (Figura 05). À classe

constituída por derivados esterificados do ácido ferúlico, dá-se o nome de fitoésteres ferulatos, da qual o ferulato de etila faz parte (ZHANG et al, 2010).

**Figura 05:** Estrutura molecular do Ferulato de Etila (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>)



Fonte: (Cunha et al., 2016)

Estudos *in vitro* demonstram efeitos promissores do ácido ferúlico: anti-inflamatório, antioxidante, antitrombótico, anti-câncer, neuroprotetor e cardioprotetor (GHOSH, 2017). Quando aplicado na pele, tem uma atividade fotoprotetora. No entanto, tem natureza hidrofóbica, sendo um composto oxidável e fotossensível, o que leva a uma baixa biodisponibilidade com consequente efeito mínimo *in vivo* (SULTANA, 2012; ZHANG et al., 2015; NADAL, 2016).

Estudos têm demonstrado que os derivados estéricos do ácido ferúlico exercem atividade tamponadora de radicais livres e preventiva na formação dos mesmos principalmente através do aumento na expressão de proteínas antioxidantes como glutathione (SULTANA, 2012).

O Ferulato de etila tem peso molecular de 222,24 daltons, pKa de 9,98 e maior polaridade entre os derivados estéricos do ácido ferúlico (log P de 2,24), o ferulato de etila, apesar de possuir poucos substituintes antioxidantes no anel aromático e na cadeia lateral alquila, possui boa permeabilidade nas membranas biológicas, justificando assim seu melhor perfil antioxidante em relação ao ácido ferúlico (NENADIS; ZHANG; TSIMIDOU, 2003).

A presença do grupo éster no ferulato de etila atribui-lhe maior lipofilidade em relação ao ácido ferúlico, atribuindo-lhe maior capacidade de permeio nas barreiras biológicas (SULTANA, 2012). A farmacocinética do ferulato de etila é pouco conhecida, mas acredita-se que esta substância seja clivada ou por ação da

microflora intestinal ou mesmo por enzimas plasmáticas e hepáticas dando assim origem ao seu precursor (ácido hidroxicinâmico) que sofre conjugação e por fim é eliminado através da urina e fezes (BOLLING et al, 2011).

Quanto à toxicidade, a maioria dos estudos remete a avaliações *in vitro* em populações de células específicas (fibroblastos, astrócitos e macrófagos). Em neurônios e astrócitos, por exemplo, o ferulato de etila em diferentes concentrações apresentou citotoxicidade apenas na concentração de 50  $\mu$ M resultando na redução da viabilidade em 63% e 82% em astrócitos e neurônios respectivamente (SCAPAGNINI et al, 2004). Dados de toxicidade *in vivo* foram encontrados na descrição da substância de uma indústria química (ClearSynth®) que o sintetiza, relatando as doses letais médias por via oral para coelhos (3200 mg/kg), ratos (980 mg/kg) e camundongos (300 mg/kg) (CUNHA, 2015).

Diante do contexto dos distúrbios gastrointestinais e dos efeitos adversos causados pelos atuais tratamentos disponíveis, faz-se necessário o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, e por isso optamos por estudar o efeito do ferulato de etila sobre a motilidade gastrointestinal.

# Objetivos

---

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

- ✓ Avaliar o efeito do ferulato de etila (FE) sobre a motilidade gastrointestinal de camundongos

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- ✓ Investigar o efeito do FE sobre o trânsito gastrointestinal normal de camundongos.
- ✓ Avaliar o efeito do FE sobre o retardo gastrointestinal induzido por: atropina, verapamil, morfina e ondansetrona.
- ✓ Verificar o efeito do FE sobre o esvaziamento gástrico de camundongos.
  
- ✓ Em modelo de íleo pós-operatório (IPO):
  - Avaliar o efeito do FE sobre o trânsito gastrointestinal
  - Analisar o efeito do FE sobre os níveis de mieloperoxidase (MPO)
  - Analisar a capacidade antioxidante do FE, verificando:
    - Níveis de Nitritos (NOx)
    - Níveis de Superóxido dismutase (SOD)
    - Níveis de Malondialdeído (MDA)
    - Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)

# **Material e Métodos**

---

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) machos e fêmeas pesando de 25-30g provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais – NPPM/UFPI, mantidos sob condições controladas de temperatura ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ), ciclo claro-escuro de 12 horas e livre acesso a água. Os animais foram privados de alimentação por cerca de 18 horas antes dos experimentos. Os procedimentos referentes à eutanásia dos animais foram realizados em conformidade com a resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária Nº 1000 de 2012.

Para procedimentos cirúrgicos, os animais foram anestesiados com Ketamina (100mg/kg) e Xilazina (20mg/kg).

Os procedimentos e protocolos experimentais usados nesse estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (Protocolo CEEA - UFPI nº 297/2017 – ANEXO).

#### **3.2 Ferulato de etila**

O ferulato de etila (etil-3-hidroxi-4-metoxicinamato -  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ) foi gentilmente cedido pelo professor Dr. Damião Pergentino de Sousa, sintetizado no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba através da esterificação de Fischer por reação do ácido ferúlico com etanol sob refluxo. O baixo custo de produção e a possibilidade de síntese em grande escala deste éster fazem com que seja economicamente interessante (STEVERDING et al., 2016).

. O FE foi utilizado nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, via oral diluído em solução contendo Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g) como veículo.

#### **3.3 Drogas, Reagentes e equipamentos**

##### **3.3.1 Drogas e reagentes**

Ácido fosfórico (Vetec Química, Brasil), Atropina (Sigma Aldrich, EUA), Cloreto de Betanecol (Henrifarma), Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB -

Sigma Aldrich, EUA), Carvão ativado (Sigma Aldrich, EUA), Carboximetilcelulose (Sigma Aldrich, EUA), Cloreto de cálcio (Dinâmica, Brasil), Verapamil (Sigma Aldrich, EUA), Tegaserode (Novartis, Brasil), Serotonina (Sigma Aldrich, EUA), Peróxido de hidrogênio (Sigma Aldrich, EUA), Ondansetrona (Dinâmica, Brasil), o-dianisidina (Sigma Aldrich, EUA), Naloxona (Narcan®), Morfina (Sulfato de Morfina - Dimorf®), Xilazina (Anasedan®), Ketamina (Dopalem®), Hidróxido de sódio (Vetec Química, Brasil), L-methionina (Sigma, EUA), Triton X-100 (Sigma, EUA), cloridrato de hidroxilamina (Sigma, EUA), EDTA, riboflavina (Sigma, USA), Regente de Griess (Sigma, USA), ácido tiobarbitúrico (TBA) (Sigma, USA), n-butanol (Sigma Aldrich, EUA), Fosfato de potássio (Merck, Germany), Ácido tricloracético (Merck, Germany), 5,5 ditídio-bis-(ácido-2-nitrobenzóico) (DTNB) (Merck, Germany).

### **3.3.2 Equipamentos**

Balança para animais (modelo MF-6 - Filizola, Brasil), Balança analítica (mod. AX-200 - Shimadzu, Japão), Pipetas automáticas (Jencons Scientific Inc., EUA), Homogeneizador (mod. 225), Microcentrífuga refrigerada (mod. Z216 MK - Hermle, Alemanha), Centrífuga refrigerada (mod. CT 5500 DR - Cientec, Brasil), Espectrofotômetro (mod DU® 720 - Beckman Coulter, EUA), Leitor de microplaca (mod. UVM 340 – Asys, Reino Unido).

### **3.4 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal normal de camundongos.**

O trânsito gastrointestinal foi mensurado através do teste de propulsão de carvão (CAPASSO et al., 1976; MORAIS et al., 2012) utilizando uma refeição de carvão como marcador da distância percorrida. Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) pesando de 25-30g foram divididos em 5 grupos (n=6), foram tratados com veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g v.o.) Ferulato de etila (25, 50 e 100 mg/kg v.o.) ou tegaserode (1 mg/kg, i.p.). Após 30 min dos tratamentos, foi administrado um marcador não-absorvível, o carvão ativado (suspensão contendo carvão ativado 10% em carboximetilcelulose 5%, v.o.) a todos os grupos (0,3mL/animal). Transcorridos 20 minutos, os animais foram eutanasiados, o estômago e o intestino delgado foram removidos e medidos o comprimento total do intestino (da região gastropilórica até a junção ileocecal) e a

distância percorrida pelo carvão, do piloro até a última porção do intestino que tiver pelo menos 1cm contínuo de carvão. O resultado foi expresso em % do percurso do marcador (carvão ativado) em função do comprimento intestinal total.

Trânsito gastrointestinal (%) = (distância percorrida pelo carvão / comprimento total do intestino delgado) x 100.

### **3.5 Avaliação do efeito do ferulato de etila na presença de agentes farmacológicos diversos em camundongos.**

#### **3.5.1 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por atropina em camundongos.**

Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) pesando de 25-30g, divididos em 6 grupos (n=6), foram tratados com veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g), atropina (3 mg/Kg, s.c.), betanecol (3 mg/Kg, i.p.) ou ferulato de etila (50 mg/kg v.o.) 30 min antes da administração de carvão ativado (suspensão contendo carvão ativado 10% em carboximetilcelulose 5%, v.o.). Foi realizada combinação onde atropina, antagonista colinérgico muscarínico, foi administrado 15 min antes de betanecol (agonista colinérgico) e em outro grupo a atropina foi administrada 15 minutos antes do ferulato de etila (50mg/kg). Transcorridos 20 min, o percentual de trânsito gastrointestinal foi avaliado como descrito anteriormente (CAPASSO et al., 1976; MORAIS et al., 2012).

#### **3.5.2 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por verapamil em camundongos.**

Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) pesando de 25-30g, divididos em 6 grupos (n=6), foram tratados com veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g), verapamil (5 mg/kg, i.p.), cloreto de cálcio (50 mg/Kg; i.p.) ou ferulato de etila (50 mg/kg v.o.) 30 min antes da administração de carvão ativado (suspensão contendo carvão ativado 10% em carboximetilcelulose 5%, v.o.). Em dois grupos distintos foram realizadas combinações onde Verapamil, um bloqueador dos canais de cálcio dependente de voltagem, foi administrado 15 min antes do Cloreto de cálcio e em outro grupo, o verapamil foi administrado 15 min antes do Ferulato de

etila. Após 20 min, o percentual de trânsito gastrointestinal foi avaliado como descrito anteriormente (CAPASSO et al.,1976; MORAIS et al., 2012).

### **3.5.3 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por morfina em camundongos.**

Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) pesando de 25-30g, divididos em 6 grupos (n=6), foram tratados com veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g), morfina (2,5 mg/Kg, s.c.), naloxona (1 mg/Kg, i.p.) ou Ferulato de etila (50 mg/kg v.o.) 30 min antes da administração de carvão ativado (suspensão contendo carvão ativado 10% em carboximetilcelulose 5%, v.o). Em dois grupos distintos também foram realizadas combinações onde a naloxona, um antagonista opióide, foi administrado 15 min antes da morfina e em outro grupo o ferulato de etila foi administrado 15 minutos antes da morfina. Transcorridos 20 min, o percentual de trânsito gastrointestinal foi avaliado como descrito anteriormente (CAPASSO et al.,1976; MORAIS et al., 2012).

### **3.5.4 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o pré-tratamento com ondansetrona em camundongos.**

Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) pesando de 25-30g, divididos em 6 grupos (n=6), foram tratados com veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g), serotonina (3 mg/Kg, s.c.), ondansetrona (3 mg/Kg, i.p.) ou ferulato de etila (50 mg/kg v.o.) 30 min antes da administração de carvão ativado (suspensão contendo carvão ativado 10% em carboximetilcelulose 5%, v.o). Em grupos distintos, foram realizadas combinações onde a ondansetrona foi administrada 15 min antes de serotonina e em outro grupo a ondansetrona foi administrado 15 minutos antes do ferulato de etila. Transcorridos 20min, o percentual de trânsito gastrointestinal foi avaliado como descrito anteriormente (CAPASSO et al.,1976; MORAIS et al., 2012).

### **3.6 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o esvaziamento gástrico de camundongos.**

O esvaziamento gástrico foi mensurado através da técnica de Reynell e Spray (1978) adaptada. Camundongos *Mus musculus* (Linhagem Swiss) pesando de

25-30g foram divididos aleatoriamente em 2 grupos de 8 animais e mantidos em jejum por 20 h antes do experimento, mas com acesso a água *ad libitum*.

Camundongos do grupo controle foram tratados por via oral com veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g), e o grupo teste foi tratado com Ferulato de etila (50 mg/kg). Após 1 hora, todos os animais receberam por gavagem, 300 µl de uma refeição teste que consistia de um marcador não absorvível (0,75 mg/ml de solução de vermelho de fenol em 5% de glicose) para calcular a concentração do corante retida no estômago. Decorridos 20 minutos, os animais foram eutanasiados.

Após a laparotomia, o estômago e o intestino delgado foram expostos, rapidamente segmentados em estômago e intestino. Cada segmento foi introduzido em um cilindro graduado e o volume total foi aferido através da adição de 10 ml de NaOH a 0,1 N. A seguir, os segmentos foram homogeneizados e após 20 minutos o homogeneizado foi centrifugado por 10 minutos à 2800 rpm.

Após centrifugação, foi utilizado 1 mL do sobrenadante para a precipitação de proteínas através da adição de 100 µl de ácido tricloroacético (20%), e novamente centrifugadas por 20 min a 2800 rpm. A seguir, foram retirados 150 µl do sobrenadante e adicionados a 200 µl de NaOH a 0,5 N, juntamente com 600 µl de água destilada em um tubo de ensaio. Em seguida foram colocados em microplacas com fundo "U" em triplicata.

