UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

# EFEITO CICATRIZANTE DE MEMBRANAS CONTENDO EXTRATOS DE *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos* EM FERIDAS ABERTAS EM MODELO ANIMAL

**MARIA CECÍLIA MENDONÇA DE ARAÚJO ALVES**

Aracaju/Se
Março – 2018

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

# EFEITO CICATRIZANTE DE MEMBRANAS CONTENDO EXTRATOS DE *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos* EM FERIDAS ABERTAS EM MODELO ANIMAL

Tese de Doutorado submetido à banca examinadora para obtenção do título de Doutor em Saúde e Ambiente na área de concentração Saúde e Ambiente.

**MARIA CECÍLIA MENDONÇA DE ARAÚJO ALVES**

**Isabel Bezerra Lima-Verde, D.Sc.**

**Juliana Cordeiro Cardoso, D.Sc.**

Orientadoras

**Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior, D.Sc.**

Co-orientador

Aracaju/Se
Março – 2018

A474e

Alves, Maria Cecília Mendonça de Araújo

Efeito cicatrizante de membranas contendo extratos de stryphnodendron adstringens e abarema cochliacarpos em feridas abertas em modelo animal / Maria Cecília Mendonça de Araújo Alves; orientação [de] Prof. D.Sc. Isabel Bezerra Lima-Verde, Prof.ª D.Sc. Juliana Cordeiro Cardoso – Aracaju: UNIT, 2018.

135 f. il.: 30cm

Tese (Doutorado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, 2018
Inclui bibliografia.

SIB- Sistema Bibliotecas Integrado de

1. Membranas. 2. Stryphnodendron adstringens. 3. Abarema cochliacarpos. 4. Galocatequina. 5. Catequina. I. Alves, Maria Cecília Mendonça de Araújo. II. Lima-Verde, Isabel Bezerra. (orient.). III. Cardoso, Juliana Cordeiro. (orient.). IV - Universidade Tiradentes. V. Título.

CDU: 614:504

**EFEITO CICATRIZANTE DE MEMBRANAS CONTENDO EXTRATOS DE *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos* EM FERIDAS ABERTAS EM MODELO ANIMAL**

**Maria Cecília Mendonça de Araújo Alves**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDO À BANCA EXAMINADORA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM SAÚDE E AMBIENTE, NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO SAÚDE E AMBIENTE**

**Aprovada por:**

Isabel Bezerra Lima-Verde, D.Sc
Orientadora

Juliana Cordeiro Cardoso, D.Sc
Orientadora

Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior, D.Sc.
Co-orientador

João Carlos Palazzo de Mello, D.Sc
Universidade Estadual de Maringá

Margarete Zanardo Gomes, D.Sc
Universidade Tiradentes

Paula Santos Nunes, D.Sc
Universidade Federal de Sergipe

Silvana Vieira Floresta Gomes, D.Sc
Universidade Tiradentes

Adriana Karla de Lima, D.Sc
Universidade Tiradentes (Suplente externo)

Edna Aragão Farias Cândido, D.Sc
Universidade Tiradentes (Suplente interno)

ARACAJU
Março – 2018

*Você nunca sabe que resultados virão da sua ação.*
*Mas, se você não fizer nada, não existirão resultados.*

*Mahatma Gandhi*

*Dedicatória*

*À Matheus,*

*meu filho, que amo tanto,*
*pelos cálculos matemáticos e estatísticos, tabelas e gráficos.*
*Pela escuta atenta, apoio, paciência, solidariedade,*
*amparo, desprendimento, solicitude, disponibilidade, carinho e amor*
*ao longo desses anos e por todas as vezes que ouvi "tenha Fé".*

*Você me emociona!*

**Agradecimentos**

Agradeço especialmente a **Deus** por todas as oportunidades e bondade que tem me proporcionado!

À rede de proteção e solidariedade a mim estendida através de pessoas especiais. Ratifico a importância de cada uma nos diferentes momentos durante o desenvolvimento do Doutorado. Muito obrigada! Sem vocês não teria sido possível.

À **Marcos, Gabriel e Matheus** que ao longo desses quatro anos toleraram minhas ausências, foram solidários me apoiando e protegendo. Deus os proteja e ilumine! E a **Ruffles** 🐾, fiel escudeiro da família. Amo vocês!

Aos meus pais **Arlete e Cosme** que com seus exemplos e orientações me ensinaram a trilhar o caminho do bem. Amo-os!

Aos meus irmãos **Carlos Alberto, Ana Valéria, Charles, Marcos, Marcia, Patrícia e Ana Carolina,** por me proporcionarem tantas alegrias tatuando de esperança o meu coração. Por permitirmos ser pueris quando estamos juntos. Eu sou a soma de todos nós. Amo-os!

Aos queridos **Genilton, Dayse, Ivone, Rosana, Antônio, Valmir, Michel e Regis** pelos momentos de descontração, pela estima e consideração.

Aos estimados **seu Antônio e D. Terezinha ♥, Jorge, Martinha e Gaucho, Augusto e Valéria, Carlinhos ♥ e Tereza, Vilma e Gustavo, Vandy e Gladston, Penha e Marcone ♥,** pelo constante carinho, alegrias e também dores compartilhadas ao longo de tantos anos. Vocês são muito importantes para mim!

À minha orientadora, **Profª Dra. Isabel Bezerra Lima-Verde,** que gentilmente me recebeu em seu laboratório e acreditou que esse momento seria possível. Sou

eternamente grata pelos seus questionamentos e ensinamentos e por todas as palavras de apoio. Bel, que você seja muito feliz na nova fase da sua vida! Muito obrigada!

À minha orientadora, **Profª Dra. Juliana Cordeiro Cardoso,** que desde o primeiro contato incentivou e me encheu de esperança com seu otimismo e meiguice. Foi sensível e incansável nas avaliações, orientações e de muita paciência. Ju, que você seja sempre inspiração! Obrigada por ser luz, sem você não seria possível. Deus te proteja e guie.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior,** por me acolher, esclarecer dúvidas e por suas ponderações quando eu quis mudar a linha de pesquisa. Pelo equilíbrio nos momentos de tensão, escuta atenta, palavras de incentivo e carinho. Por toda atenção e delicadeza nas análises cuidadosas das lâminas histológicas e no texto. Muito obrigada!

À **Profª Dra. Cláudia Moura de Melo,** que coordenou com maestria o Curso até o ano de 2017. Obrigada pela atenção constante!

À **Profª Dra. Margarete Zanardo Gomes**, por sua educação que inspira, sua serenidade, sinceridade e lucidez nas orientações durante as bancas nos seminários. Desejo boa sorte na Coordenação do Curso. Muito obrigada!

À **Profª Dra. Cristiane Costa da Cunha Oliveira,** que gentilmente, após informar que não poderia me orientar, disponibilizou o telefone da Profª Isabel. Obrigada Cris!

Ao **Prof. Dr. João Carlos Pallazo de Mello,** da Universidade Estadual de Maringá, pelo interesse e ajuda no desenvolvimento da nossa pesquisa. Obrigada pela disponibilidade e por facilitar a realização dos experimentos.

À **Dra. Daniela Cristina de Medeiros,** da Universidade Estadual de Maringá, foram muitos os telefonemas e mensagens. Obrigada pelo apoio e respostas rápidas nos resultados dos experimentos, pela confiança depositada, pelos esclarecimentos nas dúvidas.

Ao **Prof. Dr. Paulo de Souza Rabelo,** da Universidade Federal de Sergipe, por suas reflexões cuidadosas, sinceras, ensinamentos e estímulo. Obrigada por torcer e acreditar!

À **Profª Dra. Marla Ibrahim** pela delicadeza e explicações para a correta coleta do material e depósito no Herbário da Universidade Tiradentes.

Aos docentes: **Profª Dra. Andressa Sales Coelho, Prof. Dr. Diego Freitas Rodrigues, Profª Dra. Edna Aragão Farias Cândido, Profª Dra. Francine Ferreira Padilha, Prof. Dr. Francisco Prado Reis, Prof. Dr. Luiz Pereira da Costa, Prof. Dr. Marcos Antonio Almeida Santos, Profª Dra. Maria Nogueira Marque, Profª Dra. Marlizete Maldonado Vargas, Prof. Dr. Ricardo Massato Takemoto, Prof. Dr. Rodrigo Yude Fujimoto, Prof. Dr. Rubens Riscala Madi, Profª Dra. Sônia Oliveira Lima, Profª Dra. Verônica de Lourdes Sierpe Jeraldo,** à vocês meu respeito e admiração por dividirem saberes e práticas.

Minha eterna gratidão ao trio maravilhoso, as "Santas Amigas": **Dra. Bernadeth Moda de Almeida (Berna), Dra. Marismar Fernandes Nascimento (Maris) e Dra. Rose Nely Pereira-Filho (Nely),** vocês deram leveza e me ajudaram a transcorrer esse caminho com menos percalços. Cada uma com suas características se fizeram **Anjos** para mim. Gratidão é a palavra!

**Berna,** seu apoio foi primordial. Obrigada pelas dicas, pela leitura minuciosa e cuidadosa dos meus textos, por me receber carinhosamente na sua residência e por acreditar.

**Maris,** você é um ser de luz! Me acolheu e me ensinou. Sou eternamente grata e testemunha da sua disponibilidade e incansável vontade em ajudar a mim e tantos outros colegas. Obrigada pela contribuição na elaboração da tese, artigo e patente. Pelas discussões madrugada adentro. Deus te abençoe e proteja!

**Nely,** obrigada pelo cuidado na confecção das lâminas, palavras de incentivo e carinho sempre presente.

Obrigada a **Kátilla Monique Costa** pela imprescindível ajuda, empenho e disponibilidade e a **Syone Feitosa** pelo apoio e palavras de carinho. Vocês são filhas que a vida me presenteou.

Aos alunos de iniciação científica pela imprescindível ajuda: **Rafael Yuri, Caroline Olinda, Amanda de Jesus, Fernanda Lucena, Renata Morais, Afonso Dória, Luciano Maia, Polyana Rezende.** Vocês são incríveis!

Aos funcionários do Biotério da Universidade Tiradentes pela solicitude no atendimento, especialmente a **Marcos e Carlos e ao veterinário Dr. Júlio César Santana** pela preocupação em agilizar a liberação dos animais.

Aos veterinários **Anderson Kleber Silva Ramos e Sônia Habib Mendonça Leite Costa** pela ajuda na compra dos anestésicos para o uso na confecção das feridas nos ratinhos.

Agradeço toda a atenção dos queridos **Andrea, Bruno, Camila, Daniele, Lennon, Rafael Valois, Danielle Souza, Mayanna, Beatriz, Reynaldo, Juliana Passos, Marcelle, Maria Fernanda, Sheilla, Eliane, Kaynna e Roneval,** pelo carinho e colaboração em tantos momentos que precisei.

Às colegas de curso **Simone Guedes, Fanildes Moraes, Ângela Alves e Viviane Fernandes** pelo carinho e apoio.

Ao querido **Francisco de Assis Almeida** pela paciência e disponibilidade na leitura das lâminas.

Aos colegas do Laboratório de Biomateriais, **Daviane, Rejane, Alessandra, Alessa, Thiago, Andriele, Isabelle, Thaís, Monise, Bruno e Dani** pelo apoio e gentileza.

Aos funcionários do Instituto de Tecnologia e Pesquisa especialmente **Ila Natielle,** pela rica ajuda na busca nos sites de patentes e disposição em atender sempre com bom humor e presteza.

Aos colegas do Núcleo de Controle Avaliação Auditoria e Regulação da Secretaria Municipal de Saúde de Aracaju: **Adriana Nolasco, Ana Lúcia Carvalho, Antônio Augusto Santana, Carla Garcêz, Erenita Alves, Jalcira Izidro, Joselires Carneiro, Luzineide Modesto, Marco Aurélio Prado e Vera Mendonça** pela solidariedade em tantos momentos.

Às queridas **Vera Mendonça e Rejane Andrade,** obrigada pelas palavras de conforto, incentivo e escuta atenta.

Às minhas amigas do Grupo Celebration: **Ana, Clara, Cleide, Dora, Lívia, Lourdinha, Marta, Neia, Ortência,** vocês são o máximo!

Aos colegas do Instituto de Promoção e de Assistência à Saúde de Servidores do Estado de Sergipe – IPESAÚDE, especialmente **Érica Carvalho, Géssica Castro, Elma Cristina Carvalho e Wolney Maciel** pelo carinho e atenção.

À dona **Ana Chaves da Silva** que gentilmente nos recebeu e permitiu a coleta do barbatimão em sua propriedade e a **Carmem Lucia Pinheiro,** agente comunitária de saúde, pela solicitude e apoio na coleta do material.

Aos inocentes **Ratinhos** que tiveram suas vidas interrompidas em prol da ciência.

À Universidade Tiradentes – **UNIT** e demais parcerias com: Universidade Estadual de Maringá – **UEM**, à Universidade Federal de Sergipe – **UFS**, ao Instituto de Tecnologia e Pesquisa – **ITP**, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - **CAPES**, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – **CNPq**, à Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe - **FAPITEC/SE,** por todo o apoio.

Aos que se dedicaram com afinco para a implantação e implementação do **Programa de Saúde e Ambiente da Universidade Tiradentes.** Sinto-me orgulhosa em fazer parte dos discentes da **primeira turma do Doutorado.** O Curso que hoje encerro trouxe experiências extremamente gratificantes tanto profissional quanto humana.

Por fim, agradeço carinhosamente aos componentes da banca de Defesa da Tese: **Dra. Margarete Zanardo Gomes, Dr. João Carlos Pallazo de Mello, Dra. Paula Nunes, Dra. Silvana Floresta, Dra Juliana Cordeiro Cardoso**. Obrigada pela rica contribuição!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO ..... 23
2. OBJETIVOS ..... 25
2.1. Geral ..... 25
2.2. Específicos ..... 25
3. REVISÃO DE LITERATURA ..... 26
3.1. Feridas ..... 26
3.2. Cicatrização da pele ..... 28
3.3. Fases do processo de reparo cicatricial ..... 29
*3.3.1. Fase Hemostática e Inflamatória ..... 30*
*3.3.2. Fase Proliferativa ..... 30*
*3.3.3. Fase de Remodelação ..... 31*
*3.3.4. Classificação quanto ao tipo de cicatrização ..... 31*
3.4. Tratamentos de feridas ..... 32
*3.4.1. Desbridamento ..... 34*
*3.4.2. Tratamento medicamentoso ..... 35*
3.5. Curativos e coberturas ..... 37
3.6. Membranas poliméricas e caracterização ..... 38
*3.6.1. Propriedades mecânicas ..... 40*
*3.6.2. Permeabilidade ao vapor d'água ..... 41*
*3.6.3. Índice de intumescimento ..... 41*
*3.6.4. Colorimetria ..... 41*
*3.6.5. Microscopia eletrônica de varredura ..... 42*
*3.6.6. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier- (FTIR) ..... 42*
*3.6.7. Análise termogravimétrica (TG/DTG) ..... 43*
3.7. Produtos Naturais no tratamento de feridas ..... 43
3.8. *Stryphnodendron adstringens* ..... 46
*3.8.1. Aspectos químicos da espécie Stryphnodendron adstringens ..... 48*
*3.8.2. Aspectos biológicos do Stryphnodendron adstringens ..... 49*
3.9. *Abarema cochliacarpos* ..... 51
*3.9.1. Aspectos químicos de A. cochliacarpos ..... 53*
*3.9.2. Aspectos biológicos dos extratos de A. cochliacarpos ..... 54*
3.10. Extração do material vegetal ..... 55
*3.10.1. Métodos de extração ..... 55*
*3.10.2. Caracterizações dos extratos (CLAE, DPPH e FRAP) ..... 56*
4. MATERIAL E MÉTODOS ..... 58
4.1. Prospecção de patentes ..... 58
4.2. Material botânico e obtenção da matéria-prima ..... 58

4.3. Obtenção dos extratos de *S. adstringens* e de *A. cochliacarpos* ..... 58
*4.3.1. Extração por maceração dinâmica (MD) ..... 59*
*4.3.2. Extração por turbo extração (TE) ..... 60*
*4.3.3. Determinação do rendimento dos extratos ..... 60*
4.4. Caracterização dos Extratos ..... 60
*4.4.1. Determinação da capacidade antioxidante ..... 60*
4.4.1.1. Poder antioxidante por DPPH ..... 60
4.4.1.2. Poder antioxidante de redução do ferro – FRAP ..... 61
*4.4.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ..... 62*
4.4.2.1. Preparo da amostra ..... 62
4.4.2.2. Condições cromatográficas ..... 62
4.4.2.3. Curva de calibração por padrão externo ..... 63
*4.4.3. Identificação dos constituintes por CLAE-MS ..... 63*
4.5. Desenvolvimento de membranas poliméricas ..... 64
4.6. Caracterizações das membranas poliméricas ..... 65
*4.6.1. Avaliação macroscópica ..... 65*
*4.6.2. Propriedades mecânicas ..... 65*
*4.6.3. Permeabilidade ao vapor d'água ..... 65*
*4.6.4. Índice de intumescimento ..... 66*
*4.6.5. Análise colorimétrica ..... 67*
*4.6.6. Morfologia microestrutural - MEV ..... 67*
*4.6.7. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 67*
*4.6.8. Análise termogravimétrica (TG/DTG) ..... 68*
4.7. Ensaio biológico de cicatrização *in vivo* ..... 68
*4.7.1. Submissão do projeto de pesquisa ao Comissão de Ética ..... 68*
*4.7.2. Procedimento cirúrgico ..... 68*
*4.7.3. Determinação do índice de retração das feridas ..... 69*
*4.7.4. Remoção dos espécimes e procedimentos histológicos / histoquímicos ..... 70*
*4.7.5. Análise morfológica do perfil evolutivo do processo de reparo ..... 71*
*4.7.6. Análise da deposição colagênica ..... 72*
4.8. Análise estatística ..... 72
5. RESULTADOS ..... 74
5.1. Prospecção de patentes ..... 74
5.2. Avaliação do processo extrativo ..... 75
*5.2.1. Rendimento ..... 75*
5.3. Caracterização do extrato ..... 76
*5.3.1. Atividade antioxidante ..... 76*
5.4. Análise química – Cromatografia líquida de alta eficiência CLAE-MS e CLAE-DAD de *S. adstringens* (SA) e *A. cochliacarpos* (AC) ..... 77

5.5. Caracterização das membranas ..... 80
*5.5.1. Avaliação macroscópica ..... 80*
*5.5.2. Colorimetria ..... 81*
*5.5.3. Propriedades mecânicas e permeabilidade ..... 81*
*5.5.4. Índice de intumescimento ..... 82*
*5.5.5. Morfologia microestrutural (MEV) ..... 83*
*5.5.6. Análise termogravimétrica (TG) ..... 84*
*5.5.7. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 86*
5.6. Ensaio biológico ..... 86
*5.6.1. Índice de retração da ferida ..... 87*
*5.6.2. Análises histomorfológicas da reação inflamatória..... 88*
*5.6.3. Análise da gradação histológica do processo de reparo cicatricial dérmico (HE) 92*
*5.6.4. Análise da gradação histológica do processo de reparo cicatricial dérmico Picrossírius ..... 93*
6. DISCUSSÃO ..... 98
7. CONCLUSÃO ..... 111
8. REFERÊNCIAS ..... 112

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Tipos de desbridamento. ..... 35
Quadro 2: Principais coberturas utilizadas em curativos nos serviços de saúde do Brasil. .. 36
Quadro 3: Espécies que possuem ação cicatrizante. ..... 45
Quadro 4: Escores histopatológicos para análise do perfil evolutivo morfológico do processo de reparo cicatricial cutâneo. ..... 72

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Sistema de gradiente linear..... 63
Tabela 2. Características macroscópicas observadas nas membranas GEL, GELSA e GELAC. ..... 80
Tabela 3. Valores médios dos parâmetros de cor obtidos na análise colorimétrica em plano de fundo branco das membranas GEL, GELSA e GELAC..... 81
Tabela 4: Propriedades das membranas GEL, GELSA e GELAC..... 82
Tabela 5: Parâmetros térmicos da termodecomposição das membranas. ..... 85

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1: Fases do processo de cicatrização com predominância dos componentes da matriz cicatricial ao longo do tempo (dias). ..... 29
Figura 2: Mapa com distribuição geográfica do *Stryphnodendron adstringens* no Brasil. ..... 46
Figura 3: Aspecto visual de *Stryphnodendron adstringens*: (A) Árvore, (B) Folhas, (C) Flor, (D) Sementes. Fonte: Lorenzi, 2002. ..... 47
Figura 4: Estruturas químicas dos metabólitos secundários do *S. adstringens*. ..... 49
Figura 5: Mapa de distribuição geográfica do *Abarema cochliacarpos* no Brasil. ..... 51
Figura 6: Aspecto visual da árvore da *Abarema cochliacarpos*: (A) Árvore, (B) Semente, (C) Folhas, (D) Flor. ..... 52
Figura 7: Estruturas químicas de metabólicos encontrada na *A. cochliacarpos*. ..... 53
Figura 8: Etapas metodológicas após preparação dos extratos de AC e SA ..... 59
Figura 9: Equipamento fotográfico distando 20 cm de altura da lesão no dorso do animal (1). Imagem fotográfica da lesão de diâmetro 8 mm. (2) Delimitação da área da ferida em amarelo por meio da aplicação ferramenta *mumford shah/canny* da guia *plug in* e (3) exibição da mensuração da ferida avaliada no *software* E.A.R. Research Project para obtenção das imagens e avaliação do índice de retração das feridas do ensaio experimental. ..... 70
Figura 10: (A) Rendimentos dos extratos de *Stryphnodendron adstringens* (SA) e *Abarema cochliacarpos* (AC) pelo método de turbo extração (TE) e maceração dinâmica (MD) apresentando diferença significativa (*p<0,05); (B) Rendimentos dos extratos de SA e AC por TE apresentando diferença significativa (**p<0,05). Teste t (p<0,05). ..... 76
Figura 11: Avaliação do potencial antioxidante pelos métodos DPPH (A) e FRAP (B) do extrato de *Abarema cochliacarpos* por turboextração (AC-TE) e maceração dinâmica (AC-MD). ***p<0,001. Teste t (p<0,05). ..... 76
Figura 12: Extratos AC e SA obtidos por turbo extração e avaliados pelos métodos DPPH (A) e FRAP (B). **p<0,01. Teste t para p<0,05. ..... 77
Figura 13: Perfil cromatográfico de SA-TE, apresentando as substâncias majoritárias presentes no extrato hidroacetônico. ..... 78
Figura 14: Perfil cromatográfico de AC-TE, apresentando as substâncias majoritárias presentes no extrato hidroacetônico. ..... 78
Figura 15: Curvas analíticas da galocatequina e epigalocatequina. ..... 79
Figura 16: Curvas analíticas da catequina e epicatequina. ..... 79
Figura 17: Fotografias da membrana de gelatina - GEL (A), membrana de gelatina contendo extrato de *S. adstringens* - GELSA (B) e membrana de gelatina contendo extrato de *A. cochliacarpos* – GELAC (C). ..... 80

Figura 18: Índice de intumescimento das membranas. GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens;* GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos.* ..... 82
Figura 19: Micrografias da superfície e da secção transversal de GEL (A e B); micrografia de superfície e secção transversal de GELSA - membrana com extrato de *S. adstringens* (C e D) e micrografia de superfície e secção transversal de GELAC - membrana com extrato de *A. cochliacarpos* (E e F). ..... 84
Figura 20: (A) Termogramas das membranas GEL, GELAC e GELSA, em temperatura de até 500 °C. (B) Curva DTG das membranas GEL, GELSA e GELAC. GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens;* GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos.* ..... 85
Figura 21: (A) Espectro de absorção de infravermelho para membranas GEL, GELAC e GELSA GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos* e (B) aproximação dos espectros em (A) na região das bandas entre 1800 $cm^{-1}$ a 650 $cm^{-1}$. ..... 86
Figura 22: Fotografias dos aspectos das feridas dérmicas durante a avaliação do índice de retração dos grupos: CTR (controle sem cobertura), GEL (cobertura com membrana de gelatina), GELSA (membrana de gelatina com extrato de *S. adstringens*) e GELAC (membrana de gelatina com extrato de *A. cochliacarpos)*, nos tempos de 0, 3, 7 e 14 dias de confecção da ferida. ..... 87
Figura 23: Determinação dos índices médios de retração das feridas dos animais experimentais ao longo do período de (A) 3, (B) 7 e (C) 14 dias. Os dados são expressos de forma que letras iguais representam que não há diferença significativa e letras diferentes re representam que não há diferença significativa e letras diferentes representam diferença de p<0,001 (ANOVA e pós-teste de múltiplas comparações de Tukey). ..... 88
Figura 24: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE representativas do processo de reparo em 3 dias. CTR apresenta infiltração inflamatória rica em polimorfonucleares neutrófilos associada a intenso edema intersticial (100 ×); em destaque observa-se a presença de leucócitos polimorfonucleares neutrófilos (núcleos lobulados pequenos) e linfócitos (núcleos redondos escuros) (400 × e 800 ×). GEL e GELSA apresentam edema e infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos superficiais e reação de granulação bastante imatura na base da ferida (100 ×), enquanto que GELAC apresenta maior celularidade fusocelular da reação de granulação; em destaque, nos três grupos, células fusiformes estromais que compõem a reação de granulação (400 × e 800 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*; ED – edema intersticial; PMN – polimorfonucleares

neutrófilos; RG – reação de granulação. ..... 89
Figura 25: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE representativas do processo de reparo em 7 dias. Todos os grupos apresentam reação de granulação exuberante ocupando a área de reparo. CTR exibe uma faixa de reação de granulação que se estende da hipoderme à superfície da ferida ("cima a baixo"), enquanto em GEL, esta ocupa aproximadamente 2/3 superficiais da profundidade da área lesada (100 ×). Em GELSA e GELAC a faixa de reação de granulação ocupa aproximadamente 1/3 da extensão em profundidade da área lesada (100 ×). Em destaque, observa-se detalhe das células da reação de granulação, constituídas de células fusiformes e inflamatórias em CTR e GEL, mas essencialmente fusocelular em GELSA e GELAC (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*; RG – reação de granulação; seta pontilhada – espessura, em profundidade, da faixa de reação de granulação. ..... 91
Figura 26: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE representativas do processo de reparo em 14 dias. CTR exibe reação de granulação residual disposta em faixa superficial ainda bem vascularizada e áreas de epitelização incompleta (100 ×). (400 ×). GEL exibe reação de granulação residual também ricamente vascularizada, mas com epitelização completa (100 ×). GELSA e GELAC apresentam cicatriz fibrosa imatura, hipovascularizada e ricamente celularizada (100 ×). Notas formação de brotamentos (*buddings*) epiteliais marginais compatíveis com anexos cutâneos rudimentares em GELAC (setas). Em destaque, evidencia-se detalhes das células fusiformes e vasos capilares compondo a reação de granulação residual em CTR e GEL e do componente fusocelular predominante na cicatriz fibrosa imatura em GELSA e GELAC (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens;* GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*; RG – reação de granulação; EP – epitélio pavimentoso estratificado queratinizado (epitelização); CFI – cicatriz fibrosa imatura; (*) – área de desnudamento do tecido conjuntivo resultante de epitelização incompleta. ..... 92
Figura 27: Escores médios do perfil evolutivo do processo de reparo cicatricial em ratos submetidos a tratamento com membranas contendo extrato de SA e extrato de AC. Dados expressos como média ± erro padrão da média. Letras iguais representam que não há diferença significativa (p>0,05), letras diferentes representam diferença significativa p<0,001. ..... 93
Figura 28: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em picrosirius e analisadas sob luz polarizada representativas do processo de reparo em 3 dias. Todos os grupos apresentam presença de fibrilas delgadas e curtas de colágeno com birrefringência amarelo e amarelo

esverdeada compatível com colágeno tipo III, disposta em padrão reticular; os espaços interfibrilares (escuros) se mostraram amplos e abundantes (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*. ..... 94
Figura 29: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em picrosirius e analisadas sob luz polarizada representativas do processo de reparo em 7 dias. Todos os grupos apresentam presença de fibrilas delgadas e curtas de colágeno com birrefringência amarelo esverdeada compatível com colágeno tipo III, intercaladas com fibras mais espessas com birrefringência dourada, consistentes com colágeno tipo I, disposta em padrão predominantemente reticular em CTR e GEL, mas com áreas paralelas (especialmente na profundidade da ferida) em GELSA e GELAC; os espaços interfibrilares (escuros) se mostraram notadamente menores, mas ainda abundantes (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*. ..... 95
Figura 30: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em picrosirius e analisadas sob luz polarizada representativas do processo de reparo em 14 dias. Todos os grupos apresentam presença de fibras mais espessas e de comprimento variável de colágeno com birrefringência dourada e avermelhada, consistentes com colágeno tipo I, disposta em padrão predominantemente paralelo à superfície da ferida; os espaços interfibrilares (escuros) se mostraram bastante reduzidos (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos.* ..... 96
Figura 31: Escores médios de densidade de colagenização disposta nas secções histológicas do processo de cicatrização de feridas abertas em 3, 7 e 14 dias (Sirius Red/luz polarizada, ampliação de 400x). Letras iguais representam que não há diferença significativa, letras diferentes representam diferença significativa com $p<0,05$ (Teste One-way ANOVA seguido do teste de Tukey). ..... 97
Figura 32:Exsicata de *Stryphnodendron adstringens*. ..... 133
Figura 33: Exsicatas de *Abarema cochliacarpos*..... 134
Figura 34: Declaração da Comissão de Ética no uso de animais. ..... 135

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES

| | |
|---|---|
| AC | *Abarema cochliacarpos* |
| ABTS | 2,20-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónicoácido |
| CEUA | Comissão de Ética no Uso de Animais |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| CONCEA | Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal |
| CRT | Controle, sem tratamento |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidrazila |
| ESI | Espectroscopia de ionização |
| ESA | Extrato de *Stryphnodendron adstringens* |
| EAC | Extrato de *Abarema cochliacarpos* |
| FNT | Fator de Necrose Tumoral |
| FTIR | Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de *Fourier* |
| GEL | Membrana de gelatina |
| GELAC | Membrana de gelatina com extrato de *Abarema cochliacarpos* |
| GELSA | Membrana de gelatina com extrato de *Stryphnodendron adstringens* |
| INPI | Instituto Nacional da Propriedade Industrial |
| MD | Maceração dinâmica |
| MEC | Matriz Extracelular |
| MS | Ministério da Saúde |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| OPAS | Organização Pan-Americana de Saúde |
| TEAC | Capacidade antioxidante equivalente Trolox |
| TE | Turbo extração |
| SA | *Stryphnodendron adstringens* |

**RESUMO**

O *Stryphnodendron adstringens* (SA) é uma espécie de distribuição ampla no cerrado e a *Abarema cochliacarpos* (AC) é encontrada em florestas costeiras, caatinga, cerrado e campos rupestres. Ambas são popularmente conhecidas como barbatimão e utilizadas por seu efeito medicinal cicatrizante, anti-inflamatório, antiulcerogênico, antimicrobiano e gastroprotetor. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito cicatrizante de membranas contendo extratos de SA e AC em feridas abertas em modelo animal. Inicialmente foi realizada uma prospecção de patentes para avaliar o caráter inovador do produto proposto. Foram obtidos extratos de ambas as espécies e caracterizados quanto a sua atividade antioxidante pelo método de DPPH e FRAP e quimicamente por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE. Para avaliar o potencial cicatrizante dos extratos, foram elaboradas membranas de gelatina contendo ou não extratos de SA e AC. As membranas foram caracterizadas quanto às propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor d`água, índice de intumescimento, colorimetria, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia por infravermelho e termogravimetria. A atividade cicatrizante foi realizada utilizando as membranas em feridas abertas de ratos *Wistar*. Foi determinado o índice de retração da ferida, além da avaliação do processo inflamatório e colagenização tecidual por meio de corte histológicos corados com hematoxilina-eosina e picrossírius, respectivamente. Como resultado da busca de patentes, foram encontradas 15 patentes que envolviam os extratos estudados neste trabalho e nenhuma utilizando membranas poliméricas para veiculação dos extratos. O rendimento da extração foi superior a 30% em todas as condições extrativas estudadas, sendo que todos os extratos obtidos apresentaram atividade antioxidante com $IC_{50}$ entre 10 a 20 µg/mL e FRAP entre 4 e 6 mmolTrolox/g. A avaliação cromatográfica identificou os seguintes compostos majoritários: nos extratos de SA foi encontrado a galocatequina, epigalocatequina e O-metilepigalocatequina e nos extratos de AC, a catequina, dímeros de procianidinas, di-O-hidróxido, O-desoxihexosi-hexosido e epicatequina. As membranas contendo extrato de SA (GELSA) foram mais rígidas, com coloração mais intensa, porém menos espessas, com estrutura mais compactada e poucos poros. As membranas contendo extrato de AC (GELAC) apresentaram perfil mecânico semelhante a membrana de gelatina (GEL), com maior permeabilidade ao vapor d'agua. As membranas GELAC e GELSA apresentaram perfis de termodegradação similares, assim como os espectros de FTIR. Em relação a performance cicatricial das membranas em modelo animal, foi observado que houve uma melhora na cicatrização especialmente nas feridas tratadas com as membranas contendo os extratos. Quando comparadas com GEL, as membranas GELSA e GELAC apresentaram elevados índices de retração das feridas com valores em torno de 60% e 80%, em três e sete dias, respectivamente. Os resultados observados no presente estudo mostram que os extratos presentes nas membranas ricas em epigalocatequinas (GELSA) e catequinas (GELAC) promoveram aceleração nas etapas do processo de cicatrização observadas através da presença de reação de granulação na profundidade das feridas. Esses dados indicam que os compostos presentes no barbatimão possuem atividades biológicas sobre o processo de reparo. Quanto à deposição de colágeno, os animais de todos os grupos demostraram padrões similares. Os resultados encontrados na busca de patentes demonstram que as membranas com extratos SA e AC representam uma inovação tecnológica. Conclui-se que os extratos das espécies estudas possuem atividade antioxidante, as membranas compostas por estes extratos (GELSA e GELAC) possuem proposta inovadora de formulação farmacêutica, são estáveis, incorporaram os componentes químicos das espécies estudadas e o seu uso foi capaz de acelerar o processo cicatricial de feridas abertas em modelo murino, pela menor intensidade da reação inflamatória, devido a presença de compostos como catequina e epigalocatequina.

Palavras chaves: membranas; *Stryphnodendron adstringens; Abarema cochliacarpos*; galocatequina; catequina.

**ABSTRACT**

*Stryphnodendron adstringens* (SA) is a wide distribution species within cerrado type vegetation, and *Abarema cochliacarpos* (AC) is found in coastal forests, caatinga, cerrado and rupestrian fields. Both are known as barbatimão and it has medicinal purposes, such as: healing, antiulcerogenic, antimicrobial, gastroprotective and anti-inflammatory effects. The objective of this work is to evaluate the healing effect of membranes containing SA and AC extracts in open wounds from animals. Initially a patent prospection was carried out to evaluate the innovative character of the proposed product. For this, extracts of both species were obtained and their antioxidant activity was characterized through DPPH and FRAP methods and chemically by a high performance liquid chromatography (HPLC). To evaluate the healing potential of the extracts, gelatin membranes containing or not extracts of SA and AC were elaborated. Membranes were characterized for mechanical properties, water vapor permeability, swelling index, colorimetry, scanning electron microscopy, infrared spectroscopy and thermogravimetry. The healing activity was performed using the membranes on open wounds of Wistar rats. The wound retraction index was determined, as well as evaluation of the inflammatory process and tissue collagenation by histological sections stained with hematoxylin-eosin and picrosirius, respectively. As a result of patent search, only 15 patents were found that involved the extracts studied in this work and none using polymer membranes to convey the extracts. The extract yield was superior to 30% in all extractive conditions studied, and all extracts showed antioxidant activity with $IC_{50}$ between 10 and 20 µg/mL and FRAP between 4 and 6 mmolTrolox/g. The chromatographic evaluation identified the following major compounds in the SA extracts: gallocatechin, epigallocatechin and 0-methyl-epigallocatechi; and in the SA extracts the catechin, procyanidins dimers, di-O-hydroxide, O-deoxyhexosihexoside and epicatechin were found. Membranes containing SA extracts (GELSA) were more rigid, with a more intense coloration, but less thick, with a more compacted structure and few pores. Membranes containing AC extracts (GELAC) presented a similar mechanical profile as the gelatin membrane (GEL), with a higher permeability to water vapor. GELAC and GELSA membranes presented a similar thermo-degradation profile as well as FTIR spectra. Regarding the cicatricial performance of the membranes in the animal model, it was observed that there were improvements in the healing process, especially in wounds treated with membranes containing extracts. Compared to GEL, GELSA and GELAC membranes had high rates of wound retraction with values around 60% and 80% in three and seven days, respectively. The results observed in this work show that extracts present in membranes rich in epigallocatechin (GELSA) and catechin (GELAC) promoted an acceleration in the healing process observed through the presence of the granulation reaction deep in the wound. These data show that the compounds in the barbatimão have promising biological activities in the repairing process. Regarding the collagen deposition, animals from every group presented similar patterns. According to the results found in the patents search, they show that the membranes with SA and AC extracts present a technological innovation. It can be concluded that the extracts from the species studied presents antioxidant activity, the membranes composed by these extracts (GELSA and GELAC) possess a pharmaceutical formulation with innovative proposal, are stable, incorporated the chemical compounds from the studied species and its usage was able to accelerate the healing process of open wounds in murine model with a lesser inflammatory reaction due to catechin and epigallocatechin presence.

Key words: membranes; *Stryphnodendron adstringens; Abarema cochliacarpos*; gallocatechin; catechin.

# 1. INTRODUÇÃO

A cronicidade das feridas não cicatrizadas, úlceras e queimaduras gera impactos socioeconômicos e são consideradas grave problema de saúde pública (RAMOS et al., 2015). Jung et al. (2015) e Das, Baker (2016), afirmam que nos EUA as feridas crônicas têm uma prevalência de 2% na população, o que representa um grande consumo financeiro para o sistema de saúde: (são mais de US$ 25 bilhões a cada ano). Embora os dados brasileiros não sejam precisos, Rocha et al., (2015) estimam que quase 3% da população nacional apresentam algum tipo de ferida na pele.

Há no mercado muitos produtos utilizados para a cicatrização de lesões dérmicas (XIE et al., 2015). Adicionalmente aos fármacos tradicionais, os fitoterápicos associados com biomateriais podem ser uma alternativa benéfica para o tratamento de feridas em diferentes fases da cicatrização proporcionando um menor tempo cicatricial e conforto ao paciente (PRIYA et al., 2002). Os biomateriais são cada vez mais utilizados no desenvolvimento de produtos para tratamentos em saúde, como os desenvolvidos para a ortopedia (VAISHYA et al., 2017), odontologia (HARUN et al., 2017), cardiologia (LEE et al., 2015) e no cuidado de feridas (ENRIONE et al., 2017).

Os produtos existentes no mercado têm como propósito menor tempo de recuperação proporcionando mais conforto para o paciente e, no caso da cicatrização de feridas, o reestabelecimento estrutural da pele com cicatriz funcional e esteticamente satisfatória, a exemplo de membranas poliméricas produzidas à base de gelatina contendo ácido úsnico (NUNES et al., 2011), própolis vermelha (ALBUQUERQUE-JUNIOR et al., 2009; SOUZA et al., 2013) e *Punica granatum* (NASCIMENTO et al., 2015), que apresentaram resultados promissores na reparação tecidual e contração da ferida. Elas se caracterizam por veicular compostos ativos, possuir fixação eficaz à pele lesada, serem absorvível no leito da ferida e não gerarem resíduos.

Mediante os diversos estudos etnobotânicos, o *Stryphnodendron adstringens* é a única espécie de barbatimão reconhecida pelo Ministério da Saúde. Esta espécie está inserida na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS – RENISUS (BRASIL, 2006), e é recomendada no formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira como cicatrizante na forma farmacêutica de creme (ANVISA, 2011), fazendo dessa espécie de barbatimão a mais estudada. Aos extratos da casca do caule estão atribuídas algumas ações biológicas como: hemostática (HERNANDES et al., 2010; LIMA et al., 2010), antibacteriana e anti-inflamatória (AUDI et al., 2004; FERREIRA et al., 2005; COSTA et al., 2011; PEREIRA et al., 2015), antioxidante (SOUZA et al., 2009).

O nome popular barbatimão também é utilizado em referência à espécie *Abarema*

*cochliacarpos* que é correlata do gênero (BRASIL, 2014). Estudos apontam para o seu efeito anti-inflamatório, cicatrizante (SILVA et al., 2009; DIAS et al., 2012) e antioxidante (BENAVENTE-GARCIA et al., 2000; SKOTTI et al., 2014).

A atividade cicatrizante do barbatimão, tanto da espécie *Stryphnodendron adstringens* descritas por: (PANIZZA et al., 1988; EURIDES et al., 1995; MARTINS et al., 2003; LOPES et al., 2005; RABELO et al., 2006; MENDONÇA e MORÃES, 2008; DA SILVA et al., 2009; HERNANDES et al., 2010; LIMA et al., 2010; MINATEL et al., 2010; PEREIRA et al., 2015) quanto da *Abarema cochliacarpos* descritas por (SILVA et al., 2009; DIAS et al., 2012) instigou esta pesquisa no intuito de elaborar um produto (membranas à base de gelatina), composto por seus extratos, para ser testado *in vivo* avaliando o processo cicatricial em feridas dérmicas.

Esse produto se constitui numa alternativa promissora na minimização dos sinais e sintomas inflamatórios e, consequentemente, no auxílio do processo de reparo de feridas que cicatrizam por segunda intenção. São também favoráveis devido a facilidade de aquisição dos espécimes vegetais, o preparo simples, esterilização viável e rapidez na obtenção. As formulações desenvolvidas são reprodutíveis, com perspectiva de serem processadas em escala industrial e posterior comercialização com baixo custo e fácil acessibilidade (DE JESUS et al., 2016).

# 2. OBJETIVOS

## 2.1. Geral

Desenvolver e avaliar o potencial cicatrizante de membranas contendo extrato de *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos* na cicatrização dérmica experimental *in vivo*.

## 2.2. Específicos

- ✓ Identificar o caráter inovador da proposta de formulação apresentada;
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos extratos das duas espécies de barbatimão, obtidos por diferentes métodos de extração;
- ✓ Identificar e quantificar os principais marcadores químicos presentes nos extratos das duas espécies de barbatimão, obtidos por turboextração;
- ✓ Desenvolver e caracterizar membranas contendo extratos das duas espécies de barbatimão quanto as suas propriedades físicas e físico-químicas;
- ✓ Avaliar a atividade cicatrizante de membranas contendo extratos das duas espécies de barbatimão no tratamento de feridas abertas em modelo murino.

# 3. REVISÃO DE LITERATURA

## 3.1. Feridas

O ferimento cutâneo, de qualquer origem, é uma alteração anatômica da pele que afeta sua fisiologia, especialmente quando acomete a camada dérmica (ISAAC et al., 2010). As feridas são resultantes da ruptura da integridade cutânea, representa uma violação das barreiras de defesa natural e encoraja a invasão por microorganismos (KUMAR, LEAPER, 2008), sua cicatrização é um fenômeno complexo, ativo e ordenado que inclui níveis de disposições, interação entre células e sistemas mensageiros e tem por finalidade formar um tecido de estrutura e função semelhantes às da pele íntegra (ALAN et al., 2016).

Os tipos comuns de feridas incluem úlceras por pressão e arteriais, insuficiência venosa, irritação química decorrente de incontinência ou vazamento de conteúdo gástrico, dermatite por fungos, responsável por infecções frequentes e que retornam sempre para a mesma área e úlceras diabéticas que causa neuropatia periférica. Para prevenir complicações é importante identificar a localização, tempo e características da ferida, por exemplo, as úlceras de pressão parcial ou total que se localizam sobre proeminências ósseas. Feridas decorrentes de insuficiente retorno venoso nas extremidades inferiores por isquemia, trombose ou varizes (KUMAR, LEAPER, 2008; VOWDEN, VOWDEN, 2017; WANG et al., 2018.

As causas para o aparecimento de uma ferida são diversas o que influencia sua morfologia, história natural e cuidados. As feridas agudas geralmente são decorrentes de trauma ou inflamação e curam dentro de seis semanas. Já as feridas crônicas possuem características e associações patológicas que inibem ou atrasam a cura. Quando são simples, as feridas envolvem a pele e tecido subcutâneo, sem perda significativa de tecidos e sem qualquer complicação. Geralmente quando há perda de tecidos ou desvitalização do mesmo, comunicação com a cavidade interna do corpo, como as fístulas, as decorrentes de laparatomias, quando atingem estruturas ou órgãos vitais, são consideradas complexas e, estão associadas a complicações como por exemplo infecção e síndrome compartimental (VOWDEN; VOWDEN, 2017; WANG et al., 2018).