A absorbância das amostras foi estabelecida em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 540 nm e expresso em densidade óptica (D.O.). A curva padrão foi obtida por espectrofotômetro a 540 nm de uma concentração conhecida de vermelho de fenol diluída em NaOH a 0,1 N. Após a determinação do coeficiente linear ( $\alpha$ ) da curva padrão, a concentração da solução ( $C = D.O.$ ) e a quantidade de vermelho de fenol ( $m$ ) por cada segmento ( $m = C \times \text{volume}$ ) foram determinadas. A retenção gástrica foi expressa em % de acordo com a seguinte fórmula:

(%) Retenção de corante no estômago = (quantidade de vermelho de fenol no estômago/ total de vermelho de fenol no estômago + intestino).

### **3.7 Modelo de indução de íleo pós-operatório (IPO)**

Camundongos Swiss, com peso de 25-30g, foram divididos em 3 grupos (n=6): veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% (0,1 mL/10 g), Ferulato de etila 50 mg/kg) e Sham (Falsamente operado). Uma hora após seus respectivos tratamentos, os grupos de animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina (Dopalem®, 100 mg/kg, i.p.) e xilazina (Anasedan®, 20 mg/kg, i.p.).

Os animais foram laparotomizados e seguidos por operação simulada (Grupo Sham) ou manipulação do intestino delgado para indução de IPO (nos demais grupos). Para a indução de IPO, o intestino delgado foi retirado com cuidado sobre uma gaze úmida com solução salina 0,9% e sistematicamente manipulado, do ligamento de Treitz até o íleo terminal, com dois aplicadores de algodão úmido, durante 5 min (LI et al, 2013; MUELLER et al, 2011). A laparotomia foi fechada com uma sutura contínua. Os animais foram tratados com clorexidina 2%, foi feito o curativo e em seguida, os animais foram colocados em gaiola metabólica individualmente. O procedimento cirúrgico foi realizado em condições estéreis, visando a rápida recuperação dos animais.

O Trânsito Gastrointestinal e as respostas inflamatórias do Íleo Pós-Operatório foram investigados 24h após a cirurgia. Os animais foram eutanasiados e amostras de íleo foram recolhidas para análise da atividade da mieloperoxidase (MPO), determinação dos níveis de nitrito (NOx), Superóxido Dismutase (SOD) , Glutaciona Reduzida (GSH) e Malondialdeído (MDA).

#### **3.7.1 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

O Trânsito gastrointestinal foi medido usando-se o teste de propulsão de carvão vegetal (CAPASSO et al.,1976; MORAIS et al., 2012) 24h após a cirurgia, foi administrado 0,3mL de carvão ativado (suspensão contendo carvão ativado 10% em carboximetilcelulose 5%, v.o) aos animais de todos os 3 grupos (veículo, Ferulato de etila 50 mg/kg e grupo Sham). Transcorridos 20 minutos, os animais foram eutanasiados, o estômago e o intestino delgado foram removidos e foi medido o comprimento total do intestino (da região gastropilórica até a junção ileocecal) e a distância percorrida pelo carvão do piloro até a última porção do intestino que

continha pelo menos 1cm contínuo de carvão. O resultado foi expresso em % do percurso do marcador em função do comprimento intestinal total.

Trânsito gastrointestinal (%) = (distância percorrida pelo carvão / comprimento total do intestino delgado) x 100

### **3.7.2 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

O grau de infiltração de neutrófilos foi quantificado pela medição da atividade de mieloperoxidase (MPO). Para dosagem da concentração de MPO amostras dos segmentos do íleo intestinal foram pesadas e colocadas em um tampão de fosfato de potássio (50mM, pH 6,0) com 0,5% de brometo de hexadecitrimetilamônio (HTAB) para preparar um homogenato a 10%. A seguir, o homogenato foi centrifugado a 4500 rpm por 20 minutos a 4°C, em seguida 10 µL do sobrenadante foi utilizado para análise juntamente com 200 µL da solução de leitura contendo peróxido de hidrogênio e cloridrato de o-dianisidina. A atividade da MPO por mg de tecido foi aferida através da técnica descrita por Bradley et al. (1982), utilizando solução de leitura com peróxido de hidrogênio a 1% como substrato para a MPO.

A unidade da atividade de MPO é definida como aquela capaz de converter 1 µmol de peróxido de hidrogênio em água em 1 minuto. Durante o ensaio, à medida que o peróxido de hidrogênio for degradado, ocorre a produção do ânion superóxido, responsável pela conversão de o-dianisidina em um composto de cor marrom. Os resultados serão expressos como unidade (U) de MPO/mg de tecido.

### **3.7.3 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de nitrito (NOx) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

Trata-se de uma determinação indireta dos níveis de NO devido meia-vida extremamente curta (10 a 60 segundos nos tecidos), que é feita através da mensuração da conversão de nitrato em nitrito (produtos da reação do NO com o oxigênio - NOx) (GRAU et al, 2007). Para tal, foi utilizado o reagente de Griess, de acordo com o método descrito por Green e colaboradores (1982). Amostras de 100mg do tecido foram homogeneizadas em 1 mL de KCl 0,15 M (Homogenato a

10%), em seguida foi centrifugado sob refrigeração. Depois, 100 µL do sobrenadante foram misturados com 100 µL de reagente de Griess. A absorbância a 540 nm foi medida após 10 minutos de incubação. Os resultados são expressos em NO<sub>x</sub>, pois expressa a conversão do metabólito nitrato através de reação oxidativa que forma o nitrito (NO<sub>x</sub>).

### **3.7.5 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre níveis da Superóxido redutase (SOD) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

A concentração da superóxido dismutase (SOD) foi mensurada utilizando um ensaio espectrofotométrico modificado (DAS; SAMANTA; CHAINY, 2000). Neste método, a atividade enzimática é calculada pela quantidade de SOD capaz de inibir a formação de nitrito em 50%. Para isso, 100mg de tecido do íleo foi homogeneizado em 1 mL de tampão fosfato (50 nM, pH 7,4). 100 µL do homogeneizado foram adicionados a 1110 µL de tampão de fosfato, 75 µL de L-metionina (20 mM), 40 µL de Triton X-100 (1% v / v), 75 µL de cloreto de hidroxilamina (10 mM) e 100 µL de EDTA (50 µM). Esta solução foi incubada num banho maria a 37 ° C durante 5 minutos, depois foram adicionados 80 µL de solução de riboflavina (50 µM) e expostos à luz durante 10 minutos.

A partir desta solução, foram retirados 100 µL da amostra e adicionados a 100 µL de reagente de Griess em poços, e após 10 minutos, a absorbância foi lida a 550 nm por espectrofotometria em um leitor de ELISA. Além disso, a quantidade de proteínas totais foi determinada com um kit comercial da Labtest. Os resultados foram expressos como uSOD/ µg de proteína.

### **3.7.6 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre níveis de glutathiona reduzida (GSH) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

A concentração de glutathiona reduzida (GSH) foi determinada de acordo com o método proposto por Sedlak; Lindsay (1968). A determinação da glutathiona reduzida baseia-se na reação do DTNB [5,5 ditídio-bis-(ácido-2-nitrobenzóico)], com o tiol livre originando um dissulfeto misto mais ácido, o ácido 2-nitro-5-benzóico. Amostras de tecido do íleo intestinal foram homogeneizadas em EDTA 0,02 M para

consequente preparação de um homogenato a 10%. A seguir, alíquotas de 400 µL do homogenato foram adicionadas a 320 µL de água destilada e a 80 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 50%.

Em seguida o material foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos a 4°C. Após a centrifugação, 400 µL do sobrenadante foi retirado e misturado a 800µL de tampão Tris 0,4 M (pH 8,9) e 20 µL de DTNB (reagente de Ellman) 0,01 M. A mistura foi agitada durante 3 minutos e a absorbância foi mensurada a 412 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em µg de GSHnp/g de tecido (grupos sulfidríla não protéico).

### **3.7.7 Avaliação do efeito do ferulato de etila sobre níveis de Malondialdeído (MDA) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

Os níveis de malondialdeído no íleo intestinal foram determinados pelo método de Mihara; Uchiyama (1978). Amostras de tecido de íleo foram homogeneizadas em KCl gelado 1,15% para preparar um homogenato a 10%. A seguir, alíquotas de 250 µL do homogenato foram adicionadas a tubos contendo 1,5 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 1% e 500 µL de uma solução de ácido tiobarbitúrico aquoso (TBA-0,6%). Posteriormente, os tubos foram aquecidos, por um período de 45 minutos, em um banho de água a 100°C e a mistura reacional foi, então, resfriada em um banho de água gelada, seguida da adição de 2 mL de n-butanol, para dosagem do MDA. Após a adição de n-butanol, as amostras foram agitadas em um misturador “vortex” por um minuto, e posteriormente centrifugados a 1500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi mensurado a uma absorbância de 520 e 535 nm, sendo o resultado obtido pela diferença da absorbância nas duas leituras (A2-A1). Os resultados foram expressos em nmol/g de tecido intestinal.

### **3.8 Análise Estatística:**

Os resultados foram apresentados como média ± EPM de animais em cada grupo (n = 6). Os testes estatísticos foram realizados no software Graphpad Prism (versão 5.0). Foi utilizado análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey para múltiplas comparações. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

# **Resultados**

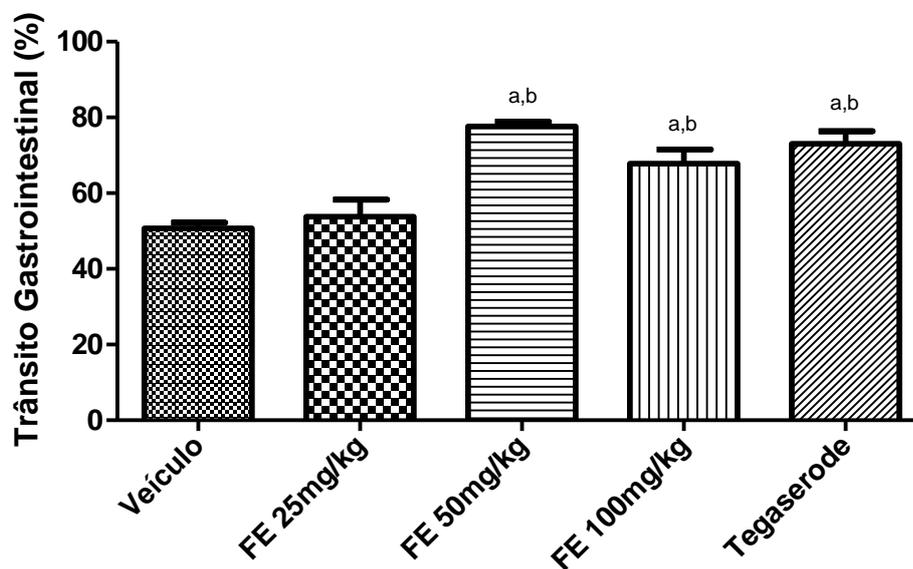
---

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal normal de camundongos.

O Ferulato de etila nas doses de 50 e 100 mg/kg (FE50, FE100 respectivamente) aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o trânsito gastrointestinal ( $77,63 \pm 1,24$  % e  $67,82 \pm 3,68$  %, respectivamente), assim como o tegaserode ( $73,03 \pm 3,31$  %), um agonista parcial de 5-HT<sub>4</sub>, quando comparados ao grupo veículo ( $50,73 \pm 1,52$  %) (**Figura 06**). Não houve diferença significativa entre os grupos tratados com FE-50 e 100 mg/Kg quando comparados ao grupo veículo e ao controle positivo, o tegaserode. Seguimos então com a dose de 50 mg/kg.

**Figura 06** - Efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal de camundongos.

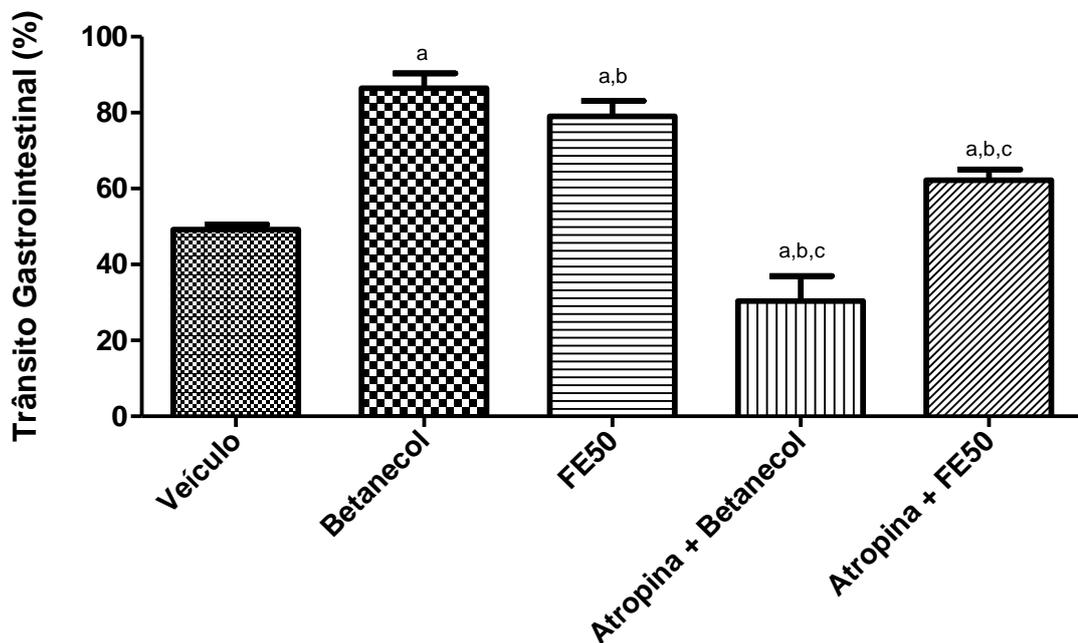


Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (FE 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) e tegaserode (1mg/Kg, i.p.) <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs FE25 (one way ANOVA e pós-teste de Tukey).