Danos mecânicos, exposição a produtos químicos, inflamação podem comprometer a integridade da pele causando ferimentos. As feridas podem representar não apenas a ruptura da pele e do tecido subcutâneo, em alguns casos músculos, tendões e ossos são acometidos podendo causar no organismo uma inflamação local ou sistêmica (DEVRIENDT; ROOSTER, 2017). As feridas são classificadas quanto a etiologia ou agente causal, grau de contaminação e comprometimento tecidual determinado pela complexidade e tempo de existência (SMANIOTTO et al. 2012). A localização e formato da ferida estão associados à etiologia.

Elas podem ser incisivas ou cirúrgica, quando são produzidas por instrumento cortante, contusas, nesse caso, há a presença de traumatismo das partes moles, hemorragias e edemas e lacerantes, provocadas por tração evidenciando rasgo ou arrancamento tecidual e as feridas perfurantes, caracterizadas por lesões predominantemente profundas (TAZIMA et al., 2008).

Quanto ao grau de contaminação, as feridas podem ser limpas, com baixa probabilidade de infecção pois não há sinais de infecção e não atingem tratos respiratório, digestivo, genital ou urinário. Nas limpa-contaminadas houve contato com os tratos respiratório, digestivo, urinário e genital. Nesses casos, apesar da infecção estar controlada, há o risco de acontecer. As feridas contaminadas podem ocorrer dentro do ambiente hospitalar (por falhas em técnicas assépticas, quando estas não foram respeitadas) ou fora (ferimentos com mais de seis horas de trauma ou contaminados com fezes e terra). Por fim, as feridas infectadas, aquelas com sinais de infecção (TAZIMA et al., 2008; COUTO et al., 2009).

As feridas também são classificadas pelo comprometimento tecidual. Nesses casos elas são divididas por estágios que vai de I ao IV seguindo uma progressão gradual de implicações. No estágio I, a epiderme é comprometida, mas não há perda tecidual. No estágio II, há perda tecidual, a epiderme ou derme ou ainda, ambas, foram comprometidas. Já no estágio III, o estado da ferida está mais agravado pois, houve comprometimento total da pele com necrose de tecido subcutâneo, no entanto, nesse estágio a fáscia muscular é poupada. No IV e último estágio, pode ocorrer lesão muscular e óssea com necrose tissular atingindo destruição em extensa área do tecido (TAZIMA et al., 2008; COUTO et al., 2009; BRASIL, 2013).

A cicatrização de feridas é um processo fisiológico importante para manter a integridade da pele (WANG et al., 2018). Ela ocorre mesmo sem interferência medicamentosa (PANOBIANCO et al., 2012; GOULD et al., 2015) após um trauma por acidente ou por um procedimento necessário, como uma cirurgia (WANG et al., 2018). Alguns fatores contribuem para que o processo cicatricial não ocorra naturalmente a exemplo das doenças vasculares, diabetes, estado nutricional e infecções (ROCHA, et al. 2015; GOULD et al., 2015). Esses fatores influenciam para a cronicidade da ferida, que ocorre quando o fechamento excede o perídodo de três meses e o tratamento se torna um grande desafio terapêutico (ALMEIDA et al., 2018). A utilização correta dos produtos disponíveis influencia positivamente o curso da cicatrização de feridas, podendo reduzir potenciais complicações (SEN et al., 2009; DAS, BAKER, 2016).

### 3.2. Cicatrização da pele

A pele humana é um órgão elástico que suporta agressões e lesões ao longo da vida, é o maior órgão do corpo humano e a primeira linha de defesa do meio ambiente. É colonizada por bactérias, fungos e vírus que simbioticamente proporcionam proteção contra invasão e crescimento excessivo de patogênicos. Quando está intacta, age como uma barreira à perda de vapor de água controlando o equilíbrio da umidade. Uma vez danificada estas e outras funções da pele, como proteção física e regulação térmica, são em parte perdidas (VOWDEN, VOWDEN, 2017). Os folículos, glândulas sebáceas e sudoríparas e folhetos capilares compõem a estrutura da pele distribuídos nos tecidos epitelial e conjuntivo, epiderme, sua camada mais superficial, e derme, tecido mais profundo. Para alguns autores, como Behbehm et al. (2012) e Ebeling et al. (2014), a hipoderme não faz parte da pele, enquanto outros, como Chandika et al. (2015) e Portou et al. (2015), a consideram uma das camadas da sua formação.

Quando a pele é lesionada, o organismo trabalha para reparar os estragos causados pelo agente externo (XUE; JACKSON, 2015), a sua capacidade de recuperação após injúria é muito importante para a sua integridade (CHANDIKA et al., 2015). A cicatrização consiste num processo pelo qual o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado, quer a lesão tenha sido traumática ou infecciosa. Requer tempo e regulação exata para progredir com sucesso e ocorre espontaneamente em resposta à lesão. Sua indução se dá pela presença de mediadores químicos, estimulando a vascularização e tecido de granulação, influenciado pelo fator de crescimento do endotélio vascular e dos fibroblastos, além das citocinas (PANOBIANCO et al., 2012).

Danos tissulares de natureza física, química ou biológica desencadeiam uma série de eventos que podem ocasionar dor, calor, tumor e rubor. Quando isso ocorre, o sistema imune defende o organismo constituindo uma resposta celular específica fornecida por receptores de reconhecimento que são ativados por padrões exógenos de agentes patogênicos, iniciando uma resposta imunológica através da produção de citocinas (PORTOU et al., 2015). Especificamente, são as interleucinas 1, 2, 6, 7 e FNT (fator de necrose tumoral que são capazes de ativar as células endoteliais para produzirem selectinas elevando o processo de cura (WANG et al., 2018). As citocinas pró-inflamatórias agem mediando a condução da resposta inflamatória nos locais de infecção e lesão, favorecendo a cicatrização apropriada da ferida (DE OLIVEIRA et al., 2011).

Embora a cicatrização seja descrita em fases sucessivas que sugerem uma cronologia rígida, elas são dinâmicas e sobrepostas (CHIAPPELLI et al., 2015; WANG et al., 2018). Cada fase é predominada por determinados tipos de células que influenciam na aceleração desse processo (CAVALCANTE et al., 2012; PORTOU et al., 2015). As fases inflamatória,

proliferativa e remodelação constituem o protótipo da cicatrização fisiológica de uma ferida aguda (STYNES et al., 2016). Para a cura da ferida e o restabelecimento da função física normal da pele é necessário que na fase inflamatória aconteça a hemostasia e a resposta inflamatória, na fase proliferativa a angiogênese e a fibroplasia e, por fim, na fase de remodelação deve haver o equilíbrio entre a síntese e a degradação do colágeno, redução da infiltração de células inflamatórias e da vascularização (CAMPOS, et al., 2007; BUENO-SILVA et al., 2013; ITO et al., 2015). Quando há o desequilíbrio de uma dessas fases pode ocorrer a inflamação e a hipertrofia cicatricial (WANG et al., 2018).

### 3.3. Fases do processo de reparo cicatricial

As fases da cicatrização são distintas e com algumas particularidades (Figura 1). Logo após a lesão, as células inflamatórias, como os neutrófilos, são predominantes e necessárias para produzir enzimas de degradação e fatores de crescimento que vão ativar as células endoteliais que estimulam a formação de novos vasos sanguíneos e linfáticos. A fase proliferativa é caracterizada pela presença de macrófagos, colágeno tipo III no início da fase e colágeno tipo I no final. Nessa fase se inicia o aparecimento de fibroblastos que atuam também na fase seguinte, a de remodelação, juntamente com os miofribroblastos responsáveis pela contração da ferida (GHATAK et al., 2015).

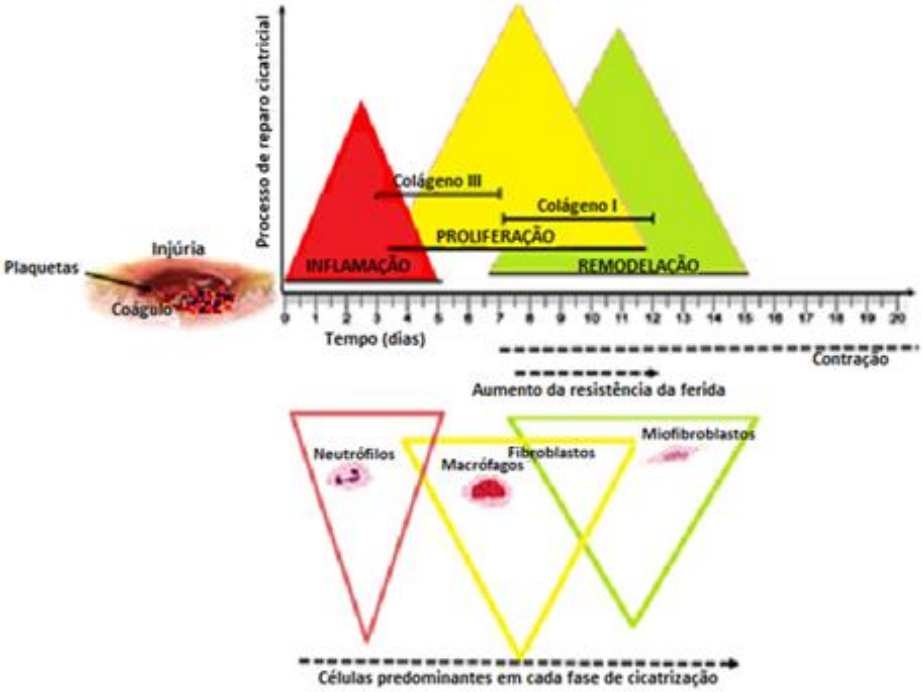



Figura 1: Fases do processo de cicatrização com predominância dos componentes da matriz cicatricial ao longo do tempo (dias).
Fonte: Nascimento, 2017.

### 3.3.1. Fase Hemostática e Inflamatória

Na fase hemostática aparecem os sinais flogísticos que duram em torno de 24 a 48 horas: dor, calor, rubor, edema e habitual perda da função local. (LAUREANO; RODRIGUES, 2011; XUE; JACKSON, 2015). Ela se inicia logo após o estabelecimento da lesão primária na pele e é uma resposta de emergência biológica nos minutos seguintes a uma lesão aguda, quando ocorre a ruptura de vasos e extravasamento de sangue e linfa. Essa ocorrência desencadeia descargas adrenérgicas e promove vasoconstrição por contração da musculatura lisa de vasos (SINGH et al., 2016). É nesta fase que se inicia a ativação e deposição de plaquetas que formam o tampão plaquetário composto por fibrina e eritrócitos, que associado à vasoconstrição impedem temporariamente a hemorragia. Isso só é possível porque a matriz celular é exposta ao sangue, liberando fatores de coagulação como o fibrinogênio, com o objetivo de formar fibrinas que coagulam o sangue, protegendo o organismo contra a invasão de micro-organismos além de restaurar a homeostase impedindo que haja mais hemorragia (XUE; JACKSON, 2015, SINGH et al., 2016; STYNES et al., 2016).

Na fase inflamatória, para favorecer a cicatrização, são acionadas as citocinas pró-inflamatórias como o Fator de Necrose Tumoral – TNF-α e a Interleucina-1, elas propiciam atração fibroblástica e estimulam a produção de colágeno auxiliando na defesa contra agentes infecciosos (XUE; JACKSON, 2015). É nesta fase que fatores plaquetários como Fator de Crescimento Derivados de Plaquetas – PDGF, Fator de Crescimento beta Transformador - TGF-β, Fator de Crescimento Endotelial Vascular – VEGF, Fator de Crescimento Epidermal – EGF agem no processo cicatricial (XUE; JACKSON, 2015; ITO et al., 2015).

### 3.3.2. Fase Proliferativa

É na fase proliferativa que acontece a síntese da matriz extracelular. Três importantes eventos estão presentes nesta fase: neo-angiogênese, fibroplasia e epitelização. Nela acontece a proliferação de fibroblastos, macrófagos, colágeno, ácido hialurônico e fibronectina, formando tecido de granulação. A presença de macrófagos no local da injúria indica que a fase proliferativa está sendo iniciada (GENSEL, et al., 2015).

O processo de neo-angiogênese é responsável pela formação de novos vasos sanguíneos, importante para nutrir o tecido e manter o ambiente propício para a cicatrização da ferida, bem como pelo aumento de macrófagos e fibroblastos que sintetizam o colágeno, ainda na fase inflamatória, visando o preenchimento da ferida (XUE; JACKSON, 2015). O colágeno é uma proteína de alto peso molecular responsáveis pela força da cicatriz (STYNES et al., 2016) sua síntese dependente da oxigenação das células, mas há um declínio por volta

de quatro semanas quando então, de se inicia a fase de maturação que continua por meses, ou mesmo anos (STYNES et al., 2016).

### 3.3.3. Fase de Remodelação

No início na terceira semana, dependendo da extensão, grau e localização da lesão se inicia a fase de remodelação. Nela há a substituição progressiva do colágeno tipo III para o tipo I (EBELING et al., 2014). A arquitetura final da pele dependerá da localização do reparo e da duração da cicatrização. Nesta fase pode aparecer cicatrizes hipertróficas, evidenciando falhas no processo cicatricial (BEHBEHM et al., 2012; EBELING et al., 2014; GOULD et al., 2015).

### 3.3.4. Classificação quanto ao tipo de cicatrização

A cicatrização depende do tempo e método pelo qual o fechamento da ferida é alcançado. Ocorre de três formas: cicatrização por primeira, segunda e terceira intenção. A cicatrização por primeira intenção é caracterizada por apresentar perda tecidual mínima, com pouca drenagem, bordas passíveis de aproximação por meio da sutura. São geralmente limpas e com baixo potencial de infecionar (KUMAR; LEAPER, 2008). Há a presença de hemorragia, proteína plasmática e resíduos celulares, os quais são fagocitados e removidos pelos macrófagos. A necrose causada nas células da epiderme, da derme e das estruturas anexas é mínima, assim como a interrupção da membrana basal (TRAVI-CARNEIRO, et al., 2014; PIRES et al., 2016). Neste processo, novos vasos sanguíneos são desenvolvidos e a matriz extracelular é sintetizada para preencher o espaço entre os bordos. O tempo de cicatrização é reduzido, em média 10 dias, e as cicatrizes são mais estéticas, pois, a derme é substituída pelas fibras de colágeno que proporciona à pele a força tênsil próxima ao normal, sem alteração significativa da arquitetura local. Há produção de fibroblastos e é necessária pouca epitelização (GHATAK et al., 2015).

A cicatrização de segunda intenção ocorre espontaneamente, ocasionando reparo tecidual sem sequência, ou seja, sem aposição entre as bordas. Há perda acentuada de tecido como nas ulceras e cavidades de abcessos e não existe possibilidade de aproximação das bordas pela desvitalização do tecido (KUMAR; LEAPER, 2008). A resposta inflamatória evidencia a formação de tecido de granulação e epitelização no leito da ferida (PIRAINO; SELIMOVIĆ, 2015).

Já a cicatrização por terceira intenção corresponde ao encerramento secundário ou

tardio realizado após a formação de tecido de granulação. Nesta fase, alguns fatores podem retardar ou complicar o processo cicatricial, como a aplicação de drenos, infecções, traumas e hematoma subcutâneo que levam geralmente à deiscência total ou parcial da incisão (PIRAINO; SELIMOVIĆ, 2015). No entanto, não há perda significativa de tecido (KUMAR; LEAPER, 2008).

### 3.4. Tratamentos de feridas

É estimado que aproximadamente 80% da população mundial utilize os medicamentos para as variadas doenças de pele. Assim, o cuidado no tratamento de feridas é um campo em expansão devido aos avanços na ciência dos materiais. A evolução na biomedicina, engenharia de tecidos, bioengenharia e nanotecnologia têm permitido aos pesquisadores manipular materiais naturais e sintéticos, obtendo crescentes progressos para o tratamento de lesões da pele (PRIYA et al., 2002). Em 2011, o mercado global de cuidados de feridas gerou 6.500 milhões de dólares com uma taxa de crescimento anual de 7,5%. O mercado de produtos de tratamento de feridas avança mundialmente. Em 2023 está previsto um gasto mundial de aproximadamente 16.300 milhões de dólares (SUN, et al., 2014).

O tratamento de feridas é uma ação dinâmica que depende de avaliações sistemáticas e prescrições distintas, especificando a frequência e tipo de cobertura adequada (MELO, FERNANDES, 2017). Alguns fatores devem ser considerados no tratamento de feridas. Um deles é a hidratação. O equilíbrio dos níveis de hidratação da pele é importante, qualquer interrupção na integridade da mesma poderá resultar em distúrbio de balanço hídrico dérmico, assim, para que haja o restabelecimento da pele após a injúria, é importante que a ferida se mantenha hidratada favorecendo a migração celular adequada (SUN et al., 2014; OUSEY et al., 2016). Um ponto a ser observado é a temperatura, manter a ferida com isolamento térmico favorece positivamente sua evolução à medida que evita a proliferação de micro-organismos patogênicos. Outro fator preponderante para a evolução da ferida é a limpeza, retirar o tecido desvitalizado favorece a irrigação necessária ao leito da lesão. Por fim, a escolha adequada do tratamento através dos mais variados produtos existentes no mercado (SMANIOTTO et al., 2012).

O tratamento medicamentoso de feridas evoluiu significativamente ao longo da última década, tendo uma história ancorada na tradição e na ciência. Para instituir um tratamento adequado é fundamental conhecer a fisiopatologia da cicatrização e os fatores que podem acelerar ou retardar a cura, além disso, observar a região anatômica, tipo de tecido, extensão e profundidade da lesão, presença de exsudato, aspecto de bordas e tecidos adjacentes, condições da pele lesionada e presença de odor (SANTOS et al., 2016). Nesse sentido, o

desenvolvimento de novas técnica e produtos para a realização de curativos e o tratamento de feridas tem sido comumente investigado. Diante da complexidade do cuidado com as feridas, pesquisadores buscam novas terapias com o objetivo de diminuir o tempo cicatricial, evitar danos estéticos e infecções (MANDELBAUM, et al., 2003).

A escolha do tratamento adequado depende da avaliação criteriosa da ferida, para tanto é necessário identificar a localização anatômico da mesma, avaliar forma, profundidade, tamanho dos bordos, presença de tecido de granulação e a quantidade de tecido necrosado, e as condições da pele perilesional (SANTOS et al., 2016).

Na *North American Nursing Diagnosis Association* – NANDA são apontados alguns diagnósticos a serem estabelecidos em situações de lesões físicas: integridade da pele prejudicada, integridade tissular prejudicada e risco de integridade da pele prejudicada. O princípio de conceito clínico é baseado no manejo local de feridas estagnadas ou que não cicatrizam, a partir de desbridamento, manejo do exsudato e resolução do desequilíbrio bacteriano. Através da NANDA as feridas são identificadas de acordo com as características de cada situação clínica e seus fatores relacionados ou de risco. A sistematização do tratamento de feridas ocorre por meio de ações que visam remover as barreiras que impedem a cicatrização (BARROS, 2009).

Essas barreiras estão no acrônimo TIME, no qual cada letra significa um ponto a ser removido, as observações clínicas de intervenções para cada fisiopatologia envolvida e os resultados esperados para cada um dos 4 componentes: – T para tecido não viável, I para Infecção/Inflamação, M para o desequilíbrio da umidade e E para Epiderme. Assim em T – quando o tecido está inviável, com necrose, é recomendável realizar desbridamento que pode ser instrumental, autolítico, enzimático, mecânico ou biológico. I – Infecção ou inflamação quando há alta contagem bacteriana ou inflamação prolongada, com número elevado de citocinas inflamatórias. Nessa situação, é necessário realizar a limpeza da ferida e avaliar as condições tópicas sistêmicas e o uso de anti-inflamatórios e antimicrobianos. M – Para que ocorra a cicatrização é necessário o equilíbrio da umidade da ferida. Se o leito estiver ressecado há uma migração lenta das células epiteliais, se estiver muito úmido, com exsudato pode provocar maceração da margem e da pele perilesional. Nessas condições, é preciso estimular a migração das células epiteliais para evitar ressecamento e maceração e controlar o edema e o excesso de secreção. Por fim, o E, quando, no processo de cicatrização, há progressão da cobertura epitelial a partir das bordas. Quando não há migração de queratinócitos, as células da ferida não respondem; há matriz extracelular, mas a atividade das proteases é anormal. Quando isso ocorre, deve-se avaliar todo o processo, observando as causas e optando por uma das terapias corretivas, que poderá ser desbridamento do tecido morto, enxerto de pele no local e uso de agentes biológicos (SCHULTZ et al., 2003; ARON, GAMBA, 2017; SWENTY, 2017). Assim, o acrônimo TIME apesar de ter sido desenvolvido

em 2003, continua sendo uma ferramenta viável para o auxilio na preparação do cuidado com a ferida ajudando sua cura. Esse modelo utiliza o conceito básico que é avaliar a ferida por tecido que não é viável, verificar se há infecção, reverter o desequilíbrio de umidade e observar se bordas da ferida não respondem ou estão prejudicadas (SCHULTZ et al., 2003; SWENTY, 2017).

Outro modelo utilizado na avaliação de feridas para se estabelecer o tratamento adequado é o Triângulo de Avaliação de Feridas, esta ferramenta possibilita aos profissionais de saúde realizar uma abordagem holística para avaliar todos os tipos de feridas, entendendo-se quais regiões são essenciais para avaliar e tratar, identificando precocemente os pacientes em risco e garantindo apropriado tratamento. O Triângulo de Avaliação de Feridas utiliza o conceito de preparação da ferida estabelecido no TIME. Usada adequadamente esta ferramenta oportuniza a melhoria nos resultados da recuperação da pele, bem como assegura o uso mais apropriado dos recursos em saúde. Portanto, o objetivo dessas ferramentas é proporcionar informações que mostram se o tratamento foi efetivo e se a evolução da lesão está ocorrendo de forma adequada (ARON, GAMBA, 2017).

### 3.4.1. Desbridamento

A escolha do método de tratamento de feridas determina o tempo de cicatrização e vai de acordo com o tipo de lesão. O desbridamento envolve a remoção do tecido não viável, materiais estranhos e tecido necrosado presentes na ferida e é parte integrante para o alcance do melhor resultado contribuindo para a regeneração do tecido saudável (KAMOLZ; LARS-PETER; WILD, 2013). Tem o objetivo preparar a ferida para uma intervenção cirúrgica ou para a cicatrização espontânea e pode ser efetuado através de técnica cirúrgica, mecânica, enzimática ou autolítica (ALVES, BETAT, 2016), conforme especificado no Quadro 1.

Quadro 1: Tipos de desbridamento.

| | |
|---|---|
| Desbridamento cirúrgico | Tem a finalidade de remover o tecido desvitalizado por meio de procedimento cirúrgico, restaurar a base da ferida que apresenta necrose de coagulação, caracterizada pela presença de crosta preta ou escura ou ainda necrose de liquefação, quando há a presença de tecido amarelo esverdeado da matriz extracelular e obter tecido viável no leito da ferida. Prepara a ferida para receber o enxerto, pode ser utilizado também em feridas crônicas, pos-operatório infectado ou necrótico. É considerado um método efetivo já que uma grande excisão pode ser feita com a remoção rápida do tecido. |
| Mecânico | Consiste na aplicação de força mecânica diretamente sobre o tecido necrótico a fim de facilitar sua remoção. Este procedimento pode prejudicar o tecido de granulação ou de epitelização, além de causar dor. A cicatrização pode demorar mais tempo, pois os curativos de gaze não são seletivos e danificam o tecido saudável ao remover o tecido necrótico. |
| Enzimático | Consiste na aplicação tópica de enzimas desbridantes a exemplo da papaína e colagenase, diretamente no tecido necrosado. Aplica-se somente nas áreas de tecido necrótico, causam danos mínimos em tecidos saudáveis. A escolha da enzima depende do tipo de tecido existente. |
| Autolítico | Permite a autodigestão do tecido desvitalizado por enzimas presentes nos fluidos da lesão. Comumente não causam dor, a utilização de coberturas primárias promove um meio úmido adequado, estimula a migração leucocitária e a reação das enzimas (protease, colagenases) no leito da ferida sobre a necrose. |

Fonte: KUMAR; LEAPER (2008) e adaptado de OLIVEIRA et al. (2016).

### 3.4.2. Tratamento medicamentoso

Quanto ao tratamento tópico, a seleção da cobertura da ferida objetiva auxiliar o processo de cicatrização, reduzir a dor, promover conforto ao paciente e recuperar o tecido lesado.

Existe no mercado variados tipos e marcas de produtos à disposição da população, em formas farmacêuticas diversificadas, utilizadas no tratamento de feridas. Das formas mais comuns como o uso de pomadas e géis até o uso de câmara hiperbárica (MENON et al., 2017), plasma rico em plaquetas (VENDRAMIN et al., 2010), fatores de crescimento, terapia de pressão negativa e substitutos biológicos de pele (SILVA et al., 2017) têm sido reportadas com o objetivo de agirem diminuindo o processo inflamatório do edema da lesão, estimulando a formação do tecido de granulação e a proliferação epitelial (BABU et al., 2016). O uso de fitoterápicos também vem evoluindo, a exemplo do creme e pomada utilizando o *Stryphnodendron adstringens* como princípio ativo (LIMA et al., 2016; COELHO et al.,2010).

Outros produtos estão à disposição da população para a assistência ao tratamento de

feridas que vão desde a creme hidratantes para lesões secas até produtos para absorver exsudatos, preencher cavidades, materiais indicados para locais onde há inserção de cateteres e para proteção de áreas de proeminências ósseas com risco para o desenvolvimento de úlcera de pressão (ARAÚJO et al., 2015; ROSTALD e OVINGTON, 2007; SMANIOTTO et al., 2010; SILVA et al., 2017). No Quadro 2 estão elencados os produtos mais utilizados em curativos nos serviços de saúde do Brasil.

Quadro 2: Principais coberturas utilizadas em curativos nos serviços de saúde do Brasil.

| SUBSTÂNCIAS | FORMA FARMACÊUTICA | MECANISMO DE AÇÃO |
|---|---|---|
| Ácidos graxos | Óleo | Utilizados como cobertura primária, promovem quimiotaxia e angiogênese, mantêm o meio úmido e aceleram o processo de granulação tecidual. Em pele íntegra tem grande absorção por formar uma película protetora, previne escoriações e proporciona nutrição celular local. |
| Polímero de poliuretano semipermeável e carboximetilcelulose, gelatina e pectina | Filme transparente | Autoaderente composto na camada externa por espuma de poliuretano e na camada interna, gelatina. As partículas de celulose expandem-se ao absorver líquidos criando ambiente úmido, que permite às células do microambiente fornecer desbridamento autolítico. Contribui para angiogênese, formação de tecido de granulação. Utilizados como cobertura primária, protege as terminações nervosas e as células de traumas, da contaminação bacteriana além de manter o isolamento térmico. |
| Carvão ativado | Placa | Possui alto grau de absorção, elimina odor. Utilizadas como cobertura primária, promove e retém as moléculas do exsudato e as bactérias, exerce o efeito de limpeza. A prata exerce função bactericida e complementa a ação do carvão, o que estimula a granulação e aumenta a velocidade da cicatrização. |
| Água, propilenoglicol e carboximetilcelulose | Hidrogel | Mantém o meio úmido, promove desbridamento autolítico e estimula a cicatrização. Remove crostas e tecidos desvitalizados de feridas abertas. Utilizado como cobertura primária. |
| Alginato de cálcio | Fibra de tecido | Auxilia o desbridamento, tem alta capacidade de absorção, forma um gel que mantém o meio úmido e induz a hemostasia. Utilizado como cobertura primária, indicado para feridas abertas, sangrantes, altamente exsudativa com ou sem infecção. |
| Hidrocoloide extrafino | Placa, pasta, gel e grânulos | Absorve exsudatos, mantém o pH ácido e o meio úmido, estimula o desbridamento autolítico e a angiogênese, protege as terminações nervosas. Utilizado como cobertura primária para o tratamento de feridas abertas não infectadas e pouco exsudativas. |
| Papaína | Pó ou gel | É bactericida e bacteriostático, dissolve as moléculas de proteína, resultando em desbridamento químico, estimula a força tênsil da cicatriz e acelera o processo de cicatrização. Utilizada como cobertura primária é indicado para o tratamento de feridas abertas e desbridamento de tecidos desvitalizados. |
| Gaze não aderente com petrolato | Gaze | Protege a ferida, preserva o tecido de granulação e evita a aderência ao leito da ferida. Utilizada como cobertura primária, evita a aderência do curativo ao leito |

| | | |
|---|---|---|
| | | da ferida, resultando numa troca sem dor e como proteção do tecido. |
| Gaze não aderente com parafina | Gaze | Protege a ferida permitindo livre passagem do exsudato para o curativo secundário, não desfia ao ser cortado mantendo seu formato. São indicados para feridas em que é preciso evitar a aderência do curativo, para ele poder ser mantido por 48 a 72 horas. |
| Gaze não aderente e não impregnada | Gaze | Protege a ferida, preserva o tecido de granulação e evita aderência ao leito da ferida. Usa-se para evitar a aderência do curativo ao leito da ferida, resultando numa troca sem dor e com proteção do tecido, utiliza-se como cobertura primária na ferida aberta. |
| Espuma absorvente com prata iônica e alginato de cálcio | Espuma | Promove meio úmido ideal para a cicatrização, não adere na ferida, é fácil de aplicar e retirar, é antimicrobiano por até 7 dias. É indicado para feridas de espessura parcial ou total, infectadas, não infectadas, úlceras venosas e áreas doadoras de enxerto. |
| Alginato de cálcio | Placa | Possui propriedade desbridante. Antes do uso, é seco e, quando as fibras de alginato entram em contato com o meio líquido, realizam uma troca iônica entre os íons cálcio do curativo e os íons de sódio da úlcera, transformando as fibras de alginato em um gel suave, fibrinoso, não aderente, que mantém o meio úmido ideal para o desenvolvimento da cicatrização. |
| Sulfadiazina de prata | Pomada | Utilizado como cobertura primária, o íon prata causa precipitação de proteínas e age diretamente na membrana citoplasmática da célula bacteriana, tem ação bacteriostática residual, pela liberação deste íon. |

Fonte: Ministério de Saúde, (2002, 2009), SILVA et al. (2017).

### 3.5. Curativos e coberturas

Curativo é a realização do procedimento e abrange etapas como: limpeza, desbridamento e indicação da cobertura adequada. Ele tem como objetivo auxiliar o organismo a promover a cicatrização e eliminar fatores desfavoráveis que a retardam (SOOD, et al., 2014). A escolha do tratamento para a lesão depende do grau de contaminação, da forma como foi gerada, dos fatores locais e sistêmicos relacionados com o processo de cicatrização e da presença e tipo de exsudato (FERREIRA et al., 2013; MELO, FERNANDES, 2017).

Cobertura é um material, um produto ou uma substância utilizada sobre as lesões. Elas devem proporcionar um ambiente úmido, proteção contra infecções secundárias, remoção de exsudato, promoção de regeneração do tecido e redução das complicações, garantindo princípios ideais de cicatrização, além de formar uma barreira física entre o leito da lesão e o meio externo (ADEWUMI, OGUNJINMI, 2011). Deve ainda, proporcionar impermeabilidade à água e outros fluidos, manter temperatura adequada, proteger a ferida contra traumas mecânicos e limitar os movimentos dos tecidos ao redor da ferida. É

importante que a cobertura viabilize as trocas gasosas, absorvam exsudato e promovam o desbridamento, aliviando a dor e proporcionando condições favoráveis para a realização das atividades da vida diária do paciente (FERREIRA et al., 2005; FERREIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

As coberturas são classificadas em primárias, aquelas que entram em contato direto com o leito da ferida, e as secundárias, aquelas que se sobrepõem às primárias (ADEWUMI, OGUNJINMI, 2011; FERRAZ et al., 2015). Apesar dos vários produtos existentes no mercado, a procura de novas cobertura para o tratamento de feridas estimula pesquisas no sentido de desenvolver produtos a partir de biomateriais capazes de imitar a estrutura nativa da pele (PIRES, et al., 2015).

### 3.6. Membranas poliméricas e caracterização

Os produtos naturais veiculados sob a forma de membranas bioativas têm sido amplamente empregados na área de saúde com intuito de estimular a cicatrização de feridas dérmicas e mucosas. Essas membranas podem ser absorvíveis ou não, e fatores como sua constituição, morfologia, textura da superfície, tamanho das porosidades e duração da integridade funcional podem influenciar no êxito da sua utilização no processo cicatricial (NEEL et al., 2013; SEHN, GONÇALVES, MING, 2016).

Os biomateriais utilizados na medicina regenerativa são planejados para auxiliar a função da matriz extracelular. Neste sentido os componentes da matriz, como as proteínas, glicoproteínas, glicoaminoglicanos, ou mesmo a matriz intacta têm sido explorados como materiais de suporte (NEEL et al., 2013). Devido a capacidade de interagir com células e/ou outras macromoléculas como o colágeno presentes na área lesada, diferentes biomateriais têm sido utilizados como suporte no reparo tissular. Produzidas a partir de polímeros, as membranas bioativas são materiais finos, translúcidos e flexíveis. A sua elaboração envolve basicamente três componentes: um agente formador da membrana, um solvente e um plastificante (CHEN, LIU, 2016).

Essas membranas absorvíveis e degradáveis atuam como suporte para o crescimento de novos vasos sanguíneos e possibilitam a nutrição das células que preenchem o tecido lesado estimulando o acesso das células de defesa ao local, permitindo assim a adesão, migração e proliferação celular (SANTANA et al., 2014). Nos ferimentos, as membranas são fixadas como cobertura primária, revestindo feridas e/ou lesões da pele, formando uma estrutura única e contínua que possibilita a interação entre as moléculas estimulando o tratamento medicamentoso (SOUZA, et al., 2014).

As características apresentadas pelas membranas contendo produtos biodegradáveis

como colágeno, lipídios, polissacarídeos e proteínas ou a combinação destes, tem sido objeto de estudo em diversas áreas como engenharia de tecidos e medicina regenerativa, por terem compatibilidade biológica e atoxicidade. Na pele é de fácil manuseio, podem ser utilizados como substituto dérmico pois, contribuem para a veiculação de fármacos (DE JESUS et al., 2016). Souza, et al. (2014), afirmam que o colágeno por ser uma macromolécula proteica que apresenta boas propriedades na preparação de biomateriais pela habilidade em formar fibras ou redes, elasticidade e plasticidade, faz desse produto vantajoso para ser utilizado na área da saúde.

Membranas produzidas à base de colágeno são utilizadas na reparação de traumas químicos e mecânicos de pele, posto que funcionam como um substrato para a hemostasia e a quimiotaxia para elementos celulares envolvidos na cicatrização, como os granulócitos, macrófagos e fibroblastos, e promovem a maturação da ferida por fornecerem um suporte para uma transição mais rápida à produção do colágeno maduro e seu alinhamento. O ideal é que essas membranas possuam um sistema que proporcione liberação de fármaco em níveis de concentração controlada, atingindo o efeito terapêutico desejado e evitando possíveis reações tóxicas inerentes ao composto (DE JESUS et al., 2016).

A gelatina é um colágeno hidrolisado e possui características biodegradáveis e biocompatíveis, (NUNES et al., 2016), baixa imunogenicidade, promove a célula de adesão e proliferação, possui baixo custo, o que a faz amplamente utilizada (CAI et al., 2016). Membranas compostas de gelatina contendo extrato aquoso de *Punica granatum* promoveram melhora do processo de cicatrização sob aplicação tópica em feridas abertas em modelo murino, expressas por meio da aceleração da contração da ferida, modulação da magnitude da resposta inflamatória e melhoria do processo de colagenização durante a formação da cicatriz fibrosa (NASCIMENTO et al., 2015).

Outros estudos demonstram que matrizes de colágeno associado a substâncias naturais estimulam células biológicas envolvidas com o sucesso da cura de feridas em modelo murino. Santos et al. (2013), utilizaram filmes contendo ácidos graxos incorporados à base de colágeno e comprovaram que nenhum sinal de formação de cicatriz hipertrófica ou abcesso foi observado nos grupos estudados. A utilização desses filmes em feridas abertas promoveu aumento do fluxo de neutrófilos, reduziram significativamente o infiltrado mononuclear e promoveu uma completa epitelização e uma boa colagenização. Nunes, et al. (2011) e Nunes, et al. (2016) utilizaram membrana à base de gelatina contendo lipossoma com ácido úsnico em modelos murino e suíno respectivamente e obtiveram melhora na cicatrização.

Albuquerque-Junior et al. (2009) incorporaram a própolis vermelha brasileira em filmes à base de colágeno e detectaram que esse produto melhorou a cicatrização de feridas pela modulação dinâmica da evolução inflamatória e processo de deposição de colágeno.

Riella et al. (2012) elaboraram filmes à base de colágeno bovino do tipo I contendo

timol e concluíram que houve melhora no processo de cicatrização. Já Almeida et al. (2013) avaliaram os eventos biológicos após utilização de curativos elaborados com soluções hidroalcoólicas de própolis em membranas de colágeno e concluíram que as mesmas atuaram melhorando a inflamação e cicatrização dérmica com o estímulo da proliferação de macrófagos, fibroblastos e miofibroblastos.

Souza et al. (2013) avaliaram o potencial de cicatrização de membranas de colágeno modificado contendo extrato hidroalcoólico de própolis vermelha concluindo os resultados sugerem biocompatibilidade nas propriedades apresentadas por esses filmes, estimulando à formação de células e, consequentemente a cicatrização de feridas.

### 3.6.1. Propriedades mecânicas

Consideradas como um dos parâmetros mais importantes na análise de membranas, as propriedades mecânicas influenciam diretamente na sua utilidade, isso porque suas características definem o comportamento das membranas relacionado às influências mecânicas externas. A identificação quanto à adequação de uso de uma membrana é determinada pelas características de flexibilidade, resistência à tração e alongamento adequados (JODAR et al., 2015).

A máxima tensão suportada pela membrana até a sua ruptura (resistência à tração), a medida de maleabilidade, considerada a habilidade da membrana em deformar antes de ocorrer sua ruptura (elongação), a relação entre a resistência à tração e a porcentagem de alongamento, indicando o grau de rigidez (módulo de elasticidade ou módulo de Young) são propriedades mecânicas estudadas em membranas poliméricas. Os estudos das propriedades mecânicas estão centrados, basicamente, nos resultados das curvas tensão-deformação (SCARMÍNIO, 1989).

A resistência à tração é considerada a força máxima que uma membrana pode suportar até o momento de sua ruptura. A elongação, considerada como o grau de maleabilidade da membrana, é caracterizada como a capacidade que a membrana tem em se deformar antes de se romper. O módulo de Young ou módulo de elasticidade é a relação entre a resistência à tração e a porcentagem de alongamento que indica o grau de rigidez da membrana. Este módulo define a força resultante que é a força de tração que promove o início da deformação não elástica da membrana (RIGO, 2006; SARKER et al. 2011).

### 3.6.2. Permeabilidade ao vapor d'água

Permeabilidade ao vapor d´água é o processo pelo qual o vapor se difunde de um lado até o outro lado da membrana. A velocidade de transmissão do vapor d´água é determinada por diversos fatores, incluindo morfologia, densidade, estrutura química, cristalinidade e orientação polimérica das membranas. O tipo de solvente, o plastificante e a taxa de secagem da membrana também influenciam a permeabilidade (SOBRAL et al., 2001).

Para Thomazine et al. (2005), a permeabilidade de uma membrana define sua característica de barreira e pode ser avaliada pelo processo de passagem de um material permeante de um lado da membrana para o outro quando ambos são expostos a diferentes concentrações desse permeante em um determinado período.

### 3.6.3. Índice de intumescimento

As propriedades hidrofílicas das membranas obtidas são estudadas por medida de taxa de intumescimento em função do tempo. O intumescimento é descrito como o aumento do volume do polímero quando imerso em um determinado solvente, ou também pode ser determinado a partir da quantidade da massa do fluído absorvida pelo polímero em relação à sua massa inicial (CAMPOS et al., 2005).

O teste de intumescimento é importante para verificar se o material utilizado apresenta estabilidade estrutural durante o período necessário à formação do novo tecido de regeneração. Para Alan et al. (2016), a capacidade de intumescimento é uma importante característica de materiais para serem aplicados em regeneração cutânea devido a capacidade de absorver o exsudato produzido pelo ferimento e manter o local úmido.

### 3.6.4. Colorimetria

Colorimetria é a ciência que estuda a cor. Neste estudo, a cor e a translucidez são de grande importância. As membranas produzidas, uma vez aplicadas sobre as feridas, devem ser capazes de proporcionar fácil visualização da área onde a mesma foi aplicada. Outro motivo de realizar este teste é a avaliar a homogeneidade do produto (SLETTENGREN et al., 2015).

Para avaliação colorimétrica utilizou-se como parâmetro o sistema desenvolvido pela *Comission Internationale de L'Eclairage* – Sistema CIE Lab que é amplamente usado em diferentes materiais por sua sensibilidade de valorizar pequenas alterações de cor

imperceptíveis a olho nu (SILVA et al., 2015). Esse sistema tem como base a afirmação que todas as cores da natureza são derivadas da mistura das cores vermelha, azul e verde em diferentes proporções. A luminância expressa em porcentagem vai de 0 para o preto a 100 para o branco (HERSEK et al., 1999).

### 3.6.5. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) possibilita avaliar, através de registro da imagem microscópica, as microestruturas e as mudanças na morfologia da superfície da membrana, assim como o mecanismo de fratura e o efeito dos extratos. Além disso, permite a visualização da porosidade superficial em função da distribuição dos diâmetros dos poros na superfície (DEDAVID, et al., 2007).

Esses poros são influenciados pelo tamanho e tipo de molécula ou bioativos incorporados à matriz polimérica, eles podem provocar modificações na morfologia das membranas ocasionando variação da porosidade alterando a distribuição dos mesmos (ALTIOK et al., 2010).

### 3.6.6. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier- (FTIR)

A FTIR é um método padrão na química analítica utilizada para caracterização das estruturas poliméricas, através de informações sobre vibrações das moléculas presentes no material. Sua aplicação varia com a região espectral a ser analisada (PASQUINI, 2003). Também permite analisar o material, obtendo informações sobre a estrutura e comportamento microscópico da matéria. E uma técnica rápida que utiliza pequenas quantidades de amostras, preserva propriedades físicas, químicas, mecânicas ou dimensionais avaliando qualitativamente o material em estudo (XU et al., 2013; BEASLEY et al., 2014).

O equipamento registra o resultado (banda de absorção) e identifica a presença de grupos funcionais na estrutura orgânica pela interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular. Foram analisadas as bandas mais importantes para análise preliminar nos espectros na região de 900 $cm^{-1}$ a 650 $cm^{-1}$ e de 4000 $cm^{-1}$ a 1300 $cm^{-1}$. A região de 4000 a 1300 é a região onde ocorre as absorções que correspondem a grupos funcionais como OH, N-H, C=O, chamados grupos funcionais (SILVERSTEIN, et al., 1994). A radiação no infravermelho permite que os átomos e seus

grupos de compostos orgânicos vibrem com amplitude aumentada em ligações covalentes que os unem (SILVERSTEIN, et al., 2000).

### 3.6.7. Análise termogravimétrica (TG/DTG)

Para observar o comportamento térmico de membranas poliméricas, especificamente para polímeros naturais, como a gelatina, a termogravimetria (TG) pode ser utilizada observando a alteração de massa da amostra em função da variação de temperatura. Os mecanismos envolvidos nas alterações de massa e transições de fase podem determinar as condições ideais de obtenção, esterilização e aplicações desses polímeros. A DTG é a derivada primeira da curva TG, que determina a velocidade da variação de massa observada da curva TG em função do tempo (SILVA, et al., 2007).

Com a termogravimetria é possível monitorar a variação da massa de uma amostra em um ambiente controlado, esse método analisa a perda ou agregação de massa à amostra enquanto é submetida a uma programação controlada de temperaturas variadas, para isso o equipamento conta com uma termobalança, sistema registrador, programador da temperatura que pode chegar a 2000 ºC, além do controle da atmosfera do forno (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; DENARI, CAVALHEIRO, 2012).

## 3.7. Produtos Naturais no tratamento de feridas

É de conhecimento popularmente que os produtos naturais possuem poder terapêutico, eles são biologicamente interessantes para o uso pelo número de compostos, esse reconhecimento por parte da ciência favorece o desenvolvimento de novos fármacos contribuindo com o avanço tecnológico e da indústria farmacêutica, que vêm nesses produtos, protótipos e fonte de inovação para a descoberta de medicamentos (ELOY et al., 2014).

Desta forma, as investigações do potencial de plantas medicinais e de fitoterápicos tem aumentado o interesse de pesquisadores, sociedade e profissionais. Isto reflete o panorama atual de valorização da biodiversidade na substituição gradativa de medicamentos sintéticos para a saúde, assim como do ambiente e dos conhecimentos tradicionais (HEGAZY et al., 2015). Estudos como os de Nunes et al. (2011), Albuquerque-Junior et al. (2009), Souza et al. (2013) e Nascimento et al. (2015), em que foram elaborados biomateriais utilizando produtos naturais que apresentaram resultados promissores na reparação tecidual e contração da ferida, ratificam a interesse da ciência por produtos naturais e suas substâncias químicas (KHAN, 2018).

A vasta diversidade vegetal e ampla sociodiversidade que o Brasil possui, faz dele um país com grande potencial para o desenvolvimento de terapêuticas (BRASIL, 2006). Ele contribui com aproximadamente 23% das espécies de plantas e de animais conhecidos no planeta, os quais se encontram distribuídos nos diferentes biomas, no entanto, apesar do amplo acervo tanto no ambiente aquático como terrestre o país não dispõe de estudos pautados nessa linha de pesquisa na mesma proporção da diversidade etnobotânica existente. Mesmo assim, observa-se o crescimento gradual e significativo do uso de plantas como alternativa medicamentosa na cura e tratamento de várias doenças (SANTI et al., 2014).

As pesquisas científicas são imprescindíveis para elucidar a possibilidade que as espécies vegetais, com suas substâncias ativas, têm de causar danos à saúde através de intoxicações, assim a ciência respalda a etnofarmacologia para que seu uso seja efetuado de forma segura e mais ampla (HEGAZY et al., 2015). Um passo importante nesse sentido foi dado pelo Brasil a partir da implantação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos, por meio do Decreto nº. 5.813, de 22 de junho de 2006, da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS) e da publicação da Portaria MS/GM nº. 886, de 20 de abril de 2010, que instituiu a Farmácia Viva no SUS (BRASIL, 2010) esses marcos legais proporcionaram maior acesso ao ampliar a oferta de fitoterápicos e de plantas medicinais para a população demonstrando a importância da medicina tradicional para o país (ALERICO et al., 2015).

Estima-se que cerca de 25% dos atuais medicamentos disponíveis no mercado são derivados, direta ou indiretamente, de princípios ativos vegetais. Em 2012, o mercado de preparações de fitoterápicos mundial se aproximava de US$ 44 bilhões e o brasileiro entre US$ 350 e US$ 550 milhões (TERRA JUNIOR, et al., 2015). Segundo a Portaria nº. 971 de 03/05/2006, do Ministério da Saúde, a fitoterapia é uma terapêutica configurada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal. Os medicamentos são obtidos empregando-se, exclusivamente, matérias-primas ativas vegetais, cuja eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, de documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas. Eles são caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade.

De acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), são classificadas como plantas medicinais aquelas que possuem fonte de fármacos usadas para aliviar, prevenir ou curar uma doença ou uma alteração fisiológica ou um processo patológico. No ano de 2009, o Ministério da Saúde lançou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS – RENISUS, composta por 71 espécies, algumas delas, entre outras ações biológica, são cicatrizantes conforme identificadas no Quadro 3. As plantas que compõem a lista do RENISUS podem ser utilizadas como fitoterápicos, a exemplo do *Stryphnodendron*

*adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão), popularmente utilizado por possuir ação adstringente, anti-inflamatório, antisséptico e cicatrizante (BRASIL, 2009).

Quadro 3: Espécies que possuem ação cicatrizante.

| ESPÉCIE | NOME POPULAR | AÇÕES BIOLÓGICAS |
|---|---|---|
| *Aloe vera* | babosa | anti-tumoral, pedras de rins, úlceras gástricas, cicatrizante |
| *Carapa guianensis* | andiroba | anti-inflamatória, cicatrizante, edemas, reumatismo |
| *Casearia sylvestris* | guaçatonga, erva-de-bugre | dermatites, picada de cobra, cicatrizante |
| *Cordia spp* | erva baleeira | cicatrizante e anti-inflamatório. |
| *Croton spp* | canelinha | antiespasmódicos, cicatrizante, |
| *Equisetum arvense* | cavalinha | artrite reumatoide, tuberculose, fraturas, cicatrizante |
| *Momordica charantia* | melão amargo | diabetes, anti-viral, reumatismo, malária, cicatrizante |
| *Plantago major* | tanchagem | anti-inflamatória, cicatrizante |
| *Polygonum spp* | erva-de-bicho | anti-inflamatória, analgésica, cicatrizante, hemostática, adstringente |
| *Punica granatum* | romã | anti-inflamatório, cicatrizante |
| *Solanum paniculatum* | jurubeba | anti-inflamatória, cicatrizante, descongestionante, antidiabético |
| *Solidago microglossa* | arnica-do-brasil | adstringente, cicatrizante, antimicrobiano |
| *Stryphnodendron adstringens* | barbatimão | adstringente, anti-inflamatório, antisséptico e cicatrizante |

Fonte: Brasil, 2009

É comum planta de espécies diferentes com mesmo nome popular ou uma única espécie de planta com vários nomes. A exemplo disso o *Stryphnodendron adstringens* e a *Abarema cochliacarpos*, ambas objeto desse estudo e conhecidas como barbatimão, no entanto, apenas o *Stryphnodendron adstringens* possui registro e está indexado na RENISUS (BRASIL, 2006). A *Abarema cochliacarpos* é uma espécie utilizada pela população do Estado de Sergipe (SILVA et al., 2006).

Neste sentido, avaliar e caracterizar botanicamente as espécies é importante por permitir estabelecer parâmetros para a realização de diferentes práticas influenciada por

questões culturais, além de otimizar novas oportunidades de conhecimento para a exploração sustentável da espécie (KANAWATE; CARVALHO, 2008).

### 3.8. *Stryphnodendron adstringens*

Pertencente à família Fabaceae, o *Stryphnodendron adstringens*, também conhecido como barbatimão, abaramotemo, barbatimão-verdadeiro, barba-de-timan, barba-de-timão, barbatimão-vermelho, casca-da-mocidade, casca-da-virgindade, iba-timão, ibatimô, paricarana, uabatimô, ubatima, ubatimô, chorãozinho-roxo, paricana, verna e piçarana, é uma espécie de distribuição geográfica ampla no bioma cerrado, ocorrendo desde o Pará, pelo Planalto Central, até Minas Gerais e São Paulo (LORENZI e MATOS, 2002), conforme identificado na Figura 2.

Figura 2: Mapa com distribuição geográfica do *S. adstringens* no Brasil.
Fonte: Goulart, 2014.

A espécie *S. adstringens* se apresenta como árvore de pequeno porte, com crescimento muito lento (atinge 2-6 m de altura), tronco e ramos tortuosos, casca grossa,

rugosa, rígida e acinzentada, madeira com parte interna vermelha, descamante em árvores mais velhas, ramos jovens espessos, intumescido, ramos terminais ferrugíneo-tomentosos. Suas flores são avermelhadas ou quase brancas e a disposição de suas espigas é de cerca de 10 cm de comprimento e 1,5 cm de largura. Seu fruto legume é indeiscente, grosso e carnoso, castanho escuro, com cerca de 10 cm de comprimento e 2 cm de largura (LORENZI e MATOS, 2002), Figura 3. Segundo Almeida et al. (1998) e Lisboa, et al. (2006), a árvore fornece madeira de cerne vermelha, própria para construções civil e marcenaria, seu período de floração se dá de setembro a novembro e frutifica de novembro a julho.

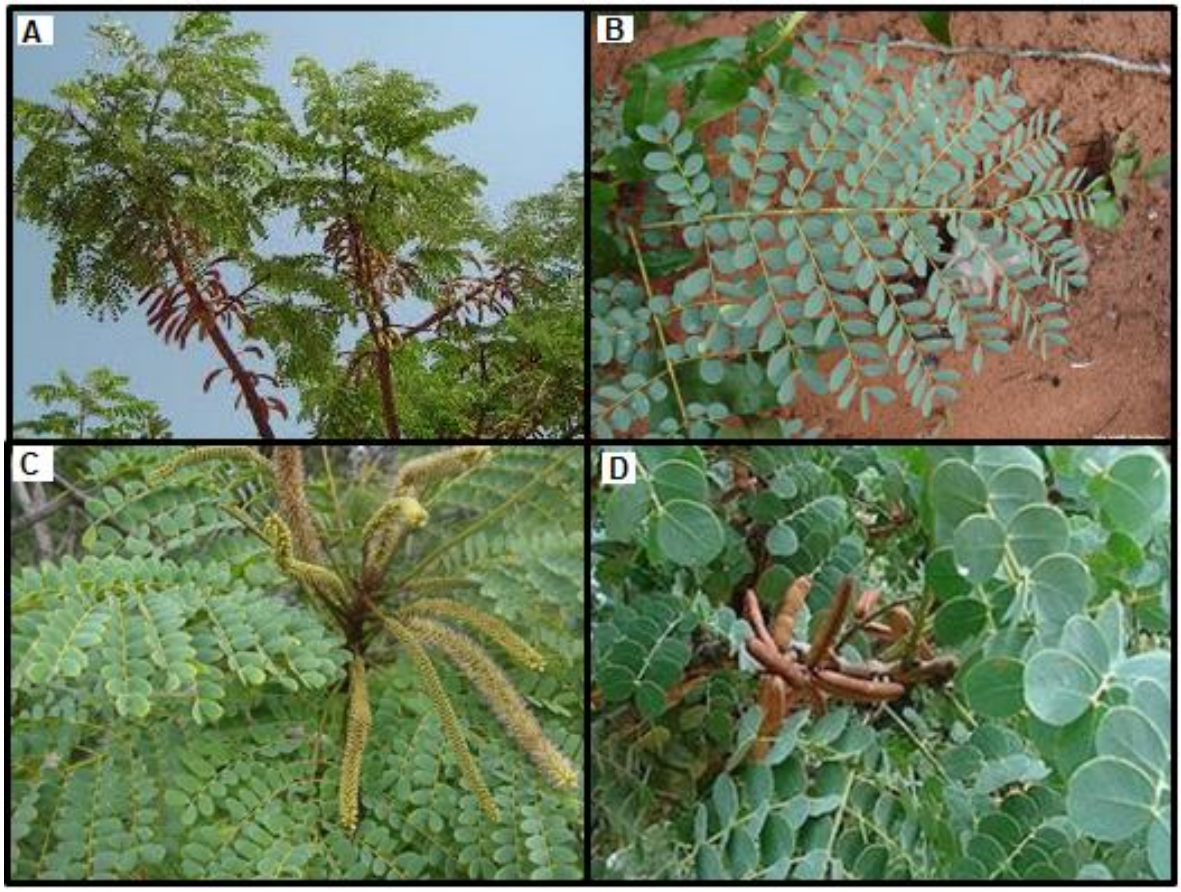



Figura 3: Aspecto visual de *Stryphnodendron adstringens*: (A) Árvore, (B) Folhas, (C) Flor, (D) Sementes. Fonte: Lorenzi, 2002.

Suas propriedades medicinais são muito conhecidas na medicina popular. A casca do caule é usada como cicatrizante, anti-inflamatório, antiulcerogênica e para o tratamento de corrimentos vaginais (MARTINS; SOUZA, 1998; LIMA et al., 2010). Além disso, a planta é utilizada como antifúngica e antibacteriana, sendo empregada na produção de sabão, substituindo a soda cáustica e no curtume de couro (LORENZI, MATOS, 2002).

### 3.8.1. Aspectos químicos da espécie *Stryphnodendron adstringens*

A composição química do extrato de barbatimão apresenta substâncias monoméricas e proantociandinas, alcaloides não determinados, amido, matérias resinosas, ácido tânico, açúcares solúveis, flavonoides, flobafenos (PINHO et al., 2011, LIMA et al., 2016). De acordo com Costa et al. (2013), as substâncias presentes podem variar de acordo com a região geográfica. Mello et al. (1996a e 1996b) isolaram, a partir de extratos liofilizados da casca do caule, flavan-3-óis, prodelfinidas e prorobinetinidinas. Estudos realizados por Mello et al. (1999) e Lopes et al. (2009), isolaram uma nova prodelfinina, denominada *4'-O-metil-galocatequina-(4α→8)-4'-O-metil-galocatequina*. Essas substâncias são identificadas como taninos.

Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água, com massa molecular entre 500 e 3000 Daltons que apresentam a habilidade de formar complexos com alcaloides, gelatina e outras proteínas. Tais compostos possuem importância, pois são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e outros produtos vegetais (PEREIRA et al., 2015). Os taninos hidrolisáveis são caracterizados por um poliol central, geralmente beta-D-glicose, cujas funções hidroxilas são esterificadas com ácido gálico. Os taninos condensados são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais unidade flavan-3-óis flavan-3,4-dióis. Essa classe de taninos também é denominada como proantocianidina devido ao fato de os taninos condensados produzirem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas (PEREIRA et al., 2015). Na Figura 4 estão representadas as estruturas químicas dos metabólicos secundários descritos na monografia de *S. adstringens*: *O-metil-galocatequina, epigalocatequina, e 4'-O-metil-galocatequina-(4α→8)-4'-O-metil-galocatequina* (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010)

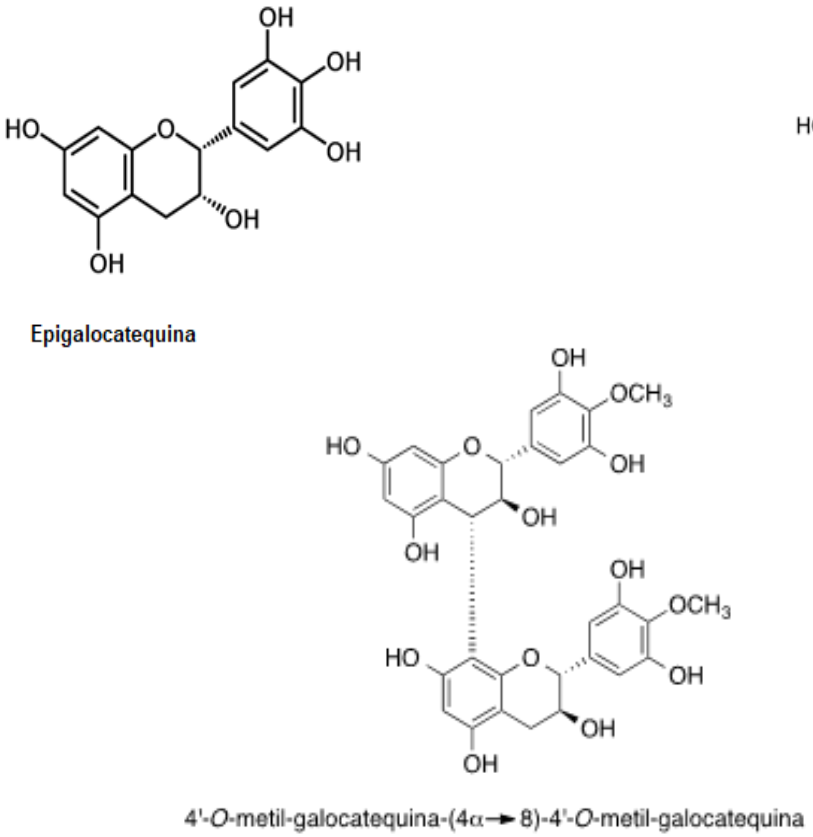



Figura 4: Estruturas químicas dos metabólitos secundários do *S. adstringens*.
Fonte: http://qnint.sbq.org.br

### 3.8.2. Aspectos biológicos do *Stryphnodendron adstringens*

No processo cicatricial de feridas cutâneas, os taninos têm capacidade de formar ligações de hidrogênio ou ligações hidrofóbicas duradouras com proteínas, polissacarídeos ou ambos sobre tecidos epiteliais lesionados, permitindo que, logo abaixo dessa camada, o processo de reparação tecidual ocorra naturalmente. Esta capacidade de precipitação de proteínas favorece a hemostasia após a injúria (LIMA et al., 2010; HERNANDES et al., 2010)

O extrato de *Stryphnodendron adstringens* é rico em taninos condensados, que são ricos em polímeros de proantocianidinas que inclui vários flavonóis como prodelfinidinas e prorobinetinidinas reconhecidamente ativos em processos de regeneração de tecidos da pele (HERNANDES et al., 2010; LIMA et al., 2016). Esta espécie está descrita na Farmacopeia Brasileira (2010), com um teor de pelo menos 8% de taninos totais. Somado a isso, outras atividades biológicas ampliam as áreas de pesquisas sobre a ação desta planta.

A atividade antibacteriana do *Stryphnodendron adstringens* foi constatada por Audi et al. (2004) utilizando o extrato acetônico que inibiu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus.* O extrato hidroalcoólico foi eficaz frente ao *Streptococcus mitis,* e

*Lactobacillus casei* (SOARES et al., 2008); atividade antimicrobiana também foi observada por Costa et al. (2011) utilizando extrato bruto seco de *S. adstringens* nas bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas de leite, no entanto nesse estudo, a *Escherichia coli* não foi sensível ao extrato vegetal.

A eficiência de compostos naturais oriundos desse espécime vegetal frente à ação cicatrizante tem sido utilizado tanto topicamente, na forma de extrato líquido (EURIDES et al., 1995, MARTINS et al., 2003), no decocto da casca, que apresentou 25 a 30% de taninos (PANIZZA et al., 1988), na forma de pomada a 10% de barbatimão (RABELO et al., 2006; DA SILVA et al., 2009). Em outro estudo utilizando pomada contendo uma fração acetato de etila 1% obtida de cascas de "barbatimão" HERNANDES et al. (2010) observou-se que houve proliferação dos queratinócitos na área reepitelizada.

Panizza et al. (1988) avaliou a evolução do uso da fração solúvel de acetona do extrato bruto da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* em feridas agudas e crônicas em ratos e verificou inibição significativa do edema de pata induzido por carragenina e dextrano e do volume de exsudato evidenciando que os extratos de casca de S. adstringens são promissores no tratamento de condições inflamatórias.

Além dos estudos não clínicos com animais confirmando a ações biológicas acima mencionadas, Minatel et al. (2010) realizou estudo clínico conduzido por seis meses com o objetivo de avaliar a eficácia de pomada contendo 3% de fitocomplexo fenólico de barbatimão na cicatrização de úlceras de decúbito. Foram submetidos ao protocolo clínico 27 pacientes apresentando um total de 51 úlceras. Durante a realização do estudo 100% das lesões tratadas com o medicamento cicatrizaram completamente.

O barbatimão foi utilizado no trabalho desenvolvido por Ishida et al. (2006) com o objetivo de investigar atividade antifúngica de extratos, frações e subfrações brutas em leveduras isoladas de secreção vaginal, os resultados indicam ação antifúngica moderada em *Candida albicans*. Os autores atribuem tal propriedade aos taninos condensados presentes na espécie. Souza et al. (2009) comprovou a atividade microbiana de extratos polares (etanol 50%, etanol 70%, acetona:água (7:3, v/v) e clorofórmio), pela formação de halos de inibição de crescimento bacteriano, essa atividade também foi atribuída aos principais constituintes desta droga vegetal.

Além dos dados acima elencados, destaca-se ainda a ação angiogênica descrita por Chaves et al. (2016) utilizando solução aquosa do barbatimão. Quanto à toxidade, Rebeca et al. (2002) observaram seu efeito em certos parâmetros bioquímicos no plasma de camundongos após receberam dose oral diária de extratos a 800 e 1600 mg/kg. Após 30 dias houve diminuição no peso corporal, involução tímica e um aumento nos níveis de glicose plasmática e aspartato aminotransferase nos animais. Os resultados mostraram que o extrato

administrado em um período prolongado produziu efeitos tóxicos nos animais experimentais e que o valor da dose letal do extrato foi de 2699 mg/kg.

### 3.9. *Abarema cochliacarpos*

A *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & Grimes é uma espécie nativa do Brasil, com conotação medicinal, pertencente à família Leguminosae – Mimosoidae que apresenta porte arbóreo, atingindo cerca de 8 m de altura, também é conhecida como barbatimão no Nordeste do país. Contém seus princípios ativos principalmente no caule e apresenta no seu perfil fitoquímico saponinas, catequinas, taninos, fenóis e antraquinonas (LANDIM et al., 2015).

Esta espécie é encontrada tanto na floresta costeira e interior em áreas com arbustos ou encostas gramadas abertas e *habitats* de savana (mata de cipó, caatinga, cerrado, campo rupestre). Sua ocorrência se verifica na Região Nordeste e Sudeste do Brasil: nos Estados de Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo, respectivamente (Figura 5) (IGANCI, MORIM, 2012; LANDIM et al., 2015).

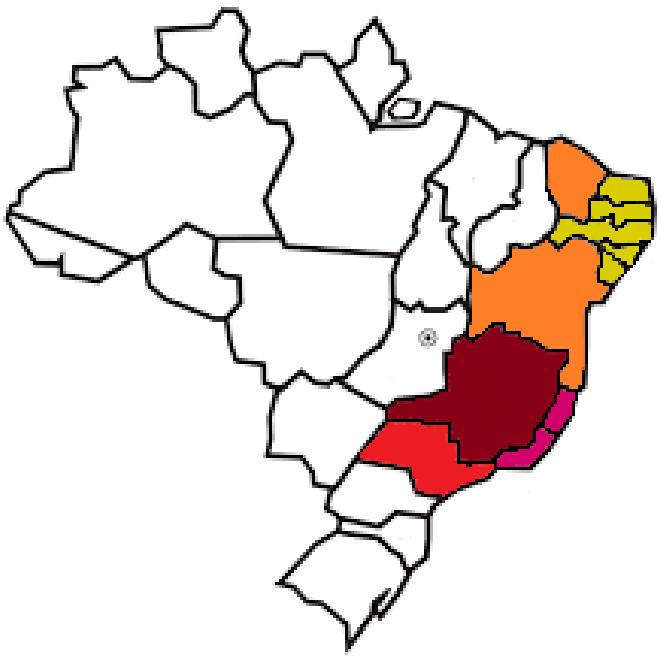


Figura 5: Mapa de distribuição geográfica da *Abarema cochliacarpos* no Brasil.
Fonte: Iganci; Morim, 2012.

Há poucas referências com relação a *Abarema cochliacarpos*. Observa-se em algumas bases de dados como *SciFinder® Scholar, Google Acadêmico, Science Direct e Scielo* que esta espécie é citada com outras denominações, entre elas destacam-se as seguintes sinonímias: *Pithecolobium cochliacarpum*, *Mimosa cochliacarpos* Gomes, *Pithecolobium auaremotemo* Martius, *Feiuleea cochlocarpa* (Gomes) Kuntze, *Mimosa vaga* Vell, *Inga nandinaefolia* DC e *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes (IGANCI, MORIM, 2012).

Trata-se de uma árvore frondosa de pequeno a médio porte, possuindo folhas compostas, flores ligeiramente amareladas, frutos do tipo legume contorcido e sementes brancas acinzentadas (Figura 6). Popularmente conhecida como barbatimão, babatenom, babatenã, barba-de-timão, bordão-de-velho, ingá-negro, ingá-preto, entre outras, esta espécie apresenta grande valor medicinal (SANTOS et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2013 (b)). Ela é amplamente utilizada *in natura* no Brasil como planta medicinal e no Nordeste é tradicionalmente utilizada como um remédio anti-inflamatório (SANTOS et al., 2007).

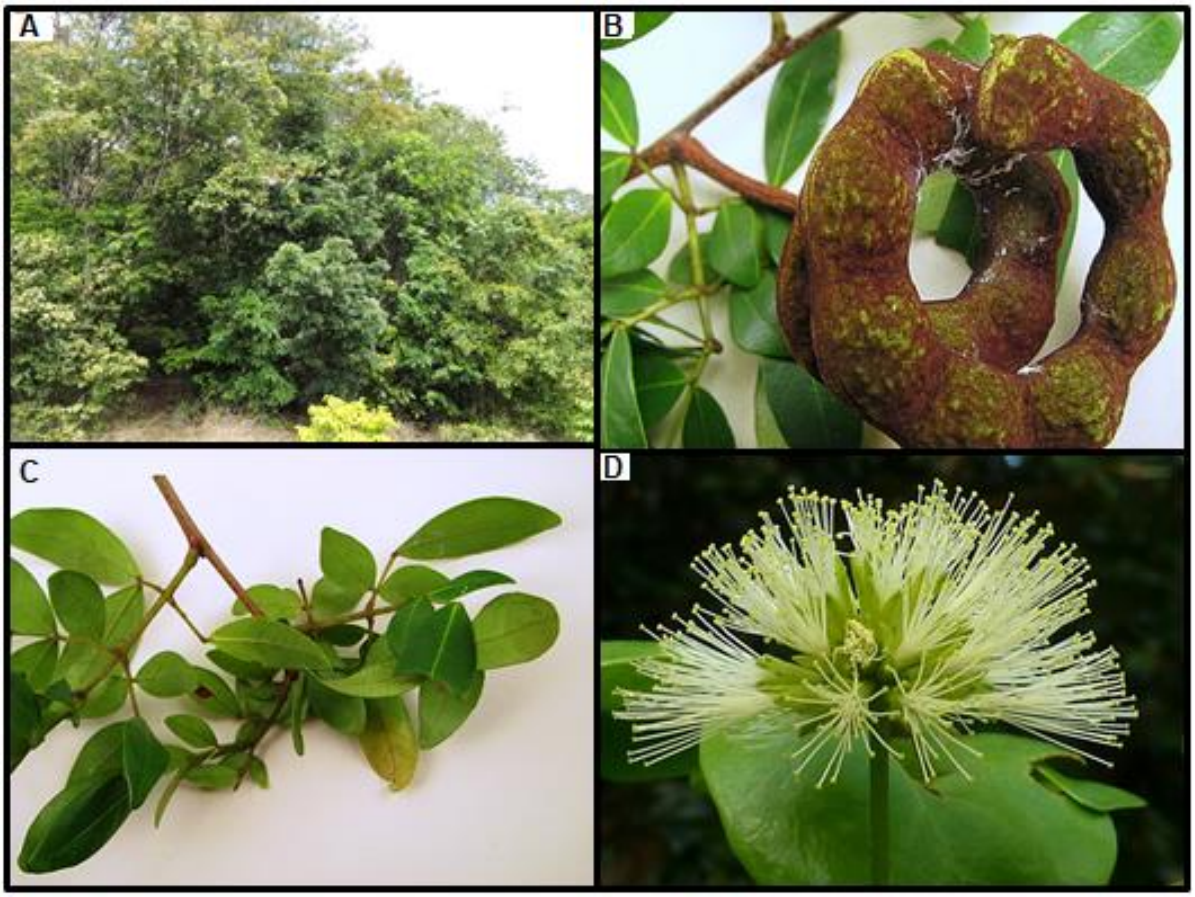



Figura 6: Aspecto visual da árvore da *Abarema cochliacarpos*: (A) Árvore, (B) Semente, (C) Folhas, (D) Flor.
Fonte: LORENZI, 2002

### 3.9.1. Aspectos químicos da *A. cochliacarpos*

Com relação à constituição química, observou-se que a *A. cochliacarpos* é composta por flavonoides e suas diversas variações. Silva et al. (2009) destacou a catequina, fenóis e antraquinonas. Estudo conduzido por Dias et al. (2012), observou a presença de várias classes de metabolitos secundários fenólicos como catequinas, flavonas, flavonois, leucoantocianidinas, taninos e xantonas, além de saponinas e esteroides. Na análise fitoquímica da planta, Tenório et al. (2016) identificou alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos condensados, terpenos e esteroides.

Dos metabólicos identificados a catequina apresenta atividades biológicas, antioxidante, anti-inflamatória quimioprotetora (SCHIMITZ et al., 2005). Já as saponinas apresentam ação antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana (SPARG et al., 2004) e os taninos agem na cicatrização de feridas como pequenas ulcerações, queimaduras e inflamações (BESSA et al., 2013). Os constituintes químicos da *A. cochliacarpos* estão representados na Figura 7.

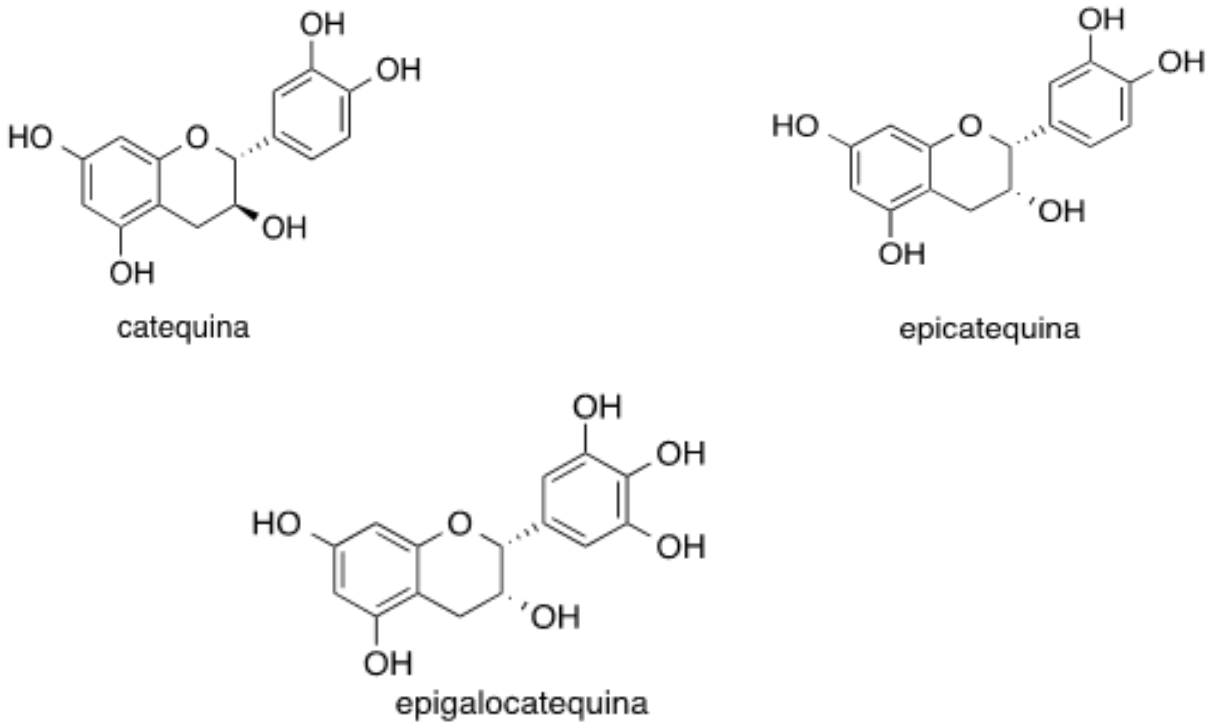



Figura 7: Estruturas químicas de metabólicos encontrada na *A. cochliacarpos*.
Fonte: http://qnint.sbq.org.br.

### 3.9.2. Aspectos biológicos dos extratos de *A. cochliacarpos*

Popularmente, o decocto das cascas desta planta é empregado no tratamento de leucorreia, hemorragias, diarreia, hemorroidas, para limpeza de ferimentos e na forma de gotas contra conjuntivite (SANTOS et al., 2007; SILVA et al., 2009; LOPES et al., 2009). Os efeitos benéficos dessa espécie podem ser em função da presença de catequina, uma substância antioxidante que combate os radicais livres (OLIVEIRA et al., 2013 a).

Para a atividade bacteriana, Tenório et al. (2016) concluíram que os extratos ciclohexânico, acetônico e etanólico da casca de *A. cochliacarpos* mostraram ser eficazes frente às cepas Gram-positivas *Staphylococcus intermedius* e *Bacillus sp*. isoladas de feridas cutâneas de cão.

Outras atividades biológicas foram observadas *in vivo*, entre as quais, a anti-ulcerogênica e analgésica. Na pesquisa de Silva et al. (2009) foi descrito atividade analgésica do extrato aquoso e metanólico da casca desta espécie em modelo murino com colite ulcerativa aguda, os animais foram avaliados pelo teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético via intraperitonial, apresentando respostas superiores às drogas usadas como referência, bem como no modelo da dor induzida por capsaicina. Neste estudo foi utilizada uma dose de 3-20 mg/kg, por via intraperitoneal ou oral com uma dosagem de 100 mg/kg. O tratamento diminuiu o dano macroscópico em comparação com 2, 4, 6 – ácido trinitrobenzeno sulfônico, substância capaz de gerar lesões semelhantes às observadas na doença inflamatória intestinal que ocorre em humanos, sendo este modelo muito utilizado nos estudos de enterocolites. A análise histológica mostrou que a administração do extrato melhorou a estrutura microscópica e preservou algumas áreas da estrutura da mucosa do colo sendo comprovado também os efeitos gastroprotetores

Já Santos et al. (2007) avaliaram o potencial antimicrobiano dos extratos da casca de *A. cochliacarpos* em *Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa*, isolados de amostras clínicas, cujo resultado evidenciou a capacidade que os extratos tinham para inibir o crescimento bacteriano *in vivo*. Na pesquisa de Dias et al. (2012), o extrato bruto de etanol de *A. cochliacarpos* e suas frações de acetato de etila e hidrometanol mostrou efeitos protetores capazes de ajudar as enzimas endógenas e não enzimáticas a manter o equilíbrio redox.

Estudos realizados por Oliveira et al. (2013) mostraram que a após a infusão de 1 mL do extrato bruto de casca de *A. cochliacarpos* e suas diluições (12,5, 25 e 50% v / v) por 45 dias causou intoxicação em ratos. Os animais apresentaram esteatose, acumulação de pigmentos, congestão dos vasos hepáticos, presença de macrófagos e linfócitos infiltrados no fígado. Estes resultados são importantes porque muitas comunidades utilizam a infusão elaborada com esta planta no tratamento de doenças em doses aleatórias, o que pode

provocar problemas hepáticos.

### 3.10. Extração do material vegetal

Há no extrato bruto uma mistura constituída por diversas moléculas. Para se obter uma fração ativa e eficaz da droga vegetal é preciso que a extração seja mais seletiva, considerando o extrato que se quer preparar. Para isso, é necessário utilizar solvente, método apropriado e seguro avaliando a eficiência, a estabilidade das substâncias extraídas, o custo do processo e a capacidade de conservação. Na preparação dos extratos vários solventes podem ser utilizados, os mais comuns são a água, o álcool e a acetona (FONSECA, 2005).

#### 3.10.1. Métodos de extração

Para se ter a semi-purificação de compostos ativos a partir da droga vegetal tem-se que considerar o processo de extração. Alguns fatores interferem na extração, por isso, é importante o conhecimento das características do material vegetal identificando o grau de divisão, que deve ser de acordo com sua rigidez para que o solvente penetre no material e possibilite a difusão, o meio extrator, observando o solvente mais afim e a metodologia utilizada que deve ser a mais indicada para cada caso (CARDOSO et al., 2017).

Como o poder de penetração dos solventes depende da consistência dos tecidos que formam o material a extrair, é necessário considerar que quanto mais rígido o material, menor deve ser a sua granulometria para facilitar a penetração dos solventes (SHARAPIN et al., 2000). Na extração dos taninos, que são substâncias polares, as misturas hidroalcoólicas e a água são as mais indicadas (CARDOSO, et al., 2017).

Há diversas maneiras de realizar a extração de vegetais. Uma delas é a percolação, que tem como característica a extração exaustiva das substâncias ativas. É uma operação dinâmica, indicada na extração de substâncias farmacologicamente muito ativas, presentes em pequenas quantidades ou pouco solúveis. A infusão é outro tipo de extração que se dá pela permanência, durante certo tempo, do material vegetal em água fervente. É aplicável a partes de vegetais de estrutura mole, que devem ser cortadas para que possam ser facilmente penetradas pela água (SONAGLIO et al., 2007).

O método de maceração dinâmica consiste numa operação simples na qual a extração da matéria-prima vegetal é realizada em recipiente fechado, em temperatura ambiente, durante um período prolongado, sob constante agitação mecânica e sem renovação do líquido extrator. Tem a vantagem de ser uma extração sem degradação de substâncias ativas

termolábeis, no entanto, pode haver proliferação microbiana (SONAGLO et al., 2007; CARDOSO et al, 2017).

O método por turbo extração baseia-se na extração com simultânea redução do tamanho das partículas e o rompimento das células favorecendo a rápida dissolução das substâncias ativas. As vantagens desse método são a simplicidade, rapidez e versatilidade da técnica (ISHIDA et al., 2006).

O cálculo do rendimento do extrato é importante para definir a quantidade necessária de material botânico para o processo de obtenção do extrato seco que define a viabilidade do processo em grande escala. Alguns fatores como a polaridade do solvente extrator, tempo de extração e a relação droga vegetal/solvente são importantes para que se obtenha uma extração com bom rendimento, com maximização das moléculas presentes na planta e que preserve a atividade biológica destas moléculas. Para conservar a espécie, é importante que não seja necessário coletar grandes quantidades de material vegetal fresco, quando este material for a casca do caule (FERNANDES, et al., 2015).

### 3.10.2. Caracterizações dos extratos (CLAE, DPPH e FRAP)

A caracterização do extrato é uma fase importante, pois é possível identificar a composição química com definição e quantificação de marcadores químicos essencial para garantir a autenticidade, pureza e integridade das ervas medicinais (SOUZA et al., 2017). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um método de separação que permite, de forma ampla, a identificação e determinação de componentes químicos de misturas complexas, inclusive aqueles de compostos de maior peso molecular. Está entre as técnicas mais utilizadas devido à sensibilidade, adaptação e adequação para determinação e separação de espécies não voláteis ou tecnicamente frágeis, com ampla aplicabilidade às substâncias de interesse para muitos campos da ciência (OLIVEIRA et al., 2015).

Além da caracterização química, a prospecção da atividade biológica através dos testes de triagem a exemplo da atividade antioxidante, tem sido etapa importante nos estudos de extratos vegetais. O Brasil, com sua vasta formação vegetal representa potencial fonte para a prospecção de biomoléculas de interesse científico. Estão incluídas aquelas com atividade antioxidante, substâncias capazes de neutralizar ou reparar a ação dos radicais livres que combatem o estresse oxidativo (BRAZ FILHO, 2010). Nas pesquisas envolvendo espécies vegetais, os agentes antioxidantes são importantes para verificar o potencial farmacológico encontrado em extratos de plantas com capacidade de combater os radicais livres (OLIVEIRA, 2015).

A atividade antioxidante dos extratos pode ser testada em relação à redução do radical

livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). As substâncias antioxidantes transferem elétrons ou átomos de hidrogênio, reduzindo e neutralizando seu caráter radicalar (NAIK et al., 2003, KEDARE; SINGH, 2011; GULÇIN, 2012). Outro método utilizado para avaliar eficiência antioxidante é o FRAP - *ferric reducing antioxidant power*. Esse método determina a capacidade dos fenóis (presentes nas amostras) em reduzir o ferro em soluções aquosas de compostos puros (PULIDO et al., 2000).

# 4. MATERIAL E MÉTODOS

## 4.1. Prospecção de patentes

Para embasar o critério de novidade e atividade inventiva foi realizada uma pesquisa na base de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) que compõe o acervo de patentes depositadas do Brasil e na base europeia de Patentes (Espacenet) que compila o acervo de patentes depositadas em mais de 90 países.

## 4.2. Material botânico e obtenção da matéria-prima

Na identificação dos espécimes vegetais das plantas selecionadas e conhecidas popularmente como barbatimão, foram classificadas como *Stryphnodendron adstringens* (SA) a proveniente do Estado do Paraná e *Abarema cochliacarpos* (AC) aquela proveniente do Estado de Sergipe.

As cascas de SA foram colhidas manualmente, com auxílio de lâmina cortante no dia 15/03/2014 em São Jerônimo da Serra, Paraná, Brasil (24°43’78’’S, 50°45’24’’W). A amostra do material foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá sob registro HUEM 28197 (Anexo 1).

As cascas de AC foram coletadas manualmente com auxílio de uma lâmina cortante na Colônia Tejupeba, altitude de 109 m, no município de Itaporanga d’Ajuda – Sergipe, Brasil (11º 4’ 41” S, 37º 17’ 23” W), em 29/10/2015, na propriedade de Ana Chaves da Silva. Os materiais (folhas, frutos e flores) foram identificados pela especialista em Fabaceaes, Dra. Élvia Rodrigues de Souza da Universidade do Estado da Bahia – UNEB e foram depositados no Herbário da Universidade Tiradentes sob o registro número HUT 815 (Anexo 2).

As cascas de SA e AC foram picadas manualmente, secas em estufa climatizada, ventilada a 35,9 °C por quatro dias. Após secas, foram moídas em moinho de martelos.

## 4.3. Obtenção dos extratos de *S. adstringens* e de *A. cochliacarpos*

A avaliação do processo extrativo foi realizada primeiramente comparando-se dois métodos de extração (turboextração -TE e maceração dinâmica - MD) com a espécie AC, levando-se em conta as variáveis respostas do rendimento da extração e atividade antioxidante do extrato.

Para o desenvolvimento da membrana e verificação da atividade biológica do produto,

foi selecionado o método de turboextração. (Figura 8).

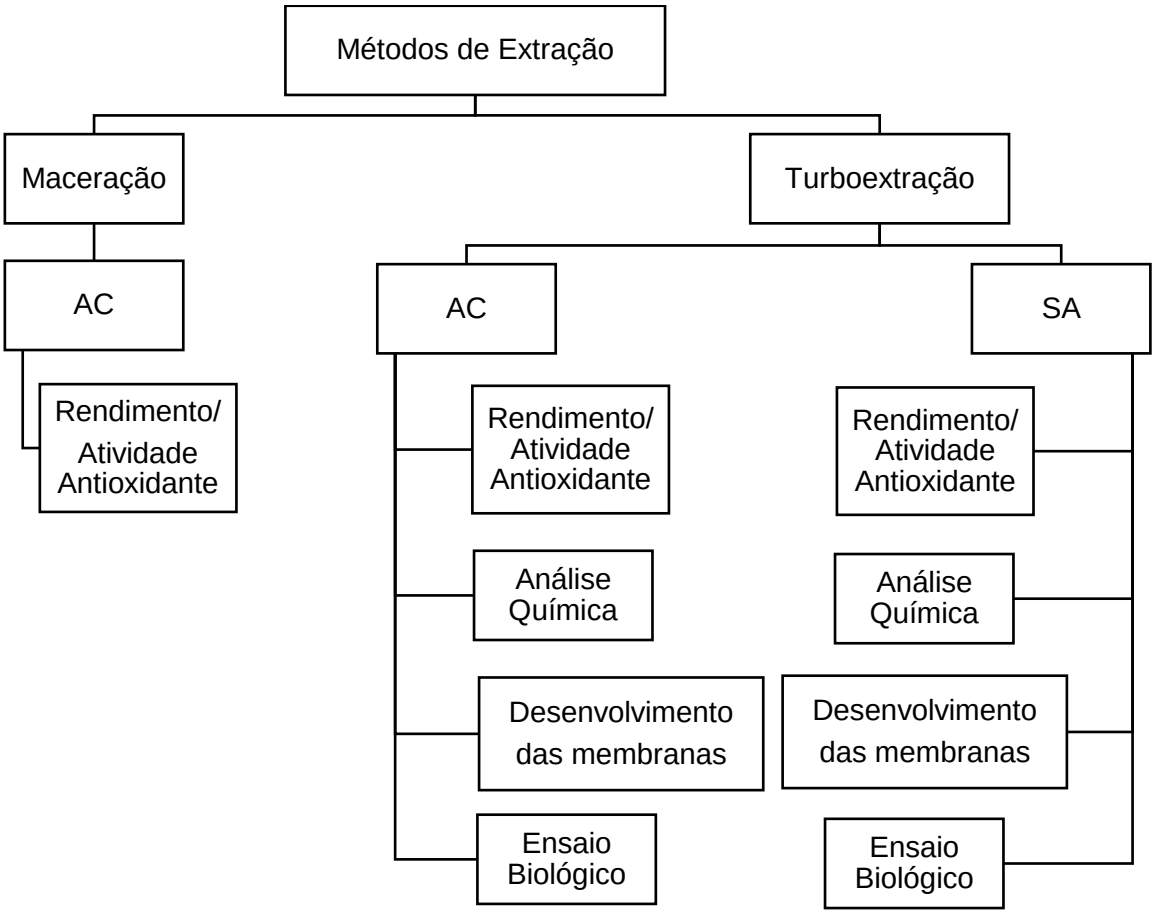



Figura 8: Etapas metodológicas após preparação dos extratos de AC e SA

### 4.3.1. Extração por maceração dinâmica (MD)

O pó da casca (5 g) foi colocado em contato com 500 mL de água destilada e em seguida, a solução filmogênica foi colocada em agitador mecânico por 2 h a uma temperatura ambiente. O extrato obtido foi filtrado em papel-filtro e o solvente eliminado em estufa a 55 ºC. Após eliminação do solvente, o extrato seco resultante foi armazenado em frascos âmbar (DAYAN et al., 2000; BRANDÃO et al., 2007).