#### 4.2 Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por atropina em camundongos.

O ferulato de etila e o betanecol aumentaram significativamente o trânsito gastrointestinal ( $79,03 \pm 4,12$  % e  $86,47 \pm 3,88$  %, respectivamente) quando comparados ao veículo ( $49,21 \pm 1,31$  %). Foi observado que o pré-tratamento com atropina, antagonista dos receptores muscarínicos, bloqueia os efeitos estimuladores do betanecol ( $30,40 \pm 6,53$  %), agonista colinérgico muscarínico, quando comparados ao grupo tratado com betanecol isoladamente ( $86,47 \pm 3,88\%$ ). A pré-administração de atropina também reduziu significativamente o efeito procinético do ferulato de etila ( $62,23 \pm 2,79$  %) (**Figura 07**).

**Figura 07** - Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por atropina em camundongos.

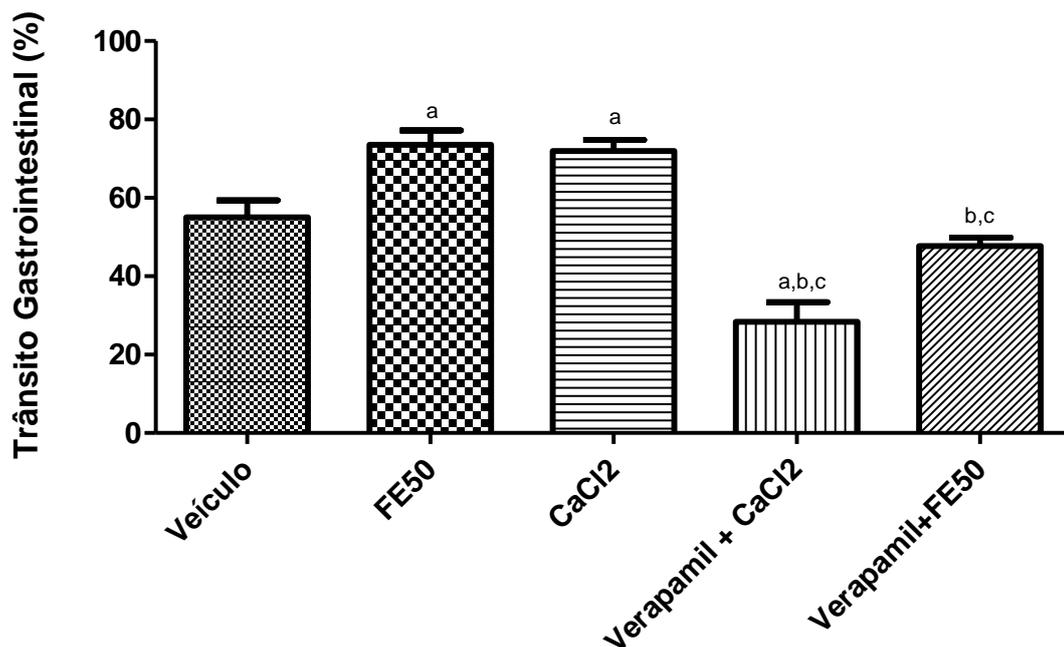


Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.) e betanecol (3 mg/Kg, i.p.), Atropina (3mg/kg, s.c.) <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs betanecol ; <sup>c</sup>  $p < 0,05$  vs FE50 (one way ANOVA e pós-teste de Tukey).

### 4.3 Efeito do ferulato de etila sobre retardo do trânsito gastrointestinal induzido por verapamil em camundongos.

O Ferulato de etila e o cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) aumentaram significativamente o trânsito gastrointestinal ( $73,57 \pm 3,63$  % e  $71,97 \pm 2,83$  % respectivamente) quando comparados ao veículo ( $55,07 \pm 4,30$  %). O pré-tratamento com verapamil, um bloqueador dos canais de cálcio dependentes de voltagem, induziu o retardo gastrointestinal ( $28,35 \pm 4,99$  %) na presença do  $\text{CaCl}_2$ , assim como a pré-administração de verapamil reduziu significativamente o efeito procinético do ferulato de etila ( $47,68 \pm 2,15$  %) (**Figura 08**).

**Figura 08** - Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por verapamil em camundongos.

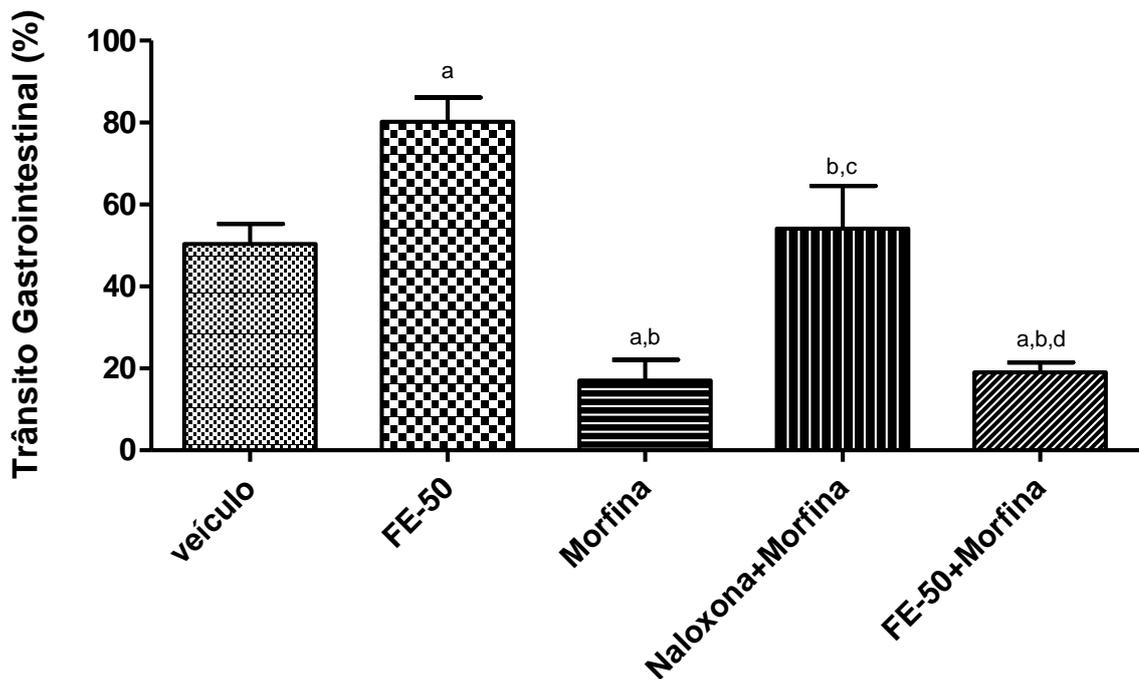


Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), verapamil (5 mg/kg, i.p.), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.) e cloreto de cálcio (50 mg/Kg; i.p.) <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs FE50; <sup>c</sup>  $p < 0,05$  vs  $\text{CaCl}_2$  (One way ANOVA e pós-teste de Tukey).

#### 4.4 Efeito do ferulato de etila no retardo do trânsito gastrointestinal induzido por Morfina em camundongos.

A morfina reduziu o trânsito gastrointestinal ( $17,08 \pm 5,05$  %) quando comparada ao grupo veículo ( $50,37 \pm 4,89$  %). O Ferulato de etila aumentou significativamente o trânsito gastrointestinal ( $80,20 \pm 5,98$  %) quando comparado ao grupo veículo ( $50,37 \pm 4,89$  %). O retardo gastrointestinal causado pela morfina foi revertido em camundongos pré-tratados com o antagonista opióide naloxona ( $54,13 \pm 10,44$  %). A pré-administração do ferulato de etila não reverteu o efeito inibitório da morfina ( $19,02 \pm 2,48$  %) quando comparada ao grupo morfina ( $17,08 \pm 5,05$  %) (Figura 09).

**Figura 09** - Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por Morfina em camundongos.

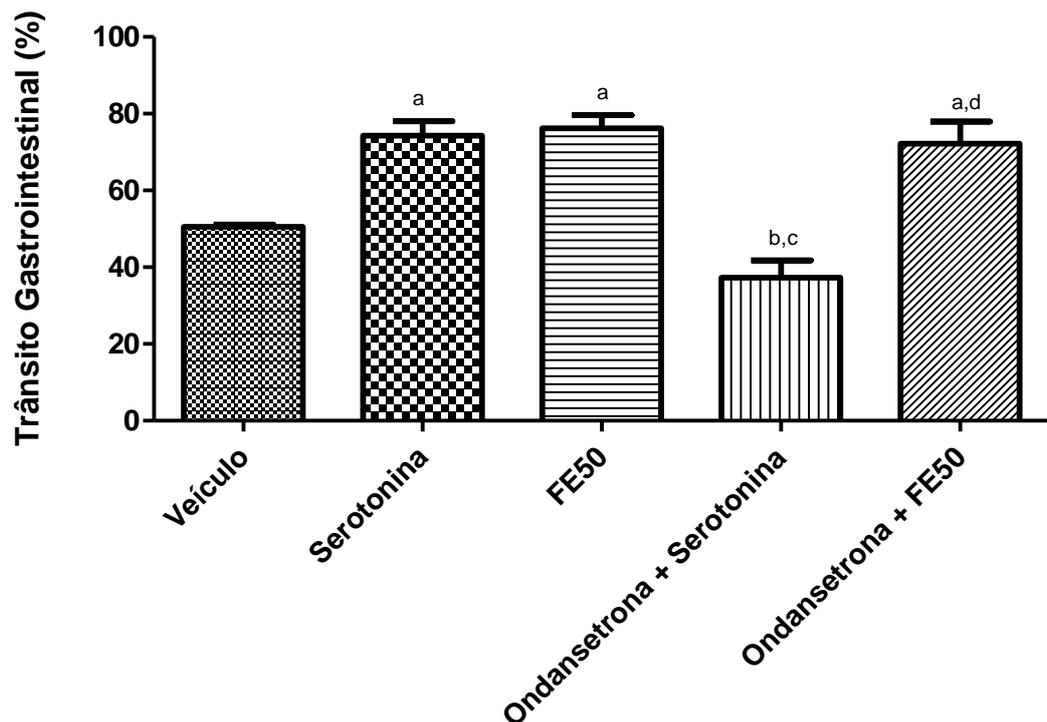


Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Naloxona (1mg/kg, i.p.) Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.) e Morfina (2,5 mg/Kg, s.c.) <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs FE-50; <sup>c</sup>  $p < 0,05$  vs Morfina; ; <sup>d</sup>  $p < 0,05$  vs Naloxona +Morfina (one way ANOVA e pós-teste de Tukey).

#### 4.5 Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por Ondansetrona em camundongos.

O Ferulato de etila e a serotonina aumentaram significativamente o trânsito gastrointestinal ( $76,19 \pm 3,43\%$  e  $74,33 \pm 3,68 \%$ , respectivamente) quando comparadas ao veículo ( $50,50 \pm 0,64 \%$ ). O pré-tratamento com ondansetrona, um antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub> serotoninérgicos, impediu o efeito estimulatório da serotonina ( $37,26 \pm 4,49 \%$ ) sobre a motilidade GI. O pré-tratamento com ondansetrona não interferiu no efeito procinético do ferulato de etila ( $72,18 \pm 5,76 \%$ ) (Figura 10).

**Figura 10** - Efeito do ferulato de etila sobre o retardo do trânsito gastrointestinal induzido por Ondansetrona em camundongos.

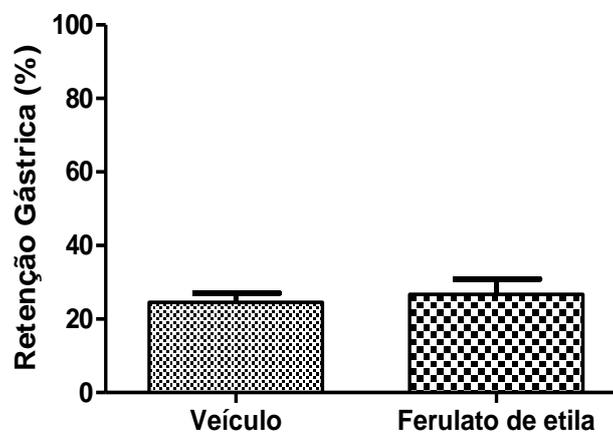


Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Serotonina (5 mg/kg, i.p.), Ondansetrona (3 mg/Kg; i.p.), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.). <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs Serotonina; <sup>c</sup>  $p < 0,05$  vs FE50 ; <sup>d</sup>  $p < 0,05$  vs Ondansetrona + Serotonina (One way ANOVA e pós-teste de Tukey).

#### 4.6 Efeito do ferulato de etila sobre o esvaziamento gástrico de camundongos.

Nas análises realizadas foi possível observar que o Ferulato de etila (50mg/kg) não altera o perfil de retenção gástrica dos animais, pois não houve diferença significativa entre os grupos veículo e Ferulato de etila (**Figura 11**).