Apenas a amostra AC foi obtida por esta metodologia assim, identificou-se os extratos da seguinte forma: AC-MD e as extrações foram feitas em triplicata.

### 4.3.2. Extração por turbo extração (TE)

Pelo método de turbo extração (TE) foram obtidos extratos de AC e SA, os mesmos foram identificados como AC-TE e SA -TE. Todas as extrações foram feitas em triplicata e, seguiu-se a metodologia proposta por Ishida et al. (2006), a qual utilizou-se o turbo-extrator, (Ultra-Turrax UTC115KT), 3500 rpm, com acetona e água (7:3 v/v) como sistema extrator por 25 min e temperatura ≤ 40 ºC. Cerca de 2 kg do material vegetal foi cisalhado por 5 min, seguido de 12 h de repouso. Decorrido este tempo, foram realizados 3 ciclos de 5 min de agitação e 20 min de repouso. Após a turbólise, o extrato foi filtrado em funil de Büchner. O solvente orgânico foi eliminado utilizando um rotaevaporador sob pressão reduzida e o resíduo foi liofilizado obtendo-se o extrato bruto seco.

### 4.3.3. Determinação do rendimento dos extratos

Os rendimentos de todos os extratos das plantas foram determinados pela equação 1 e expressos em percentual (%)

$$Rendimento(\%) = \left(\frac{m_f}{m_i}\right) * 100 \quad (1)$$

Na qual:

% *R* = Percentual de rendimento;

$m_i$ = massa de extrato inicial;

$m_f$ = massa de extrato obtido.

## 4.4. Caracterização dos Extratos

### 4.4.1. Determinação da capacidade antioxidante

#### 4.4.1.1. Poder antioxidante por DPPH

A atividade antioxidante dos extratos foi testada em relação à redução do radical DPPH, método descrito por Brand-Williams et al. (1995). Os extratos foram diluídos em metanol e preparados nas concentrações finais de 3,1 a 100,0 µg/mL. Um total de 100 µL de DPPH a 130 µM recém-preparada foram adicionados a 100 µL da amostra nas diferentes concentrações. As microplacas foram mantidas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz

para que ocorresse a reação. Depois de 30 min, as absorvâncias foram medidas a 517 nm, em espectrofotômetro de microplacas (Bio-tek Power Wave XS). Controle negativo (metanol adicionado ao DPPH), branco (somente metanol). O percentual de sequestro do radical livre DPPH (% SRL) foi feito por meio da Equação (2):

$$\%\mathrm{SRL} = \left(\frac{A_c - A_t}{A_c}\right) * 100 \qquad (2)$$

Na qual:

$A_c$ = absorvância do controle negativo;

$A_t$ = absorvância da solução do extrato.

Com os valores obtidos foi construído um gráfico de percentagem de sequestro do radical livre versus concentração dos extratos testados, em µg/mL. Por meio de regressão linear foi calculado o $CE_{50}$, que é a concentração do extrato com capacidade de reduzir 50% do DPPH.

#### 4.4.1.2. Poder antioxidante de redução do ferro – FRAP

A técnica de atividade antioxidante por FRAP foi realizada como descrito por Rufino et al. (2006). O etanol foi utilizado para diluição do padrão Trolox e para o preparo das concentrações dos extratos (20 a 80 µg/mL).

Para o preparo de reagente FRAP, foi misturado 2,5 mL da solução de tripiridiltriazina (TPTZ), 2,5 mL da solução de cloreto de ferro hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) 20 mM e 25 mL de tampão acetato 0,3 mM. Incubou-se a solução de FRAP a 37 °C em banho-maria por 30 min. Para a reação foi adicionada a 150 µL do reagente FRAP, uma alíquota de 30 µL de diferentes concentrações do padrão Trolox ou dos extratos. Esta mistura foi homogeneizada e lida em espectrofotômetro de microplacas (*Bio-tek Power Wave XS*) a 595 nm, após incubação por 30 min em banho maria a 37 °C. O equipamento foi zerado com um branco da amostra para descontar uma possível turbidez. Para isto, foram utilizados 150 µL do veículo FRAP (tampão acetato) e 30 µL da amostra.

Para determinação da atividade antioxidante total dos extratos foi realizada curva de calibração do Trolox (20 µM a 600 µM) e equação da reta obtida a partir das absorvâncias das diferentes diluições dos extratos. Os resultados foram expressos em capacidade antioxidante dos extratos equivalente ao Trolox (TEAC).

### 4.4.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

#### 4.4.2.1. Preparo da amostra

Para o preparo da amostra de SA-TE e AC-TE, 1 g de cada extrato foi diluída em 10 mL de água e particionada com 10 mL de acetato de etila (3x). As fases orgânicas foram reunidas e filtradas em papel filtro com 5 g de sulfato de sódio anidro. A fração orgânica foi evaporada em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. O resíduo foi retomado com 5 mL de metanol e água (2:8; v/v) e extraído em cartucho de extração em fase sólida, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 mm, 70 Å) previamente acondicionada com 10 mL de metanol e água (2:8; v/v), para balão de 100 mL. Em seguida foram eluídos 10 mL de metanol:água (2:8; v/v) para o mesmo balão e o volume foi completado (S1). Foi transferido 0,05 mL dessa solução para vial contendo 0,950 mL de metanol e desta para o injetor automático (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

#### 4.4.2.2. Condições cromatográficas

A determinação dos perfis cromatográficos e quantificação do teor de galocatequina e epigalocatequina para o extrato hidroacetônico de *S. adstringens* ou catequina e epicatequina para o extrato hidroacetônico de *A. cochliacarpos*, presente nos extratos, foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, conforme metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira para *Stryphnodendron adstringens*, com modificações (Brasil, 2010).

As análises foram realizadas em triplicata utilizando cromatógrafo *Thermo*, provido de bombas automáticas, *degasser* integrado (*Finnigan Surveyor LC Pump Plus*), detector espectrofotométrico PDA (*Finnigan Surveyor PDA Plus Detector), software Chromoquest* e amostrador automático (*Finnigan Surveyor Autosampler Plus*) equipado com *loop* de 10 µL para injeção. Para quantificação, as curvas padrão de catequina, epicatequina, galocatequina e epigalocatequina foram construídas e os resultados foram expressos em µg/mg de extrato. Utilizou-se coluna *Phenomenex Gemini* $C_{18}$ (250 mm x 4,6 mm) com partículas de 5 µm acoplada a uma pré-coluna, ambas empacotadas com sílica quimicamente ligada à grupo octadecilsilano e vazão da fase móvel de 0,8 mL/min. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 210 nm. Composição do gradiente da fase móvel: *Eluente A*: Mistura de água e ácido fórmico 0,1 % (v/v) e *Eluente B:* Mistura de acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (v/v) como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Sistema de gradiente linear.

| Tempo (minutos) | Eluente A (%) | Eluente B (%) | Eluição |
|---|---|---|---|
| 0 - 10 | 95 → 80,7 | 5 → 19,3 | gradiente linear |
| 10 – 13,5 | 80,7 → 75 | 19,3 → 25 | gradiente linear |
| 13,5 - 23 | 75 → 62 | 25 → 38 | gradiente linear |
| 23 - 25 | 62 → 25 | 38 → 75 | gradiente linear |
| 25 - 28 | 25 →95 | 75 → 5 | gradiente linear |
| 28 - 32 | 95 | 5 | isocrática |

#### 4.4.2.3. Curva de calibração por padrão externo

Para curva padrão, quantidade exatamente pesada de galocatequina ou epigalocatequina foi dissolvida em metanol e água (1:1; v/v), para obter solução a 0,152 mg/mL (solução mãe). A partir da solução mãe foi preparada uma solução com concentração de 18,24 µg/mL e foram então realizadas diluições seriadas para obter concentrações de 1,14; 2,28; 4,56; 9,12; 18,24 µg/mL.

O teor de galocatequina, epigalocatequina, catequina e epicatequina no extrato bruto em cada uma das amostras foi calculado a partir da equação linear da reta e o resultado foi expresso em mg/g de EB, seguindo a seguinte equação 3:

$$SQR = \frac{VLR*50}{1000*m} \quad (3)$$

Em que:

SQR = substância química de referência;

VLR = valor obtido em (µg/mL) de SQR/mL em S2, a partir da equação da reta;

500 = fator de diluição;

1000 = valor de conversão de µg para mg;

m = massa (g) de droga vegetal considerando a determinação de água.

### 4.4.3. Identificação dos constituintes por CLAE-MS

As soluções foram preparadas conforme descrito no item 4.4.2.1 As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido do *Prominence* ® UFLC *Shimadzu* LC-20AD com injetor

automático e detector de arranjo de diodos (DAD) acoplado a um espectrômetro de massas microTOFIII (*Bruker Daltonics*) com fonte de ionização por eletrospray. Todas as amostras foram analisadas em ambos os modos de ionização, positivo e negativo. A coluna utilizada na análise foi uma coluna Kinetex 2.6 µm $C_{18}$ 100A (150 x 2,1 mm) acoplada a uma pré-coluna de mesmo material, ambas da marca Phenomenex.

A partir das amostras preparadas na concentração de 1 mg/mL, foram injetados no cromatógrafo 1 µL. A vazão empregada foi de 0,3 mL/min e temperatura do forno de 50 °C. A fase móvel foi composta por água deionizada (A) e acetonitrila (B), ambos com 0,1% de ácido fórmico. O gradiente de eluição utilizado foi de 0-2 min a 3% (B), 2-25 min de 3 a 25% (B), 25-40 min de 25 a 80% (B) e 40-43 min a 80% (B).

Os picos cromatográficos foram identificados com base em seus espectros de UV, massa obtida para os íons precursores - molécula protonada $[M+H]^+$ e/ou molécula desprotonada $[M+H]^-$ em alta resolução, espectros de íons produto gerados por dissociação induzida por colisão em modo EM/EM e tempos de retenção no sistema utilizado (co-injeção de padrões). Esses dados foram gerados a partir de análises por CLAE-DAD-MS, tanto no modo de ionização positiva quanto negativa, para cada amostra.

Alguns picos foram identificados simplesmente por comparação de tempos de retenção e dados espectrais com os de padrões galocatequina, epigalocatequina, catequina e epicatequina, como também a partir da comparação com os dados descritos na literatura para tais substâncias.

### 4.5. Desenvolvimento de membranas poliméricas

Os materiais utilizados para produção das membranas pelo processo de *casting* foram: gelatina como matriz polimérica, propilenoglicol como agente plastificante e co-solvente, água como solvente e extratos hidroacetônicos de SA e AC.

A produção das membranas transcorreu em quatro etapas: a primeira consistiu em solubilizar 1,2 g da gelatina (gelatina em pó, NP – Comércio de Produtos Alimentícios Ltda) em 120 mL água destilada por 72 h em agitador mecânico com magneto. Na segunda etapa, 0,068 g de extrato na concentração de 0,57 g/L, foi solubilizado em 0,24 g propilenoglicol os quais foram adicionados à gelatina com a água. A terceira etapa consistiu em verter 30 mL da dispersão filmogênica em placas de polipropileno e na quarta e última etapa as placas foram colocadas em capela de exaustão para evaporação do solvente durante 5 dias. Após eliminação do solvente, as membranas foram acondicionadas em recipientes com umidade relativa de ar de 58% (MORTENSEN, 2015). Ao final foram produzidas membranas com

concentração de 4,5% de extrato em relação à massa polimérica seca.

## 4.6. Caracterizações das membranas poliméricas

### 4.6.1. Avaliação macroscópica

As membranas foram submetidas às análises preliminares macroscópicas para análise de suas superfícies, nas quais foram observadas as seguintes características: continuidade (ausência de rupturas e fraturas após a secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis ou visíveis a olho nu, ou zonas de opacidade ou de cores diferenciadas), manuseabilidade (possibilidade de ser manuseado sem riscos de ruptura), flexibilidade (capacidade da membrana de fazer dobras até quebrar) e a capacidade de formação de uma película contínua (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000). Esta análise foi obtida por meio de avaliação macroscópica, atribuindo escores de (+) a (+++) sendo classificados em deficiente, boa e excelente, respectivamente.

### 4.6.2. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas tensão/deformação foram determinadas com o uso de um texturômetro, no modo tração (TA-TX2, *Stable Micro Systems*, *England*). As amostras foram cortadas em forma retangular (30x10 mm), sendo utilizados 10 corpos de prova para cada amostra.

A espessura das amostras foi determinada medindo as amostras em três pontos com o uso de um micrômetro digital (Micrômetro externo digital, *Pantec*, precisão ± 0,001 mm). O módulo de *Young* ou de elasticidade (E) foi calculado a partir da região linear da curva de tensão x deformação, entre 0,00 e 1,00% de alongamento. A resistência (tensão de ruptura e alongamento) do material foi calculada através da área abaixo da curva de tensão x deformação. A separação das garras foi de 20 mm e a velocidade dos testes de 1 mm/s (ASTM, 2010).

### 4.6.3. Permeabilidade ao vapor d’água

A permeabilidade das membranas foi analisada pelo método gravimétrico descrito por De Moura et al. (2012), em que cinco recipientes contendo solução saturada de brometo de

potássio (KBr) foram selados com as membranas em estudo. Essa solução gera um ambiente com umidade relativa de 84%. Em seguida, foram pesados em balança de precisão eletrônica utilizando o parâmetro de três zeros e colocados em dissecador contendo sílica. A perda de massa referente à permeação do vapor d'água através da membrana foi determinada por pesagens sucessivas e intermitentes em tempos planejados durante um período de 48 h (ASTM, 2010). A permeabilidade foi calculada utilizando a Equação 4:

$$PVA = \frac{m_p.e}{t.A.\Delta PV} \quad (4)$$

Na qual:

pva = permeabilidade de vapor de água;

$m_p$ = massa perdida (g);

e = espessura da membrana (mm);

t = tempo (dia);

A = área da membrana (m²);

ΔPV = diferença entre a pressão de vapor de água dentro e fora do recipiente (KPa).

#### 4.6.4. Índice de intumescimento

A razão de intumescimento das membranas medindo 2,0 x 3,0 cm de diâmetro foi determinada pela pesagem das membranas antes e após a imersão em 15 mL de solução tampão fosfato pH 7,4, à 37 ºC (CAMPOS et al., 2005).

As amostras foram pesadas em balança de precisão analítica (*Shimadzu* AY 220, precisão 0,0001 g), sendo continuamente pesadas em tempos pré-determinados. Foi utilizada a metodologia proposta por Mohamed et al. (2011), em que as pesagens das membranas imersas foram realizadas após a remoção do excesso de solução aprisionada na malha com o uso de papel filtro e o manuseio dessas foi conduzido com o auxílio de pinças de dissecção sem dente. As amostras, em triplicata, foram retiradas em intervalos de 5 min (tempos 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min) e então pesadas. O grau de intumescimento (%) foi determinado de acordo com a Equação 5.

$$I = \left(\frac{M_a}{M_s}\right) * 100 \quad (5)$$

Na qual:

% I = porcentagem de intumescimento;

Ma = massa de água absorvida (g);

Ms = massa da membrana seca (g).

### 4.6.5. Análise colorimétrica

Os parâmetros de cromaticidade das membranas foram medidos com colorímetro portátil modelo CR-30, Minolta *Chroma* Meter, Minolta Câmera Co. Osaka, Japão. A determinação dos parâmetros de cor foi realizada segundo metodologia descrita por Gennadios et al. (1996) utilizando o sistema CIE Lab. As amostras das membranas sem e com extratos de *S. adstringens* e *A. cochliacarpos* foram analisadas em triplicata em três pontos distintos, dois periféricos e um central, sobre placa branca com padrão de calibração CR-A43 e escala de cores descrita pela *Commission Internationale de L'éclairage* (CIE-L*a*b*). O aparelho foi configurado para uso de fonte de luz D65 (PEHLIVAN et al., 2005). A avaliação foi feita através dos parâmetros L*, a* e b* onde, L* representa a luminosidade (sendo L* = 0 preto e L* = 100 branco) e a* e b*, são as coordenadas cromáticas (sendo +a* vermelho, -a* verde, +b* amarelo e -b* azul).

### 4.6.6. Morfologia microestrutural - MEV

A morfologia de superfície e corte transversal das membranas foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura utilizando o equipamento FEI Quanta 200 (FEI *Company*, Holanda) com atmosfera de vácuo de 106 torr. As amostras foram montadas em suportes de alumínio com fita de carbono, pulverizadas com um filme de ouro (BALTEC SDC 050, *Sputter Coater*, Alemanha) e observadas em microscópio eletrônico de varredura. As eletromicrografias foram geradas em modo topográficos (elétrons secundários) a 9 kV.

### 4.6.7. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier foi utilizada para verificar a presença ou formação de novos grupos funcionais na superfície das membranas com e sem os referidos extratos. Para obter os espectros utilizou-se espectrômetro *Bruker*, modelo *Vertex* 70v, Alemanha, acoplado à técnica de análise de superfície, reflexão total atenuada (ATR) que funciona no modo de refletância difusa (DRS), no intervalo de 4000 a 400 $cm^{-1}$, com resolução de 4,0 $cm^{-1}$ no Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá.

Para verificar a presença ou formação de novos grupos funcionais na superfície dos extratos foi utilizado o Espectrômetro (Fabricante: *Shimadzu*, Modelo: IRPrestige-21). Os

espectros das amostras foram analisados em número de onda entre 4000 e 650 $cm^{-1}$, com 32 acumulações e resolução máxima de 2 $cm^{-1}$. As análises de FTIR dos extratos foram realizadas na Universidade Federal de Sergipe (UFS).

#### 4.6.8. Análise termogravimétrica (TG/DTG)

As curvas de termogravimetria/ termogravimetria derivada (TG/DTG) foram obtidas em termobalança (*Shimadzu* DTG-60) no intervalo de 25-500 °C, sob atmosfera de nitrogênio ($N_2$), com taxa de fluxo de gás de 50 $mL/min^{-1}$ e razão de aquecimento de 10 $°C/min^{-1}$. Todas as análises foram realizadas utilizando porta amostra de platina contendo de 2 a 2,5 mg da amostra.

### 4.7. Ensaio biológico de cicatrização *in vivo*

#### 4.7.1. Submissão do projeto de pesquisa ao Comissão de Ética

A pesquisa obedeceu aos Princípios Éticos de Experimentação Animal e foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), constituída pela Portaria Nº 01 de 13 de janeiro de 2009, sendo aprovado com o Nº 031114, em 11 de dezembro de 2014 (Anexo 3).

#### 4.7.2. Procedimento cirúrgico

Para o procedimento cirúrgico foi utilizado um total de 84 ratos machos *Wistar* (250 g ± 50 g), divididos em quatro grupos de 28 animais, acondicionados em gaiolas com cama de maravalha, trocadas diariamente, mantidos à temperatura controlada de 22 ºC, em regime de luz com ciclo claro-escuro de 12 h, recebendo água e ração *ad libitum* e dieta padrão Labina® (Purina, São Paulo, Brasil).

Os animais foram subdivididos em quatro grupos (n=7): 1) CTR – feridas sem coberturas; 2) GEL – feridas cobertas com membranas de gelatina; 3) GELSA – feridas cobertas com membrana de gelatina contendo extrato bruto de SA a 0,57 g/L e 4) GELAC – feridas cobertas com membrana de gelatina contendo extrato bruto de AC a 0,57 g/L.

A confecção das feridas foi realizada sob anestesia geral, com injeção intraperitoneal de 0,1 mL/100 g de peso de uma solução composta por 1 mL de ketamina (50 mg) e 1 mL de xilazina (20 mg). O dorso dos animais foi tricotomizado e a antissepsia efetuada com

iodopovidona tópico a 1%. Foram realizadas excisões dermoepidérmicas circulares de retalho cutâneo dorsal medindo 8,0 mm de diâmetro, padronizadas com bisturi do tipo *punch,* inoxidável e mantidas sem suturas, ou seja, excisões abertas. Cada membrana de gelatina, contendo ou não o extrato da casca de SA e AC, utilizada para cobrir a ferida mediu 1,5 cm de diâmetro e foi fixada à pele com soro fisiológico a 0,9%. No pós-operatório imediato, os animais receberam uma dose profilática para aliviar a sintomatologia pós-operatória, para isso 10 mg/kg de diclofenaco de potássio foi aplicada por via intramuscular.

### 4.7.3. Determinação do índice de retração das feridas

As feridas foram fotografadas utilizando uma câmera digital (*Cybershot Sony* HX-300) fixa em um tripé, com altura padronizada de 20 cm de distância da ferida, nos dias 0 (imediatamente após a cirurgia), 3, 7, 14 dias de pós-operatório. As imagens foram analisadas através do E.A.R *Research Project*, obtendo o valor total da área da ferida. A porcentagem de contração da ferida foi calculada através da Equação 6 (TEO e NAYLOR, 1995).

$$\%R = \left(\frac{A_i - A_f}{A_i}\right) * 100 \qquad (6)$$

Na qual:

*% R* = índice de retração;

Ai = Área inicial da ferida (cm²);

Af = Área final da ferida (cm²).

O equipamento e software E.A.R *Research Project* utilizado para avaliar o índice de retração da ferida está representado na (Figura 9).

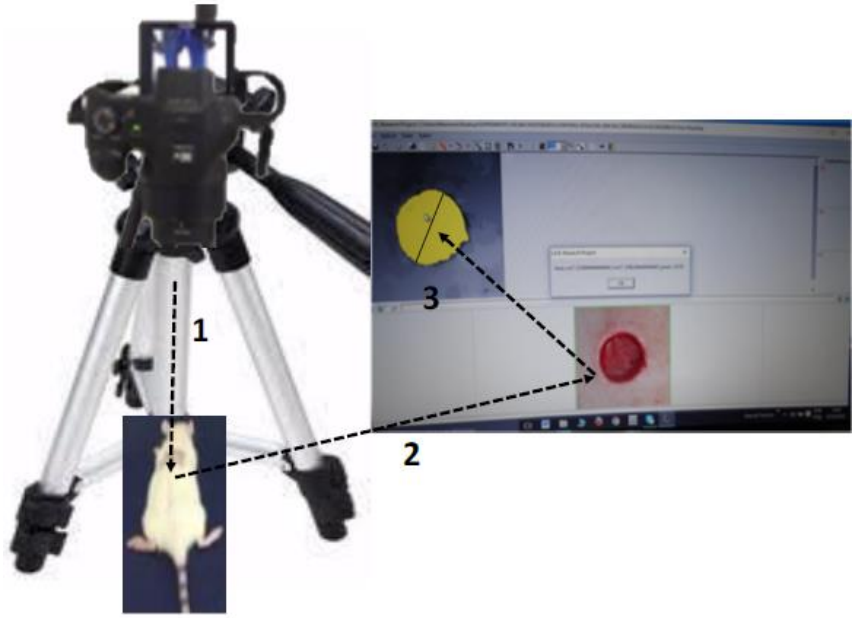



Figura 9: Equipamento fotográfico distando 20 cm de altura da lesão no dorso do animal (1). Imagem fotográfica da lesão de diâmetro 8 mm. (2) Delimitação da área da ferida em amarelo por meio da aplicação ferramenta mumford shah/canny da guia *plug* in e (3) exibição da mensuração da ferida avaliada no *software* E.A.R. *Research Project* para obtenção das imagens e avaliação do índice de retração das feridas do ensaio experimental.
Fonte: NASCIMENTO, 2017.

#### 4.7.4. Remoção dos espécimes e procedimentos histológicos / histoquímicos

Após 3, 7 e 14 dias a partir dos procedimentos cirúrgicos, sete animais de cada grupo foram eutanasiados após anestesia. Cada ferida cirúrgica foi dissecada com margem de 1 cm de pele íntegra em torno da lesão, com profundidade até a musculatura dorsal do animal, em seguida foram acondicionados em solução de formalina (10%, pH 7,4) e fixadas por 48 h. Posteriormente, as peças foram seccionadas transversalmente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina sob a forma de blocos (WHITE, JOHNSON, 1974).

Os blocos foram encaixados no micrótomo para fornecer cortes de 5 µm de espessura, de acordo com as técnicas de processamento histológico. Em seguida foram submetidos à coloração com hematoxilina e eosina (HE) para verificar a resposta inflamatória e com *Sírius red* para em luz convencional e polarizada no microscópio, proceder a avaliação e classificação do colágeno em tipo I e III de acordo com a birrefringência apresentada, conforme aspecto morfológico de suas fibras (estriadas ou onduladas, delgadas ou espessas, curtas ou longas) e disposição dos feixes (reticulares, entrelaçados ou paralelos).

### 4.7.5. Análise morfológica do perfil evolutivo do processo de reparo

Baseado na metodologia de Myers et al. (1961), modificada, a avaliação das características histomorfológicas associadas ao processo de reparo foram analisadas através de secções histológicas coradas em HE, observando-se o processo de reparo ao longo do experimento, a partir de lâminas contendo, em média, 10 secções seriadas de cada animal estudado.

Na análise das lâminas dos espécimes obtidos, elementos estromais foram analisados semiquantitativamente das diferentes células inflamatórias individualmente: neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos, as quais foram avaliadas a morfologia específica obedecendo os escores: 0 (ausente), 1 (quando evidenciadas de forma isolada), 2 (quando aparecer em maior frequência e dispersas nos campos ópticos), 3 (quando aparecer com maior frequência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visualizar áreas livres entre os campos ópticos) para isso, 10 campos histológicos com magnificação de 200 x, selecionados por casualização sistemática, foram analisados com os escores obtidos.

Para a avaliação morfológica do perfil evolutivo do processo de reparo foram utilizados critérios clínicos que envolve os seguintes aspectos: (a) formação de abscessos, (b) inflamação aguda, (c) inflamação crônica, (d) regeneração epitelial, (e) reação de granulação, (f) fibroblastos, (g) deposição de colágeno e (h) neoformação de anexos cutâneos multiplicados por fatores de correção (Quadro 4), para melhor representar sua relevância na evolução do reparo e permitir a determinação do escore final preciso do estágio evolutivo do processo de reparo.

A leitura ocorreu a partir da porção superior (externa) da margem esquerda das feridas e, para cada campo selecionado seguiu-se um campo histológico desprezado, até atingir a margem direita com repetição na porção interna da ferida atingindo toda a extensão da lesão.

Quadro 4: Escores histopatológicos para análise do perfil evolutivo morfológico do processo de reparo cicatricial cutâneo.

| Critério | Escore | Fator de correção | Escore final |
|---|---|---|---|
| Formação de abscessos | | -10 | |
| Inflamação aguda | | -4 | |
| Inflamação crônica | | -2 | |
| Regeneração epitelial | | +5 | |
| Reação de granulação | | +5 | |
| Fibroblastos | | +5 | |
| Colágeno | | +10 | |
| Neoformação de anexos cutâneos | | +2 | |
| Escore total | | | |

Fonte: (MYERS et al.,1961)

### 4.7.6. Análise da deposição colagênica

Secções histológicas foram coradas em picrosirius e analisadas sob luz polarizada em microscópio modelo *OLYMPUS* CX 31 com câmera fotográfica acoplada. Em seguida foi realizada a análise descritiva do colágeno depositado, através de características específicas do colágeno presente. A birrefringência foi classificada de acordo com os tipos III (esverdeadas ou amarelo-esverdeadas) e tipo I (alaranjadas e avermelhadas), totalizando a soma dos escores até 4. Em relação à densidade, avaliou-se a condição do tecido colagenizado baseado nos espaços interfibrilares somando os escores até 4. Quanto ao arranjo das fibras de colágeno e a disposição dos seus feixes foram classificados em reticulares, paralelos ou entrelaçados, também com a soma dos escores até 4, por fim, a morfologia das fibras de colágeno foi classificada, tanto na porção superficial quanto na porção profunda da lesão, em fibras estiradas ou onduladas, curtas ou longas, delgadas ou espessas (MYERS et al., 1961).

## 4.8. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos a análise de normalidade por meio do teste de *Shapiro-Wilk.* Diferenças entre médias de três ou mais grupos com distribuição gaussiana foram analisadas pelo teste de variância duas vias (ANOVA), com extensão *Post-hoc* de *Tukey.* Aquelas com distribuição não gaussiana foram analisadas por meio do teste de *Krushkal-Wallis,* com extensão *post-hoc* de *Dunn*. Foi utilizado o nível de significância de 5% para todas as análises, de modo que as diferenças observadas foram consideradas significativas quando o $p<0,05$.

Para as análises do ensaio biológico de cicatrização foi utilizado o Programa *GraphPad Prism*®versão5.0 e os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m.). Para análise comparativa de diferenças entre duas médias, foi utilizado o teste T de *student*.

# 5. RESULTADOS

## 5.1. Prospecção de patentes

Na busca de patentes, utilizando as palavras-chave *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos* separadamente, foram encontrados apenas 15 documentos. Destes, somente 3 referem-se exclusivamente a *Abarema cochliacarpos.* Não foi identificado nenhum documento de patente que faz referência ao processo de obtenção de membranas biopoliméricas que utilize como componente ativo adicional a incorporação de extratos hidroacetônicos de *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos.* Os documentos encontrados referem-se a formulações contendo os extratos para utilização na área de dermatologia, sendo alguns deles especificamente para fins cicatrizantes.

A PI nº 0700960 refere-se a formulações elaboradas para uso médico na cicatrização de lesões cutâneas e cirúrgicas utilizando o extrato obtido do caldo de cana de açúcar fermentado, contendo diversos compostos bioativos naturais incluindo o extrato de *Stryphnodendron adstringens* para o uso em lesões provocadas por dermoabrasão, doença genética congênitas (dermatite atópica, queratinização, pele seca) ou psicossomáticas (psoríase), processos inflamatórios superficiais (acnes, abcessos), queimaduras e feridas profundas para uso em fisioterapia, traumatologia. Com este produto também foram elaborados itens para higiene como desodorante, sabonetes sólidos e líquidos, xampus, condicionadores e creme dental para tratamento de gengivite além de hidratante corporal, e creme para tratamento de manchas e estrias.

A combinação de uso de exopolissacarídeos microbianos e ácidos urônicos com plantas, ervas e extratos vegetais como o de *Stryphnodendron adstringens* para obtenção de produtos cosméticos e dermatológicos como sabonetes, sabões, cremes, géis, pastas, spray, pomadas, emplastros foi apresentado no documento PI nº 0600964-6. Já o documento nº BR 10 2015 010855-9, refere-se à composição cosmética para tratamento de estrias contendo de 10% a 25% de extrato de barbatimão, ácido glicólico, de 1% a 3% de óleo de rosa mosqueta. O documento nº PI 0303680-4 dispõe de formulação de sabonete natural a base de aroeira e barbatimão, em uma mistura de sabão de coco a ser utilizado para a retirada de manchas da pele.

O documento PI nº 0600102-5 trata de composição terapêutica composta por *S. adstringens, Ginkgo biloba*, rosa mosqueta, alantoína, ácido salicílico, enxofre, licor *carbonis detergens* e vaselina em pasta*.* Esta formulação está proposta para uso tópico no tratamento de psoríase, eczemas, dermatites seborreicas e reações alérgicas da pele. Já a patente nº PI 9903518-9 trata de produtos na forma de loções para fins dermatológicos. A PI nº 0305535-3, refere-se a forma farmacêutica fitoterápica cicatrizante e antimicrobiana para o tratamento

de úlceras isquêmicas e infecções. Apresenta-se na forma líquida ou semi-sólida, sendo composta por tintura da casca de *Stryphnodendron,* conservante, glicerina 10%, fosfato monossódico e água. Também foi encontrada a formulação de uma microemulsão contendo *Abarema cochliacarpos* Barneby & Grimes com potencial antioxidante e cicatrizante para tratamento coadjuvante de feridas cutâneas e processo de obtenção da mesma na PI nº 1020150073810.

O documento PI nº 1004542-2 apresenta a composição farmacêutica em forma de pomada com extratos de *Abarema cochliacarpos, Stryphnodendron adstringens, Stryphnodendron polyphyllum, Stryphnodendron coriaceum Benth pulcherrimum* para tratamento adjuvante de infecções relacionadas aos Papilomavirus humano (HPV).

Já o documento PI nº 0705071-2 refere-se a um processo para obtenção de composto farmacêutico ou cosmético através do extrato de *Stryphnodendron adstringens* barbatiman, para diminuição de pelos em diversas regiões do corpo. A PI de nº 0105968-8 refere-se ao desenvolvimento de uma fórmula medicinal natural contendo *Synadenium umbellata, Euphorbia milii L* e *Stryphnodendron adstringens* para tratamento alternativo do HIV. O registro PI nº 102013013963, diz respeito à utilização do extrato de *A. cochliacarpos* no tratamento coadjuvante do acidente ofídico causado por serpente do gênero *Bothrops*.

Os demais registros são: PI nº 0305658-9, refere-se a um larvicida bioquímico. A PI nº 0301845-8, trata-se de removedor de esmalte para unha, portanto seu uso foi para fim cosmético e a PI nº 1001158-7, que se trata de adesivos tânicos para substituir resinas sintéticas para colagem de chapas de madeira.

## 5.2. Avaliação do processo extrativo

### 5.2.1. Rendimento

Os rendimentos dos extratos da espécie AC pelos dois métodos estudados podem ser observados na Figura 10 (A). Os rendimentos obtidos pelo método de extração por maceração dinâmica apresentaram atividade antioxidante significativamente maior (37%) aos obtidos pelo método de turbo extração (32%) ($p<0,05$).

A Figura 10 (B) compara os extratos AC-TE e SA-TE, onde AC-TE apresentou rendimento 32%, significativamente menor que SA (41%) ($p<0,005$).

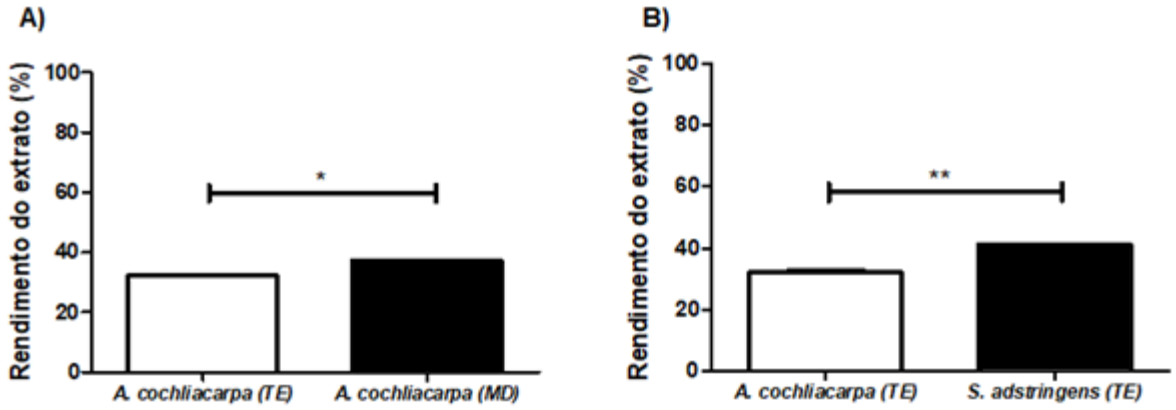



Figura 10: (A) Rendimentos dos extratos de *Stryphnodendron adstringens* (SA) e *Abarema cochliacarpos* (AC) pelo método de turbo extração (TE) e maceração dinâmica (MD) apresentando diferença significativa (*p<0,05); (B) Rendimentos dos extratos de SA e AC por TE apresentando diferença significativa (**p<0,05). Teste t (p<0,05).

## 5.3. Caracterização do extrato

### 5.3.1. Atividade antioxidante

Na Figura 11 estão apresentadas as avaliações realizadas da atividade antioxidante por meio do método de DPPH (A) e FRAP (B). No método DPPH, o extrato AC-TE apresentou menor potencial antioxidante ($IC_{50}$= 19,97 µg/mL) quando comparado ao extrato obtido por maceração ($IC_{50}$= 11,86 µg/mL) (p<0,001). Neste caso, AC-MD apresentou maior atividade antioxidante. No método FRAP foi observado o mesmo comportamento, onde AC-MD apresentou 5,9 mmolTrolox/g ou seja, atividade antioxidante significativamente maior, (p<0,001), que AC-TE, que foi de 4,7 mmolTrolox/g.

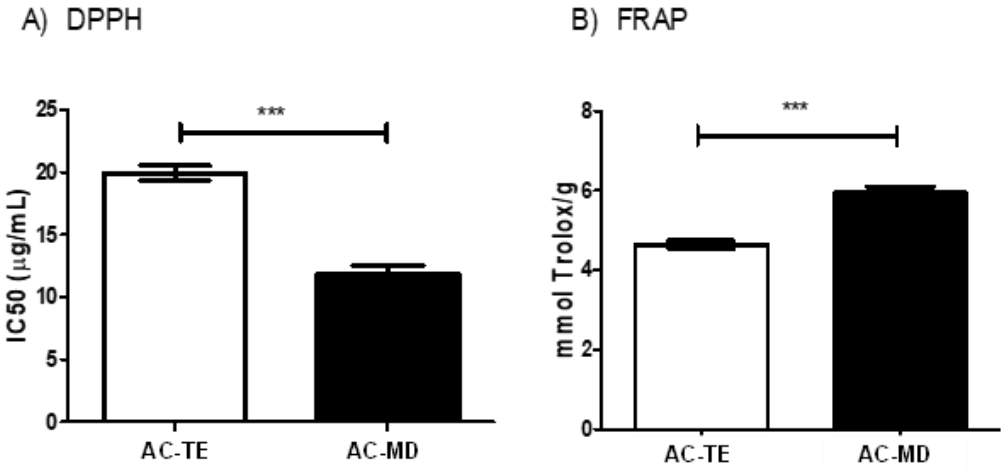



Figura 11: Avaliação do potencial antioxidante pelos métodos DPPH (A) e FRAP (B) do extrato de *Abarema cochliacarpos* por turboextração (AC-TE) e maceração dinâmica (AC-MD). ***p<0,001. Teste t (p<0,05).

Na Figura 12 observou-se que os extratos AC e SA obtidos por turboextração apresentaram diferença significativa pelo método DPPH (Figura 12A), sendo SA-TE apresentou $IC_{50}$ de 17 µg/mL, enquanto que para AC-TE foi 21 µg/mL ($p<0,01$). Entretanto, os extratos apresentaram comportamentos similares pelo método FRAP ($p>0,05$) (Figura 12B), no qual SA-TE obteve 4,7 mmolTrolox/g e AC-TE 4,6 mmolTrolox/g.

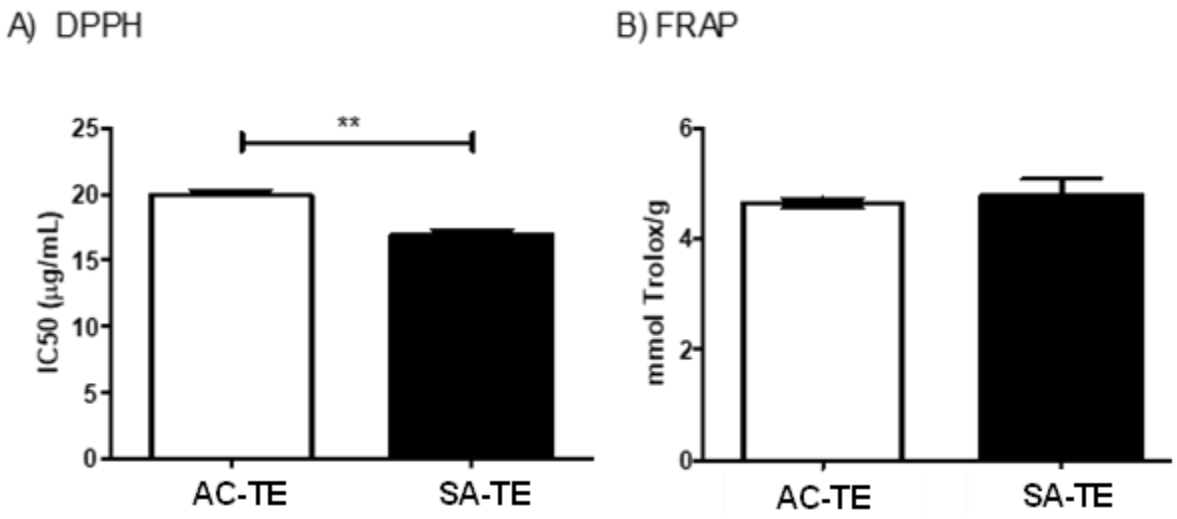



Figura 12: Extratos AC e SA obtidos por turbo extração e avaliados pelos métodos DPPH (A) e FRAP (B). **$p<0,01$. Teste t para $p<0,05$.

### 5.4. Análise química – Cromatografia líquida de alta eficiência CLAE-MS e CLAE-DAD de *S. adstringens* (SA) e *A. cochliacarpos* (AC)

A quantificação das substâncias foi realizada por CLAE-DAD, enquanto a identificação dos compostos foi determinada por CLAE-MS.

A Figura 13 apresenta o perfil cromatográfico por CLAE-MS de SA-TE. Foi observado no cromatograma de SA-TE a presença de *galocatequina, epigalocatequina, O-metil-epigalocatequina* no tempo de 10 min. Outras substâncias majoritárias como a galocatequina e a epigalocatequina se apresentam nos tempos aproximados de 4 e 9 min, respectivamente.

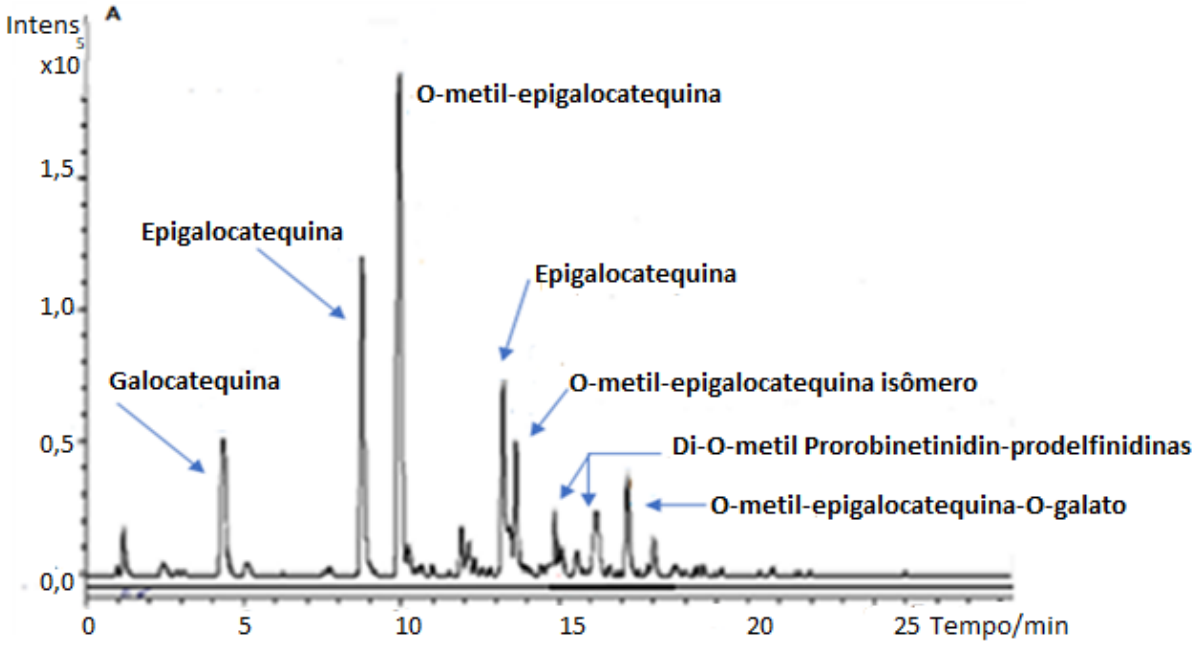



Figura 13: Perfil cromatográfico de SA-TE, apresentando as substâncias majoritárias presentes no extrato hidroacetônico.

A Figura 14 apresenta o cromatograma de AC-TE, onde foram identificadas as seguintes substâncias: *di-O-hexosídeo, epicatequina, catequina e dímeros de procianidinas, O-deoxihexosil-(epi)catequina, dímeros de procianidinas, dímeros de procianidinas-O-galato, (epi)catequna O-galato*. Nota-se elevada presença da catequina e dímeros de procianidinas com tempo de retenção aproximado de 9 min.