**Figura 11** – Efeito do ferulato de etila sobre o esvaziamento gástrico em camundongos.



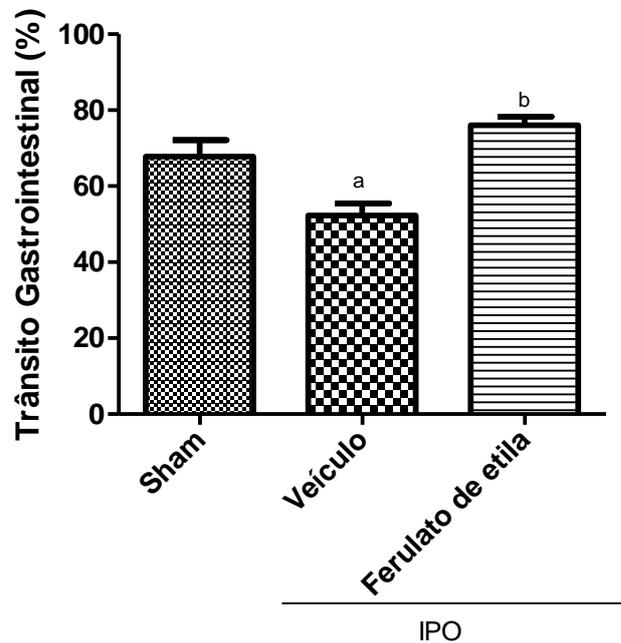
Perfil de retenção gástrica do ferulato de etila. Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) de retenção gástrica (%). Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.). (Teste t de student).

### 5. Modelo de íleo pós-operatório (IPO).

#### 5.1 Efeito do Ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

Os animais do grupo veículo mostraram redução significativa no trânsito gastrointestinal ( $52,31 \pm 3,18$  %), quando comparados ao grupo sham ou falso operado ( $67,21 \pm 4,28$  %). O ferulato de etila na dose de 50 mg/Kg aumentou significativamente o trânsito gastrointestinal ( $76,08 \pm 2,24$ ) quando comparados ao grupo veículo ( $52,31 \pm 3,18$  %) (**Figura 12**).

**Figura 12** - Efeito do ferulato de etila sobre o trânsito gastrointestinal em modelo de íleo pós-operatório (IPO).

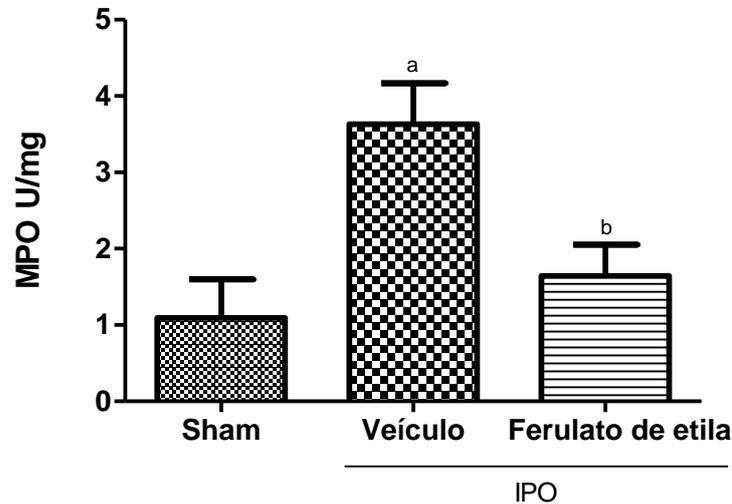


Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Sham; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs veículo; (One way ANOVA e pós-teste de Tukey).

## 5.2 Efeito do ferulato de etila sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

O modelo experimental de indução de IPO mostrou-se efetivo em induzir inflamação; isso pode ser observado pelo aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na atividade da mieloperoxidase do grupo veículo ( $3,630 \pm 0,53$  U/mg de tecido), quando comparado ao grupo Sham ( $1,09 \pm 0,50$  U/mg de tecido). O Ferulato de etila (50 mg/kg, v.o.) reduziu de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a atividade da mieloperoxidase ( $1,643 \pm 0,40$  U/mg de tecido) quando comparada ao grupo veículo ( $3,630 \pm 0,53$  U/mg de tecido) (**Figura 13**).

**Figura 13** - Efeito do ferulato de etila sobre níveis de MPO em modelo de íleo pós-operatório (IPO).



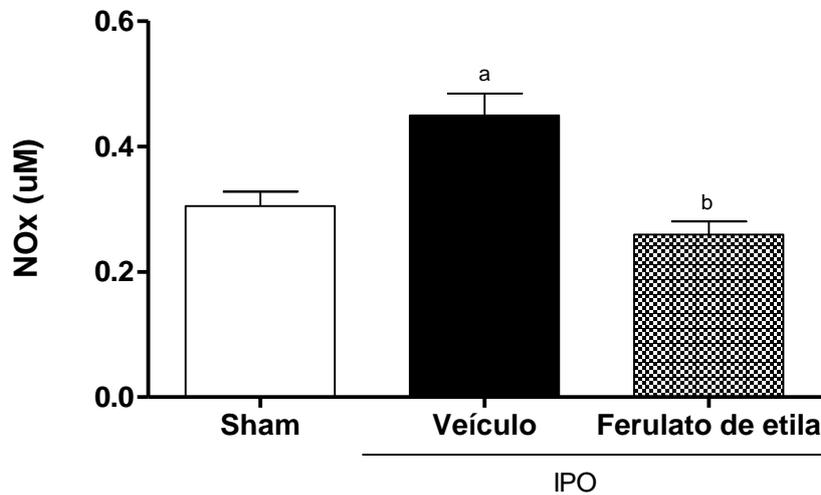
Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) do percentual de trânsito gastrointestinal. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Sham; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs veículo; (One way ANOVA e pós-teste de Tukey).

### 5.3 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de nitrato/nitrito (NOx) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

Os animais do grupo veículo mostraram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis teciduais de óxido nítrico (nitrato/nitrito) ( $0,449 \pm 0,034 \mu\text{M}$  de NOx), quando comparados ao grupo Sham ( $0,304 \pm 0,023 \mu\text{M}$  de NOx).

O pré-tratamento com Ferulato de etila reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o conteúdo de nitrato/nitrito tecidual ( $0,259 \pm 0,02 \mu\text{M}$  de NOx) quando comparado ao grupo veículo ( $0,449 \pm 0,034 \mu\text{M}$  de NOx) (**Figura 14**).

**Figura 14** - Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de nitrato/nitrito (NOx) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

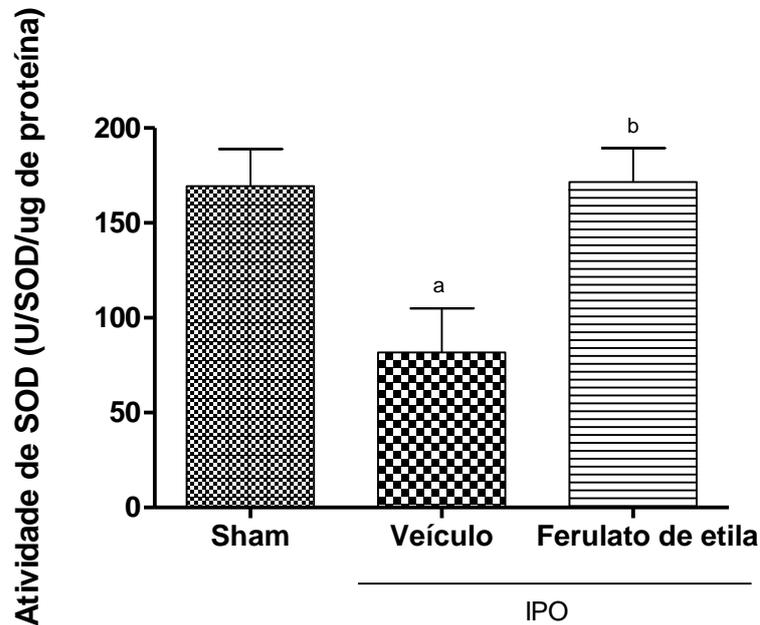


Determinação dos níveis teciduais de nitrato/nitrito em IPO. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.), <sup>a</sup> p<0,05 vs Sham; <sup>b</sup> p<0,05 vs Veículo; (One way ANOVA e pós-teste de Tukey)

#### **5.4 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Superóxido dismutase (SOD) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.**

Os animais do grupo veículo mostraram redução significativa nos níveis teciduais de SOD ( $81,71 \pm 23,23$ ), quando comparados ao grupo Sham ( $169,4 \pm 19,48$ ). O pré-tratamento com Ferulato de etila aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o conteúdo de SOD tecidual ( $171,6 \pm 17,86$ ) em relação ao grupo veículo, mantendo-se em níveis normais em relação ao grupo sham (**Figura 15**).

**Figura 15** - Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Superóxido dismutase (SOD) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos

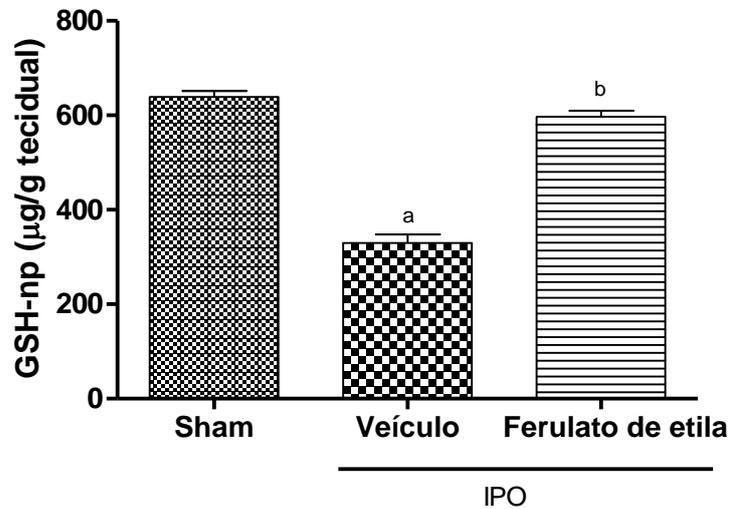


Determinação dos níveis teciduais de Superóxido dismutase (SOD) em IPO. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Sham; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; (One way ANOVA e pós-teste de Tukey)

### 5.5 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Glutathiona reduzida (GSH) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

No grupo pré-tratado com FE, houve aumento significativo da concentração de GSH no modelo de íleo pós-operatório em camundongos ( $597,0 \pm 12,77$ ) em comparação ao grupo veículo ( $329,4 \pm 18,37$ ), mantendo-se em níveis normais em relação ao grupo sham ( $638,8 \pm 12,64$ ) (**Figura 16**).

**Figura 16** - do ferulato de etila sobre os níveis teciduais da enzima Glutathiona reduzida (GSH) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

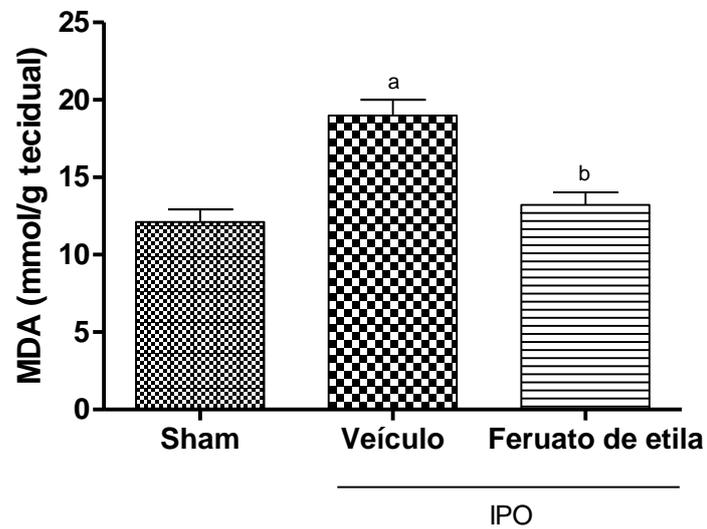


Determinação dos níveis teciduais de Glutathiona reduzida (GSH) em IPO. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Sham; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; (One way ANOVA e pós-teste de Tukey)

### 5.6 Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de Malondialdeído (MDA) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.

O Ferulato de Etila ( $13,23 \pm 0,79$  mmol/g tecidual) foi efetivo na redução das concentrações de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico comparativamente ao grupo veículo ( $18,99 \pm 1,00$  mmol/g tecidual). Não houve diferença significativa entre o grupo sham ( $12,11 \pm 0,80$  mmol/g tecidual) e FE ( $13,23 \pm 0,79$  mmol/g tecidual) (**Figura 17**).

**Figura 17** - Efeito do ferulato de etila sobre os níveis teciduais de Malondialdeído (MDA) em modelo de íleo pós-operatório em camundongos.



Determinação dos níveis de Malondialdeído (MDA) em IPO. Veículo (Cremofor® (3%) em NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Ferulato de etila (50 mg/Kg, v.o.), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Sham; <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs Veículo; Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M) - (One way ANOVA e pós-teste de Tukey)

# Discussão

---

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou o efeito procinético do ferulato de etila sobre a motilidade gastrointestinal, observado no trânsito gastrointestinal normal e na presença de diversos fármacos, bem como em modelo de íleo pós-operatório através de manipulação intestinal.

O ferulato de etila é derivado esterificado do ácido ferúlico, principal produto extraído de *Angelica sinensis* (Oliv.), que possui extensas indicações de uso como anti-inflamatório, anticâncer, imunomodulador, neuroprotetor, cardioprotetor, anti-hepatotóxico, renoprotetor e antioxidante. Os derivados esterificados do ácido ferúlico, conservam suas atividades biológicas agregadas à maior lipofilicidade (CUNHA et al., 2016).

A faixa de doses do ferulato de etila utilizadas neste estudo (25, 50 e 100mg/kg) pode ser considerada segura, uma vez que a dose letal média em camundongos é de 300mg/kg, v.o. (SCAPAGNINI et al, 2004; CUNHA., 2015).