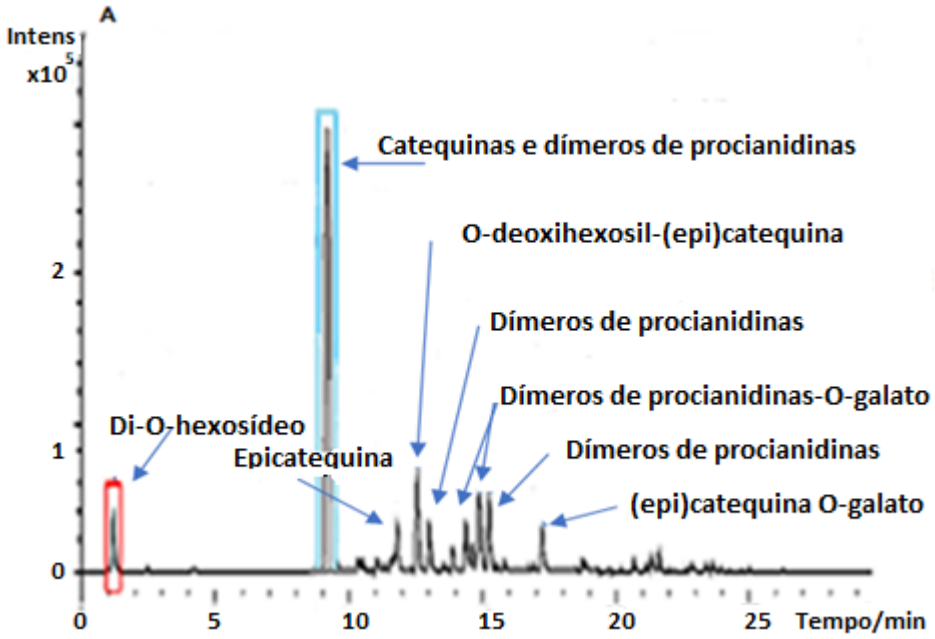



Figura 14: Perfil cromatográfico de AC-TE, apresentando as substâncias majoritárias presentes no extrato hidroacetônico.

O teor de galocatequina e epigalocatequina nas amostras dos extratos hidroacetônicos do *S. adstringens* (SA-TE) foi calculado a partir da equação linear da reta obtida com as curvas analíticas dos padrões (Figura 15). O resultado foi 25,46 ± 0,52 µg de galocatequina/mg em SA-TE e 75,88 ± 3,45 µg de epigalocatequina/mg em SA-TE (média ± desvio padrão).

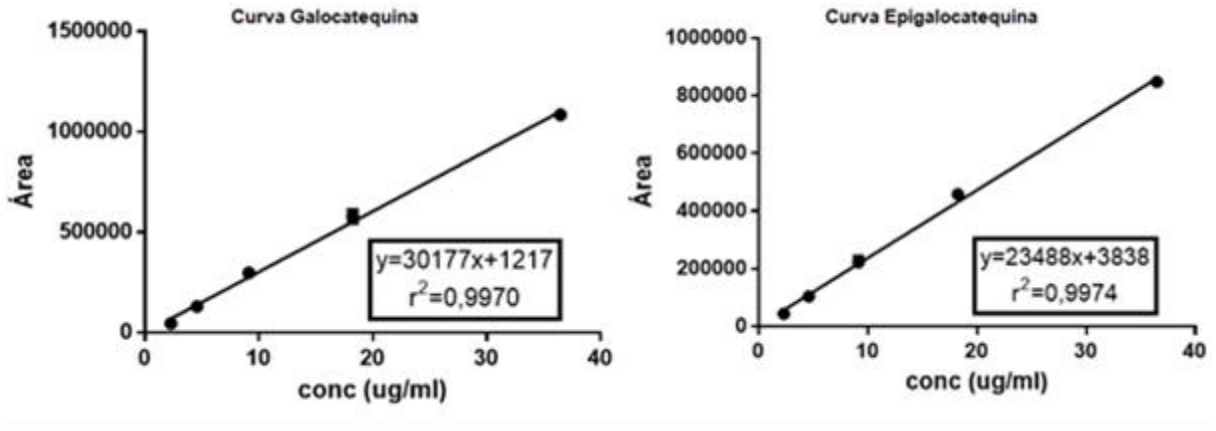



Figura 15: Curvas analíticas da galocatequina e epigalocatequina.

Pode ser observado na Figura 16 que das amostras do extrato hidroacetônicos da *A. cochliacarpos* (AC-TE) foram obtidas curvas analíticas dos padrões de catequina e epicatequina para calcular o teor destes marcadores na amostra. O resultado foi de 150,13 ± 8,74 µg de catequina/mg em AC-TE e 46,92 ± 6,35 µg de epicatequina/mg em AC-TE (média ± desvio padrão).

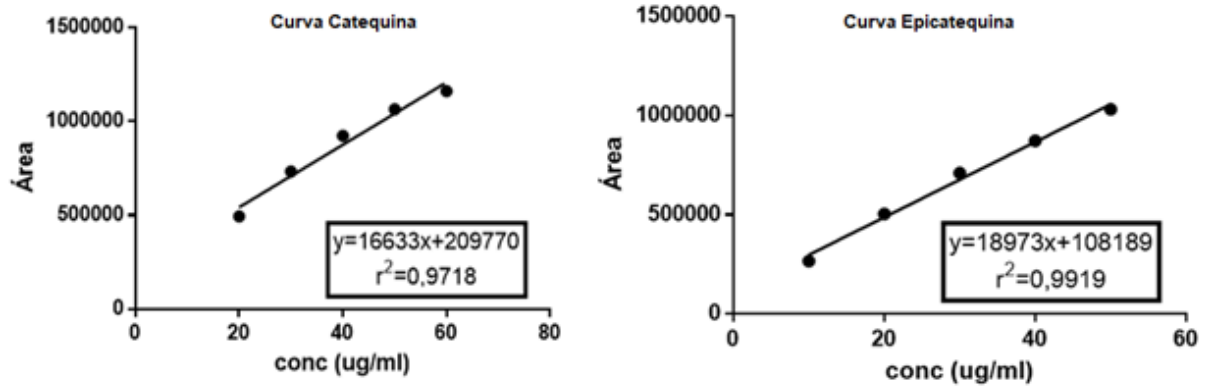



Figura 16: Curvas analíticas da catequina e epicatequina.

### 5.5. Caracterização das membranas

#### 5.5.1. Avaliação macroscópica

A Figura 17 apresenta as imagens das membranas de gelatina sem a incorporação do extrato (Figura 17A – GEL) e com a incorporação de SA (Figura 17B – GELSA) e AC (Figura 17C – GELAC). Todas as membranas não apresentaram partículas insolúveis na análise macroscópica. GELSA e GELAC apresentam-se translúcidas e com homogeneidade de cor.

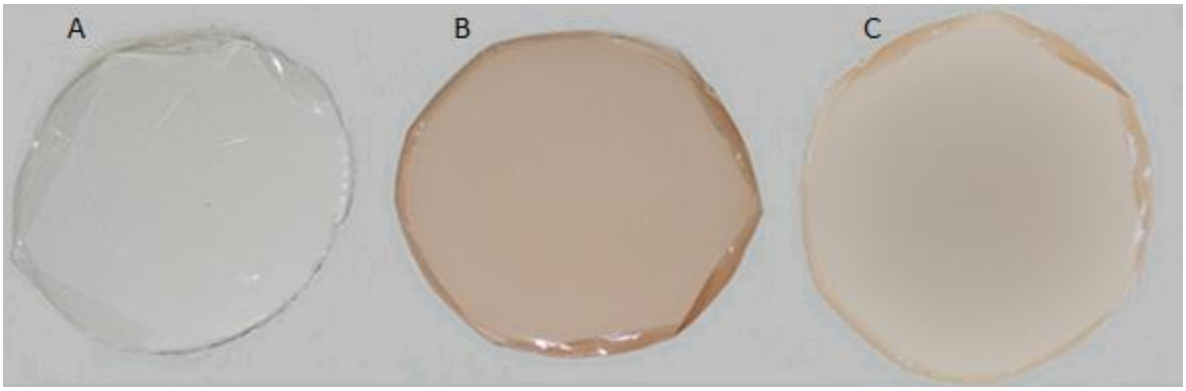



Figura 17: Fotografias da membrana de gelatina - GEL (A), membrana de gelatina contendo extrato de *S. adstringens* - GELSA (B) e membrana de gelatina contendo extrato de *A. cochliacarpos* – GELAC (C).
Fonte: ALVES, 2017

As principais características macroscópicas analisadas nas três membranas estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Características macroscópicas observadas nas membranas GEL, GELSA e GELAC.

| membranas | Continuidade | Homogeneidade | Manuseabilidade | Flexibilidade |
|---|---|---|---|---|
| GEL | +++ | +++ | ++ | ++ |
| GELSA | +++ | +++ | ++ | ++ |
| GELAC | +++ | ++ | +++ | +++ |

(+) deficiente, (++) boa, (+++) excelente. GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos*.

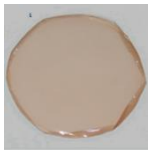
### 5.5.2. Colorimetria

Na determinação das coordenadas cromáticas “a” e “b” para as amostras analisadas, observou-se que houve diferença de cor das membranas após incorporação dos diferentes extratos, assim como a análise de luminosidade (L) em relação a membrana GEL.

Os valores obtidos em GEL foram usados como padrão para o cálculo da diferença das coordenadas de cromaticidade “a” e “b”, gerando $\Delta a$, que é o indicativo da cor verde/vermelha e $\Delta b$ é o indicativo da cor azul/amarela. O mesmo ocorreu para o cálculo de $\Delta L$, que é o indicativo de luminosidade e $\Delta E$, que representa a diferença total da cor da amostra em relação ao GEL.

Foi observado que os diferentes extratos geraram membranas com cor diferente, onde GELSA apresentou maiores valores que GELAC para todos os parâmetros ($p<0,001$, teste T), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros de cor obtidos na análise colorimétrica em plano de fundo branco das membranas GEL, GELSA e GELAC.

| Membrana | $\Delta$ L | $\Delta$a | $\Delta$b | $\Delta$E | Aparência |
|---|---|---|---|---|---|
| GEL | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| GELSA | 13,9±0,9[a] | -7,5±0,6[a] | -14,7±1,0[a] | 21,6±1,4[a] |  |
| GELAC | 8,4±1,5[b] | -4,5±1,0[b] | -11,6±1,6[b] | 15,0±2,2[b] | |

Letras diferentes em uma mesma coluna representam valores estatisticamente diferentes com $p<0,001$ (Teste T para $p<0,05$). GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos*

### 5.5.3. Propriedades mecânicas e permeabilidade

A espessura, as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor d’água das membranas estão representadas na Tabela 4. Em relação à espessura das membranas GEL, GELSA e GELAC, pode ser observado que houve diferenças significativas ($p<0,05$) entre todas as membranas, sendo que GELSA foi a que apresentou menor espessura.

Tabela 4: Propriedades das membranas GEL, GELSA e GELAC.

| Caracterização da membrana | GEL | GELSA | GELAC |
|---|---|---|---|
| Espessura (µm) | 27,4±0,4[a] | 17,4±0,2[b] | 30,0±0,4[c] |
| Módulo de Young (MPa) | 1185,1±268,7[a] | 2387,7±321,1[b] | 1085,0±248,4[a] |
| Tensão Máxima (MPa) | 43,3±9,0[a] | 65,3±20,8[b] | 32,3±15,1[a] |
| Deformação (%) | 7,1±2,3[a] | 6,2±2,0[a] | 5,4±1,8[a] |
| Permeabilidade (g.mm/dia.m².KPa) | 9,7±3,2[a] | 10,4±2,8[a] | 11,8±1,8[b] |

Letras diferentes em uma mesma linha representam valores estatisticamente diferentes (ANOVA seguido de Tukey para $p<0,05$). GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos.*

Em relação às propriedades mecânicas, foi observado que GELSA apresentou-se diferentes das demais membranas em relação ao Módulo de Young e tensão máxima até o rompimento ($p<0,05$). Entretanto todas as membranas apresentaram a mesma deformação ($p>0,05$). GELAC foi a membrana que apresentou maior permeabilidade ao vapor d'água ($p>0,05$) e apresentou permeabilidade semelhante ao GEL ($p>0,05$).

### 5.5.4. Índice de intumescimento

As curvas de intumescimento das membranas estão representadas na Figura 18. Não houve diferença significativa entre as curvas ($p>0,05$) e todas as membranas apresentaram capacidade de absorção de água maior que 400% após 10 min. As membranas iniciaram o intumescimento tão logo entraram em contato com o solvente, com rápido ganho de massa.

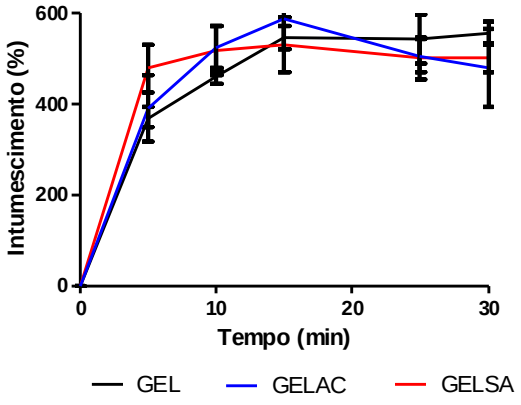



Figura 18: Índice de intumescimento das membranas. GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos.*

### 5.5.5. Morfologia microestrutural (MEV)

As micrografias das superfícies e das secções transversais das membranas de gelatina sem e com a adição de extratos estão apresentadas na Figura 19.

Analisando as imagens, pode-se observar que a membrana GEL apresentou uma superfície lisa, regular e sem poros (Figura 19A), enquanto sua secção transversal (Figura 19B) apresenta canais bem estruturados e regulares. Na membrana GELSA, a superfície apresentou pequenos poros (Figura 19C) e na micrografia da secção transversal (Figura 19D), notou-se uma estrutura compacta e coesa, também com presença de pequenos poros. Além disso, foi observado menor espessura e porosidade.

As fotomicrografias das membranas GELAC mostraram superfície com presença de substâncias não dissolvidas (Figura 19E), não observadas na análise macroscópica. Na secção transversal de GELAC foi observada estrutura mais grosseira, com rugosidades, arranjo aleatório, menos organizado (Figura 19F). Nas seções transversais de GELSA e GELAC observou-se a formação de uma camada mais densa quando comparado aos poros regulares formados em GEL.

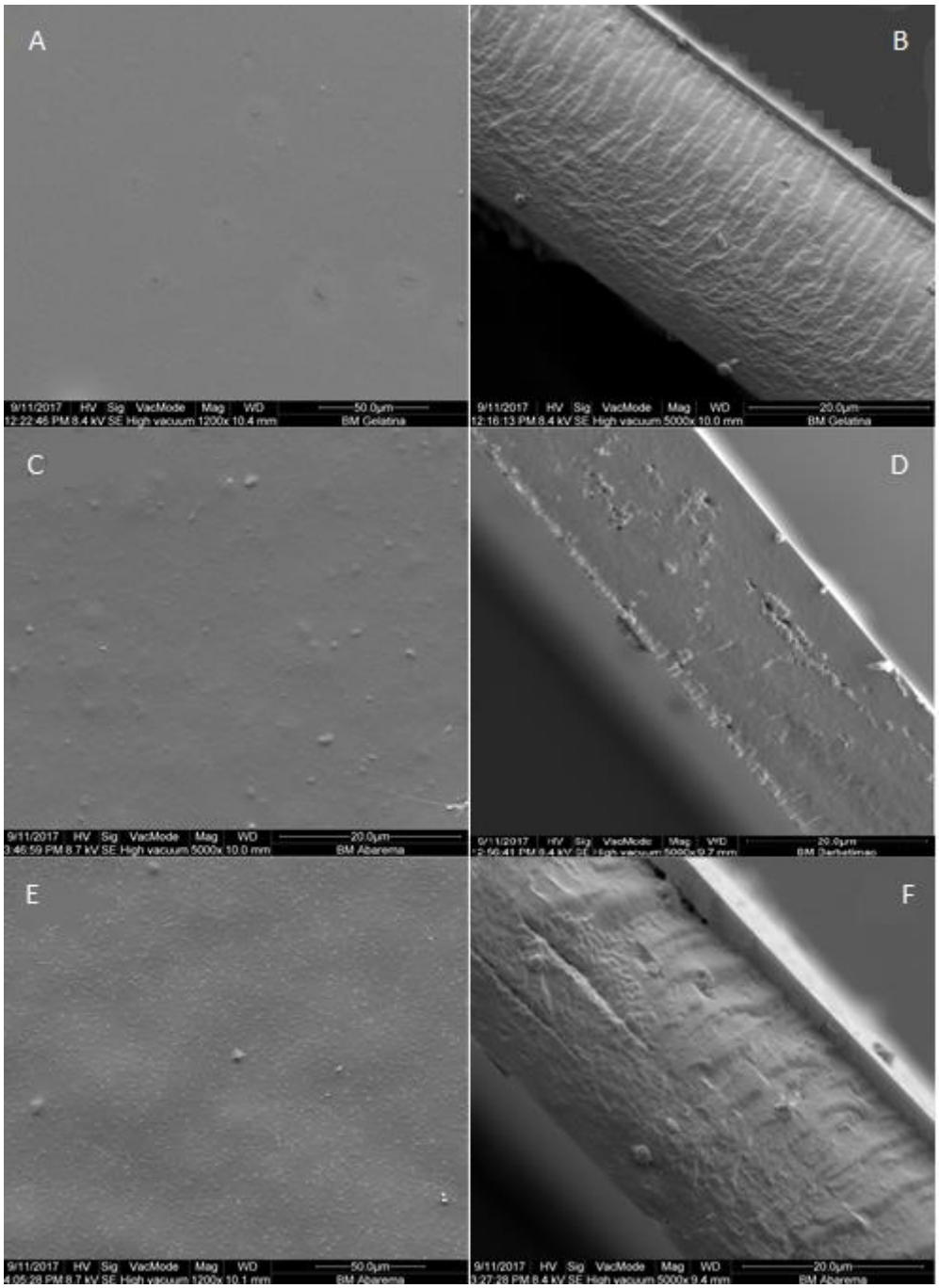



Figura 19: Micrografias da superfície e da secção transversal de GEL (A e B); micrografia de superfície e secção transversal de GELSA - membrana com extrato de *S. adstringens* (C e D) e micrografia de superfície e secção transversal de GELAC - membrana com extrato de *A. cochliacarpos* (E e F).

### 5.5.6. Análise termogravimétrica (TG)

As curvas termoanalíticas (TG e DTG) das membranas de GEL, GELSA e GELAC estão apresentadas na Figura 20.

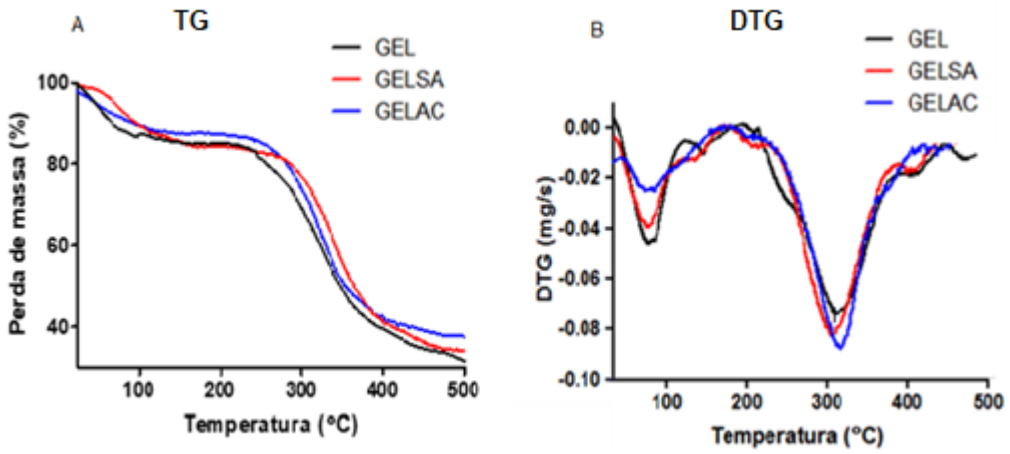



Figura 20: (A) Termogramas das membranas GEL, GELAC e GELSA, em temperatura de até 500 °C. (B) Curva DTG das membranas GEL, GELSA e GELAC. GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos.*

Na curva de TG foi possível observar que as amostras possuem perfis térmicos semelhantes (Figura 20A), porém GELAC tiveram a menor perda de massa total (Tabela 5). O primeiro evento onde ocorre perda de massa ocorreu até 100 °C (etapa de desidratação). As membranas que continham o extrato apresentaram menor teor de água (cerca de 10%), enquanto GEL apresentou 12,6%. Apesar de todas apresentarem pico máximo de desidratação entre 45 e 48 °C, GELAC teve a menor velocidade de desidratação (Figura 20B). O segundo evento, com perda de massa entre 52 e 55% ocorre em temperaturas entre 310 e 322°C.

Tabela 5: Parâmetros térmicos da termodecomposição das membranas.

| Amostras | Perda de massa (%) entre 25 a 100°C | $T_{max}$ (°C) entre 25 a 100°C | Perda de massa (%) entre 100 e 500°C | $T_{max}$ (°C) entre 100 e 500°C | Perda de massa (%) total |
|---|---|---|---|---|---|
| GEL | 12,6 | 46,9 | 55,8 | 317,5 | 68,4 |
| GELSA | 10,7 | 48,3 | 55,3 | 310,0 | 66,0 |
| GELAC | 10,5 | 45,8 | 52,0 | 322,7 | 62,4 |

GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos.*

### 5.5.7. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR das membranas GEL, GELSA e GELAC são mostrados na Figura 21.

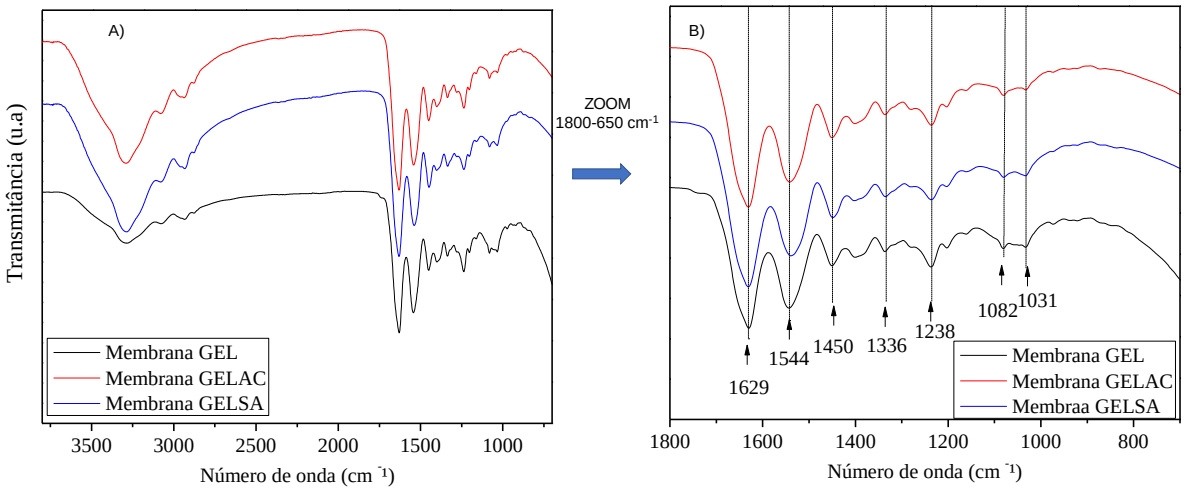



Figura 21: (A) Espectro de absorção de infravermelho para membranas GEL, GELAC e GELSA GEL: membrana de gelatina; GELSA: membrana com extrato de *S. adstringens*; GELAC: membrana com extrato de *A. cochliacarpos* e (B) aproximação dos espectros em (A) na região das bandas entre 1800 $cm^{-1}$ a 650 $cm^{-1}$.

Na análise do FTIR observa-se que as membranas, independente de conter ou não extratos na sua constituição, apresentaram bandas típicas às observadas para a gelatina, de acordo com as reportadas na literatura.

Foram observadas bandas em 1629 e 1544 $cm^{-1}$ que são atribuídas às vibrações de amida I (estiramento do C=O) e amida II, relacionadas ao estiramento do grupo C-N (JALAJA et al., 2015). Observou-se que todas as membranas apresentaram mesma intensidade das bandas e nenhuma apareceu ou foi suprimida. Utilizou-se a linha pontilhada para mostrar que não houve deslocamentos significativos. As bandas em 1544 $cm^{-1}$ correspondem a bandas amida II (flexão NH) (YAKIMETS et al., 2005; JALALA et al., 2015).

## 5.6. Ensaio biológico

O projeto após submissão da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Tiradentes, foi aprovado com o número 031114, em 11 de dezembro de 2014. (Anexo 1).

### 5.6.1. Índice de retração da ferida

Observa-se na Figura 22, que a aplicação tópica das membranas sobre lesões dérmicas dos grupos GEL, GELSA E GELAC e no grupo CTR (sem cobertura), não promoveu alterações clínicas compatíveis com um processo de reparo deficiente, não houve coleção purulenta na área tratada e adjacentes (XUE, JACKSON, 2015). É visível ainda, que a retração tecidual foi progressiva, sendo mais precoce nos grupos contendo compostos ativos, ao longo do período de 14 dias experimentais e, em conformidade com as imagens fotográficas.

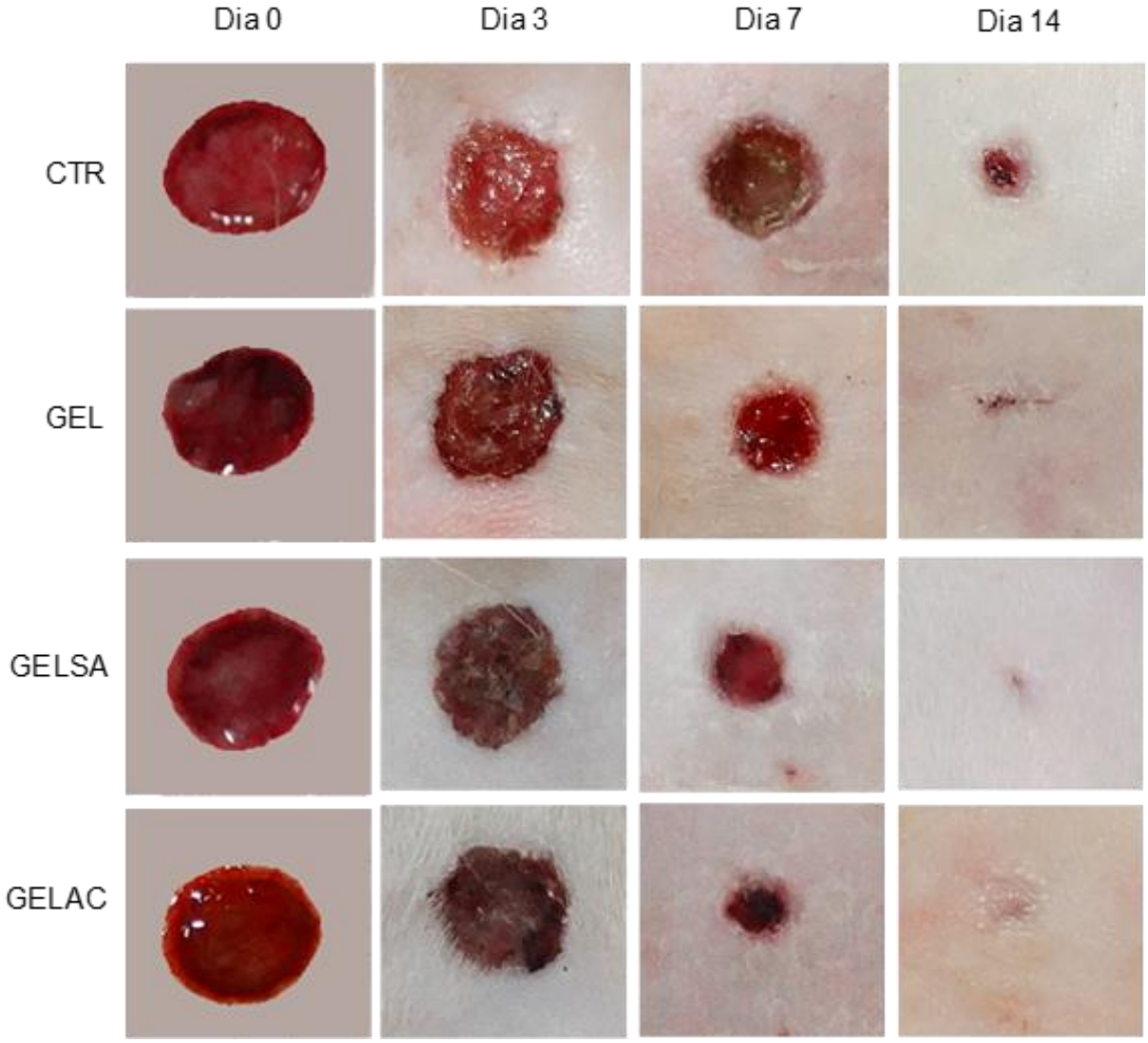



Figura 22: Fotografias dos aspectos das feridas dérmicas durante a avaliação do índice de retração dos grupos: CTR (controle sem cobertura), GEL (cobertura com membrana de gelatina), GELSA (membrana de gelatina com extrato de *S. adstringens*) e GELAC (membrana de gelatina com extrato de *A. cochliacarpos*), nos tempos de 0, 3, 7 e 14 dias de confecção da ferida.

O índice percentual médio de retração das feridas em 3 dias (Figura 23A) e 7 dias (Figura 23B) nos grupos tratados com as membranas GELSA e GELAC foi significativamente superior (p<0,01) quando comparados ao grupo CTR e GEL (p<0,001). Além disso, GELAC apresentou o maior percentual de retração da ferida entre os grupos tratados, quando comparados ao CTR, nos dois tempos experimentais: em torno de 60% em 3 dias e 80% em 7 dias. Em 14 dias (Figura 23C), todos os grupos que continham o extrato apresentaram diferença significativa em relação a Gel e CTR (p<0,01). GELSA e GELAC alcançaram 100% de retração das feridas.

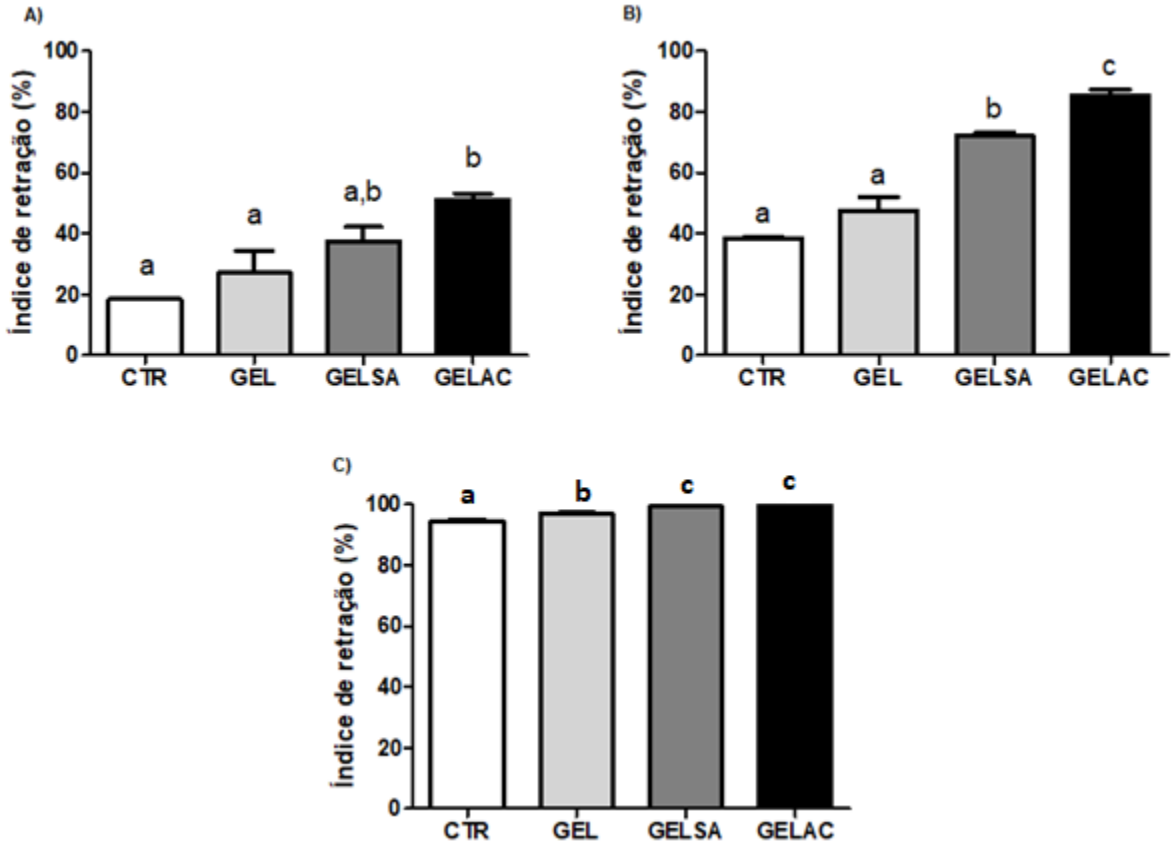



Figura 23: Determinação dos índices médios de retração das feridas dos animais experimentais ao longo do período de (A) 3, (B) 7 e (C) 14 dias. Os dados são expressos de forma que letras iguais representam que não há diferença significativa e letras diferentes representam que não há diferença significativa e letras diferentes representam diferença de p<0,001 (ANOVA e pós-teste de múltiplas comparações de Tukey).

### 5.6.2. Análises histomorfológicas da reação inflamatória

Em 3 dias (Figura 24), foi observada intensa reação inflamatória aguda, com polimorfonucleares neutrófilos infiltrando especialmente a superfície da ferida, em todos os grupos analisados. Na profundidade da lesão, o grupo controle (CTR) apresentou reação

inflamatória aguda intensa, caracterizada pela presença de edema e exsudato serofibrinoso.

Nos grupos GEL, GELSA e GELAC, foi evidenciado moderado edema intersticial e infiltração inflamatória subaguda marcante, composta por polimorfonucleares neutrófilos em associação a linfócitos e macrófagos. Nos grupos GELSA e GELAC houve formação de reação de granulação imatura, rica em vasos capilares hiperemiados na base da ferida no mesmo intervalo de tempo. No entanto, o grupo GELAC se destacou pela maior quantidade de células estromais distribuídas em toda área da ferida.

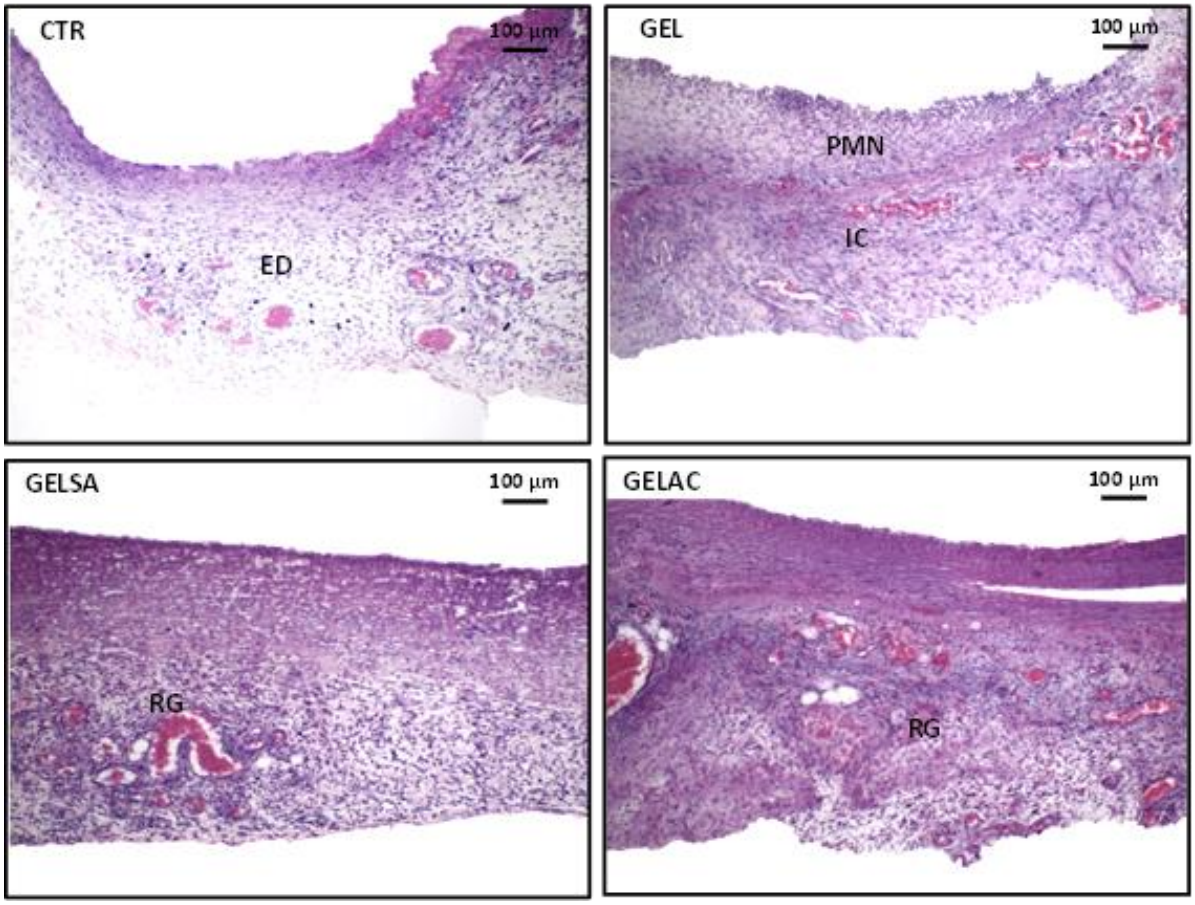



Figura 24: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE representativas do processo de reparo em 3 dias. CTR apresenta infiltração inflamatória rica em polimorfonucleares neutrófilos associada a intenso edema intersticial (100 ×); em destaque observa-se a presença de leucócitos polimorfonucleares neutrófilos (núcleos lobulados pequenos) e linfócitos (núcleos redondos escuros) (400 × e 800 ×). GEL e GELSA apresentam edema e infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos superficiais e reação de granulação bastante imatura na base da ferida (100 ×), enquanto que GELAC apresenta maior celularidade fusocelular da reação de granulação; em destaque, nos três grupos, células fusiformes estromais que compõem a reação de granulação (400 × e 800 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*; ED – edema intersticial; PMN – polimorfonucleares neutrófilos; RG – reação de granulação.

Em 7 dias (Figura 25), todos os grupos apresentaram área de exuberante reação de granulação com infiltrado inflamatório predominantemente crônico, no qual foi evidenciada elevada quantidade de vasos sanguíneos irregulares de pequeno calibre, perpendiculares à superfície da ferida. Foi observada ainda intensa proliferação de células fusiformes, interpretadas como fibroblastos jovens, miofibroblastos e células endoteliais, organizadas em séries regulares, distribuídas ao longo de fibrilas eosinofílicas delgadas de colágeno, arranjadas paralelamente à superfície da ferida. O grupo CTR apresentou a mais extensa faixa de reação de granulação correspondendo aproximadamente a 2/3 da área total da lesão, enquanto que no 1/3 mais profundo foi evidenciada maior deposição colagênica em detrimento de infiltração inflamatória e neovascularização. GEL exibiu faixa de reação de granulação espessa, embora menor que CTR, com presença de vasos capilares bem dilatados e congestos, presença de maior densidade tecidual de colágeno e, redução na intensidade do processo inflamatório, o que sugere uma reação de granulação mais madura. O grupo GELSA e GELAC exibiram expressiva redução na espessura da faixa de reação de granulação e maior condensação fusocelular e colagênica, menor contingente vascular, quando comparado aos grupos CTR e GEL.

Em 14 dias (Figura 26), o grupo CTR exibiu reação de granulação com faixa espessa em cerca de 1/3 da profundidade da ferida, ricamente celular e hipovascular. Apesar de todos os casos mostrarem epitelização avançada, em dois animais esta se apresentou incompleta. Os grupos GEL e GELSA exibiram faixa subepitelial muito delgada de reação de granulação, com pequenos vasos capilares residuais presentes, enquanto toda a área restante da ferida esteve constituída por uma cicatriz fibrosa bem colagenizada com células fibroblástica e área hipovascularizada. GELAC, por sua vez, apresentou uma cicatriz fibrosa bem colagenizada delgada e densa em toda a área da ferida, com distribuição relativamente homogênea de células fusiformes e ovoides, apontadas como fibroblastos. Em todos os grupos tratados com cobertura de gelatina, independente da incorporação de ativos (GEL, GELSA e GELAC) a epitelização se mostrou completa; contudo, em GELAC foram evidenciados pequenos brotamentos epiteliais marginais (*buddings*) que foram interpretados como a formação de rudimentos de anexos cutâneos, como folículos pilosos.

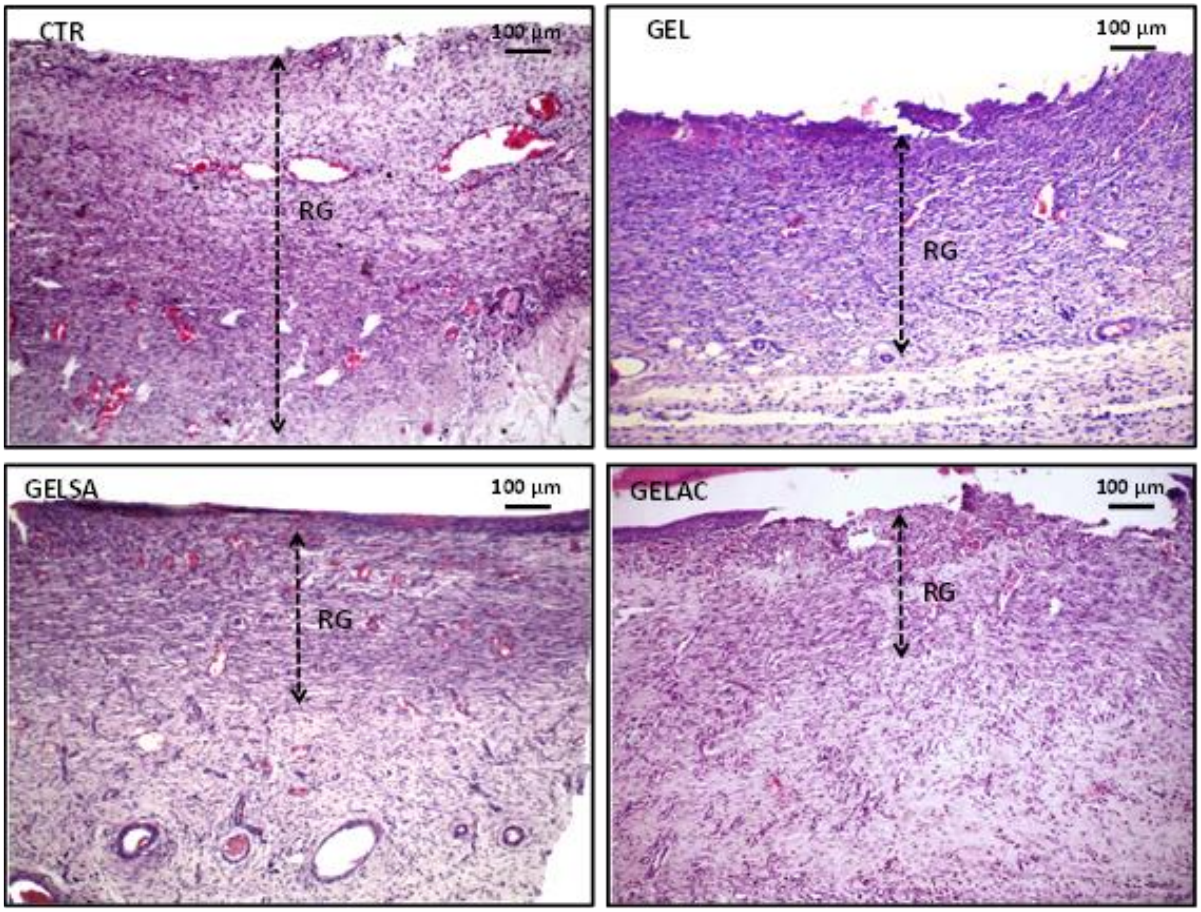



Figura 25: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE representativas do processo de reparo em 7 dias. Todos os grupos apresentam reação de granulação exuberante ocupando a área de reparo. CTR exibe uma faixa de reação de granulação que se estende da hipoderme à superfície da ferida ("cima a baixo"), enquanto em GEL, esta ocupa aproximadamente 2/3 superficiais da profundidade da área lesada (100 ×). Em GELSA e GELAC a faixa de reação de granulação ocupa aproximadamente 1/3 da extensão em profundidade da área lesada (100 ×). Em destaque, observa-se detalhe das células da reação de granulação, constituídas de células fusiformes e inflamatórias em CTR e GEL, mas essencialmente fusocelular em GELSA e GELAC (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*; RG – reação de granulação; seta pontilhada – espessura, em profundidade, da faixa de reação de granulação.