Inicialmente, verificamos que o ferulato de etila aumentou o trânsito gastrointestinal normal de camundongos. Resultados semelhantes foram encontrados por Zhang e colaboradores (2011) e por Badary e colaboradores (2006), que demonstraram que o ácido ferúlico aumenta significativamente o trânsito intestinal de maneira dose-dependente. Em nosso estudo, houve efeito procinético no intestino delgado de maneira independente de dose. Tal dependência de dose pode ter sido afetada devido modificação estrutural do ácido ferúlico (esterificação), que deu origem ao ferulato de etila (KARAMAĆ, 2017).

As drogas procinéticas exercem suas ações fisiológicas de aumento na motilidade GI através de efeitos sobre uma variedade de receptores de neurotransmissores, principalmente acetilcolina e serotonina. Tais drogas estimulam a função do músculo liso, ativando os neurônios aferentes primários intrínsecos localizados no plexo mioentérico, que desempenha papéis importantes no controle do esvaziamento gástrico e trânsito intestinal (FURNESS, 2008).

A acetilcolina é um neurotransmissor do sistema nervoso parassimpático conhecido como principal estimulador da motilidade GI, através da ativação dos receptores muscarínicos. Para avaliar envolvimento dos receptores muscarínicos no efeito procinético do FE, utilizamos como ferramenta a atropina, um antagonista dos

receptores muscarínicos que causa diminuição do trânsito gastrointestinal (FURNESS et al., 2014; GALLACCI; CORDELLINI, 2016).

A redução significativa no efeito do FE diante do pré-tratamento com atropina demonstra possível envolvimento da ativação muscarínica na estimulação da motilidade GI promovida por FE. Resultados semelhantes foram observados com outros compostos fenólicos como ácido caféico e quercetina, substâncias majoritárias de *Morus nigra* Linn (amora preta), que mostram efeito estimulatório da motilidade intestinal através de ativação dos receptores muscarínicos (AKHLAQ et al., 2016). Kakino e colaboradores (2012) avaliaram o efeito laxativo do extrato aquoso do própolis verde (EAPV), que tem como compostos majoritários os fenilpropanóides: ácido p-cumárico, ácido ferúlico e ácido clorogênico, e observaram que EAPV induz contração intestinal através de estimulação direta dos receptores muscarínicos.

Contrações promovidas por agonistas colinérgicos são reduzidos por bloqueadores dos canais de  $Ca^{2+}$  dependente de voltagem do tipo L em músculo liso intestinal (WEGENER et al., 2006). O verapamil bloqueia os canais de cálcio dependentes de voltagem, inibindo a entrada de  $Ca^{2+}$  nos tecidos, causada por despolarização. Tal bloqueio suprime a contração muscular lisa intestinal, reduzindo, portanto, a motilidade GI (VASCONCELOS, 2013; RAO, RATTANAKOVIT & PATCHARATRAKUL, 2016)

O pré-tratamento com verapamil reduziu significativamente o efeito procinético do FE, sugestivo de que a ativação dos canais de cálcio dependentes de voltagem (CaV) está envolvida no efeito procinético do FE, possivelmente como consequência da ativação dos receptores muscarínicos (WEGENER et al., 2006).

A morfina é um agonista opióide que exerce seu efeito inibitório sobre o TGI através da ligação aos receptores  $\mu$ -opióides intestinais, inibição pré-sináptica da liberação de Acetilcolina e substância P causando redução das contrações e o comprometimento do peristaltismo, com conseqüente constipação, que é o seu principal efeito adverso (MATSUMOTO et al., 2016). O alívio da constipação é possível com o uso de novas estratégias farmacológicas, com efeito periférico, como o antagonista opiáceo naltrexona e os antagonistas  $\mu$ -opioides específicos, metilnaltrexona e alvimopam (CAMILLERI, 2011; HENNEMANN-KRAUSE, 2012).

O fato do ferulato de etila (FE) não reverter o retardo do trânsito GI causado pela morfina sugere que FE não age como antagonista opióide. No entanto, a

morfina interage com outros alvos farmacológicos, que podem ser importantes para o efeito procinético do FE. Além de afetar a excitabilidade neuronal por inibição pré-sináptica de neurotransmissores excitatórios, os opioides afetam também a excitabilidade neuronal via interação com neurotransmissores inibitórios no sistema nervoso entérico, como a ATP, VIP, NPY, Óxido Nítrico (NO) e glutamato (IWATA et al., 2007; SOBCZAC et al., 2014; PATIERNO et al., 2005; DONNERER; LIEBMAN., 2007; DONNERER; LIEBMAN., 2009)

A serotonina (5-HT) é um neurotransmissor sinalizador utilizado por um sistema de interneurônios mioentéricos descendentes, ativa os neurônios aferentes primários intrínsecos e extrínsecos para, respectivamente, iniciar reflexos peristálticos e secretores. No plexo mioentérico tanto 5-HT<sub>3</sub> quanto 5-HT<sub>4</sub> induzem a liberação endógena de ACh dos nervos parassimpáticos. Por isso, agonistas e antagonistas de receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub> são geralmente usados para o tratamento de doenças de motilidade GI. (GERSHON, 2013; GERSHON; TACK, 2007; KAKINO et al., 2012). No entanto, os agonistas dos receptores 5-HT<sub>4</sub> desenvolvidos como procinéticos, estão sendo retirados do mercado em alguns países devido a sua toxicidade cardíaca (GIUDICESSI; ACKERMAN; CAMILLERI, 2018).

Antagonistas dos receptores de 5-HT<sub>3</sub>, tais como ondansetrona, foram originalmente introduzidos para o tratamento de náuseas e vômitos induzidos por quimioterapia. Um efeito adverso comum dos antagonistas do receptor 5-HT<sub>3</sub> é a constipação, pois diminuem o trânsito e inibem a secreção do intestino delgado, além de reduzir a complacência do cólon (DELVAUX et al., 1998; MAWE; HOFFMAN., 2013). Neste estudo, foi verificado que FE continuou exercendo seu efeito procinético mesmo diante do bloqueio dos receptores 5-HT<sub>3</sub> serotoninérgicos intestinais, sugestivo de que não há envolvimento dos receptores 5-HT<sub>3</sub> em tal efeito.

O retardo do esvaziamento gástrico pode alterar a taxa de absorção de fármacos administrados por via oral, aumenta o risco de aspiração pulmonar e está associado a náuseas e vômitos (NIMMO, 1984). Nos testes realizados, verificamos que FE não altera o perfil de esvaziamento gástrico sugerindo que o seu efeito seja diretamente sobre o peristaltismo intestinal (TÖRNBLOM et al., 2015; KUSANO et al., 2014). No entanto mais estudos são necessários para melhor elucidação dos efeitos do ferulato de etila sobre as estruturas gástricas.

Tendo observado o aumento da motilidade intestinal do FE, avaliamos então o seu efeito em modelo de íleo pós-operatório (IPO), que é uma doença caracterizada pela perda de motilidade gastrointestinal (GI) após cirurgia abdominal ou outros procedimentos cirúrgicos importantes. Os sintomas incluem distensão abdominal, náuseas, vômitos, anorexia e constipação (MEERVELD et al., 2012).

Foram identificadas duas fases na patogênese do IPO: Fase neurogênica de curta duração, caracterizada pela hiperativação simpática reflexa devido a incisão da pele, que volta ao normal após o fim da cirurgia, e Fase inflamatória, que se inicia 3-4h depois da cirurgia, sendo clinicamente mais relevante devido a caracterização de uma sustentada inibição da contratilidade intestinal devido ativação de macrófagos residentes na camada muscular da parede intestinal, que tem como consequência o recrutamento dos leucócitos, produção de óxido nítrico (NO) e Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), lesando as células e impedindo a contração das fibras musculares intestinais, conduzindo assim a um atraso no trânsito gastrointestinal (BOECKXSTAENS; DE-JONGE, 2009; VAN-BREE et al., 2013; MUELLER et al., 2011; MORAIS et al., 2015; LI et al., 2013; VATHER et al., 2014).

A manipulação intestinal foi eficaz em promover retardo do trânsito GI no grupo veículo. O tratamento com FE foi capaz de restaurar o trânsito GI sendo estatisticamente semelhante ao grupo Sham, que é o grupo que simula as condições normais após laparotomia, mostrando sua eficácia no modelo experimental. Nossos resultados anteriores que demonstraram o aumento no trânsito intestinal foram reforçados por mais este resultado, onde FE demonstrou melhora da motilidade gastrointestinal. Resultados semelhantes foram encontrados por Zhang e colaboradores (2012), que demonstraram que o composto fenólico jatrorrizina restaurou o trânsito gastrointestinal de ratos em modelos de IPO.

Kalff e colaboradores (1998) observaram que a inibição prolongada da motilidade intestinal depende da infiltração de leucócitos na camada muscular da parede intestinal 24h após a cirurgia (MUELLER et al., 2011). Logo, a diminuição da resposta inflamatória intestinal é de fundamental importância no IPO (TAN et al., 2014; VATHER et al., 2014)

Avaliamos a ação inibitória do FE sobre o infiltrado neutrofílico, através da mensuração dos níveis de mieloperoxidase (MPO). Essa é uma enzima bioativa abundantemente armazenada nos grânulos azurófilos dos neutrófilos, que são as

células mais abundantes diante de uma resposta inflamatória (NUSSBAUM et al., 2013).

Neste estudo, o pré-tratamento com ferulato de etila reduziu significativamente os níveis de atividade de MPO, o que sugere um possível efeito anti-inflamatório do ferulato de etila, no modelo de IPO estudado. Niu e colaboradores (2016) encontraram resultados semelhantes demonstrando que o ácido ferúlico reduz os níveis de MPO em lesão hepática.

O radical livre Óxido Nítrico (NO) é considerado o maior neurotransmissor inibitório no TGI. Em músculo liso GI, o relaxamento que induz a constipação é mediado pelo envolvimento de GMPc, através da ativação da enzima ciclase de guanilil (GC). É produzido em grande quantidade por macrófagos e leucócitos através da enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS), que impedem a contração das fibras musculares lisas, devido interrupção da propagação do potencial de ação das CIC, contribuindo para hipomotilidade GI (LIES; GRONEBERG; FRIEBE, 2014; KAJI et al., 2018). Diante do exposto, passou-se a averiguar a ação do FE sobre a concentração de óxido nítrico no modelo de íleo pós-operatório (IPO). A determinação indireta dos níveis de NO devido meia-vida extremamente curta (10 a 60 segundos nos tecidos), pode ser feita através da mensuração da conversão de nitrato em nitrito (produtos da reação do NO com o oxigênio - NOx) (GRAU et al., 2007; CUNHA, 2015).

O FE reduziu significativamente os níveis de nitrito. Resultados similares foram demonstrados por Koh (2012) e Domenico e colaboradores (2009) demonstraram que AF e FE, respectivamente, previnem a formação de iNOS suprimindo a geração secundária do agente oxidativo NO e seus metabólitos, confirmando assim o efeito supressor do FE sobre Óxido Nítrico (NO).

A interpretação do íleo pós-operatório como o resultado de uma resposta inflamatória muscular intestinal local com a co-expressão de mediadores cineticamente ativos sugere que uma abordagem farmacológica anti-inflamatória pode aliviar o íleo pós-operatório. No entanto, a complexidade da resposta inflamatória, em particular o envolvimento de muitos mediadores ou metabólitos com impacto funcional no músculo liso e função neural entérica diferentes, requer uma abordagem farmacológica que interrompa os principais eventos primordiais da cascata inflamatória (RYCHTER; CLAVÉ, 2013; STOFFELS et al., 2011).

A resposta inflamatória induz estresse oxidativo e as espécies reativas de oxigênio (EROS) contribuem para IPO. Foi relatado anteriormente um aumento no estresse oxidativo e peroxidação lipídica intestinal que se inicia logo após a manipulação intestinal (MI) (DE BACKER et al., 2009).

A indução das enzimas antioxidantes representa um dos mais importantes componentes dos mecanismos de defesa celular e, dessa forma, a variedade de tóxicos eletrofílicos e oxidativos podem ser eliminados das células antes da lesão genômica do DNA. Com base nestes dados, avaliou-se a ação do FE sobre duas importantes enzimas: a superóxido dismutase (SOD) e glutatona reduzida (GSH) a fim de averiguar se o FE atua por esta via (LUGRIN et al, 2014).

Em condições fisiológicas a SOD age como uma defesa celular que degrada o superóxido ( $O_2^-$ ) em oxigênio e peróxido de hidrogênio. As diferentes formas de SOD catalisam a reação de dismutação do radical superóxido, removendo cataliticamente os radicais superóxidos (VANNUCCHI et al., 1998). Durante o processo inflamatório, a degradação do ânion superóxido pela SOD impede que o mesmo induza a produção de citocinas, expressão de moléculas de adesão e de agentes quimiotáticos (LI; ZHOU, 2011).

O ferulato de etila aumentou os níveis de SOD em relação ao grupo veículo no modelo de IPO. Resultado similar foi encontrado em culturas de macrófagos sensibilizados com lipopolissacarídeos (LPS - endotoxina que provoca uma forte resposta imunológica) e tratados com  $\gamma$ -oryzanol e cicloartenil ferulato onde houve aumento da transcrição da SOD (NAGASAKA et al, 2007). Mancuso e Santangelo (2014) demonstraram que o ácido ferúlico pode prevenir danos mediados por radicais livres, regulando os níveis de superóxido dismutase (SOD).