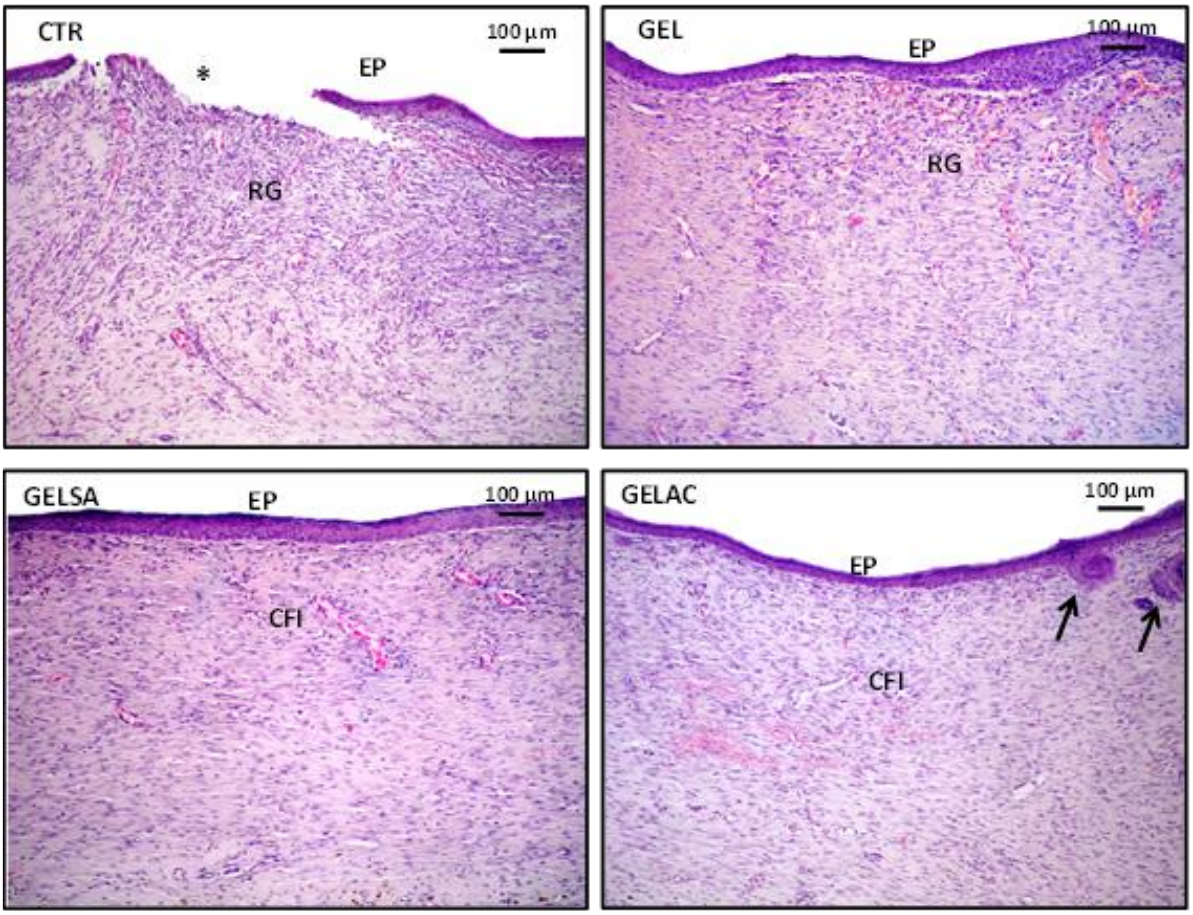



Figura 26: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE representativas do processo de reparo em 14 dias. CTR exibe reação de granulação residual disposta em faixa superficial ainda bem vascularizada e áreas de epitelização incompleta (100 ×). (400 ×). GEL exibe reação de granulação residual também ricamente vascularizada, mas com epitelização completa (100 ×). GELSA e GELAC apresentam cicatriz fibrosa imatura, hipovascularizada e ricamente celularizada (100 ×). Notas formação de brotamentos (buddings) epiteliais marginais compatíveis com anexos cutâneos rudimentares em GELAC (setas). Em destaque, evidencia-se detalhes das células fusiformes e vasos capilares compondo a reação de granulação residual em CTR e GEL e do componente fusocelular predominante na cicatriz fibrosa imatura em GELSA e GELAC (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*; RG – reação de granulação; EP – epitélio pavimentoso estratificado queratinizado (epitelização); CFI – cicatriz fibrosa imatura; (*) – área de desnudamento do tecido conjuntivo resultante de epitelização incompleta.

### 5.6.3. Análise da gradação histológica do processo de reparo cicatricial dérmico (HE)

Os escores médios de gradação histológica do processo de reparo das feridas cirúrgicas dos grupos CTR, GEL, GELSA e GELAC nos tempos de 3, 7 e 14 dias estão descritos e representados abaixo, em conformidade com a Figura 27.

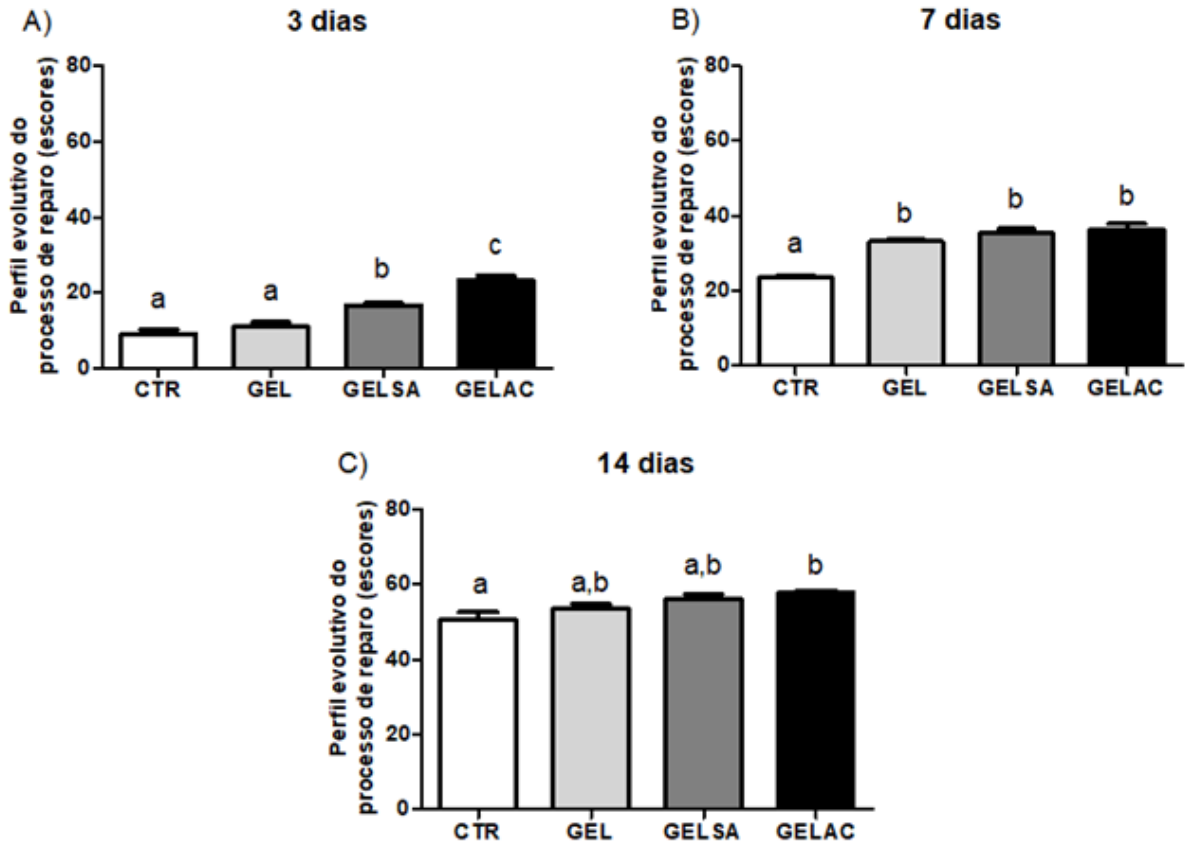



Figura 27: Escores médios do perfil evolutivo do processo de reparo cicatricial em ratos submetidos a tratamento com membranas contendo extrato de SA e extrato de AC. Dados expressos como média ± erro padrão da média. Letras iguais representam que não há diferença significativa (p>0,05), letras diferentes representam diferença significativa p<0,001.

Em 3 dias, foi evidenciado que os escores da gradação histológica do processo de reparo em GELSA e GELAC foram significativamente maiores (p<0,001) do que no grupo CTR e GEL, mas não houve diferença entre os dois primeiros (p>0,05). Os escores médios de retração da ferida obtidos em GELAC, contudo, foram significativamente maiores que em GELSA (p<0,001). Em 7 dias, os escores médios dos grupos GEL, GELSA e GELAC foram significativamente maiores (p<0,001) do que no CTR, mas não houve diferença entre os grupos tratados com as diferentes membranas (p>0,05). Em 14 dias, os escores médios no grupo GELAC foram significativamente maiores do que o grupo CTR (p<0,001).

### 5.6.4. Análise da gradação histológica do processo de reparo cicatricial dérmico Picrossírius

Em 3 dias, as secções coradas em Picrossírius Red examinadas sob luz polarizada revelaram, em todos os grupos, a presença de raros feixes fibrosos predominantemente

curtos, delgados e delicados, com birrefringência esverdeada sugestiva de colágeno tipo III em toda a área da ferida. Estas fibrilas pareciam se dispor em organização reticular, lembrando um arranjo em “teia de aranha” Os espaços interfibrilares se mostraram abundantes, amplos e irregulares (Figura 28). Não foi observada diferença aparente entre os grupos.

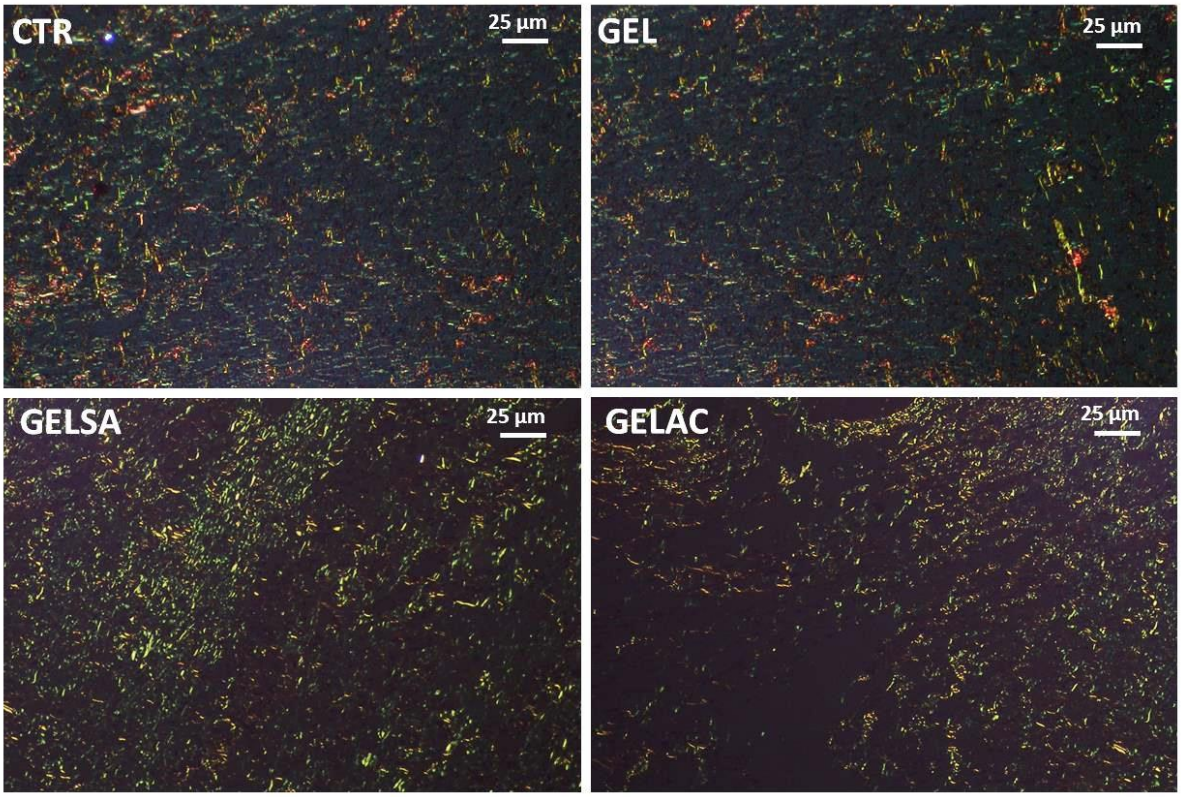



Figura 28: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em picrossírius e analisadas sob luz polarizada representativas do processo de reparo em 3 dias. Todos os grupos apresentam presença de fibrilas delgadas e curtas de colágeno com birrefringência amarelo e amarelo esverdeada compatível com colágeno tipo III, disposta em padrão reticular; os espaços interfibrilares (escuros) se mostraram amplos e abundantes (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*.

Em 7 dias, todos os grupos apresentaram formação de trama bastante delicada de fibrilas curtas, delgadas e delicadas de colágeno mostrando padrão de birrefringência dual, compreendendo moléculas com brilho mais esverdeado, compatível com colágeno tipo III, permeadas por outras de brilho amarelo-ouro, consistente com colágeno tipo I. Os espaços interfibrilares ainda se apresentavam amplos, embora mais regulares, nos grupos CTR e GEL. Nos grupos GELSA e GELAC, por outro lado, a trama colagênica se apresentou mais compacta, sendo formada por fibrilas birrefringentes entrecruzadas conferindo aspecto “em malha”, com espaços interfibrilares menores entre elas (Figura 29).

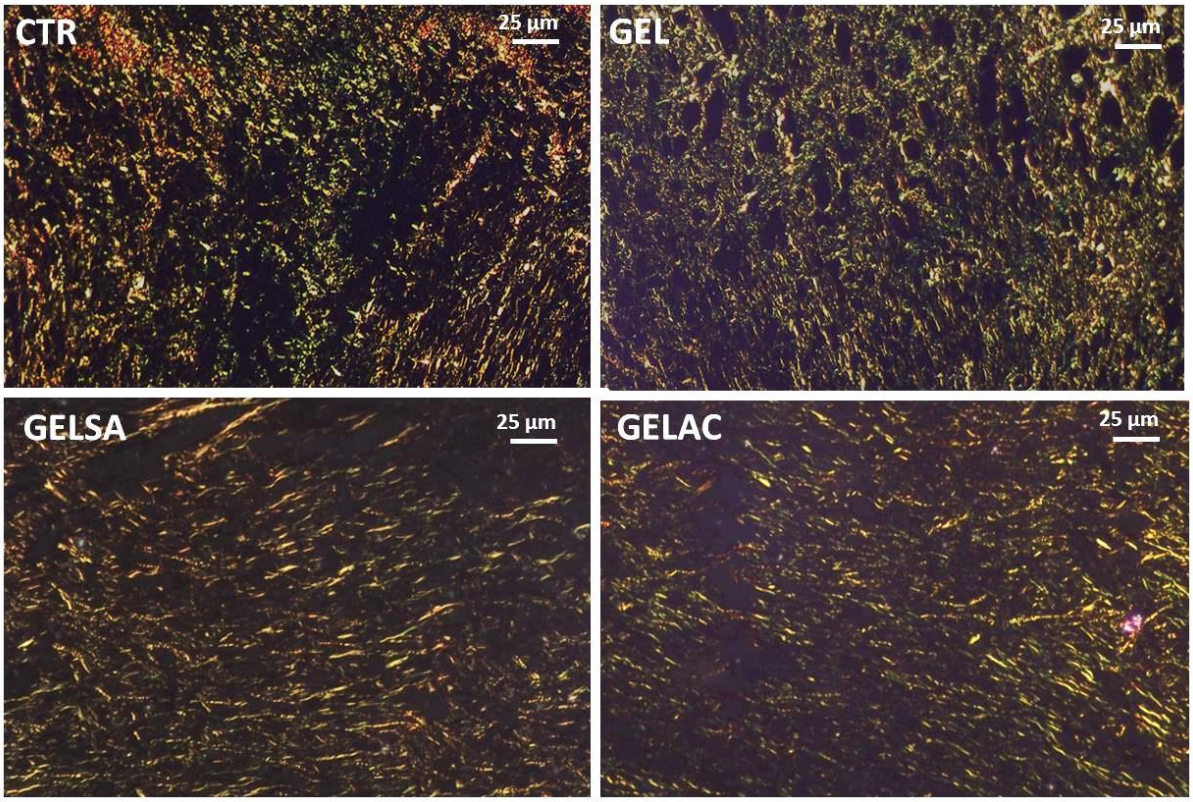



Figura 29: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em picrosirius e analisadas sob luz polarizada representativas do processo de reparo em 7 dias. Todos os grupos apresentam presença de fibrilas delgadas e curtas de colágeno com birrefringência amarelo esverdeada compatível com colágeno tipo III, intercaladas com fibras mais espessas com birrefringência dourada, consistentes com colágeno tipo I, disposta em padrão predominantemente reticular em CTR e GEL, mas com áreas paralelas (especialmente na profundidade da ferida) em GELSA e GELAC; os espaços interfibrilares (escuros) se mostraram notadamente menores, mas ainda abundantes (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*.

No período de 14 dias (Figura 30), todos os grupos apresentaram fibras de colágeno com birrefringência predominantemente amarelo alaranjada e avermelhada compatível com colágeno tipo I, que se organizavam em uma disposição arquitetural reticular à superfície das feridas, mas notadamente paralela na profundidade. Nos grupos GEL, GELSA e GELAC, as fibras são vistas densamente dispostas, entrelaçadas, compactadas e com redução dos espaços interfibrilares, caracterizando uma maior densidade e maturidade de colagenização.

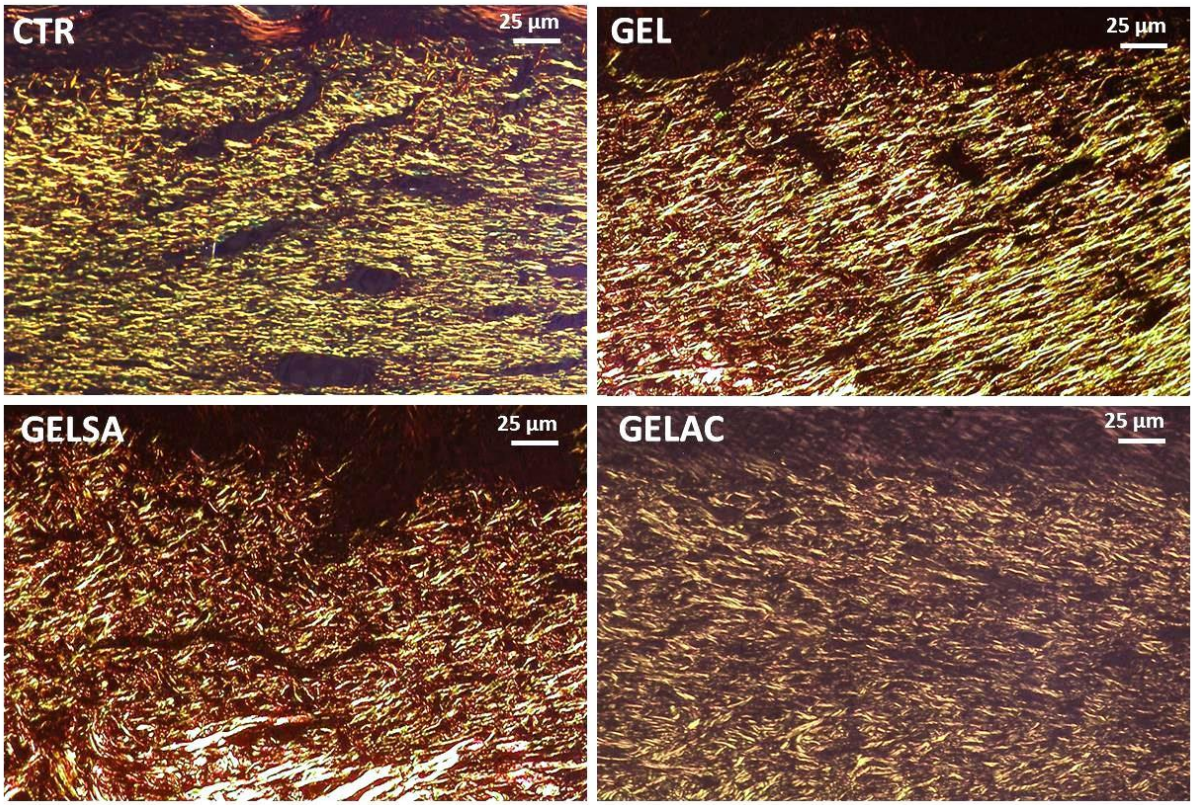



Figura 30: Fotomicrografias de secções histológicas coradas em picrossírius e analisadas sob luz polarizada representativas do processo de reparo em 14 dias. Todos os grupos apresentam presença de fibras mais espessas e de comprimento variável de colágeno com birrefringência dourada e avermelhada, consistentes com colágeno tipo I, disposta em padrão predominantemente paralelo à superfície da ferida; os espaços interfibrilares (escuros) se mostraram bastante reduzidos (400 ×). Legenda: CTR – grupo controle; GEL – grupo tratado apenas com membranas de gelatina; GELSA – grupo tratado com membranas de gelatina contendo extrato de *S. adstringens*; GELAC – grupo tratado com extrato de *A. cochliacarpos*.

Através da Figura 31 pode-se observar os escores médios da densidade de colagenização do processo de reparo das feridas cirúrgicas dos grupos CTR, GEL, GELSA e GELAC nos tempos de 3, 7 e 14 dias. Em 3 e 7 dias, não houve diferença significativa entre os grupos. Em 14 dias, apenas o grupo GEL apresentou diferença ($p<0,05$) quando comparado com o grupo (CTR).

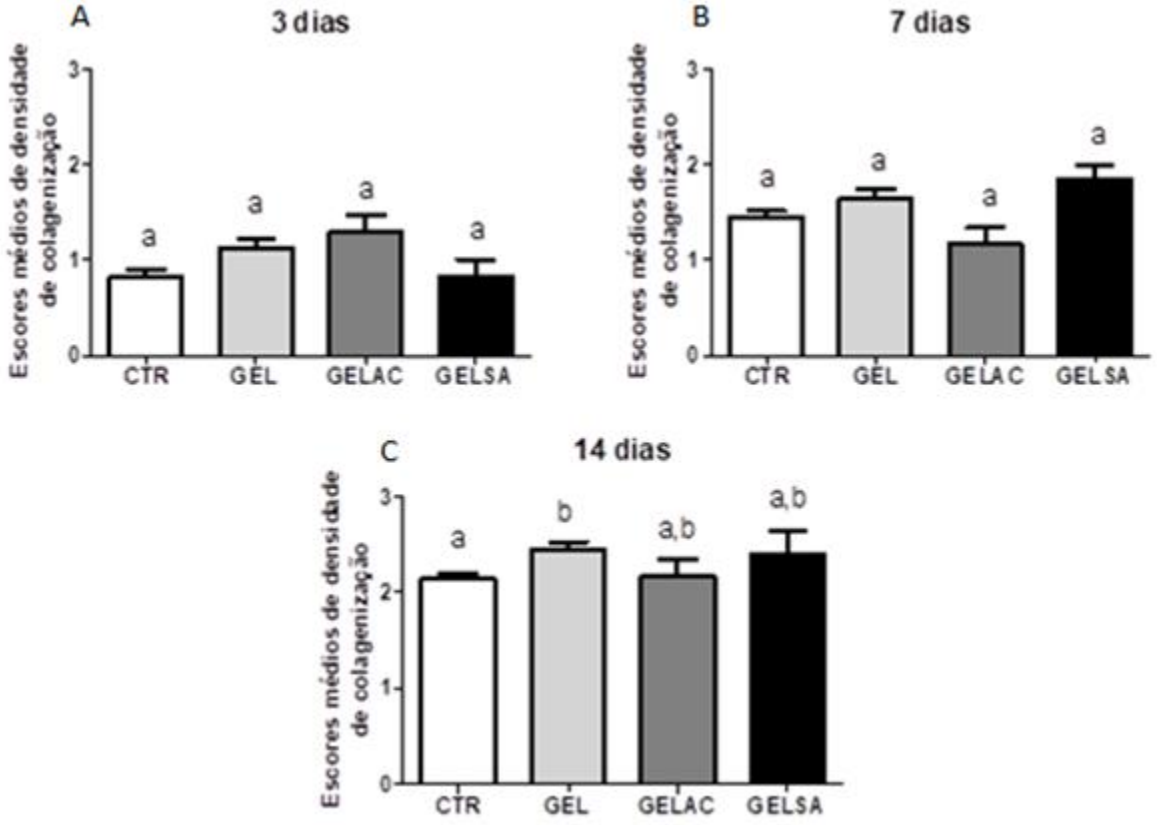



Figura 31: Escores médios de densidade de colagenização disposta nas secções histológicas do processo de cicatrização de feridas abertas em 3, 7 e 14 dias (Sirius Red/luz polarizada, ampliação de 400x). Letras iguais representam que não há diferença significativa, letras diferentes representam diferença significativa com $p<0,05$ (Teste One-way ANOVA seguido do teste de Tukey).

## 6. DISCUSSÃO

Pesquisas recentes têm proposto produtos inovadores, biocompatíveis, biodegradáveis, com perfil mecânico adequado no tratamento de injúrias de pele, com respostas sugestivas de cicatrização acelerada em menor tempo do curso convencional (Liu et al., 2007). Partindo dessa afirmação e com o propósito de caracterizar o avanço tecnológico em relação às espécies vegetais deste estudo, a busca nos bancos de dados de patentes mostrou um número restrito de patentes confirmando que ainda é escasso o interesse industrial pelos produtos tanto da espécie *S. adstringens* e, sobretudo, quando se trata da espécie *A. cochliacarpos*, ambas popularmente conhecidas como barbatimão e usadas principalmente como cicatrizante (SILVA et al., 2009; DIAS et al., 2012; PANIZZA et al., 1988; EURIDES et al., 1995; MARTINS et al., 2003; LOPES et al., 2005; RABELO et al., 2006; DA SILVA et al., 2009; HERNANDES et al., 2010; LIMA et al., 2010; MINATEL et al., 2010; PEREIRA et al., 2015).

Após busca em banco de dados de patentes, observou-se que todos os produtos e processos objetos das escassas patentes encontradas utilizando as duas espécies de barbatimão foram considerados distintos do produto e processo para obtenção da membrana GELSA e GELAC. O caráter de inovação desta proposta está na forma farmacêutica proposta, pois os extratos encontrados nas patentes utilizadas com fins cicatrizantes foram incorporados em diferentes veículos. Por outro lado, produtos comercializados na forma de membranas poliméricas reabsorvíveis e biocompatíveis encontradas no mercado não fazem uso dos extratos vegetais ora estudados.

Assim, o processo e o produto desenvolvidos e avaliados no presento estudo foi aprovado pelo Núcleo de Inovação Tecnológica do Instituto de Tecnologia e Pesquisa para ser depositado como patente no INPI.

Para se desenvolver um produto farmacêutico a base de produtos naturais, faz-se necessário a identificação botânica da matéria prima vegetal. A identificação do vegetal é importante para evitar problemas associados às intoxicações exógenas (SINITOX, 2013). A substituição de determinadas espécies e a utilização de plantas com nomes populares semelhantes, mas com distintos usos terapêuticos e distintas composição química podem ocasionar efeitos farmacológicos ou toxicológicos indesejáveis como sonolência, excitação, alucinações, depressão do sistema nervoso central (SOUZA et al., 2004, BALTAR et al., 2017). O erro na identificação da planta traz risco para a saúde quando há o uso de espécies vegetais com finalidade terapêutica sem conhecimento prévio de suas propriedades (PINILLOS et al., 2003; SINITOX, 2013, BALTAR et al., 2017).

Nesta pesquisa foi possível demonstrar que as espécies objeto deste estudo, apesar de serem conhecidas popularmente como barbatimão, são diferentes quimicamente. Apenas

a espécie *S. adstringens* é reconhecida tanto pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2006) quanto no formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010) como planta medicinal, sendo permitido o desenvolvimento de produtos com seus compostos ativos para comercialização.

Inicialmente foi estudada a espécie AC por dois métodos extrativos: maceração dinâmica (MD) em solvente aquoso e turboextração (TE) em sistema solvente água:acetona. A extração apresentada em ambas as metodologias (MD e TE) produziu rendimentos acima de 30%. Para os extratos de AC, Silva et al. (2009) pelo método de maceração dinâmica, apresentaram um rendimento de 19,5% para o extrato aquoso a frio, 17,7% para o extrato aquoso a quente e 12,8%, utilizando metanol como solvente extrator em temperatura ambiente, demostrando que o solvente aquoso pode produzir maior rendimento. Em resultados de pesquisa realizada por Tenório et al. (2016), a extração em temperatura ambiente utilizando o ciclohexano como solvente, mostraram que o rendimento dos extratos da casca de AC foi de 0,2%, com acetona, 22,54% e com etanol, 10,41%. Da mesma forma, Dias et al. (2012) utilizaram pó das cascas da AC para a produção do extrato etanólico obtendo rendimento de 90%. Em extrato hexânico 16,42%, clorofórmico com 3,13%, e com o acetato de etila, 53,15% de rendimento. Observou-se que os constituintes presentes na casca de AC são mais solúveis em solventes polares, justificando o alto rendimento tanto utilizando água como solvente (MD) como água e acetona (TE). O método de extração, assim como a polaridade do solvente extrator podem afetar o rendimento da extração (TIWARI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2016). Turbo extração é o método mais indicado em materiais de elevada dureza quando é necessária força de cisalhamento, como no caso dos caules das espécies ora estudadas (FONSECA, 2005).

Extrações aquosas apresentam menor custo ambiental e econômico, porém podem resultar em extratos com alta impureza (ácidos orgânicos, açúcares, proteínas solúveis) (CHIRINOS et al., 2007). No entanto, em combinação com outros solventes orgânicos como a acetona, a água contribui para criar um meio moderadamente polar, o que favorece a extração de substâncias ativas como os taninos (FONSECA, 2005, LAPORNIK et al., 2005; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005, VIZZOTTO, PEREIRA, 2011).

Na avaliação antioxidante, seguindo recomendação dos autores Wang et al. (2009) e Lima et al. (2010) foram utilizados dois métodos, importantes na validação dos resultados. O DPPH é um radical livre estável, para o qual as substâncias antioxidantes transferem elétrons ou átomos de hidrogênio, neutralizando seu caráter radicalar (NAIK et al., 2003). Já o método FRAP determina a capacidade dos fenóis em reduzir o ferro em soluções aquosas de compostos puros (PULIDO et al., 2000). O DPPH e FRAP possuem correlação inversa, isso ocorre devido ao emprego de diferentes unidades: para valores de $IC_{50}$ quanto menor for o resultado melhor será a atividade da espécie, diferentemente do método FRAP, no qual

quanto maior o resultado melhor será a atividade antioxidante. Espécies com este perfil podem ser utilizadas como anticancerígena, anti-inflamatória e no auxílio do tratamento de doenças neurodegenerativa (LIMA et al., 2010).

Avaliando-se a influência do método de extração, observou-se que AC-MD tendo a água como solvente apresentou melhor potencial antioxidante pelos dois métodos de análise. Os resultados sugerem que o solvente mais polar parece conseguir arrastar substâncias com maior capacidade antioxidante (VIZZOTTO, PEREIRA, 2011). Os resultados obtidos neste estudo são superiores aos de Lins Neto et al. (2016), que, ao avaliar a atividade antioxidante através do DPPH da AC, obteve 31,62 ± 2,28 µg/mL com extrato etanólico.

Na comparação entre as duas espécies, foi possível verificar que a amostra SA-TE apresentou valores maiores tanto para o rendimento como para a atividade antioxidante quando comparada a AC-TE. De acordo com Lopes et al. (2005), fatores como sazonalidade, condições de temperatura, região nativa da amostra, tipo de solo e período de coleta do material estão associados a variações no rendimento dos extratos, além da sua composição química. Outro fator que influencia nessa variação é a exposição a agentes patogênicos que pode acarretar alterações no padrão metabólico das plantas, produzindo fitoalexinas ou metabólicos secundários para a sua defesa e adequação às condições do meio ambiente (BISBIS et al., 2017).

A atividade antioxidante de SA-TE pode ser devido a presença de substâncias como epigalocatequina, galocatequina, *O-metil-epigalocatequina* que possuem boa capacidade de transferência de elétrons (SKRZYDLEWSKA et al., 2002). Da mesma forma, a presença de catequinas em AC pode ser as responsáveis pela excelente atividade antioxidante apresentada. Souza et al. (2009) estudaram pelo método DPPH, o potencial de atividade antioxidante e observaram que os extratos polares elaborados com etanol 50%, etanol 70%, acetona e água (7:3 v/v) e clorofórmio demostraram ter elevado teor de fenóis totais e elevada capacidade antioxidante, esses autores atribuíram o poder antioxidante a presença de metabólitos secundários derivados da classe de taninos, que são os principais constituintes dos extratos de barbatimão.

Apesar dos resultados de rendimento e potencial antioxidante dos extratos de AC-MD se apresentarem superiores aos de AC-TE, optou-se por escolher o método de TE para o desenvolvimento das membranas, por se tratar de um método já consolidado na literatura e indicado para materiais de elevada dureza ou muito fibrosos como caules, em que seja necessária a força de cisalhamento (FONSECA, 2005)

As condições aplicadas na cromatografia conduziram uma boa separação de picos que foram identificados pelos espectros de massas obtidos. Pode-se observar que as amostras dos extratos SA-TE e AC-TE apresentaram componentes polares. Dados semelhantes foram encontrados no estudo de Lopes et al. (2009) com extratos de SA obtidos

por turbo extração, o teor de galocatequina foi de 3,8 mg/g, indicando que esse método pode ser aplicado para a determinação seletiva dos polifenóis. Os constituintes químicos encontrados em SA estão também de acordo com os descritos por Audi et al. (2004) para cascas e folhas de SA em que foram identificadas a galocatequina, epigalocatequina, *4'-O-metil-galocatequina e 4'-O-metil-galocatequina-(4α→8)-4'-O-metil-galocatequina.*

Dias et al. (2012) encontraram resultados similares em frações hidrometanólicas dos extratos de AC aos do presente estudo, em que a catequina foi isolada na concentração de 37 mg/g. Em outro estudo, Da Silva et al. (2010) obtiveram dímeros e trímeros de catequinas e Silva et al. (2009), em análise fitoquímica de extratos aquosos obtidos a frio e quente e extratos metanólicos, encontraram saponinas, catequinas, taninos, fenóis e antraquinonas. Possivelmente os efeitos benéficos observados no índice de retração da ferida devem-se à presença da catequina, substância antioxidante, e dos demais constituintes encontrados nos extratos hidroacetônicos de AC.

Uma vez conhecida a composição química dos extratos e sua potencial atividade antioxidante, membranas de gelatina (GEL) e de gelatina contendo extratos de SA (GELSA) e AC (GELAC) foram produzidas para posterior avaliação do potencial cicatrizante *in vivo.*

Macroscopicamente as membranas apresentaram-se translúcidas e foi possível a incorporação do extrato de maneira homogênea, sem presença de partículas insolúveis. As membranas GELAC apresentaram melhores resultados que as membranas GELSA e GEL, tanto no manuseio sem ruptura quanto na capacidade de fazer dobrar até a ruptura. Essas características, de acordo com a classificação de Monterrey-Quintero; Sobral (2000) que estabeleceram escores qualitativos, classificam as membranas como excelente. Na avaliação da flexibilidade e manuseabilidade, as membranas GEL e GELSA apresentaram maiores dificuldades, sendo mais susceptíveis à ruptura. Diferentemente, a membrana GELAC apresentou melhores características, o que se traduz em adequação do produto no uso cotidiano. Para Uriarte-Montoya et al. (2010), o equilíbrio das características de matrizes poliméricas é importante para o manuseio, transporte e o armazenamento de coberturas para feridas, sem que haja sua deformação ou ruptura, garantindo seu caráter protetor. Quanto aos parâmetros de continuidade e homogeneidade, as membranas se mostraram igualmente excelentes de acordo com o escore utilizado.

A diferença de cor entre as membranas corrobora a diferente composição química dos extratos, resultados já esperados uma vez que as espécies são diferentes. A cor da membrana GELSA se explica provavelmente pela presença da epigalocatequina, uma das suas substâncias majoritárias, que possui cor alaranjada; além disso, segundo Drunkler, et al. (2004), o ácido tânico e o ácido gálico apresentam capacidade de participar de reações de copigmentação. Ribéreau-Gayon et al. (2006) e Arenhart; Fogaça, (2015), enfatizam que a cor tem relação forte com fenóis totais e moderada com antocianidinas.

Efeito semelhante foi encontrado no estudo de Liang et al. (2017), quando incorporaram esculina (substância encontrada no fruto do castanheiro-da-índia) em filme bioativo de gelatina e este aumentou a diferença na coloração. Esses autores enfatizam que a cor pode influenciar na aceitabilidade final do produto aos consumidores. Além disso, a uniformidade da cor é um excelente indicador de homogeneidade na distribuição dos princípios ativos no produto.

As membranas se apresentaram finas e flexíveis, com espessura entre 17 e 30 µm. A incorporação do extrato de SA reduziu a espessura da membrana GELSA, apresentando maior compactação do material, como confirmado nas fotomicrografias desta membrana. Segundo Rigo (2006), Henrique et al. (2007), a espessura é uma variável importante pois, influencia na uniformidade dos materiais, na avaliação de homogeneidade, assim como na validação das comparações entre as propriedades da sua composição. Sobral (2000), estudando a influência da espessura em membrana à base de proteínas miofibrilares sobre as propriedades funcionais das membranas, concluiu que o controle da espessura é muito difícil, pois nos processos de produção do tipo "*casting*" ocorrem variações especialmente pelas dificuldades no controle da relação massa/área e por problemas no controle da umidade relativa do ar e secagem. Neste estudo foi observada uma pequena variação entre o resultado da espessura com micrômetro e os das micrografias.

Souza et al. (2013) encontraram espessuras entre 22 e 39 µm para membranas de colágeno contendo extrato de própolis vermelha e destacaram que as membranas contendo os extratos apresentaram as menores espessuras. Para Walles et al. (2003), a espessura ideal de um filme varia de acordo com a região do corpo a ser tratada assim, não existe uma espessura ideal. Para Cabello et al. (2015), um dos fatores que pode influenciar esta propriedade são as interações químicas entre o extrato e o plastificante utilizado. Hoque et al. (2011) avaliaram a incorporação de extrato de canela, cravo e estrela de anis em filmes à base de gelatina e concluíram que o aumento da resistência dos filmes está relacionado com a interação de compostos fenólicos presentes nos extratos com a matriz polimérica.

Apesar do aumento de rigidez de GELSA, esta membrana apresentou o mesmo perfil de deformação das demais, indicando que a incorporação dos extratos não influenciou na extensibilidade da membrana. Yajima et al. (2010) demonstraram que as membranas de colágeno são caracterizadas por pouca extensibilidade, provavelmente devido às ligações estabelecidas entre as cadeias poliméricas.

GELAC apresentou discreto aumento na permeabilidade em relação às demais membranas. Segundo Gonsalves, Araújo (2011), este evento pode estar relacionado à composição química do extrato e sua influência na estrutura tridimensional da rede polimérica, na qual o vapor d'água possa fluir ou não com maior facilidade. A permeabilidade ao vapor d'água pode ser influenciada também pelos plastificantes utilizados na formulação da

membrana, quando adicionados a outros compostos, podem ter propriedades físicas e mecânicas alteradas (GONSALVES, ARAÚJO, 2011).

O alto grau de intumescimento observados nas membranas se deve a presença da gelatina que possui grande número de aminoácidos ionizados em sua estrutura e consequentemente, a presença de cargas livres que favorecem a entrada de água na matriz polimérica (ABRUZZO et al., 2012). A incorporação dos extratos não modificou esta característica. Essa capacidade de intumescimento das membranas é influenciada por grupos hidrofílicos (OH) que se encontram na matriz polimérica, pela densidade de ligações cruzadas e presença de poros (SRIAMORNSAK et al., 2007), uma vez que há a possibilidade da água ligar-se diretamente às cadeias poliméricas ou preencher os espaços existentes nos poros (WANG et al., 2009). É provável ainda que a gelatina, interagindo com os compostos da membrana mantenha suas moléculas mais afastadas permitindo a entrada de água. Pode induzir inchaço considerável em filmes devido a sua solubilidade e estrutura formada por uma matriz polimérica (GORDON et al., 2010). Essa condição também é sugestiva de ocorrer com o aumento de área ativa disponível na malha polimérica, facilitando a absorção da água pelos grupos químicos hidrofílicos (LIMA et al., 2007). Outro fator importante é a presença de propilenoglicol: este composto orgânico aumenta tanto o caráter hidrofílico quanto o volume livre do sistema, favorecendo o aumento da absorção de água (SOUZA et al., 2013).

Na análise da microestrutura das membranas, GELSA apresentou estrutura mais compacta, com presença de pequenos poros, indicando presença de elementos que podem estar interagindo com a água, a exemplo da epigalocatequina. GELAC apresentou presença de substâncias insolúveis na superfície. Estas substâncias podem se referir a dímeros encontrados no extrato AC, que possuem maior massa molecular são menos solúveis em dispersão aquosa (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006). O arranjo tridimensional aleatório, menos organizado de GELAC pode ser atribuído a precipitação do extrato na superfície da membrana ou mesmo a interação entre as estruturas químicas da catequina com a água e o propilenoglicol. Os poros não atravessam integralmente a sua espessura, característica que favorece a aplicação do biomaterial no tratamento de lesões de pele, uma vez que a penetração de microrganismos na ferida seria evitada (HINRICHS et al., 1992; BUENO e MORAES, 2011)

Nas seções transversais de GELSA e GELAC observou-se a formação de uma camada mais densa quando comparado aos poros regulares formados em GEL. Para Barbanti et al. (2005) esse comportamento é esperado uma vez que as moléculas presentes nos extratos possuem estrutura química com diversos grupos hidroxilas que podem ser disponibilizados para interações, proporcionando uma modificação estrutural na estrutura polimérica.

Rattaya et al. (2009) relataram resultado semelhante ao deste trabalho quando

avaliaram a incorporação de extrato de algas marinhas em filmes à base de gelatina e verificaram que para os filmes aditivados, uma estrutura interna mais rugosa e com zonas de descontinuidade em relação aos filmes sem adição do extrato, possivelmente associado à ligação dos compostos fenólicos do extrato com a matriz. No estudo de Bodini et al. (2013) a incorporação do extrato etanólico de própolis em filmes à base de gelatina para uso de embalagens, o aumento na concentração do extrato acarretou em aumento da porosidade da matriz, enquanto que filme sem adição do extrato formou uma matriz mais orientada.

A análise termogravimétrica foi realizada para compreender o comportamento térmico das membranas com extratos de *S. adstringens* e *A. cochliacarpos*. As curvas TG foram semelhantes, com discreta diminuição na perda de água nas membranas que continham os extratos. Os eventos térmicos que ocorrem até 100°C geralmente estão relacionados a perda de água adsorvida superficialmente, água de hidratação e pode ser atribuída a eliminação do colágeno presente na gelatina (LAKRA et al., 2014). Entre 230-380°C, observa-se uma perda acentuada de massa que pode ser atribuída a eliminação dos fragmentos de aminoácidos, provenientes da gelatina (MENEZES et al., 2007) a qual é atribuída a degradação da estrutura das membranas (GEL, GELSA e GELAC). A curva de DTG permitiu visualizar as temperaturas correspondentes ao início e final dos eventos térmicos.

Os espectros de FTIR das membranas poliméricas assemelharam-se aos obtidos por Ponez et al. (2012) quando avaliaram as membranas condutoras iônicas de gelatina plastificadas com glicerol. Os valores entre 3150 e 3480 $cm^{-1}$ são característicos de água adsorvida na superfície ou de ligação de NH presente em aminoácidos/gelatina (JALAJA et al., 2015). Os espectros apresentaram uma banda larga em 3280 $cm^{-1}$ (Figura 21) referente ao alongamento –OH, consequência da ligação de hidrogênio intramolecular (DASHNYAM et al., 2014). As membranas contendo extrato apresentaram maior intensidade nesta banda, sugerindo maior interação de hidrogênio intramolecular.