A glutatona consiste em um complexo enzimático formado por quatro elementos, entre eles o GSH (glutatona reduzida). GSH é um tripeptídeo (L-c-glutamil-L-cisteinil-glicina) que age principalmente como endógeno antioxidante. Por ser transportadora de um grupo tiol ativa na forma de um resíduo de cisteína, ele age como um antioxidante através de interação direta com espécies reativas de oxigênio/nitrogênio (EROS e ERNS) (LUSHCHAK, 2012; LUBOS et al, 2011; GHOSH et al., 2017).

Neste sentido, os resultados aqui obtidos mostram aumento da concentração de GSH nos grupos tratados com FE. Ojha e colaboradores (2015) demonstraram

que o pré-tratamento com ácido ferúlico aumenta os níveis de SOD e GSH em modelos de peroxidação lipídica induzido por rotenona.

Quando a produção de radicais livres aumenta até o ponto onde o sistema antioxidante celular não consegue remover ou neutralizar tudo que é produzido, ocorre o estresse oxidativo. Uma das conseqüências do estresse oxidativo mais importante é a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares, ou seja, a peroxidação lipídica, que provoca danos e impede a passagem de nutrientes, como proteínas e glicose, e diminui a capacidade de reação do sistema imunológico. A peroxidação lipídica pode ser quantificada através da mensuração do acúmulo de subprodutos resultantes desse processo, como o malondialdeído (MDA), que normalmente serve como índice da intensidade da ocorrência de tal reação (FERNANDES et al., 2012).

Neste estudo, os animais tratados com FE apresentaram concentração significativamente menor de MDA. Esta resposta pode ser justificada devido ao aumento dos mecanismos de defesa antioxidante, especialmente da glutathione, visto seu papel na redução dos hidroperóxidos ou o tamponamento direto dos radicais livres pelo aumento das defesas antioxidantes, como sugerido pelos experimentos realizados anteriormente para SOD e GSH, o que pode ser benéfico na prevenção do IPO (NIKI et al, 2009). Resultados similares foram encontrados por Garrido e colaboradores (2012), onde o FE e os demais ésteres do ácido ferúlico apresentaram atividade protetora ao estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio em linhagem de células de feocromocitoma humano (PC12).

Os nossos resultados aqui apresentados corroboram aos estudos reportados anteriormente. Ren e colaboradores (2017) mostraram que o ácido ferúlico (AF) atenuou significativamente o estresse oxidativo com redução da geração de EROS e influxo de  $Ca^{2+}$ , anion superóxido ( $O_2^-$ ), malondialdeído (MDA) em lesão cerebral induzida por isquemia/reperfusão (I/R) *in vivo* e *in vitro*. Assim como Cunha e colaboradores (2016) demonstraram que FE reduziu as atividades da MPO, aumentou as concentrações de SOD e GSH e diminuiu as concentrações de NO e espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), dentre elas o malondialdeído (MDA), em modelos de inflamação aguda e crônica.

Tais achados corroboram aos nossos resultados e reforçam as evidências de que o ferulato de etila pode estar agindo na fase inflamatória do IPO.

Portanto, o aumento da motilidade intestinal demonstrado, atrelado aos efeitos anti-inflamatório e antioxidante, sugere que o Ferulato de etila oferece uma base para o desenvolvimento de um agente procinético que alivia disfunções da motilidade intestinal, sem afetar as estruturas gástricas, e que pode ser uma nova alternativa terapêutica para prevenção do Íleo Pós-Operatório. No entanto, mais estudos fazem-se necessários para melhor elucidação dos seus mecanismos de ação.

# **Conclusões**

---

## 6. CONCLUSÕES

- ✓ O ferulato de etila na dose de 50mg/Kg, via oral, aumenta o trânsito gastrointestinal sem causar retenção gástrica em camundongos.
- ✓ O efeito procinético do ferulato de etila se dá por ativação dos receptores muscarínicos e ativação indireta dos canais de cálcio dependentes de voltagem.
- ✓ No efeito procinético do ferulato de etila não há envolvimento serotoninérgico via ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub>.
- ✓ A interferência do ferulato de etila sobre os marcadores antioxidantes e sobre a mieloperoxidase pode ser benéfico para prevenção do íleo pós-operatório.
- ✓ No entanto, estudo adicionais devem ser realizados para maior elucidação de outras vias que possam estar envolvidas no mecanismo de ação do ferulato de etila, para que se torne uma alternativa segura para o tratamento de doenças que causam hipomotilidade intestinal e prevenção do IPO.

## **Referências**

---

## 7 REFERÊNCIAS

AKHLAQ, A.; MEHMOOD, M. H.; REHMAN, A.; ASHRAF, Z.; SYED, S.; BAWANY, S.A.; SIDDIQUI, B.S. The prokinetic, laxative, and antidiarrheal effects of *Morus nigra*: possible muscarinic, Ca<sup>2+</sup> channel blocking, and antimuscarinic mechanisms. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 8, p. 1362-1376, 2016.

ALBUQUERQUE, J.C.S. **Alterações na motilidade gastrintestinal no modelo de doença de Parkinson induzida por 6-OHDA em ratos**. Tese de Doutorado em farmacologia. Universidade Federal do Ceará. 2015.

ALEXANDER, S.P.H.; CHRISTOPOULOS, A.; DAVENPORT, A.P.; KELLY, E.; MARRION, N.V.; PETERS, J.A.; FACCENDA, E.; HARDING, S.D.; PAWSON, A.J. SHARMAN, J.L.; SOUTHAN C. The Concise Guide to PHARMACOLOGY 2017/18: G protein-coupled receptors. **Br J Pharmacol**. **174** Suppl 1: S17-S129, 2017.

AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 61, p. 10835–10847, 2013.

ANSELMINI, C.; CENTINI, M.; ANDREASSI, M.; BUONOCORE, A.; LA ROSA, C.; FACINO, R. M.; SEGA, A.; TSUNO, F. Conformational analysis: a tool for the elucidation of the antioxidant properties of ferulic acid derivatives in membrane models. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, p. 1241–1249, 2004.

ARAÚJO, T. S. L. Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex Heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, n. 1, p. 299-307, 2015.

AL-HASANI, R. BRUCHAS, M.R. Molecular Mechanisms of Opioid Receptor-Dependent Signaling and Behavior. **Anesthesiology**, v. 115, n. 6, p. 1363-1381, 2011.

AWE, E. O. et al. Antidiarrheal Activity of *Pyrenacantha staudtii* Engl. (Iccacinaceae) aqueous leaf extract in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 148-153, 2011.

BADARY, O.A.; AWAD, A.S.; SHERIEF, M.A.; HAMADA, F.M. In vitro and in vivo effects of ferulic acid on gastrointestinal motility: inhibition of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 12, n. 33, p. 5363, 2006.

BAKKALI, F; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BARNES, N.M.; ANDRADE, R.; BOCKAERT, J.; BUTLER, A.; HAMON, M.; HENSLER, J.; HERRICK-DAVIS, K.; HOYER, D.; MAROTEAUX, L.; 5-Hydroxytryptamine receptors, introduction. Last modified on 10/08/2015. Accessed on 19/02/2018. **IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY**.

BERRIDGE, M. J.; BOOTMAN, M. D.; RODERICK, H. Llewelyn. Calcium: Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 4, n. 7, p. 517, 2003.

BHARUCHA, A.E.; DORN, S.D.; LEMBO, A. American Gastroenterological Association medical position statement on constipation. **Gastroenterology**;v.144, n.1, p.211–7. 2013

BHARUCHA, A.E.; MIBBS, M.D. Gastrointestinal motility and functional disorders. **ACP Medicine**. 2013

BOECKXSTAENS, G.E.; DE JONGE, W.J. Neuroimmune mechanisms in postoperative ileus. **Gut**;v.58, p.1300-11. 2009

BOLLING, B. W.; JI, L.; LEE, C.; PARKIN, K. L. Dietary supplementation of ferulic acid and ferulic acid ethyl ester induces quinone reductase and glutathione-S-transferase in rats. **Food Chemistry**, vol. 124, pág. 1-6, 2011.

BOMBARDI, C.; GRANDIS, A.; GARDINI, A.; SORTENI, C.; CLAVENZANI, P.; CHIOCCHETTI, R. Expression of  $\beta 2$  adrenoceptors within enteric neurons of the horse ileum. **Research in veterinary science**, v. 95, n. 3, p. 837-845, 2013.

BRADLEY, P. P.; CRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**, v. 60, p. 618-622, 1982.

CAMILLERI, M. **Opioid-induced constipation: challenges and therapeutic opportunities**. Am J Gastroenterol. v.106, p.835–42, 2011;

CAMILLERI, M.; PARKMAN, H.P.; SHAFI, M.A.; ABELL, T.L.; GERSON, L. American College of Gastroenterology. Clinical guideline: management of gastroparesis. **Am J Gastroenterol**. v. 108, n.1, p. 18-37, 2013.

CAMILLERI, M. Pharmacological agents currently in clinical trials for disorders in neurogastroenterology. **The Journal of clinical investigation**. v. 123, n.10, p.4111-4120, 2013.

CAPASSO, F.; RUGGIERO, G.; DI-ROSA, M.; SORRENTINO, L. [Pharmacological research on a deethylate metabolite of 4-amino-5-chloro-N-(2-diethylaminoethyl)-2-methoxybenzamide (metoclopramide)]. **Boll Chim Farm**, v.115, p.649-657, 1976.

CATTERALL, W. A. Voltage-gated calcium channels. **Cold Spring Harbor Perspect in Biol.**, v. 11, p. 1-24, 2011.

COSTILLA, V.C.; FOXX-ORENSTEIN, A.E. Constipation - Understanding Mechanisms and Management . **Clin Geriatr Med** v.30, p.107–115. (2014)

CUNHA, F. V. M.; GOMES, S. B.; SOUSA-NETO, B.; FERREIRA, A. R.; SOUSA, D. P.; OLIVEIRA, F. A. Ferulic acid ethyl ester diminished Complete Freund's Adjuvant-induced incapacitation through antioxidant and anti-inflammatory activity. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 389, n. 1, p. 117-130, 2016.

CUNHA, F.V.M. **Ferulato de etila apresenta atividade anti-inflamatória via mecanismos antioxidantes, inibição da migração de neutrófilos e da liberação de citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$** . Dissertação de Mestrado em Farmacologia. Universidade Federal do Piauí. Teresina. 2015.

DAS, K., SAMANTA, L., CHAINY, G.B.N. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase using nitrite formation by superoxide radicals. IN **J Biochem Biophys**, v. 37, n. 3, p. 201-204, 2000.

DE BACKER, O.; ELINCK, E.; BLANCKAERT, B.; LEYBAERT, L.; MOTTERLINI, R.; LEFEBVRE, R.A Water-soluble CO-releasing molecules reduce the development of postoperative ileus via modulation of MAPK/HO-1 signalling and reduction of oxidative stress. **Gut** v.58,p. 347–356, 2009.

DELVAUX, M.; LOUVEL, D.; MAMET, J.P.; CAMPOS-ORIOLA, R.; FREXINOS, J. Effect of alosetron on responses to colonic distension in patients with irritable bowel syndrome. **Aliment Pharmacol Ther** v.12, p.849–855,1998.

DOMENICO, D.F.; PERLUIGI, M.; FOPPOLI, C.; BLARZINO, C.; COCCIA, R.; CINI, C. Protective effect of ferulic acid ethyl ester against oxidative stress mediated by UVB irradiation in human epidermal melanocytes. **Free Radical Research**, v. 43, n. 4, p. 365-375, 2009.

DONNERER, J.; LIEBMANN, I. Stimulus-evoked opioid inhibition in guinea-pig longitudinal muscle-myenteric plexus strip is modulated by NMDA receptors. **Neurosci Lett**. v.419, p.74. 2007.

DONNERER, J.; LIEBMANN, I. Evidence for opioid-induced release of glutamate in guinea pig longitudinal muscle-myenteric plexus strip. **Neurosci Lett**. v.462,p.118–20, 2009.

EHLERT, F.J.; OSTROM, R.S.; SAWYER, G.W. Subtypes of the muscarinic receptor in smooth muscle. **Life sciences**, v. 61, n. 18, p. 1729-1740, 1997.

EJSKJAER, N.; DIMCEVSKI, G.; WO, J.; HELLSTRÖM, P.M.; GORMSEN, L.C.; SAROSIEK, I. Safety and efficacy of ghrelin agonist TZP-101 in relieving symptoms in patients with diabetic gastroparesis: a randomized, placebo-controlled study. **Neurogastroenterol Motil**. v.22, p.1069–281, 2010.

FARRO, G.; GOMEZ-PINILLA, P. J.; DI GIOVANGIULIO, M.; STAKENBORG, N.; AUTERI, M.; THIJS, T.; BOECKXSTAENS, G. E. Smooth muscle and neural dysfunction contribute to different phases of murine postoperative ileus. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 28, n. 6, p. 934-947, 2016.

FARROKHYAR, F.; MARSHALL, J. K.; EASTERBROOK, B.; IRVINE, E. J. Functional gastrointestinal disorders and mood disorders in patients with inactive inflammatory bowel disease: prevalence and impact on health. **Inflammatory bowel diseases**, v. 12, n. 1, p. 38-46, 2006.