Hoque et al. (2011) correlacionaram o deslocamento da amida A de 3275 para 3277 $cm^{-1}$ devido a incorporação de extrato de anis em filmes a base de gelatina e a interação dos compostos fenólicos presentes no extrato com a matriz polimérica, para eles este deslocamento ocorreu devido a ligação dos compostos fenólicos com os grupos $NH_2$ da gelatina.

Em GEL, a absorção de estiramento de OH na região de 3300 $cm^{-1}$ se dá provavelmente devido à vibração de alongamento dos grupos de hidroxila de propilenoglicol e à umidade adsorvida pelas moléculas. No caso dos extratos, além do propilenoglicol, as membranas são compostas de substâncias ricas em hidroxilas (catequina, galocatequina) (Figura 32), podendo também contribuir para o aumento de intensidade desta banda.

Passada a etapa de caracterização das membranas, foram iniciados os procedimentos de avaliação do potencial cicatrizante do produto. O uso de membranas contendo os extratos de barbatimão acelerou o processo de retração da ferida do primeiro ao último dia experimental. De especial interesse destacam-se os elevados índices de retração apresentados logo em três e sete dias, em torno de 60% e 80% respectivamente que foram superiores ao observado em trabalho com modelos semelhantes (NASCIMENTO et al., 2015).

Os resultados mostraram que houve uma melhora na cicatrização e que os compostos liberados no início da fase estimularam o processo cicatricial ao longo de todo o período. Macroscopicamente observou-se que as membranas foram degradadas em 48 h. As razões que determinam esse aumento dos índices do reparo da ferida ainda não estão claras, contudo sugere-se que os compostos presentes nas membranas contribuíram significativamente para o fechamento das feridas.

Esses dados são um forte indicativo que as membranas com os compostos de barbatimão realmente possuem um efeito clínico importante sobre o processo de reparo. As membranas causaram um efeito positivo tanto histológico quanto no processo de reparo que justifica um estudo mais aprofundado. O efeito pelo uso das membranas ocorreu também em termos da qualidade da cicatriz formada. Isso enseja a necessidade de se estudar como está organizada essa cicatriz, para isso, foi feita a análise histológica.

Diversos estudos têm demostrado que um dos principais parâmetros para se analisar a celeridade e a qualidade do processo cicatricial é o índice de retração da ferida (ALBUQUERQUE-JÚNIOR et al., 2009), (NUNES et al., 2011), (SOUSA et al., 2013), (NASCIMENTO et al., 2015), (ALMEIDA et al., 2017).

Nos três primeiros dias do surgimento de uma lesão, ocorre o processo inflamatório agudo. Em seguida há uma diminuição contínua da área da ferida, que progressivamente declina entre 10° ou 12° dia (PORTOU et al., 2015; ITO et al., 2015). Esse processo pode ser acelerado quando as feridas são tratadas com coberturas que estimulam a contração e, consequentemente as demais fases da cicatrização (SANTOS et al., 2016). Neste estudo, a opção pela utilização de membranas não apenas como material de cobertura, mas também como agente terapêutico de feridas se baseou no fato de que diversos trabalhos demonstraram que as membranas contendo substâncias ativas atuam também como sistema de liberação de substâncias ativas no sítio da lesão (ALBUQUERQUE-JÚNIOR et al., 2009; NUNES et al., 2011; RIELLA et al., 2012; SOUSA et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2015; MODA-ALMEIDA et al., 2017).

Os resultados expressivos do índice percentual médio de retração das feridas nos grupos tratados com GELSA e GELAC podem ser fundamentados no princípio de que, a partir do término da fase de inflamação até o décimo dia da ferida é possível iniciar-se o período de predomínio de fibroblastos, que juntamente com as células endoteliais se movem para o

interior da ferida, produzindo matriz extracelular, modulador do fator de crescimento (YOUNG, MCNAUGHT, 2011). Outro fator importante é a presença de taninos dos extratos utilizados na elaboração das membranas. Essas substâncias reagem com as proteínas presentes em tecidos vivos resultando na adstringência do tecido, colaborando com a cicatrização (FONSECA, 2005).

Os resultados observados no 14º dia da retração da ferida são sugestivos do papel estimulatório dos constituintes das plantas, principalmente da AC, sobre a diferenciação miofibroblástica, levando à completa cicatrização. Esses achados sugerem que os constituintes dos extratos de SA e AC influenciaram a dinâmica inflamatória. Os melhores índices de retração podem, portanto, estar relacionados à presença de polifenóis identificados nestes extratos, tais como a catequina e epigalocatequina além, de epicatequina e procianidinas, que aceleram o processo cicatricial (SATURNINO-OLIVEIRA et al., 2014, SINGH et al., 2017).

Hernandes et al. (2010) avaliaram o efeito cicatrizante de uma pomada contendo 1% da fração de acetato de etila extraída da casca do caule SA, em feridas na pele de ratos e observaram que a aplicação tópica estimulou a proliferação dos queratinócitos. Os efeitos do extrato de SA sobre a retração de feridas parecem estar relacionados com a presença de taninos, devido sua importante ação adstringente, o que aumenta o número de fibras de colágeno na matriz polimérica (HASLAM, 1998; HERNANDES et al., 2010). No estudo de Hupkens et al. (1995) foi observado que em lesões causadas por queimaduras, os taninos aceleravam a formação de uma crosta flexível que recobria e protegia a ferida.

O efeito anti-inflamatório de SA foi registrado por Henriques et al. (2016), que observaram a redução da migração de leucócitos e acumulação de neutrófilos na articulação do joelho em ratos tratados com frações aquosas dos extratos. O efeito anti-inflamatório e antioxidante da AC foi observado no estudo de Sánchez-Fidalgo et al. (2013), quando utilizaram a fração butanólica em modelo murino e concluíram que os efeitos benéficos são mediados provavelmente pela presença de catequinas, substância majoritária nos extratos. Eles observaram ainda que os extratos apresentaram ação modulatória sobre macrófagos promovendo menor intumescimento tecidual.

O processo de reparo de feridas por segunda intenção é caracterizado por uma dinâmica que envolve as fases de epitelização, proliferação e fibroplastia (SU et al., 2010; WANG et al., 2017). No terceiro dia, a intensa reação inflamatória é esperada, uma vez que logo a pós a injúria, ocorre uma resposta às alterações vasculares e bioquímicas estimulando a chegada de neutrófilos na área lesada com o propósito de impedir a invasão e proliferação de micro-organismos (WANG et al., 2017). Estes dados, portanto, justificam a infiltração inflamatória predominantemente rica em polimorfonucleares neutrófilos, edema e hiperemia observada no presente estudo.

A presença de reação de granulação na profundidade das feridas observada nos grupos GELSA e GELAC constitui um forte indicativo de aceleração no reparo, o que corrobora os dados clínicos de retração da ferida previamente apresentados neste estudo. Membranas contendo substâncias ativas, quando aplicadas topicamente em feridas, liberam substâncias que agem para favorecer o processo de reparo, provavelmente pela liberação do fármaco no leito da lesão (KAMOUN et al., 2017). Tem sido demonstrado que catequinas e epicatequinas são capazes de modular a expressão de moléculas de adesão endotelial, reduzindo sua ativação, por meio do aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico (CARNEVALE et al., 2014). Seria possível especular, portanto, que a menor ativação endotelial levaria a uma redução no fenômeno de marginação leucocitária e consequente minimização do influxo de leucócitos para a área da ferida. Sabe-se que polimorfonucleares neutrófilos, principais células leucocitárias envolvidas na resposta inflamatória aguda, estão fortemente associados à indução de estresse oxidativo em condições de injúria tissular (SHURTZ-SWIRSKI et al., 2001; SELA et al., 2002). Assim, pode ser hipotetizado que o melhor aspecto histopatológico visto nos grupos GELSA e GELAC, nas fases mais precoces do reparo, poderia ser resultado da menor intensidade da inflamação e do estresse oxidativo na área da ferida, secundária à liberação de catequinas e epicatequinas presentes nas membranas.

Epicatequinas se mostraram capazes de acelerar o fenômeno de angiogênese e formação da cicatriz fibrosa em ensaios experimentais de cicatrização em roedores, provavelmente em resposta a liberação aumentada do fator de crescimento vascular-endotelial (VEGF) (KAPOOR, et al., 2004; KIM et al., 2008). Além disso, esses polifenóis também induzem um aumento na liberação de TGF-β, uma citocina intimamente relacionada com a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos e com a síntese e deposição de colágeno cicatricial (KLASS et al., 2010). Por outra ótica, estudo prévio realizado em modelo de cicatrização em roedores demonstrou que o uso de extrato metanólico de *Camellia sinensis*, rico em catequinas e flavonoides, promoveu melhores índices de retração da ferida e evidências histológicas de aceleração das etapas de reparo, como formação e maturação da reação de granulação e deposição de colágeno cicatricial (HAJIAGHAALIPOUR, et al., 2013). Além disso, foi demonstrado que catequinas isoladas da *Parapiptadenia rigida* apresentaram resultados promissores quanto à estimulação da proliferação e migração de fibroblastos em ensaios *in vitro* (*scratch assay*), sugerindo potencial aplicação como agente acelerador da cicatrização (SCHMIDT et al., 2010). Estes relatos parecem dar suporte aos achados histológicos observados no presente estudo, uma vez que o uso de membranas contendo extratos ricos em epigalocatequinas (GELSA) e catequinas (GELAC) promoveram aceleração em várias etapas do processo de reparo ao longo de 7 e 14 dias. Deve ser destacado que os achados obtidos em GELAC foram mais expressivos que em GELSA.

Contudo, se estes dados são resultado de um melhor potencial cicatrizante das catequinas em relação às epigalocatequinas, ou se representam a ação de outros compostos químicos presentes em cada tipo de extrato, ainda precisa ser investigado em estudos posteriores.

A cicatrização de feridas pode ser avaliada tomando como base parâmetros clínicos, bioquímicos e histológicos. No entanto, o estudo dos aspectos histológicos parece ser mais confiável para determinar o estado evolutivo da cicatrização de feridas dérmicas, pois os achados observados podem ser fotomicrografados e analisados por diferentes especialistas. A análise da gradação histológica da cicatrização ainda apresenta como vantagem a possibilidade de eliminar vieses associados à subjetividade da análise morfológica essencialmente descritiva, permitindo a operacionalização das variáveis histológicas por meio de uma modelagem matemática semiquantitativa, gerando dados mais robustos.

Uma revisão conduzida por Guptar, Kumar (2015) apresentou 30 relatos relevantes sobre cicatrização de feridas e gradação histológica com base em vários parâmetros de diferentes estágios de cicatrização, e discutiu aspectos relativos às vantagens, desvantagens e limitações de cada método. No entanto, o método de gradação histológica da cicatrização preconizada por Myers et al. (1961) foi o que melhor estabeleceu relação entre os diferentes parâmetros histológicos e o avanço do reparo, e permitiu melhor distinção entre as distintas fases analisadas. Algumas adaptações foram efetuadas no sistema de gradação, conforme preconizado e validado por Almeida (2016), como a retirada do parâmetro eosinófilos e ajuste nos fatores de correção da inflamação crônica, a fim de aprimorar e facilitar a análise dos dados e estabelecer uma melhor diferença entre as fases do reparo.

Os dados obtidos no presente estudo a partir da análise da gradação histológica do reparo cicatricial (Myers et al., 1961; modificado por Almeida (2016) sugerem que a utilização de membranas GELSA e GELAC são capazes de propiciar aceleração no processo de cicatrização, especialmente nas fases iniciais (três dias) e tardias (14 dias). Esses dados corroboram aqueles observados na análise histológica descritiva e reforçam o possível envolvimento dos compostos ativos presentes nos extratos na estimulação das etapas da cicatrização.

Além disso, GELAC apresentou os melhores resultados de gradação ao final do período experimental, o que também foi aparente na análise descritiva anterior. As etapas histológicas cicatriciais que ocorrem por volta do 14º dia de reparo, em modelo roedor, estão representadas pelos fenômenos de proliferação fibroblástica e deposição colagênica (GANTWERKER, HOM, 2011). Portanto, seria possível hipotetizar que as catequinas, compostos majoritários presentes no GELAC, poderiam desempenhar algum papel na dinâmica fibroproliferativa cicatricial.

Contudo, é preciso considerar que a degradação das membranas ocorre nas primeiras 48 h de aplicação. Assim, os possíveis efeitos devem estar concentrados nas fases iniciais do

reparo, já que nas etapas finais não há mais presença de ativos no sítio de injúria dérmica. Nesse sentido, Tanigawa et al. (2014) demonstraram que catequinas são capazes de proteger fibroblastos (linhagem NIH3T3) de apoptose induzida por estresse oxididativo provocado por espécies reativas de oxigênio. Recentemente, Silva-Santos et al. (2017) relataram que catequinas reduzem a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo celular induzido por amiodarona em fibroblastos pulmonares. Adicionalmente, Morin, Grenier (2016) demonstraram que o tratamento com extrato de chá verde (*Camellia sinensis*), rico em catequinas, em cocultura de fibroblastos gengivais e macrófagos estimulados por *A. actinomycetemcomitans* reduziu a síntese de metaloproteinases (MMP-3 e MMP-9). Esses dados disponíveis na literatura conduzem a hipótese de que os melhores resultados obtidos com GELAC em 14 dias poderiam ser reflexo não de ação direta das catequinas sobre a fibroplasia ao final do período experimental, mas sim de um possível efeito protetor sobre essas células contra o estresse oxidativo nos períodos iniciais, facilitando sua proliferação bem como, da modulação da degradação colagênica induzida por metaloproteinases. Essa hipótese também encontra apoio no fato de que os principais achados clínicos e morfológicos foram evidenciados na primeira fase de reparo (3 dias), de modo que as etapas subsequentes teriam sido aceleradas pela menor intensidade da reação inflamatória e consequente minimização do estresse oxidativo e seus efeitos sobre fibroblastos em proliferação.

As proteínas mais abundantes na matriz extracelular (MEC) são as moléculas de colágeno - uma grande família de proteínas triplas helicoidais que são encontradas no corpo e conservadas em todos os animais multicelulares. As moléculas de colágeno estão presentes na derme como proteínas fibrilares e não só fornecem suporte estrutural às células residentes, mas também regulam a função residente e inflamatória das células. (BOOT-HANDFORD, TUCKWELL, 2003). Uma cicatriz normal é a resposta natural do corpo para reparar o tecido após uma lesão e não se desenvolve até depois de a ferida ter cicatrizado completamente. Os dois tipos dominantes de colágeno no reparo da ferida são o colágeno tipo I e III. Na pele normal, as fibrilas de colágeno são compostas de colágeno tipo I e III com colágeno tipo III compreendendo aproximadamente 20% do total. Durante os estágios iniciais da formação de tecido de granulação, os miofibroblastos estabelecem colágeno III, que desempenha um papel na fibrilogênese e determina o diâmetro da fibrilação do colágeno I. A expressão de colágeno III aumenta mais do que a expressão de colágeno I nos estágios iniciais da cicatrização, resultando em aumento da relação entre os dois subtipos de colágeno de 20% até 50% de colágeno III. Durante a maturação da cicatriz, o índice diminui novamente para níveis normais (XUE, JACKSON, 2015). Essa dinâmica foi claramente evidenciada no presente estudo, indicando que o curso de colagenização seguiu o ritmo e caminho compatíveis com aqueles esperados em uma cicatrização sem intercorrências.

A formação de cicatrizes anormais apresenta problemas importantes, uma vez que

podem ser desfigurantes e causar perda de função, mobilidade limitada por contração e rigidez da cicatriz, prurido e dor (CASTOLDI, ROSING, 2010). A desfiguração cosmética causada por cicatrizes geralmente leva os pacientes a sofrer problemas psicossociais e sociais, o que, por sua vez, resulta em uma diminuição da qualidade de vida (PROFYRIS et al, 2012). A quantidade de colágeno depositada ao longo do processo de reparo e a relação entre as moléculas de colágeno tipo I e tipo III são fatores fundamentais na arquitetura histológica de cicatrizes normais, atróficas, hipertróficas e queloidianas (VERHAEGEN et al, 2009). Cicatrizes fibrosas hipertróficas e queloides se caracterizam por deposição excessiva de colágeno, frequentemente acompanhada por um aumento expressivo na relação entre as moléculas de colágeno I/III (BAISCH, RIEDEL, 2006; GAUGLITZ et al., 2011*).* Desta forma, a ausência de diferenças expressivas no padrão de colagenização ao longo do período experimental, em todos os grupos analisados, parece sugerir que o processo de formação da cicatriz fibrosa ocorreu sem maiores intercorrências, o que minimiza a possibilidade de formação de cicatrizes disformes (atróficas ou hipertróficas) quando de uma possível aplicação clínica.

Analisados de maneira conjunta, os resultados do presente estudo sugerem que a membrana com extratos de *S. adstringens* e *A. cochliacarpos* podem representar estratégias terapêuticas promissoras para o tratamento de feridas nas quais não houve possibilidade de coaptação de bordas. Os dados obtidos ainda parecem apontar para um melhor resultado a partir do uso das membranas contendo *A. cochliacarpos*. Apesar de alguns mecanismos terem sido hipotetizados para explicar a natureza dos resultados, estudos posteriores ainda são necessários a fim de elucidar os possíveis processos fisiopatológicos por trás da aceleração do reparo cicatricial.

## 7. CONCLUSÃO

Com base na avaliação dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- ✓ O produto elaborado (membranas) possui caráter inovador;
- ✓ Cada espécies estudada foi registrada cientificamente na região de extração. Ambas foram analisadas quimicamente, onde comprovou-se que as plantas conhecidas popularmente como barbatimão, encontradas na região Nordeste e Sul brasileiro trata-se de duas espécies distintas *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos,* respectivamente, que também apresentaram composição química diferentes.
- ✓ As substâncias majoritárias de cada extrato foram identificadas indicando a presença de taninos e flavonoides;
- ✓ Os extratos das duas espécies de barbatimão possuem atividade antioxidante, frente aos dois métodos de extração utilizados;
- ✓ As membranas desenvolvidas com extratos de *Stryphnodendron adstringens* e *Abarema cochliacarpos* aceleraram o processo de reparo cicatricial em feridas abertas por segunda intenção em modelo murino;
- ✓ No processo de colagenização a atuação da membrana se deu principalmente na fase inicial do reparo.

## 8. REFERÊNCIAS


ABRUZZO, A.; BIGUCCI, F.; CERCHIARA, T.; CRUCIANI, F.; VITALI, B.; LUPPI, B.Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propranolol hydrochloride. Carbohydrate Polymers, Barking, v. 87, p. 581-588, 2012.

ADEWUMI, A. A.; OGUNJINMI, A. A. The healing potential of honey and propolis lotion on septic wounds. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2011; v. 1, n. 1, p. S55-S57.

ALAN, A.; KEITH, C.; MARK; G, R.; KAREN, O. The Importance of Hydration in Wound Healing: Reinvigorating the clinical perspective. Journal of wound care, 2016; v. 25, n. 3, p. 122–130.

ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C. D., BARRETO, A. L. S., PIRES, J. A., REIS, F. P., LIMA, S. O., RIBEIRO, M. A. G., CARDOSO, J. C. Effect of bovine type-I collagen-based films containing red propolis on dermal wound healing in rodent model. Int J Morphol, 2009; v. 27, n. 4, p. 1105-1110.

ALERICO GC, BECKENKAMP A, VIGNOLI-SILVA M, BUFFON A. Proliferative effect of plants used for wound healing in Rio Grande do Sul state, Brazil. Journal of Ethnopharmacology. 2015; 176:305-310.

ALMEIDA W.A.; FERREIRA, A. M.; IVO, M. L.; RIGOTTI, M. A.; BARCELOS, L. DA S.; SILVA, A. L. N. V. Fatores associados à qualidade de vida de pessoas com feridas complexas crônicas. Rev Fund Care Online. 2018 jan/mar; 10(1):9-16. DOI: http://dx.doi.org/10.9789/2175- 5361.2018.v10i1.9-16

ALMEIDA, E.B.; CARDOSO, J.C.; LIMA, A.K.; OLIVEIRA, N.L.; PONTES-FILHO, N.T.; LIMA, S.O. The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. J. Etnopharmacolol. v. 147, p. 419-425, 2013.

ALMEIDA, S. D., PROENÇA, C. E. B., SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. 1998; Planaltina: Embrapa-CPAC, 464.

ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU, F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. v. 21, n. 7, p. 2227-2236, 2010.

ALVES, J. V.; BETAT, J. M. DESBRIDAMENTO ENZIMÁTICO: ASSISTÊNCIA DE ENFERMAGEM NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS. Revista da Mostra de Iniciação Científica da ULBRA Cachoeira do Sul, 2016; v. 1, n. 1.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, 2010; 1. 5ª Ed. Brasília.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011; volume 1. 3ª Ed. Brasília.

ARAÚJO, E. Q. X. DE; SILVA, J. B. DA; CARMONA, E. V.; ARAÚJO, E. P. DE; LIMA, MELO, M. H. DE. PAPAÍNA-UREIA COMO AGENTE DESBRIDANTE: REVISÃO DE LITERATURA. Revista Baiana de Saúde Pública, 2015; v. 38, n. 3, p. 636-646.

ARENHART, M.; FOGAÇA, A. DE O. The influence of color and phenolic compounds on the antioxidant capacity of gaucho red wines. Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, 2015; v. 16, n. 1, p. 113-123.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL – ASTM. ASTM D 882-10: standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. 2010; West Conshohocken.

AUDI, E. A.; TOLEDO, C. M.; SANTOS, F. S., BELLANDA, P. R., ALVES-DO-PRADO, W., UEDA-NAKAMURA, T.; DE MELLO, J. C. P. Biological activity and quality control of extract and stem bark from Stryphnodendron adstringens. Acta farmacêutica bonaerense, 2004;23(3):328-33)

BABU, K. S.; NAIK, V. K.M.; J, LATHA; V. PRABHAKAR. Wound Healing Activity of Ethanolic Extract of Natural Products (Azadirachta indica bark) in Albino Wister Rats. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences SJIF Impact Factor 6.041 2016; Volume 5, Issue 6, 1624-1632 Research Article ISSN 2278 – 4357.

BAISCH A.; RIEDEL F: Hyperplastic scars and keloids. Part I: basics and prevention. HNO 2006; 54:893.

BALTAR, S. L. S. M. A.; FRANCO, E. S.; AMORIM, L. P.; PEDROSA, H. C. S.; PAIXÃO, T.N.; PEREIRA, R. C. A.; MAIA, M. B. S. Aspectos botânicos e clínicos das intoxicações por plantas das Famílias Araceae, Euphorbiaceae e Solanaceae no Estado de Pernambuco. Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol. 11(2), 119-249, 2017 | e-ISSN: 2446-4775.

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA; C. A. C.; DUEK, E. A. R.; Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. Polímeros: Ciência e Tecnologia 15, (2005), 13-21.

BARROS, A. L. B. L. Classificações de diagnóstico e intervenção de enfermagem: NANDA-NIC Classification of Nursing Diagnoses and Interventions: NANDA and NIC Clasificaciones de diagnóstico e intervención de enfermería: NANDA-NIC. Acta Paul Enferm 2009; 22(Especial - 70 Anos):864-7.

BEASLEY, M.M. et al. Comparison of transmission FTIR, ATR, and DRIFT spectra: implications for assessment of bone bioapatite diagenesis. Journal of Archaeological Science, 2014; v.46, p.16-22.

BEHBEHM, B., BABILAS, P., LANDTHALER, M., SCHREML, S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2012; v. 26, n. 7, p. 812-820.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUNO, A.; DEL RIO, J.A. Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves. Food Chem., 2000; v. 68, p. 457-462.

BESSA, N.G.F.de; BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U.; QUIRINO, M.S.; CHAGAS JUNIOR, A. F; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013.

BISBIS, M.B., GRUDA, N., BLANKE, M. Potential impacts of climate change on vegetable production and product quality – a review, Journal of Cleaner Production. 2017.

BODINI, R. B. et al; Properties of gelatin-based films with added etanol-propolis extract. Food Science and Technology, v. 51, n. 1, p. 104-110, 2013

BOOT-HANDFORD R.P.; TUCKWELL D.S. Fibrillar collagen: the key to vertebrate evolution? A tale of molecular incest. Bioessays. 2003 Feb; 25(2):142-51.

BRANDÃO, M. G. L. Produção de chás e extratos de plantas medicinais. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC), 2007. 25p.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER M.E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity Author links open overlay panel. LWT – 1995; Food Science and Technology.

BRASIL, 2009. Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos Brasília – DF. 2009.

BRASIL, 2013. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde. 84p. 2013.

BRASIL, 2014. Ministério Da Saúde Monografia Da Espécie Stryphnodendron adstringens (MART.) COVILLE (BARBATIMÃO) Organização: Ministério da Saúde e Anvisa Fonte do Recurso: 20K5 (DAF/SCTIE/MS) /2012 Brasília 2014

BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 2. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010. 904 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. MONOGRAFIA DA ESPÉCIE Stryphnodendron adstringens (MART.) COVILLE (BARBATIMÃO) Organização: Ministério da Saúde e Anvisa. 2014; Brasília.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, Distrito Federal. 2006.

BRASIL. Portaria MS/GM nº. 886, de 20 de abril de 2010, que instituiu a Farmácia Viva no SUS. 2010.

BRASIL. Portaria Nº 971 DE 3 DE MAIO DE 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS. 2006.

BUENO, C. Z.; MORAES, A. M. Development of porous lamellar chitosan-alginate membranes: Effect of different surfactants on biomaterial properties. Journal of Applied Polymer Science, v. 122, p. 624–631, 2011.

BUENO-SILVA, B.; KOO, H.; FALSETTA, M.L.; ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P.L. Effect of neovestitol–vestitol containing Brazilian red propolis on accumulation of biofilm in vitro and development of dental caries in vivo. Biofouling, 2013; v. 29, n. 10, p. 1233-1242.

CABELLO, S.D.P.; TAKARA, E.A; MARCHESE, J.; OCHOA, N.S. Influence of plasticizers in pectin films: Microstructural changes. Materials Chemistry and Physics. 2015; 162: 491-497.

CAI N.; LI, C.; HAN C.; LUO, X.; SHEN, L.; XUE, Y.; YU, F. Tailoring mechanical and antibacterial properties of chitosan/gelatin nanofiber membranes with Fe3O4 nanoparticles for potential wound dressing application, Applied Surface Science (2016),

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH A. K. Cicatrização de feridas. ABCD arq. bras. cir. dig, 2007; v. 20, n. 1, p. 51-58.

CAMPOS, S. D.; CAMPOS, E. A.; SILVEIRA, C. B.; BINI, R. A. Biomaterials based on Na2O-CaO-SiO2-P2O5, prepared with sawdust or corn glucose: effects on porosity and crystallinity.

Ceramic, 2005; v. 51, n. 319, p. 274-279.

CARDOSO, I C; PEREIRA, H M G, TAPPIN, M R R; BEHRENS, M D. Influência da técnica de extração e do tamanho de partícula do material vegetal no teor de compostos fenólicos totais da tintura das folhas de Alpinia zerumbet. 2017. *Revista Fitos. Etnobotânica*.

CARNEVALE, R.; LOFFREDO, L.; NOCELLA, C.; BARTIMOCCIA, S.,1 BUCCI, T., DE FALCO, E.; PERUZZI, M.; CHIMENTI, I.; BIONDI-ZOCCAI, G.; PIGNATELLI, P.; VIOLI, F.; FRATI, G. Epicatechin and catechin modulate endothelial activation induced by platelets of patients with Peripheral Artery Disease. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Volume 2014, Article ID 691015, 9 pages.

CASTOLDI E, ROSING J. APC resistance: biological basis and acquired influences. J Thromb Haemost. 2010 Mar; 8(3):445-53.

CAVALCANTE L. C., MOREIRA M. C., MOTA O. M. L., TURATTI E., VIANA F. A. C. PEREIRA S. L. S. Efeito da pedra umes no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. Periodontia, 2012; v. 22, n. 1, p. 69-73.

CHANDIKA, PATHUM; KO, SEOK-CHUN; JUNG, WON-KYO. Marine-derived biological macromolecule-based biomaterials for wound healing and skin tissue regeneration. International journal of biological macromolecules. 2015; v. 77, p. 24-35.

CHAVES, D., LEMES, S., ARAUJO, L., SOUSA, M., FREITAS, G., LINO-JUNIOR, R. S.; MELO-REIS, P. R. Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa do barbatimão (Stryphnodendron adstringens). Rev. Bras. Plantas Med, 2016; v. 18, n. 2, p. 524-530.

CHEN, F. M.; LIU, X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. Progress in polymer science, 2016; v. 53, p. 86-168.

CHIAPPELLI, F; BAKHORDARIAN, A; TAD; DU, AM; JAN, AL; NGUYEN, M; SAMA, MT; MANFRINI, NE; PIVA, F; ROCHA RM; and MAIDA, CA. Ebola: translational science considerations. Journal of Translational Medicine, 2015; v. 13, n. 1, p. 11.

CHIRINOS, R.; ROGEZ, H.; CAMPOS, D.; PEDRESCHI, R.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon) Tubers. Separation and Purification Technology, Amsterdam, v. 55, p. 217-225, 2007

COELHO J. M, ANTONIOLLI A. B, NUNES E SILVA D, CARVALHO T. M. M. B, PONTES E. R. J. C, ODASHIRO A. N. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões. 2010;37(1):45-51.

COSTA, J.P.R.; ALMEIDA, A.C. DE; MARTINS, E.R.; RODRIGUES, M.N.; SANTOS, C.A. DOS; MENEZES, I.R. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. Biotemas, 2011; v. 24, n. 4, p. 1-6.

COSTA, M. A.; MELLO, J. C. P. de.; KANESHIMA, E. N.; NAKAMURA, T. U.; FILHO, B. P.; AUDI, E. A.; NAKAMURA, C. V. Acute and chronic toxicity of an aqueous fraction of the stem bark of Stryphnodendron adstringens (Barbatimão) in rodents. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2013.

COUTO, R.C., PEDROSA, T.M.G., CUNHA, A.F.A., AMARAL, D.B. Infecção hospitalar e

outras complicações não-infecciosas da doença: epidemiologia, controle e tratamento. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 456-474 p.

DA SILVA M.S.; SÁNCHEZ-FIDALGO S, TALERO E, CÁRDENO A, DA SILVA MA, VILLEGAS W, SOUZA BRITO AR, DE LA LASTRA CA. Anti-inflammatory intestinal activity of *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & Grimes in TNBS colitis model. J Ethnopharmacol., 2010; v. 128, p. 467-475.

DA SILVA, L. A. F., DE MOURA, M. I., PERSIANO, C. B., HELOU, J. B., DE OLIVEIRA LIMA, C. R., DE FREITAS, S. L. R., CASTRO, L. T. S. Extrato da casca do barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* martius) associado ao tratamento cirúrgico e toalete dos cascos na recuperação de bovinos da raça nelore com dermatite digital. Ciência Animal Brasileira, 2009; v. 1, p. 373-378.

DA SILVA, M.S.; ANTONIOLLI, A.R.; BATISTA, J.S.; DA MOTA, C.N. Plantas medicinais usadas nos distúrbios do trato gastrointestinal no Povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. Acta Bot. Bras., v.20 (4), p. 805-829, 2006

DAS. S.; BAKER A.B. Biomaterials and Nanotherapeutics for Enhancing Skin Wound Healing. REVIEW ARTICLE. Front. in Bioengineering and Biotechnology. 2016.

DASHNYAM, K.; PEREZ, R.; LEE, E. J.; YUN, Y. R.; JANG, J. H.; WALL, I. B.; KIM, H. W. Hybrid scaffolds of gelatin-siloxane releasing stromal derived factor-1 effective for cell recruitment. Journal of Biomedical Materials Research. Part A 102(6), June 2014.

DASHNYAM, K.; PEREZ, R.; SINGH, R.K.;LEE, EUN-JUNG KIM, HAE-WON.Hybrid magnetic scaffolds of gelatin–siloxane incorporated with magnetite nanoparticles effective for bone tissue engineering RSC Adv., 2014, 4, 40841–40851.

DAYAN, F. E.; ROMAGNI, J. G.; DUKE, S. O. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. Journal of Chemical Ecology, 2000; v. 26, p. 2079-2093.

DE JESUS, J. Y., DE CARVALHO DANTAS, E. S., SERAFINI, M. R., DOS PASSOS MENEZES, P., CARDOSO, J. C., ALBUQUERQUE-JR, R. L. C.; DE SOUZA ARAÚJO, A. A. Development and physicochemical properties of extract of Morinda citrifolia Linn/pectin-based membranes.Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2016; v. 123, n. 3, p. 2003-2012.

DE MOURA, C. M., DE MOURA, J. M., DOS SANTOS, J. P., DA COSTA KOSINSKI, R., DOTTO, G. L., DE ALMEIDA PINTO, L. A. Evaluation of mechanical properties and water vapor permeability in chitosan biofilms using sorbitol and glycerol. Macromolecular Symposia. WILEY-VCH Verlag, 2012. p. 240-245.

DE OLIVEIRA, C.M.B. DE; TSA, R.K. S.; ISSY, A.M.; GEROLA, L, R; SALOMÃO R Citocinas e Dor. Revista Brasileira de Anestesiologia, 2011; v. 61, n. 2, p. 255-265.

DE OLIVEIRA, M.A.; YOSHIDA, M.I.; GOMES, E.C.L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. Química Nova. 2011; 34: 1224-1230.

DEDAVID B.A; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia Eletrônica de Varredura Microscopia Eletrônica de Varredura Aplicações e preparação de amostras de materiais poliméricos, metálicos e semicondutores PORTO ALEGRE. EDIPUCRS, 2007.

DENARI, G.B; CAVALHEIRO, E.T.G. Princípios e aplicações de análise térmica/org. São Carlos:IQSC, 2012. 40p.

DEVRIENDT, N.; ROOSTER, H. Initial Management of Traumatic Wounds Vet Clin Small Anim 47 (2017) 1123–1134.

DIAS, A.S.; LIMAS, A.C., SANTOS, A. L.; RABELO, T.K.; SERA, F. I. N. I, M.R.; ANDRADE, C.R,; FERNANDES, X.A.; MOREIRA, J.C.; GELAIN, D.P.; ESTAEVAM, C.S.; ARAUJO, B.S. Redox properties of *A. cochliacarpos* (Gomes) Barneby and Sime (Fabaceae) stem bark ethanol extract and fractions. Natural Product Research, 2012.

DRUNKLER D. A.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Influence of the tannic and gallic acids on stability of betacyanins from red beetroot (Beta vulgaris L.) crude extract. Alim. Nutri. Araraquara, 2004; v. 15, n. 1, p. 35-41.

EBELING, S., NAUMANN, K., POLLOK, S., WARDECKI, T., VIDAL-Y-SY, S., NASCIMENTO, J. M., MERFOR. From a traditional medicinal plant to a rational drug: understanding the clinically proven wound healing efficacy of birch bark extract. PloS one, 2014; v. 9, n. 1, p. e86147.

ELOY, C. C.; VIEIRA, D. M.; LUCENA, C. M. DE; ANDRADE, M. O. DE Apropriação e proteção dos conhecimentos tradicionais no Brasil: a conservação da biodiversidade e os direitos das populações tradicionais. Gaia Scientia (2014) Volume Especial Populações Tradicionais: 189-198 Versão Online ISSN 1981-1268.

ENRIONE, J.; PINO, K.; PEPCZYNSKA, M.; BROWN, D.I.; ORTIZ R.; SÁNCHEZ, E.; ACEVEDO, C.A., A novel biomaterial based on salmon-gelatin and its in-vivo evaluation as sterile wound-dressing, Materials Letters (2017).

EURIDES, D., MAZZANTI, A., BELLETI, M. E., DA SILVA, L. A. F., FIORAVANTE, M. C. S. Morphological and morphometrical studies on tissue repair of mice cutaneous wounds treated with barbatiman aqueous solution (Stryphynodendron barbatiman Martius). Uruguaiana, 1995; v. 2, n. 3, p. 30-40.

FERNANDES, I.G.; ALMEIDA, A.A.; LEITE, JOÃO PAULO V.; "Processo de Extração para a Construção de uma Coleção de Extratos de Espécies da Mata Atlântica", p. 60-61. In: Anais da V Jornada Acadêmica Internacional de Bioquímica. Blucher Biochemistry Proceedings, v.1, n.1]. São Paulo: Blucher, 2015. ISSN 2359-5043, DOI 10.5151/biochem-jaibqi-0094.

FERRAZ, R.R.N.; ANDRADE, D.A. DE S.; BARNABÉ, A.S.; FORNARI, J.V. Treatment of Bullosa Epidermolysis by Multidisciplinary yeam: A Systematic Review. SaBios: Rev. Saúde e Biol., 2015; v.10, n.1, p.144-147, jan./abr.

FERREIRA, A. D. S., GUERRA, A. L. C. I., JAVORSKI, M., BONFIM, S. D. F. S. F., SILVA, T. D. A. D. Lesões de pele em recém-nascidos e lactentes. Rev. enferm. UERJ, 2013; 21, n. 2, p. 208-215,

FERREIRA, A. M; OLIVEIRA K. A. DE; VIEIRA, L. C; ROL J. DA L. Revisão de Estudos Clínicos de Enfermagem: Utilização de Papaína para o tratamento de feridas. Rev. enferm. UERJ, 2005; v. 13, n. 3, p. 382-389.

FERREIRA, E. C; SILVA, J. L.L DA; SOUZA, R. F. DE. As Propriedades Medicinais e Bioquímicas da Planta Stryphnodendron adstringens “Barbatimão”. Biológicas & Saúde, 2013; v. 3, n. 11.

FONSECA, S.G.C. Farmacotécnica de Fitoterápicos, UFC, 2005

GAUGLITZ, G.G.; KORTING, H.C.; PAVICIC, T.; RUZICKA, T.; JESCHKE, M.G.: Hypertrophic

scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. Mol Med 2011; 17:113.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M.A.; FRONING,G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen fims. Journal of Food Science, Chicago, v. 61, p. 585-589, 1996

GENSEL, JC; ZHANG, BRAIN B. Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury. Brain research, 2015; v. 1619, p. 1-11.

GHATAK, S., MAYTIN, E. V., MACK, J. A., HASCALL, V. C., ATANELISHVILI, I., MORENO RODRIGUEZ, R.; MISRA, S. Roles of proteoglycans and glycosaminoglycans in wound healing and fibrosis. International journal of cell biology, v. 2015.

GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C.R.M. Different strategies for crosslinking of chitosan. Química Nova. 2011; 34(7): 1215-1223.

GORDON P. W.; BROOKE, A. D.M.; CHEW, Y.M.J.; WILSON, D. I.; YORK, D. W. Studies into swelling of gelatin films using a scanning fluid dynamic gauge. Food and Bioproducts Processing, Rugby, v. 88, n. 4, p. 357-364, 2010.

GOULART, S. L. Características anatômicas, químicas e densidade do barbatimão, 2014.

GOULD, L., ABADIR, P., BREM, H., CARTER, M., CONNER-KERR, T., DAVIDSON, J.; GRICE, E. CHRONIC WOUND REPAIR and healing in older adults: current status and future research. Wound Repair and Regeneration, 2015; v. 23, n. 1, p. 1-13.

GÜLÇIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. Arch Toxicol, 2012; v. 86, n. 3, p. 345-391.

GUPTA, A.; KUMAR, P.; Assessment of the histological state of the healing wound. Plastic and Aesthetic Research. 2015 Sep; 2(5): 239-42.

HAJIAGHAALIPOUR, F.; KANTHIMATHI, M.S.; ABDULLA, M.A.; SANUSI, J. The Effect of Camellia sinensis on Wound Healing Potential in an Animal Model. Evid Based Complement Alternat Med. 2013; 2013:386734. doi: 10.1155/2013/386734. Epub 2013 Jun 20.

HARUN, W.S.W.; ASRI, R.I.M., ALIAS, J.; F.H. KADIRGAMA, Z.; K., GHANI, S.A.C.; SHARIFFUDDIN, J.H.M. A Comprehensive Review of Hydroxyapatite-based Coatings Adhesion on Metallic Biomaterials, Ceramics International, 2017.10.162.

HASLAM, E. Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. p.422.

HEGAZY, M. E. F., MOHAMED, T. A., ELSHAMY, A. I., ABOU-EL-HAMD, H. M., MAHALEL, U. A., REDA, E. H.; ABDEL-AZIM, N. S. Microbial biotransformation as a tool for drug development based on natural products from mevalonic acid pathway: A review. Journal of Advanced Research, 2015; v. 6, n. 1, p. 17-33.

HENRIQUE, M. P.; CEREDA, M. P.; DUPUY, N. Color, Transparency and Infra-Red Analysis of Modified Cassava Starch Films. Agronomía Trop. 2007; 57(1): 25-30.

HENRIQUES, B. O.; CORRÊA, O.; AZEVEDO, P. C E; PÁDUA, R. M.; OLIVEIRA, V. L S. DE; OLIVEIRA, T. H. C.; BOFF, D.; DIAS, A. C. F., SOUZA, D. G. DE; AMARAL, F. A. In vitro TNF-$\alpha$ inhibitory activity of Brazilian plants and anti-inflammatory effect of *Stryphnodendron adstringens* in an acute arthritis model. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based

Complementary and Alternative Medicine. Volume 2016. Article ID 9872598, 15 pages

HERNANDES, L.; PEREIRA, L. M. S.; PALAZZO, F.; MELLO, J. C. P. Wound-healing evaluation of ointment from Stryphnodendron adstringens (barbatimão) in rat skin. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010; v. 46, n. 3, p. 431-436,

HERSEK, N.; CANAY, S.; UZUN, G.; YILDIZ, F. Color stability of denture base acrylic resins in three food colorants. The Journal of prosthetic dentistry, 1999; v. 81, n. 4, p. 375-379.

HINRICHS, W. L. J.; LOMMEN, E. J. C. M. P.; WILDEVUUR, R. H.; FEIJEN, J. Fabrication and characterization of an asymmetric polyurethane membrane for use as a wound dressing. Journal of Applied Biomaterials, 1992, v. 3, n. 4, p. 287-303.

HOQUE, M. S; BENJAKUL, S.; PRODPRANT, T. Proprieties of film from cuttlefish (Sepia pharaaonis) skin gelatina incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. Food hydrocolloids, Oxford, 2011; v. 25, p. 1085-1095.

HUPKENS, P.; BOXMA, H.; DOKTER, J. Tannic acid as topical agent in burns: historical considerations and implications for new developments. Burns, v. 21, p. 57-61, 1995

IGANCI, J.R.V; MORIM, M.P. Abarema (Fabaceae, Mimosoideae) in the Atlantic Domain, Brazil. Botanical Journal of the Linnean Society, 2012; v. 168, n. 4, p. 473-486.

ISAAC, C., DE LADEIRA, P. R. S., DO RÊGO, F. M. P., ALDUNATE, J. C. B., FERREIRA, M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. Revista de Medicina, 2010; v. 89, n. 3/4, p. 125-131

ISHIDA, K. et al. Influence of tannins from Stryphnodendron adstringens on growth and virulence factors os Candida albicans. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, p. 8, 2006.

ISHIDA, K., DE MELLO, J. C. P., CORTEZ, D. A. G., DIAS FILHO, B. P., UEDA-NAKAMURA, T., NAKAMURA, C. V. Influence of tannins from Stryphnodendron adstringens on growth and virulence factors of Candida albicans. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006; v. 58, n. 5, p. 942-949.

ITO, H.; ANDO, T.; OGISO, H.; ARIOKA, Y.; SAITO, K.; SEISHIMA MI. Inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase activity accelerates skin wound healing. Biomaterials, 2015; v. 53, p. 221-228,

JALAJA K., NASKAR D., SUBHAS C. KUNDU AND NIRMALA R. J. Fabrication of cationized gelatin nanofibers by electrospinning for tissue regeneration. The Royal Society of Chemistry. 2015.

JODAR K S P, BALCÃO V M, CHAUD M V, TUBINO M, YOSHIDA V M H, OLIVEIRA J M J R. Development and Characterization of a Hydrogel Containing Silver Sulfadiazine for Antimicrobial Topical Applications. JournaL of Pharmaceutical Sciences. 2015; 104:2241-2254.

JUNG, K.; COVINGTON, S.; SEM, K.C.; JANUSZYK, M.; KIRSNER, S.R.; GURTNER, C.G.; SHAH, H.N. Wound Repair and Regeneration. The International Journal of Tissue and Regeneration, 2015.

KAMOLZ, LARS-PETER; WILD, T. Wound bed preparation: The impact of debridement and wound cleansing. Wound Medicine, 2013; v. 1, p. 44-50.