- FERNANDES, W. R. RODRIGUES, J. A.; MICHIMA, L. E. S.; SIQUEIRA, R.F. Avaliação do estresse oxidativo em cavalos de trote através da mensuração de malondialdeído (MDA) e glutatona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro , v. 32, n. 7, p. 677-680, July 2012 .
- FRAGA, P. L.; MARTINS, F.S.C. Doença do Refluxo Gastroesofágico: uma revisão de literatura. **Cadernos UniFOA**, v. 7, n. 18, p. 93-99, 2012.
- FROMMEYER, G.; FISCHER, C. ELLERMANN, C.; LANGE, P.S.; DECHERING, D.G, KOCHHÄUSER, S.; FEHR, M.; ECKARDT, L. Severe proarrhythmic potential of the antiemetic agents ondansetron and domperidone. **Cardiovasc Toxicol**. 2017.
- FURNESS, J.B. The enteric nervous system: normal functions and enteric neuropathies. **Neurogastroenterol Motil**, v. 20, n. 1, p.32-38, 2008.
- FURNESS, J. B. et al. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: Integrated local and central control. **Adv Exp Med Biol**, v. 817, p. 39-71, 2014.
- GALLACCI, M.; CORDELLINI, S. Fármacos Colinérgicos e Anticolinérgicos. **Farmacologia Integrada**, p. 151, 2016.
- GALLIGAN, J. AND AKBARALI, H. Molecular physiology of enteric opioid receptors. **Am J Gastroenterol** v.2,p.17–21, 2014.
- GALVÃO-ALVES, J. Constipação intestinal. **J. bras. med**, v. 101, n. 02, p. 31-37, 2013.
- GARRIDO, J.; GASPAR, A.; GARRIDO, M.; MIRI, R.; TAVAKKOLI, M.; POURALI, S.; SASO, L.; BORGES, F.; FIRUZI, O. Alkyl esters of hydroxycinnamic acids with improved antioxidant activity. **Biochimie**, vol. 94, p. 961-967, 2012.
- GAUTAM, R.; JACHAK, S. M. Recent developments in anti-Inflammatory natural products. **Medicinal Research Reviews**, vol. 29, n. 5, 767-820, 2009.
- GERSHON M.D. 5-hidroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract. **Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.** v.20,n.1,p.4-21. 2013
- GERSHON, M.D. Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome. **J Clin Gastroenterol** v.39, p.184–193, 2005.
- GERSHON, M.D.; TACK, J. The Serotonin Signaling System: From Basic Understanding To Drug Development for Functional GI Disorders. **Gastroenterology** v.132, p.397–414.2007;
- GIBBINS I. Functional organization of autonomic neural pathways. **Organogenesis**. v.9,n.169 – 175. 2013
- GIUDICESSI, J. R.; ACKERMAN, M. J.; CAMILLERI, M. Cardiovascular safety of prokinetic agents: A focus on drug-induced arrhythmias. **Neurogastroenterology & Motility**, 2018.

GRAU, M.; HENDGEN-COTTA, U. B.; BROUZOS, P.; DREXHAGE, C.; RASSAF, T.; LAUER, T.; DEJAMB, A.; KELM, M.; KLEINBONGARD, P. Recent methodological advances in the analysis of nitrite in the human circulation: Nitrite as a biochemical parameter of the l-arginine/NO pathway. **Journal of Chromatography B**, vol. 851, p. 106–123, 2007.

GOMEZ, J.; PARKMAN, H.P. Gastrointestinal motility and functional disorders. **ACP Medicine**. V.1,n.14, 2009.

GHOSH, S.; BASAK, P.; DUTTA, S.; CHOWDHURY, S.; SIL, P.C. New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 103, p. 41-55, 2017

GOULART, A.; MARTINS, S. Íleo paralítico pós-operatório: fisiopatologia, prevenção e tratamento. 2010. **Rev Port Coloproct.**; v.7,n.2, p.60-67, 2010.

GRAY, J.R . What is chronic constipation? Definition and diagnosis. **Can J Gastroenterol**; v.25 Suppl B, p. B-10, 2011

GREEN, L. C., WAGNER, D. A., GLOGOWSKI, J., SKIPPER, P. L., WISHNOK, J. S., & TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15 N] nitrate in biological fluids. **Anal biochem**, v. 126, n. 1, p. 131-138, 1982.

HARMATHA, J; ZÍDEK, Z; KMONÍČKOVÁ, E; ŠMIDRKAL, J. Immunobiological properties of selected natural and chemically modified phenylpropanoids. **Interdisciplinary Toxicology**. vol. 4, n. 1, p. 5–10, 2011.

HENNEMANN-KRAUSE, L. Aspectos práticos da prescrição de analgésicos na dor do câncer. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 11, n. 2, 2012

HONS I.M.; STORR M.A.; MACKIE K.; LUTZ B.; PITTMAN Q.J.; MAWE M.; SHARKEY,K.A. Plasticity of mouse enteric synapses mediated through endocannabinoid and purinergic signaling. **Neurogastroenterol Motil.**; v.24,n.3, p. 113–24. 2013.

IWATA, H.; TSUCHIYA, S.; NAKAMURA, T.; YANO, S. Morphine leads to contraction of the ileal circular muscle via inhibition of the nitrergic pathway in mice. **Eur J Pharmacol**. V.574, p.66–70, 2007.

JESUS, F. R.; DINIZ, J. C. prevalência da constipação intestinal em idosos: uma associação aos seus fatores desencadeadores. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n. 2, 2017.

KAHRILIS, P.J.; PANDOLFINA, J.E. Esophageal Neuromuscular Function and Motility Disorders. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, editors. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/ Diagnosis/ Management. Philadelphia: Elsevier, 2010: 677-704

KAJI, N.; NAKAYAMA, S.; HORIGUCHI, K.; IINO, S.; OZAKI, H.; HORI, M. Disruption of the pacemaker activity of interstitial cells of Cajal via nitric oxide contributes to postoperative ileus. **Neurogastroenterology & Motility**, 2018.

KAKINO, M.; IZUTA, H.; TSURUMA, K.; ARAKI, Y.; SHIMAZAWA, M.; ICHIHARA, K.; HARA, H. Laxative effects and mechanism of action of Brazilian green propolis. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 12, n. 1, p. 192, 2012.

KALFF, J.C.; SCHRAUT, W.H.; SIMMONS, R.L.; BAUER, A.J. Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in postsurgical ileus. **Ann Surg** v.28, p.652–663, 1998.

KALFF, J.C.; CARLOS, T.M.; SCHRAUT, W.H.; BILLIAR, T.R.; SIMMONS, R.L. Surgically induced leucocytic infiltration within the rat intestinal muscularis mediates postoperative ileus. **Gastroenterol** v.117, p.378–387, 1999.

KARAMAĆ, M.; KOLEVA, L.; KANCHEVA, V. D.; AMAROWICZ, R. The Structure–Antioxidant Activity Relationship of Ferulates. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 527, 2017.

KOH, P.O. Ferulic acid modulates nitric oxide synthase expression in focal cerebral ischemia. **Laboratory animal research** v.28, p.273-278, 2012.

KOCH, K. L.; BITAR, K.N.; FORTUNATO, J.E. Tissue engineering for neuromuscular disorders of the gastrointestinal tract. **World Journal of Gastroenterology**, 18(47), 2012.

KORKINA, L. G. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. **Cellular and Molecular Biology**, vol. 53, n. 1, p. 15-25, 2007.

KUSANO, M.; HOSAKA, H.; KAWADA, A.; KURIBAYASHI, S.; SHIMOYAMA, Y.; ZAI, H.; KAWAMURA, O.; YAMADA, M. Gastrointestinal motility and functional gastrointestinal diseases. **Curr Pharm Des.**;v.20,n.16, p.2775-82, 2014..

LACY, B.E.; WEISER, K. Gastrointestinal motility disorders: an update. **Digestive diseases**, v. 24, n. 3-4, p. 228-242, 2006.

LACY, B. E.; HUSSAIN, Z. H.; MEARIN, F. Treatment for constipation: New and old pharmacological strategies. **Neurogastroenterol Motil.** v.26,p.749–763, 2014.

LIES, B.; GRONEBERG, D.; FRIEBE, A. Toward a better understanding of gastrointestinal nitrergic neuromuscular transmission. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 26, n. 7, p. 901-912, 2014.

LI, H.; HE, T.; XU, Q.; LI, Z.; LIU, Y.; LI, F.; LIU, C. Z.. Acupuncture and regulation of gastrointestinal function. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 21, n. 27, p. 8304, 2015.

LI, Z. S.; SCHMAUSS, C.; CUENCA, A.; GERSHON M,D.; Physiological modulation of intestinal motility by enteric dopaminergic neurons and the D2 receptor: analysis of

dopamine receptor expression, location, development, and function in wild-type and knock-out mice. **J Neurosci**, v. 26, n. 10, p. 2798-2807, Mar 2006.

LI, C.; ZHOU, H. The Role of Manganese Superoxide Dismutase in Inflammation Defense. **Enzyme Research**, vol. 2011, p. 01-06, 2011.

LI Y-Y, CAO M-H, GOETZ B, CHEN C-Q, FENG Y-J et al. The dual effect of cannabinoid receptor-1 deficiency on the murine postoperative ileus. **PloS one**, v. 8, n. 7, p. e67427, 2013.

LUBOS, E.; KELLY, N. J.; OLDEBEKEN, S. R.; LEOPOLD, J. A.; ZHANG, Y.; LOSCALZO, J.; HANDY, D. E. Glutathione peroxidase-1 (GPX-1) deficiency augments proinflammatory cytokine-induced redox signaling and human endothelial cell activation. **The Journal of Biological Chemistry**, vol. 286, n. 41, p. 35407–35417, 2011.

LUGRIN, J.; ROSENBLATT-VELIN, N.; PARAPANOV, R.; LIAUDET, L. The role of oxidative stress during inflammatory processes. **Biological Chemistry**. Vol. 395, n. 02, p. 203–230, 2014.

LUSHCHAK, V.I. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions, **J. Amino Acids** , p.1–26, 2012.

MANCUSO, C.; SANTANGELO, R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 185-195, 2014.

MARQUES, A.C. **inibição do transito gastrintestinal por antipsicoticos: estudo experimental da clozapina**. Tese de Doutorado em farmacologia. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2015

MATOS, J.F. **Estudo da motilidade gástrica em ratas prenhes diabéticas**. Dissertação de Mestrado em Biologia Geral e Aplicada. Universidade Estadual de São Paulo. Botucatu, 2015.

MATSUMOTO, K., UMEMOTO, H., MORI, T., AKATSU, R., SAITO, S., TASHIMA, K.; HORIE, S. Differences in the morphine-induced inhibition of small and large intestinal transit: Involvement of central and peripheral  $\mu$ -opioid receptors in mice. **European journal of pharmacology**, v. 771, p. 220-228, 2016.

MAWE, G.M.; HOFFMAN, J.M. Serotonin signalling in the gut—functions, dysfunctions and therapeutic targets. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 10, n. 8, p. 473, 2013.

MEERVELD, B.G.V. Emerging drugs for postoperative ileus. **Expert opinion on emerging drugs**, v. 12, n. 4, p. 619-626, 2007.

MEERVELD, B.G.V.; KRIEGSMAN, M. ; NELSON, R. Ghrelin as a target for gastrointestinal motility disorders. **Peptides**, v.32,p. 2352–2356, 2011.

MEERVELD, B.G.V.; TYLER, K.; MOHAMMADI, E.; PIETRA, C. Efficacy of ipamorelin, a ghrelin mimetic, on gastric dysmotility in a rodent model of postoperative ileus. **Journal of experimental pharmacology**, v. 4, p. 149, 2012.

MIHARA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical Biochemistry**, v. 86, p. 271-278, 1978.

MORAIS, T.C.; LOPES, S.C.; CARVALHO, K.M.M.B.; ARRUDA, B.R.; SOUZA, F.T.C.; TREVISAN, M.T.S.; SANTOS, F.A. Mangiferin, a natural xanthone, accelerates gastrointestinal transit in mice involving cholinergic mechanism. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 18, n. 25, p. 3207, 2012.

MORAIS, T.C. **Efeito procinético da Mangiferina, isolada de Mangifera indica L., em camundongos**. Tese de Doutorado em farmacologia. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2015.

MORAIS, T. C.; ARRUDA, B.R.; MAGALHÃES, H.S.; TREVISAN, M.T.S.; VIANA, D.A.; RAO, V.S.; SANTOS, F.A. Mangiferin ameliorates the intestinal inflammatory response and the impaired gastrointestinal motility in mouse model of postoperative ileus. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 388, n. 5, p. 531-538, 2015.

MUELLER, M.H.; KARPITSCHKA, M.; GAO, Z.; MITTLER, S.; KASPAREK, M.S. Vagal Innervation and Early Postoperative Ileus in Mice. **J Gastrointest Surg** v.15, p.891–900. 2011.

NADAL, J. M. **Desenvolvimento tecnológico, caracterização e avaliação in vitro e in vivo de sistemas poliméricos contendo ácido ferúlico**. Tese de doutorado em ciências farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2016.

NAGASAKA, R.; CHOTIMARKORN, C.; SHAFIQU, I.; HORI, M.; OZAKI, H.; USHIO, H. Anti-inflammatory effects of hydroxycinnamic acid derivatives. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 358, p. 615–619, 2007.

NELSON, A. D.; CAMILLERI, M. Opioid-induced constipation: advances and clinical guidance. **Therapeutic advances in chronic disease**, v. 7, n. 2, p. 121-134, 2016.

NENADIS, N.; ZHANG, H.; TSIMIDOU, M. Z. Structure-antioxidant activity relationship of ferulic acid derivatives: effect of carbon side chain characteristic groups. **Jornal of Agriculture Food and Chemistry**. Vol. 51, p. 1874-1879, 2003.

NIKI, E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. **Free Radical Biology & Medicine**, vol. 47, p. 469–484, 2009.

NIMMO, W.S. Effect of anaesthesia on gastric motility and emptying. **Br J Anaesthesia**, n.56, p.29-36,1984.

NIU, C.; SHENG, Y.; ZHU, E.; JI, L.; WANG, Z. Ferulic acid prevents liver injury induced by Diosbulbin B and its mechanism. **Bioscience trends**, v. 10, n. 5, p. 386-391, 2016.

NUSSBAUM, C.; KLINKE, A.; ADAM, M.; BALDUS, S.; SPERANDIO, M. Myeloperoxidase: a leukocyte-derived protagonist of inflammation and cardiovascular disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.18, n.6, p.692–713 (2013).

OLIVON, E.V.; COSTA, J.J.; MACHADO, A.D.; CHAUD, D.M.A.; ABREU, E.S. Prevalência e fatores associados à constipação intestinal funcional em universitários. **Ciência & Saúde**, v. 9, n. 3, p. 150-155, 2016.

OLSSON C.; HOLMGREN S. **The control of gut motility**. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 2001; 128: 481-503.

OJHA, S.; JAVED, H.; AZIMULLAH, S.; ABUL KHAIR, S.B.; HAQUE, M.E.; Neuroprotective potential of ferulic acid in the rotenone model of Parkinson's disease. **Drug design, development and therapy**, v. 9, p. 5499, 2015.

OUYANG, H.; CHEN, J.D.Z. Therapeutic roles of acupuncture in functional gastrointestinal disorders. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v.20, n.8, p.831-841, 2004.

PATIERNO, S.; ZELLALEM, W.; HO, A.; PARSONS, C.G.; LLOYD, K.C.; TONINI, M. N-methyl-D-aspartate receptors mediate endogenous opioid release in enteric neurons after abdominal surgery. **Gastroenterology**. v.128, p.2009–19, 2005.

PAVAN, V. **Efeito da digestão gastrintestinal e fermentação colônica in vitro na atividade antioxidante e no perfil de carboidratos das frutas jaca e araticum (Artocarpus heterophyllus e Annona marcgravii)**. Dissertação (Mestrado em ciências dos alimentos). Universidade Estadual de Campinas. 2015.

QUIGLEY, E.M. Prokinetics in the Management of Functional Gastrointestinal Disorders. **Current gastroenterology reports**, v. 19, n. 10, p. 53, 2017.

RAMIREZ, A.; JORGE, A.; ANDREW, G.; MCINTOSH, A.; ROBERT-STREHLOW, A.; VALERIE, A.; LAWRENCE, B.; ROBERT S. S. Definition, Incidence, Risk Factors, and Prevention of Paralytic Ileus Following Radical Cystectomy: A Systematic Review. **European Urology** v.64, p.588 – 597, 2013.

RAO, S. S.; RATTANAKOVIT, K.; PATCHARATRAKUL, T. Diagnosis and management of chronic constipation in adults. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 13, n. 5, p. 295, 2016.

RAO, S.S. Advances in diagnostic assessment of fecal incontinence and dyssynergic defecation. **Clin Gastroenterol Hepatol** 2010; 8: 910-919.

REGNARD, G. et al. Loperamide: Therapeutic Reviews. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 42, n. 2, p. 319-323, 2011.

REN, Z.; ZHANG, R.; LI, Y.; LI, Y.; YANG, Z.; YANG, H. Ferulic acid exerts neuroprotective effects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via

antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in vitro and in vivo. **International journal of molecular medicine**, v. 40, n. 5, p. 1444-1456, 2017.

REYNELL, P. C.; SPRAY, G. H. The simultaneous measurement of absorption and transit in the gastrointestinal tract of the rat. **Journal of Physiology**, v. 15, n. 1, p. 361-371, 1978.

RYCHTER, J.; CLAVÉ, P. Intestinal inflammation in postoperative ileus: pathogenesis and therapeutic targets. **Gut**, 62, 1534–1535 (2013).

SÁ, R. C. S, ANDRADE, L. N, OLIVEIRA, R. R. B., SOUSA, D. P. A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. **Molecules**, vol. 19, p. 1459-1480, 2014.

SAHA L. Irritable bowel syndrome: Pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. **World J Gastroenterol**, v.20,p.6759-73, 2014

SBAHI, H.; CASH, B.D. Chronic constipation: a review of current literature. **Current gastroenterology reports**, v. 17, n. 12, p. 47, 2015.

SCAPAGNINI, G.; BUTTERFIELD, A.; COLOMBRITA, CI.; SULTANA, R.; PASCALE, A.; CALABRESE, V. Ethyl Ferulate, a Lipophilic Polyphenol, Induces HO-1 and Protects Rat Neurons Against Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, vol. 6, n. 5, p, 811-818, 2004.

SCHEY, R.; SAADI, M.; MIDANI, D.; ROBERTS, A.C.; PARUPALLI, R.; PARKMAN, H.P. Domperidone to treat symptoms of gastroparesis: benefits and side effects from a large single-center cohort. **Digestive Disease Sciences**.v.61,p.:3545–51, 2016.

SCHILLER, L. R. Chronic diarrhea. **Current Treatments Options in Gastroenterology**, v. 8, n. 3, p. 259-266, 2005.

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, R.C.M. **Relações produtoras do cuidado em práticas com plantas medicinais na estratégia de saúde da família em Juazeiro-Bahia**. Tese de Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016.

SOBCZAK, M.; SAŁAGA, M.; STORR, M. A.; FICHNA, J. Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract: current concepts and future perspectives. **Journal of gastroenterology**, v. 49, n. 1, p. 24-45, 2014.

STEVERDING, D.; NÓBREGA, F. R.; RUSHWORTH, S. A.; SOUSA, D. P. Trypanocidal and cysteine protease inhibitory activity of isopentyl caffeate is not linked in *Trypanosoma brucei*. **Parasitology research**, v. 115, n. 11, p. 4397-4403, 2016.

STOFFELS, B.; TÜRLER, A.; SCHMIDT, J.; NAZIR, A.; TSUKAMOTO, T.; MOORE, B.A.; SCHNURR, C.; KALFF, J.C.; BAUER, A.J. Anti-inflammatory role of glycine in reducing rodent postoperative inflammatory ileus. **Neurogastroenterology & Motility**. v.1, p.6-87. 2011

SULTANA, R. Ferulic acid ethyl ester as a potential therapy in neurodegenerative disorders. **Biochimica et Biophysica Acta**, vol. 1822, p. 748–752, 2012.

TACK, J.; QUIGLEY, E.M.M.; CAMILLERI, M. Efficacy and safety of oral prucalopride in women with chronic constipation in whom laxatives have failed: an integrated analysis. **UEG Journal**. v.1, p:48–9. 2013.

TAN, S.; YU, W.; LIN, Z.; CHEN, Q.; SHI, J.; DONG, Y.; DUAN, K.; BAI, X.; XU, L.; LI, J.; LI, N. Peritoneal air exposure elicits an intestinal inflammation resulting in postoperative ileus. **Mediators of Inflammation**, Volume 2014 (2014).

TANAHASHI, Y.; WAKI, N.; UNNO, T.; MATSUYAMA, H.; IINO, S.; KITAZAWA, T.; KOMORI, S. Roles of M2 and M3 muscarinic receptors in the generation of rhythmic motor activity in mouse small intestine. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 25, n. 10, 2013.

TOBIN, G.; GIGLIO, D.; LUNDGREN, O. Muscarinic receptor subtypes in the alimentary tract. **Acta physiologica Polonica**, v. 60, n. 1, p. 3, 2009.

TOPOROVSKI, M.S. Drogas procinéticas não devem ser prescritas rotineiramente para o tratamento de doença do refluxo gastroesofágico em Pediatria. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 3, p. 232-235, 2009.

TÖRNBLOM, H.; SIMRÉN, M.; ABRAHAMSSON, H. Gastrointestinal motility and neurogastroenterology. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 50, n. 6, p. 685-697, 2015

TSAI, Y.C.; LEE, Y.M.; HSU, C.H.; LEU, S.Y.; CHIANG, H.Y.; YEN, M.H.; CHENG, P.Y. The effect of ferulic acid ethyl ester on leptin-induced proliferation and migration of aortic smooth muscle cells. **Experimental & molecular medicine**, v. 47, n. 8, p. e180, 2015.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 12, p. 40-53, 2012.

UNICEF. (2015). UNICEF e OMS lançam relatório sobre diarreia, a segunda maior causa de mortalidade infantil. Disponível em: <[http://unicef.org/brazil/pt/media\\_16165.htm](http://unicef.org/brazil/pt/media_16165.htm)>. Acessado em: 30 de fevereiro de 2018.

VAN-BREE, S.; NEMETHOVA, A.; VAN BOVENKAMP, F.S.; GOMEZ-PINILLA, P.; ELBERS, L.; GIOVANGIULIO, M.D.; MATTEOLI, G.; VAN-VLIET, J.; CAILOTTO, C.; VATHER, R.; TRIVEDI, S.; BISSETT, I. Defining Postoperative Ileus: Results of a Systematic Review and Global Survey. **J Gastrointest Surg** (2013) 17:962–972.

VANNUCCHI, H., MOREIRA, E. A., DA CUNHA, D. F., JUNQUEIRA-FRANCO, M. V., BERNARDES, M. M., & JORDÃO-JR, A. A. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 31, n. 1, p. 31-44, 1998.

VASCONCELOS, L.H.C. **A ação relaxante do flavonoide 4', 5, 7-triidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, isolado de Piptadenia stipulacea (Benth.) Ducke, envolve modulação positiva de canais de potássio e redução dos níveis citosólicos de cálcio em íleo de cobaia.** Dissertação de mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2013.

VATHER, R.; O'GRADY, G.; BISSETT, I.P.; DINNING, P.G. Postoperative ileus: mechanisms and future directions for research. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v. 41, n. 5, p. 358-370, 2014.

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

VENARA, A. et al. Postoperative ileus: pathophysiology, incidence, and prevention. **Journal of visceral surgery**, v. 153, n. 6, p. 439-446, 2016.

VISCUSI, E. R.; GAN, T. J.; LESLIE, J. B.; FOSS, J. F.; TALON, M. D.; WEI, D.; OWENS, G. Peripherally Acting Mu-Opioid Receptor Antagonists and Postoperative Ileus: Mechanisms of Action and Clinical Applicability. **Anesthesia and analgesia**, v. 108, n. 6, p. 1811-1822, 2009.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, vol. 03, n 1, p. 2–20, 2010.

WGO - World Gastroenterology Organization Practice Guidelines. Síndrome do intestino irritável: uma perspectiva mundial; 2015. Disponível em:<[http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/WGO\\_2015\\_IrritablebowelsyndromelBS\\_Portuguese\\_Final.pdf](http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/WGO_2015_IrritablebowelsyndromelBS_Portuguese_Final.pdf)>. Acesso em 06 março de 2018

WEGENER, J. W.; SCHULLA, V.; KOLLER, A.; KLUGBAUER, N.; FEIL, R.; HOFMANN, F. Control of intestinal motility by the Cav1. 2 L-type calcium channel in mice. **The FASEB journal**, v. 20, n. 8, p. 1260-1262, 2006.

WILLIAMS, J., INGRAM, S., HENDERSON, G., CHAVKIN, C., VON ZASTROW, M., SCHULZ, S. Regulation of mu-opioid receptors: desensitization, phosphorylation, internalization, and tolerance. **Pharmacol Review** v.65, p. 223–254, 2013

WO, J.M.; EJSKJAER, N.; HELLSTRÖM, P.M.; MALIK, R.A.; PEZZULLO, J.C.; SHAUGHNESSY, L. Randomised clinical trial: ghrelin agonist TZIP-101 relieves gastroparesis associated with severe nausea and vomiting—randomised clinical study subset data. **Aliment Pharmacol Ther.** 2011;33:679–88.

YIN, J.; CHEN, J.D.Z. Gastrointestinal motility disorders and acupuncture. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 157, n. 1, p. 31-37, 2010.

ZHANG, B.; CAO, A.; ZHOU, J.; HU, Z.; WU, D. Effect of jatrorrhizine on delayed gastrointestinal transit in rat postoperative ileus. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 3, p. 413-419, 2012.

ZHANG, Y.J.; HUANG, X.; WANG, Y.; XIE, Y.; QIU, X.J.; REN, P.; QIAO, M.Q. Ferulic acid-induced anti-depression and prokinetics similar to Chaihu–Shugan–San via polypharmacology. **Brain research bulletin**, v. 86, n. 3-4, p. 222-228, 2011.

ZHANG, L.; AL-SUWAYEH, S. A.; HSIEHC, P.; FANG, J. A comparison of skin delivery of ferulic acid and its derivatives: Evaluation of their efficacy and safety. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 399, p. 44–51, 2010.

ZHANG, P-X.; LIN, H.; QU, C.; TANG, Y-P.; LI, N-G.; KAI, J.; SHANG, G.; LI, B.; ZHANG, L.; YAN, H.; LIU, P.; DUAN, J-A. Design, synthesis, and in vitro antiplatelet aggregation activities of ferulic acid derivatives. **Journal of Chemistry**, v. 20, p.1– 7, 2015.

# Anexo



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550  
Telefone (86) 3215-5734 \_e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação do efeito pró-cinético do Ferulato de etila em roedores**", registrada nº **297/17**, sob a responsabilidade da **Profa. Dra. ROSIMEIRE FERREIRA DOS SANTOS** do Departamento de Farmacologia/CCS/UFPI que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data **05/05/2017**.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	Junho/ 2017 à Novembro/ 2017
Espécie/Linhagem/raça	Camundongo heterogênico/ swiss
Nº de Animais	308
Peso/ Idade	25-30g
Sexo	Machos ou Fêmeas
Origem	Biotério de Manutenção de Animais Destinados a Experimentação- BIOTÉRIO SETORIAL.

Teresina, 05 de Maio de 2017.

  
Prof<sup>a</sup>. Ivete L. de Mendonça  
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI  
Coordenadora

Ass:   
12/05/17