KAMOUN, E. A.; KENAWY, E-R. S.; CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. Journal of Advanced Research. Volume 8, Issue 3, May 2017, Pages 217-233.

KANAWATE, E. N.; CARVALHO, R. I. N. DE. Evaluation of productive process stages and botany identification of baccharis and maytenus species collected in metropolitan region of Curitiba. Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba, 2008; v. 6, n. 1, p. 73-81, jan./mar.

KAPOOR, M.; HOWARD, R.; HALL, I. Appleton I. Effects of epicatechin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incisional wound healing model in rats. Am J Pathol. 2004 Jul;165(1):299-307.

KEDARE, S.B.; SINGH, R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol, v. 48, n. 4, p. 412-22, 2011.

KHAN, R. A. Natural products chemistry: The emerging trends and prospective goals. Saudi Pharmaceutical Journal. 2018.

KIM, H.; KAWAZOE, T.; HAN, D.W.; MATSUMARA, K.; SUZUKI, S.; TSUTSUMI, S.; HYON, S.H. Enhanced wound healing by an epigallocatechin gallate-incorporated collagen sponge in diabetic mice. Wound Repair Regen. 2008 Sep-Oct;16(5):714-20. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00422. x.

KLASS, B.R.; BRANFORD, O.A.; GROBBELAAR, A. O.; ROLFE, K. J. The effect of epigallocatechin-3-gallate, a constituent of green tea, on transforming growth factor-beta1-stimulated wound contraction. Wound Repair Regen. 2010 Jan-Feb; 18(1):80-8.

KUMAR, S.; LEAPER D. J. Classification and management of acute wounds. Surgery (Oxford), Volume 26, Issue 2, 2008, Pages 43-47.

LAKRA, R.; KIRAN, M. S.; USHA, R.; MOHAN; R. SUNDARESAN; KORRAPATI P.S. Enhanced stabilization of collagen by furfural. Int. J. Biol. Macromol., 65 (2014), pp. 252-257

LANDIM, M. F.; PROENCA, C. E. B.; SALES, A. B.; MATOS, I. S. Floristic characterization of an Atlantic Rainforest remmant in Southern Sergipe: Crasto forest. Biota Neotrop., 2015; v. 15, n. 1, p. 1-16.

LAPORNIK, B.; PROŠEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extract prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering, London, v. 71, p. 214-501, 2005.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A.M. Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia - SPDV 2011; 69(3); Cicatrização de Feridas. Educação Médica Continua.

LEE, K.M.; KIM, H.; NEMENO, J.G.; YANG, W.; YOON. J.; LEE, S.; LEE, J.I. Natural Cardiac Extracellular Matrix Sheet as a Biomaterial for Cardiomyocyte Transplantation. Transplantation Proceedings. Volume 47, Issue 3, April 2015, Pages 751-756.

LEHNINGER, Albert L.; NELSON, David L.; COX, Michael M.: Princípios de bioquímica. 4ª Ed. Sarvier: São Paulo, 2006

LIMA A. R., PEREIRA, R. G. F. A.; ABRAHÃO S. A. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. Quim Nova. 2010; 33 (1): 20-24.

LIMA, A.M.F.; ANDREANI, V.; SOLDI, R BORSALI. Influência da adição de plastificante do Lima processo de reticulação na morfologia, absorção de aguá e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. Quím. Nova [online]. 2007, vol.30, n.4, pp.832-837.

LIMA, C. R. O., SOUZA, L. A., HELOU, J. B., SILVA, J., & CAETANO, L. B. Caracterização dos metabólitos secundários do barbatimão. CRO, 2010; p. 61-68.

LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; DE SOUZA, P. T. Experimental evaluation of stem bark of Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville for antiinflammatory activity. Phytotherapy Research, 1998; v. 12, n. 3, p. 218-220.

LIMA, T. C. D. de; CARDOSO, M.V.; MODESTO, T.; OLIVEIRA, A.L.de B.; SILVA, M. N. da; MONTEIRO, M. C. Brief review ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of Stryphnodendron adstringens used in the Amazon. Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol, 2016; 10(3), 220-372, Jul-Set e-ISSN: 2446-4775.

LINS NETO. J. DA R. L.; UCHÔA, A. D. DE A.; MOURA, P. A. DE, FILHO, C. M. B.; TENÓRIO, J. C. G.; SILVA, A. G. DA, XIMENES, R. M.; SILVA, M. V. DA; CORREIA, M. T. DOS S. Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora. Journal of Medicinal Plants esearch. 2016; Vol. 10(27), pp. 409-416.

LISBOA, M. S.; FERREIRA, S. M.; SILVA, M. S. Uso de plantas medicinais para tratar úlceras e gastrites pela comunidade do povoado Vila Capim, município de Arapiraca-AL, Nordeste do Brasil. Sitientibus Série Ciências Biológicas, 2006; v. 6, p. 13-20.

LIU, C.; XIA, Z.; CZERNUSZKA, J. Design and development of three-dimensional scaffolds for tissue engineering. Chemical Engineering Research and Design, 2007. pp. 1051- 1064.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolics compounds from wheat using response surface methodology. Food Chemistry, Washington, v. 93, p. 45-56, 2005

LOPES, C. G.; MACHADO, F. A. V.; TOLEDO, C. E. M.; SAKURAGUI, C. M.; MELLO, J. C. P. Chemotaxonomic significance of 5-deoxyproanthocyanidins in Stryphnodendron species. Biochemical Systematics an Ecology, 2009; v.36, p. 925-931.

LOPES, G. C., SANCHES, A. C., NAKAMURA, C. V., DIAS FILHO, B. P., HERNANDES, L., DE MELLO, J. C. P. Influence of extracts of Stryphnodendron polyphyllum Mart. and Stryphnodendron obovatum Benth. on the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. Journal of Ethnopharmacology, 2005; v. 99, n. 2, p. 265-272.

LOPES, G.C; SANCHES, A.C.C; TOLEDO C.E.M DE; ISLER, A.C; MELLO, J.C.P. DE. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de Stryphnodendron por cromatografia líquida de alta eficiência. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 2009; 45, n. 1, p. 135-143.

LÓPEZ, D; MÁRQUEZ, A.; GUTIÉRREZ-CURTIÑO, M.; VENEGAS-YAZIGI, D.; BUSTOS, R.; MATIACEVICH, S. Edible film antioxidant capacity based on salmon gelatina and boldine. LWT – Food Science and Technology. 2017; Volume 77, p. 160-169.

LORENZI; MATOS, H. Árvores brasileiras. 4. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

LUCENA, C. A. A., COSTA, S. C., ELEAMEN, G. R. A., MENDONÇA, E. A. M.; OLIVEIRA, E. E. Desenvolvimento de biofilmes à base de xilana e xilana/gelatina para produção de embalagens biodegradáveis. Polímeros, 27(número especial), 35-41, 2017.

MANDELBAUM, S.H.; SANTIS, É.P. DI; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I*. An. Bras. Dermatol. vol.78 no.4 Rio de Janeiro July/Aug. 2003

MARTINS, P. S.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; SEQUEIRA, J. L.; NICOLETTI, J. L. M.; THOMASSIAN, A. Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em eqüinos. Archives of Veterinary Science, 2003; v. 8, n. 2.

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. A dimeric proanthocyanidin from Stryphnodendron adstringens. Phytochemistry, 1999; v. 51, p. 1105-1107.

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from Stryphonodendron adstringens. Phytochemistry, 1996a; v.41, p.807-813.

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Prorobinetinidins from Stryphonodendron adstringens. Phytochemistry, 1996b; v.42, n.3, p.857-862.

MELO E. M.; FERNANDES, V.S. Avaliação do Conhecimento do Enfermeiro acerca das coberturas de última geração. Revista da Associação Brasileira de Estomaterapia. V. 15, n.4. 2017

MENDONÇA GBN, MORAIS JM. Laser As-Ga-Al de baixa potência associado com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* martius) na reparação tecidual de ferida cutânea séptica de ovino. 2008. In http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1190-3.pdf, 2008. Goias. Anais...Goias: Universidade Federal de Goiás, 2008.

MENEZES, A. S.; REMÉDIOS, C.M.R.; SASAKI, J.M.; SILVA, L.R.D.; GÓES, J.C.; JARDIM, P.M.; MIRANDA, M.A.R. Sintering of nanoparticles of a-Fe2003using gelatin, Journal of Non-Crystaline Solids, v. 353, pg. 1091-1094, 2007.

MENON, D. N.; TEIXEIRA, L.; PAUROSI, N. B.; BARROS, M. E. Efeitos da heparina e da oxigenação hiperbárica na redução de necrose de modelo animal para desluvamentos. Rev. Col. Bras. Cir. vol.44 no.1 Rio de Janeiro Jan./Feb. 2017.

MINATEL, D. G., PEREIRA, A. M. S., CHIARATTI, T. M., PASQUALIN, L., OLIVEIRA, J. C. N., COUTO, L. B.; FRANCA, S. C. Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. RBM Rev. Bras. Med, 2010; v. 67, n. 7.

MODA-ALMEIDA, B.; ALBUQUERQUE JUNIOR, R. L. C.; CARDOSO, J. C.; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS JUNIOR, L. J.; NASCIMENTO, M. F.; ALVES, M. C. M. A.; BARBOSA, A. M.; ARAUJO FILHO, H. G.; OLIVEIRA, C. R.; ALMEIDA, C. M.; PEREIRA, E. W. M.; CUNHA, J. L. S. Processo de Obtenção de Formulação Moldável Fotopolimerizável e Produto Obtido. 2017, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: Nº de depósito: INPI BR10201700764. 2017.

MOHAMED, M.I.; HAIDER, M.; ALI, M.A.M. Buccal mucoadhesive films containing antihypertensive drug: invitro/in vivo evaluation. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2011; 3(6): 665-668.

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J. do A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo (Oreochromis niloticus) para elaboração de biofilmes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, p.179-189, 2000.

MORIN, M. P.; GRENIER, D. Regulation of matrix metalloproteinase secretion by green tea catechins in a three-dimensional co-culture model of macrophages and gingival fibroblasts. Arch Oral Biol. 2017 Mar; 75:89-99. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.10.035. Epub 2016 Nov 2.

MORTENSEN, D., FJÆR, H. G., LINDHOLM, D., KARHAUSEN, K. F.; KVALEVÅG, J. S. Modelling of the Twin Roll Casting Process Including Friction. Light Metals. 2015; p. 1241-1247.

MYERS, A. H.; POSTLETHWAIT, R. W.; SMITH, A. G. Histologic grading of experimental healing wound. Arch. Surg. 83, 147-150, 1961.

NAIK GH, PRIYADARSINI KI, SATAV JG, BANAVALIKAR MM, SOHONI PP, BIYANI MK, MOHAN H. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. Phytochemistry 2003; 63:97-104.

NASCIMENTO, M. F. Hidrogéis moldáveis fotopolimerizáveis contendo polifenóis para o tratamento de feridas [Dissertação]. Aracaju: Universidade Tirandetes; 2017

NASCIMENTO, M.F.; ALBUQUERQUE JUNIOR, R. L. C. ; CARDOSO, J. C. ; ALMEIDA, B. M. ; SOUZA, I. C. L. ; PADILHA, F. F. ; ALSINA, O. L. S. ; ARAUJO, A. A. S. ; CARAMAO, E. B. ; CARDOSO, C. A. L. ; COSTA, L. P. Composição para obtenção de biomembrana que permite aceleração da cicatrização de feridas de pele, processo e utilização da mesma. Nº de depósito: INPI 1020150240520. 2015.

NEEL, E. A. A.; BOZEC, L.; KNOWLES, J. C.; SYED, O.; MUDERA, V.; DAY, R.; HYUN, J. K. Collagen—emerging collagen based therapies hit the patient. Advanced drug delivery reviews, 2013; v. 65, n. 4, p. 429-456.

NUNES, P. S.; BEZERRA, M. S.; COSTA, L. P.; CARDOSO, J. C.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; RODRIGUES, M. O.; BARIN, G. B.; SILVA, F. A.; ARAÚJO, A. A. S. Thermal characterization of usnic acid/collagen-based films. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2010; v. 99, n. 3, p. 1011-1014.

NUNES, P. S.; ALBUQUERQUE-JUNIOR R. L. C.; CAVALCANTE, D. R. R.; DANTAS, M. D. M.; CARDOSO, J. C.; BEZERRA, M. S.; SOUZA, J.C.C.; SERAFINI, M. R.; QUITANS-JR, L. J.; BONJARDIM, L. R.; ARAUJO, A. A. S. Collagen-based films containing liposome-loaded usnic acid as dressing for dermal burn healing. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011; Article ID 761593.

NUNES P. S; RABELO, A. S; SOUZA, J. C; SANTANA, B.; DA SILVA, T. M.; SERAFINI, M. R.; DOS PASSOS, MENEZES P.; DOS SANTOS LIMA, B.; CARDOSO, J. C.; ALVES, J. C.; FRANK, L. A.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R., PINHEIRO, M. S.; DE ALBUQUERQUE, R. L. JÚNIOR; ARAÚJO, A. A. Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. International Journal of Pharmaceutics, 2016; v. 513, n. 1–2, p. 473–482.

OLIVEIRA, C.M.R.C; CARDOSO, K.M; SOUZA, M.M; SANTOS, J.S; SANTOS, M.L.P. Validacion of a pratical method for determinacion of amoxicillin contentes in natural Waters by means of HPLC-UV and its application in the environmental quality. Ver Inst Adolfo Lutz. 2015; 74(4):361-70.

OLIVEIRA, F. P. D., OLIVEIRA, B. G. R. B. D., SANTANA, R. F., SILVA, B. D. P.; CANDIDO, J. D. S. C. Nursing interventions and outcomes classifications in patients with wounds: cross-mapping. Revista Gaúcha de Enfermagem, 2016; v. 37, n. 2.

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.17, n.1, p.36-44, 2015.

OLIVEIRA, R. F., RIBEIRO, P. R., SANTOS, G. K., OLIVEIRA, C. S., SILVA, P. R., OLIVEIRA, H. A.; FERNANDEZ, L. G. Evaluation of the hepatotoxicity of *Abarema cochliacarpos* extracts in mice Mus musculus. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2013; v. 23, n. 4, p. 674-679. (b)

OLIVEIRA, R. F.; ANTUNES, C. G. C.; SANTOS, G. K. M.; OLIVEIRA, C. S.; SILVA, P. R. C.; ROCHA, E. M.; FERNANDEZ, L. G.; TRINDADE, R. DE C. Use of *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & J.W. Grimeson the skin burn treatment of wistar Rattus norvegicus. Rev. Bras. Farm. 2013; 94 (3): 302 – 306. (a)

OLIVEIRA, V.B., ZUCHETTO, M., OLIVEIRA, C.F., PAULA, C.S., DUARTE, A.F.S., MIGUEL, M.D., MIGUEL, O.G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.230-239, 2016.

OUSEY, K.; CUTTING, K.F.; M.N. R.G.N, ROGERS, A.A.; RIPPON M.G. The importance of hydration in wound healing: reinvigorating the clinical perspective. Journal of Wound Care. March 8, 2016

PANIZZA, S., ROCHA, A. B., GECCHI, R., SOUZA E SILVA, R. A. P. Stryphnodendron barbadetiman (Vellozo) Martius: teor em Tannino na casca e sua propriedade cicatrizante. Rev. ciênc. farm, 1988; v. 10, p. 101-6.

PANOBIANCO M.S., SAMPAIO B.A.L, CAETANO E.A., INOCENTI A.; GOZZO T.O. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste-Rev Rene, 2012; v. 11.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. Journal of the Brazilian Chemical Society, 14, 198-219, 2003.

PEHLIVAN, H., BALKÖSE, D., ÜLKÜ, S., & TIHMINLIOGLU, F. Characterization of pure and silver exchanged natural zeolite filled poplypropylene composite films. Composites Science and Technology, 2005; 65(13), 2049-2058.

PEREIRA, A. V., DE AZEVÊDO, T. K. B., SANTANA, G. M., TREVISAN, L. F. A., DOS SANTOS HIGINO, S. S., COSTA, M. R. M.; PEREIRA, M. D. S. V. Análise da atividade antimicrobiana de taninos totais de plantas aromáticas do Nordeste brasileiro. Agropecuária Técnica, 2015; v. 36, n. 1, p. 109-114.

PINHO, L; SOUZA P. N. S.; SOBRINHO, E. M.; ALMEIDA, A. C. DE; MARTINS, E. R. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, peppertree, barbatimão and erva baleeira leaves and from pequi peel meal Ciência Rural, Santa Maria, online 2011. ISSN 0103-8478.

PINILLOS MA, GÓMEZ J, ELIZALDE J. Intoxicacion por alimentos, plantas y setas. Anales del Sistema Sanitário de Navarra. Pamplona, 2003. 26(1): 243-263. ISSN 1137-6627.

PIRAINO, F.; SELIMOVIĆ, Š. A. Current View of Functional Biomaterials for Wound Care, Molecular and Cellular Therapies. BioMed research international, BioMed Research International 2015; Volume (2015), Article ID 403801, 10 pages.

PIRES, A.L.R.; BIERHALZ, A.C. K.; MORAES, Â.M. BIOMATERIALS: TYPES,

APPLICATIONS, AND MARKET. Quím. Nova vol.38 no.7 São Paulo Aug. 2015.

PIRES, J. O., OLIVEIRA, R. F.; CRUZ, N. R. ASSISTÊNCIA DE ENFERMAGEM NO CONTROLE E MANEJO DA ÚLCERA VENOSA. Revista Transformar, 2016; v. 8, n. 8, p. 151-162.

PONEZ, L., SENTANIN, F. C., MAJID, S. R., AROF, A. K., PAWLICKA, A. Ion Conducting Membranes Based on Gelatin and Containing LiI/I2 for Electrochromic Devices, Molecular Crystals and Liquid Crystals, 2012; 554:1, 239-251.

PORTOU, M.J; BAKER, D.; ABRAHAM, D., TSUI, J. The innate immune system, toll-like receptors and dermal wound healing: a review. Vascular pharmacology, 2015, v. 71, p. 31-36.

PRIYA, K. S., GNANAMANI, A., RADHAKRISHNAN, N. 0.; BABU, M. Healing potential of Datura alba on burn wounds in albino rats. Journal of ethnopharmacology, 2002; v. 83, n. 3, p. 193-199.

PROFYRIS, C.; TZIOTZIOS, C.; DO VALE, I. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part I. The molecular basis of scar formation. J Am Acad Dermatol. 2012 Jan; 66(1):1-10; quiz 11-2.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. Journal Agriculture and Food Chemistry, 2000; v. 48, p. 3396-3402.

RABELO, R. E., SILVA, T. D. P., SANTANA, F., OLIVEIRA, S. L., LEÃO, H. F., KANASHIRO, T. C. B.; COSTA, Y. L. Uso do barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas iatrogênicas em cães. Anais Eletron. 2006; XIV Sem. Inic. Cient. UFG.

RAMOS, A., MORILLO, J. M., GAYO, N., TASIGUANO, J. E., MUNZÓN, E.; RIBEIRO, A. S. Curar o paliar:¿ qué cuesta más? Análisis de costes del tratamiento de una herida crónica en función de su finalidad. Medicina Paliativa, 2015; v. 22, n. 2, p. 45-51.

RATTAYA, S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of fish skin gelatina film incorporated with seaweek extract. Journal of Food Engineeting, Essex, v. 95, p. 151-157, 2009.

REBECCA, M. A., ISHII-IWAMOTO, E. L., GRESPAN, R., CUMAN, R. K. N., CAPARROZ-ASSEF, S. M., DE MELLO, J. C. P.; BERSANI-AMADO, C. A. Toxicological studies on Stryphnodendron adstringens. Journal of Ethnopharmacology, 2002; v. 83, n. 1, p. 101-104.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU; D. Handbook of enology: the chemistry of wine, stabilization and treatments. 2006; 2. ed., v. 2. Wiley: England.

RIELLA, K.R., MARINHO, R.R., SANTOS, J.S., PEREIRA-FILHO, R.N., CARDOSO, J.C., ALBUQUERQUE-JUNIOR, R.L.C., THOMAZZI, S.M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from Lippia gracilis, in rodents. J Ethnopharmacol. 2012; 143, 656-663.

RIGO, L. N. Desenvolvimento e caracterização de membranas comestíveis. [Dissertação]. Erechim: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguaia das Missões, 2006.

ROCHA, A.C.A.A.; DE SALES C., F.A.; DE SOUZA, M.S. Tratamento domiciliar de feridas crônicas: relato de experiência da extensão na prática do cuidar. Revista Ciência e Estudos Acadêmicos de Medicina, 2015; v. 1, n. 02.

ROSTALD, B.S.; OVINGTON, L. G. Principles of wound management. In: Bryant RA, NIX DP. eds. Acute and Chronic Wounds: current management concepts. 3th ed. New York: Mosby; 2007. p. 391-426.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 125).

SÁNCHEZ-FIDALGO, S., DA SILVA, M. S., CÁRDENO, A., APARICIO-SOTO, M., SALVADOR, M. J., SAWAYA, A. F.; DE LA LASTRA, C. A. *Abarema cochliacarpos* reduces LPS-induced inflammatory response in murine peritoneal macrophages regulating ROS-MAPK signal pathway. Journal of ethnopharmacology, 2013; v. 149, n. 1, p. 140-147.

SANTANA, C.C., P.I. NÓBREGA NETO; M.J.C. SÁ, L.M. OLIVEIRA, M.V.L. FOOK, A.S., AZEVEDO, O.B. SOUSA. Use of the film of chitosan in the repair of tendons in rabbits. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2014; v. 66, n. 4, p. 995-1002.

SANTI, M.M.; SANCHES, F.S.; SILVA, J.F.M.; SANTOS, P.M.L Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal Cordia verbenácea DC. por HPLC-DAD, Ver Bras PlMed., 2014; v.16, n.2, p. 256-261.

SANTOS E.; QUEIRÓS, P.; CARDOSO, D.; CUNHA, M.; APÓSTOLO J. The efectiveness of cleansing solutions for wound treatment: a systematic review. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Revista de Enfermagem Referência. Série IV - n.° 8 - abr./mai./jun. 2016. p. 133-144

SANTOS, C. G., NASCIMENTO, M. F. D., OLIVEIRA, C. R. D., MELO, G. C. D., CARDOSO, J. C., PADILHA, F. F., ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C. D. Bioassay-guided evaluation of wound healing effect of fatty acids-incorporated collagen-based films. Acta Cirurgica Brasileira, 2013; v. 28, n. 5, p. 346-352.

SANTOS, SC; FERREIRA FS; ROSSI-ALVA, JC; FERNANDEZ, LG; Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2007; 17(2): P. 215-219.

SARKER, B; DEY, K; KHAN, R. A. Effect of Incorporation of Polypropylene on the Physico-Mechanical and Thermo-Mechanical Properties of Gelatin Fiber Based Linear Low Density Polyethylene Bio-foamed Composite. Journal of Thermoplastic Composite Materials. v. 24, n. 5, p. 679-694, 2011.

SATURNINO-OLIVEIRA, J.; SANTOS, D.DO C.; GUIMARÃES, A.G.; DIAS. A.S.; TOMAZ, M.A.; MONTEIRO-MACHADO, M.; ESTEVAM, C.S.; LUCCA JÚNIOR, W. DE.; MARIA, D.A.; MELO, P.A.; ARAÚJO, A. DE S.; SANTOS, M.R.V.; ALMEIDA, J.R.G. DA S.; MENESES, R.DE C.O.; OLIVERIA, A.P.; QUINTANS JÚNIOR, L.J. *Abarema cochliacarpos* extratos diminui o processo inflamatório e esquelético da lesão muscular induzida por Bothropus leucurus Venon. BioMed Research International. 2014: 820.761.

SCARMINIO, I. S. Desenvolvimento de um sistema quimiométrico para microcomputadores e algumas aplicações [Dissertação]. Campinas: Universidade de Campinas; 1989. http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/249342.

SCHIMITZ, W. et al. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 26, n. 2, p. 119-130, jul./dez. 2005

SCHMIDT C.A.; MURILLO, R.; BRUHN, T.; BRINGMANN, G.; GOETTERT, M.; HEINZMANN, B.; BRECHT, V.; LAUFER, S.A.; MERFORT, I. Catechin derivatives from Parapiptadenia rigida with in vitro wound-healing properties. J Nat Prod. 2010 Dec 27;73(12):2035-41. doi: 10.1021/np100523s. Epub 2010; Nov 16.

SCHULTZ, G.S.; SIBBLAD, R. G, Falange, V. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. Wound Repair Regen. 2003;11: S1-S28.

SCHULTZ, G.S; SIBBALD, R.G.; FALANGA, V.; AYELLO, E.A.; DOWSETT, C.; HARDING, K.; ROMANELLI, M.; STACEY, M.C.; TEOT, L.; VANSCHEIDT, W. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. Wound Rep Regen. 2003; 11:1-28.

SEHN, G. A. R.; GONÇALVES, L. A. G.; MING, C. C. Ultrafiltration-based degumming of crude rice bran oil using a polymer membrane. Grasas y Aceites, 2016; v. 67, n. 1, p. e120.

SELA, S.; SHURTZ-SWIRSKI, R.; AWAD, J.; SHAPIRO, G.; NASSER, L.; SHASHA, S.M.; KRISTAL, B. The involvement of peripheral polymorphonuclear leukocytes in the oxidative stress and inflammation among cigarette smokers. Isr Med Assoc J. 2002 Nov;4(11):1015-9.

SEN, CK., GORDILLO, GM., ROY, S., KIRSNER, R., LAMBERT, L., HUNT, TK. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. Wound Repair and Regeneration, 2009; v. 17, n. 6, p. 763-771.

SHARAPIN, N.; ROCHA, L.M; CARVALHO, E.S.; SANTOS, E.V.M.; LUCIO, E.M.R.A.; Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos, Santafé de Bogotá, D.C., Colômbia, 2000.

SHURTZ-SWIRSKI, R.; SELA, S.; HERSKOVITS, A. T.; SHASHA, S. M.; SHAPIRO, G.; NASSER, L.; KRISTAL, B. Involvement of peripheral polymorphonuclear leukocytes in oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2001 Jan;24(1):104-10.

SILVA, A. C. DE O.; FILHO, E. DE S. R.; SOUSA, G. R. DA S.; SILVA, J. F. DOS S.; SILVA, A. L. DA; ARAUJO, C. M. DOS S. The main coverages used by the nurse. Vol.5 3, n.2, pp.117-123. Revista UNINGÁ. 2017.

SILVA, C.E.; PAOLA, M.V.R.V.; MATOS, J.R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2007; 43: 347-356.

SILVA, E. S; STANGERLIN, D. M.; GATTO, D. A. CALEGARI, L.; PARIZ, E. Colorimetria da madeira de oito espécies nativas do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência da Madeira, 2015; v. 6, n. 1, p. 31-37.

SILVA, L. A. F. et al. Uso popular do barbatimão. In: SILVA, L. A. F.; EURIDES, D.; PAULA, J. R.; LIMA, C. R. O.; MOURA, M. I. Manual do Barbatimão. Goiânia: Kelps, 2010. cap. 9, p.79-85.

SILVA, M. S. et al. *Abarema cochliacarpos*: Gastroprotective and ulcer-healing activities. Journal of Ethnopharmacology, v. 132, n. 1, p. 134-142, 2010a.

SILVA, M. S. et al. Anti-inflammatory intestinal activity of *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & Grimes in TNBS colitis model. Journal of Ethnopharmacology, v. 128, n. 2, p. 467-475, 2010b.

SILVA, N.C.B., ESQUIBEL, M.A., ALVES, I.M., VELOZO, E.S., ALMEIDA, M.Z., SANTOS,

J.E.S., CAMPOS-BUZZI F. DE, MEIRA, A.V., CECHINE. Antinociceptive effects of *Abarema cochliacarpos* (BA Gomes) Barneby & JW Grimes (Mimosaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, 2009; v. 19, n. 1A, p. 46-50.

SILVA, R. A. O., SANTOS, M. R. D. M. C., SANTOS FILHO, F. C., CUNHA, M. C., DE OLIVEIRA, G. A. L., SILVA, M. D. G. O., MARQUES, L. G. A Prospecção Tecnológica de Fitoterápico (Euphorbia Tirucalli L.) Utilizado no Tratamento de Neoplasias e outras Doenças. Cadernos de Prospecção, 2014; v. 6, n. 4, p. 490.

SILVA, S. S.; LUNA, S. M.; GOMES, M. E.; BENESCH, J.; PASHKULEVA, I.; MANO, J. F.; REIS, R. L. Plasma Surface Modification of Chitosan Membranes: Characterization and Preliminary Cell Response Studies. Macromolecular Bioscience 2008; Volume 8, Issue 6 June 11, Pages 568–576.

SILVA-SANTOS L. F.; STOLFO, A.; CALLONI, C.; SALVADOR, M. Catechin and epicatechin reduce mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by amiodarone in human lung fibroblasts. J Arrhythm. 2017 Jun;33(3):220-225. doi: 10.1016/j.joa.2016.09.004. Epub 2016 Oct 22.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. Spectrometric Identification of Organic Compunds. 7. Ed. Ney York: John Wiley & Sons, 1994.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 460pp, 2000

SINGH, K.; AGRAWAL, NJK.; GUPTA SK.; MOHAN G.; CHATURVEDI S. Increased expression of endosomal members of toll-like receptor family abrogates wound healing in patients with type 2 diabetes mellitus. Internacional Wound Journal. 2016 Oct;13(5):927-35.

SINGH, S., YOUNG, A., MCNAUGHT, CLARE-ELLEN. The physiology of wound healing. Surgery (Oxford). 2017; Volume 35, Issue 9, september, p. 473-477.

SINITOX. Sítio do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. 2013.

SKOTTI, E.; ANASTASAKI, E.; KANELLOU, G.; POLISSIOU, M.; TARANTILIS, P. A. Total phenolic content, antioxidant activity of aqueous extract from selected Greek medicinal and aromatic plants. Indust Crops Prod., 2014; v. 53, p. 46-54.

SKRZYDLEWSKA, E.; OSTROWSKA J.; FARBISZEWSKI, R.; MICHALAK, K. Protective effect of gree tea agasinst lipid peroxidation in the rat liver, blood sérum and the brain. Phytomedicine, Jena. 2002; v.9, n.3, p. 232-238.

SLETTENGREN, K.; OLIVIAKNUCHEL, P.; WINDHAB, E. J. Mixing quality of powder-liquid mixtures studied by near infrared spectroscopy and colorimetry. Powder Technology. v, July 2015, Pages 130-137

SMANIOTTO, P. H. S.; GALLI, R.; CARVALHO, V. F.; FERREIRA M. C. Tratamento clínico das feridas – curativos. Rev Med (São Paulo). 2010 jul.-dez.;89(3/4):137-41

SMANIOTTO, P.H.S.; FERREIRA, M. C.; GALLI; ISAAC, C; GALLI, R. Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. Rev Bras Cir Plást. 2012; 27(4):623-6.

SOARES, S.P.; VINHOLISA, L.A.C.; SILVA, M.L.A. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de Stryphnodendron adstringens sobre microorganismos da cárie dental. Rev. odonto ciênc.v. 23, n. 2, p. 141-144, 2008.

SOBRAL, P. J.A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. Food Hydrocolloids, Londres, 2001; v. 15, n.4-6, p. 423-432.

SOBRAL, P.J.A. Influência da espessura sobre certas propriedades de biofilmes à base de proteínas miofibrilares. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2000; v.35, n.6, p.1251-1259.

SONAGLIO D. Desenvolvimento Tecnológico e Produção de Fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.) Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. 6 ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

SOOD, A.; GRANICK, M.S.; TOMASELLI, N.L. Wound dressings and comparative effectiveness data. Advances in wound care, 2014; v. 3, n. 8, p. 511-529.

SOUZA, C. A. S.; ALMEIDA, L. N.; CRUZ, E. S.; SILVA, C. M. L.; NASCIMENTO JÚNIOR, J. A. C.; AMARAL, F. S.; SERAFINI, M. R. Controle de qualidade físico-químico e caracterização fitoquímica das principais plantas medicinais comercializadas na feira-livre de Lagarto-SE. Scientia Plena 13, 094501 (2017).

SOUZA, D.; PORTO, L.; TESTA P.A. Vacuum dried membranes of poly (l-lactic acid) and bacterial cellulose for biomedical applications. BMC Proceedings, 2014; v. 8, p. P50.

SOUZA, I. C. L., DO NASCIMENTO, M. F., DE SOUZA NETA, R. G., DOS SANTOS, J. E. C., COSTA, L. P., CARDOSO, J. C., DE ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L. C. Effect of the maltodextrin-induced chemical reticulation on the physical properties and healing potential of collagen-based membranes containing Brazilian red propolis extract. International Journal of Medicine and Medical Sciences, 2013; v. 5, n. 12, p. 514-524.

SOUZA, I.C.L.; NASCIMENTO, M.F. DO, NETA, R.G. DE S.; SANTOS, J. C.DOS, COSTA, L.P.; CARDOSO, J.C.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R.L. C. DE Effect of the maltodextrin-induced chemical reticulation on the physical properties and healing potential of collagen-based membranes containing Brazilian red propolis extract. International Journal of Medicine and Medical Sciences. Vol. 5(12), pp. 514-524, December 2013.

SOUZA, M.P.; MATOS, M. E.O.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras. 2ª ed. Fortaleza: UFC. 2004. 445p.

SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y. A.; SANTOS, E.; PIETRO, R. C. L. R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 2009; v. 28, n. 2, p. 221-226.

SPARG, S.G.; LIGHAT, M.E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. Journal of Ethnopharmacology, v. 94, n. 2-3, p. 219-243, 2004

SRIAMORNSAK, P.; THIRAWONG, N.; YOSSANUM, W.; NUNTHANIND, J. SUNGTHONGJEEN, S. Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior. Europen Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 67, p. 211-219, 2007.

STYNES, G. D., KIROFF, G. K., MORRISON, W. A., EDWARDS, G. A., PAGE, R. S., & KIRKLAND, M. A. Rigid removable cover for dorsal wound protection and tube fixation in pigs. Australian veterinary journal, 2016; v. 94, n. 4, p. 111-116.

SU, W.H, CHENG, M.H, LEE, W.L, TSOU, T.S, CHANG, W.H, CHEN, C.S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for wounds: pain relief or excessive scar formation Mediat Inflamm 2010:413238.

SUN, X., JIANG, K., CHEN, J., WU, L., LU, H., WANG, A., WANG, J. Uma revisão sistemática da terapia de desbridamento larva de feridas e úlceras infectadas cronicamente. Jornal internacional de doenças infecciosas, 2014; v. 25, p. 32-37.

SWENTY, C. Diagnostic Considerations in Wound Assessment: A TIME to Heal. The Journal for Nurse Practitioners, 2017

TANIGAWA, T.; KANAZAWA, S.; ICHIBORI, R.; FUJIWARA, T.; MAGOME, T.; SHINGAKI, K.; MIYATA, S.; HATA, Y.; TOMITA, K.; MATSUDA, K.; KUBO, T.; TOHYAMA, M.; YANO, K.; HOSOKAWA, K. (+)-Catechin protects dermal fibroblasts against oxidative stress-induced apoptosis. BMC Complement Altern Med. 2014 Apr 8;14:133. doi: 10.1186/1472-6882-14-133.

TAZIMA, M.F.G. S.; VICENTE, Y. A. M.V. A.; MORIYA, T. BIOLOGIA DA FERIDA E CICATRIZAÇÃO. Medicina (Ribeirão Preto) 2008; 41 (3): 259-64

TEIXEIRA, M. L.; SOARES, A. R.; SCOLFORO, J. R. S. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão [Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville] em 10 locais de Minas Gerais. Ciência Prática, v. 14, n. 2, p. 229-232, 1990. Nutrition Research, 2012; v. 32, Issue 11, November, Pages 801-816.

TENÓRIO, R. F. L., NASCIMENTO, M. S. D., MAIA, M. B. D. S., COELHO, M. C. D. O. C. IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE EXTRACT OF *Abarema cochliacarpos* (Gomes) Barneby & Jw Grimes Against Bacteria Isolated From Skin Wounds In Dogs. Ciência Animal Brasileira, 2016; v. 17, n. 2, p. 252-259.

TEO, T. C.; NAYLOR, I. L. Modifications to the rate of wound contraction by allopurinol. British journal of plastic surgery, 1995; v. 48, n. 4, p. 198-202.

TERRA JUNIOR, O. N.; MALDONADO, J.V.; ARNÓBIO, A. Estudo do Desempenho Comercial dos Insumos Farmacêuticos Vegetais sob a Ótica do Comércio Exterior. Inovação (Gestão e CTI em Saúde). Capa > v. 9, n. 3 (2015).

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R.A.; PAULO J.A. S. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. Journal of Food Science. Volume 70, Issue 3. 2005, Pages E172–E176.

TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Sciencia, v.1, n.1, p.98-106, 2011.

TRAVI-CARNEIRO, M.C.; CARNEIRO-TRAVI, M.I.; BOCK, P.M. FATORES DE CRESCIMENTO NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS DIABÉTICAS. Rev. Bras. Ciên. Saúde/Revista de Atenção à Saúde, 2014; v. 11, n. 38, p. 64-73.

URIARTE-MONTOYA, M.H.; ARIAS-MOSCOSO, J. L.; PLASCENCIA-JATOMEA, M.; SANTACRUZ-ORTEGA, H.; ROUZAUD-SÁNDEZ, O.; CARDENAS-LOPEZ J. L.; MARQUEZ-RIOS, E.; EZQUERRA-BRAUER J. M. Jumbo squid (Dosidicus gigas) mantle collagen: Extraction, characterization, and potential application in the preparation of chitosan–collagen biofilms. Elsevier Bioresource Technology 101 (2010); 4212–4219.

VAISHYA R.; AGARWAL, A. K.; TIWARI, M.; VAISH, A.; VIJAY V.; NIGAM, Y. Medical textiles in orthopedics: An overview. Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma. 2017

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; FRANCO, T. R. Use of autologous platelet-rich plasma in skin grafts surgeries in chronic wounds. Rev. Bras. Cir. Plást. 2010; 25(4): 589-94

VERHAEGEN, P. D.; VAN, Z. P. P.; PENNINGS, N. M.; VAN MARLE, J.; NIESSEN, F.B.; VAN DER HORST, C. M.; MIDDELKOOP, E. Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: An objective histopathological analysis. Wound Repair Regen. 2009 Sep-Oct; 17(5):649-56.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (Rubus sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. Rev. Bras. Frutic. vol.33 no.4 Jaboticabal Dec. 2011.

VOWDEN, K.; VOWDEN P. Wound dressings: principles and practice. Surgery (Oxford) Volume 35, Issue 9, September 2017, Pages 489-494

WALLES, T.; HERDEN, T.; HAVERICH, A. E MERTSCHING, H. Influence of scaffold thickness and scaffold composition on bioartificial graft survival. Biomaterials, v. 24 p. 1233-1239, 2003.

WANG P-H; HUANG, B-S; HORNG, H-C; YEH, C-C; CHEN, Y-J. Wound healing, Journal of the Chinese Medical Association. 2017.

WANG, P-H; HUANG, B-S; HORNG, H-C; YEH, C-C; CHEN, Y-J. Wound healing Journal of the Chinese Medical Association 81 (2018) 94 e101

WANG, T; JÓNSDÓTTIR, R; ÓLAFSDÓTTIR G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. Food Chem 2009; 116: 240-248.

WHITE MN, JOHNSON AC, EGER KL. Anesthesy in experimental surgery. Exp Surg. 1974; 1: 250-60.

XIE, P., JIA, S., TYE, R., CHAVEZ-MUNOZ, C., VRACAR-GRABAR, M., HONG, S. J.; MUSTOE, T. A. Systemic administration of hemoglobin improves ischemic wound healing. journal of surgical research, 2015; v. 194, n. 2, p. 696-705.

XU, F.; YU, J.; TESSO, T.; DOWEL, F.; WANG, D. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review. Applied Energy, 2013; 104, p.801 – 809.

XUE, M.; JACKSON, C.J. Extracelular reorganização da matriz durante a cicatrização de feridas e seu impacto sobre a cicatrização anormal. Os avanços no tratamento de feridas, 2015; v. 4, n. 3, p. 119-136.

YAJIMA, E. M; ZANIN, G. M.; CAVALCANTI O. A. Caracterização Térmica de Filmes Isolados de Gelatina-Quitosona Modificados com Genipina. Lat. Am. J. Pharm. 2010; v. 29, n. 3, p. 436-442.

YAKIMETS, I. Mechanical properties with repect to water contente of gelatin films in glass state. Polymer, London, v. 46, n. 26, p. 12577-12585, 2005

YOUNG, A., MCNAUGHT, C. E. The physiology of wound healing. Sugery. 2011; v. 29, n. 10, p. 475-479.

# ANEXOS

## 1. Exsicata de *Stryphnodendron adstringens*

## Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM N°: 28197)

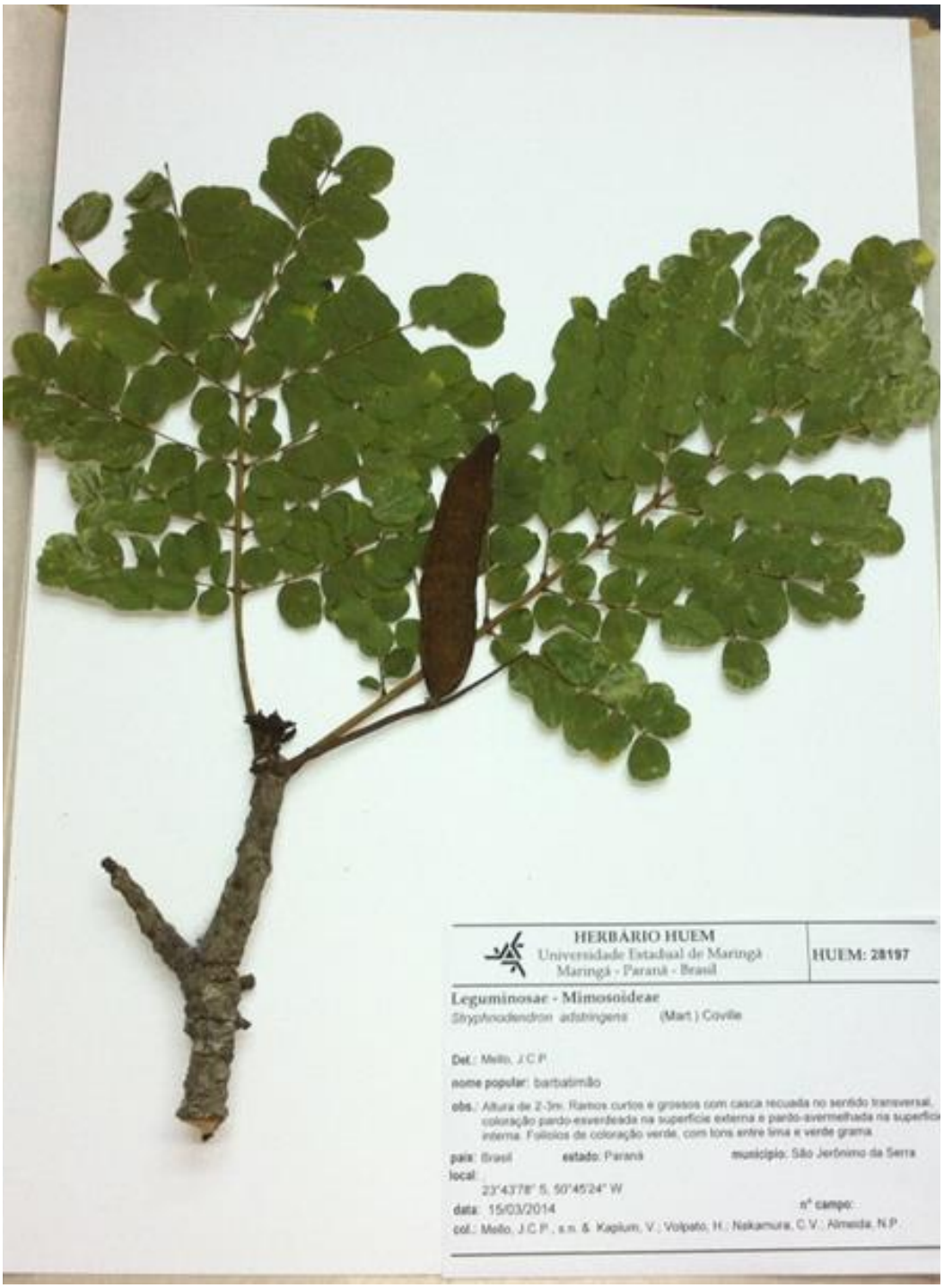



Figura 32: Exsicata de *Stryphnodendron adstringens*.

## 2. Exsicata de *Abarema cochliacarpos*

## Herbário da Universidade Tiradentes (HUT Nº: 815)

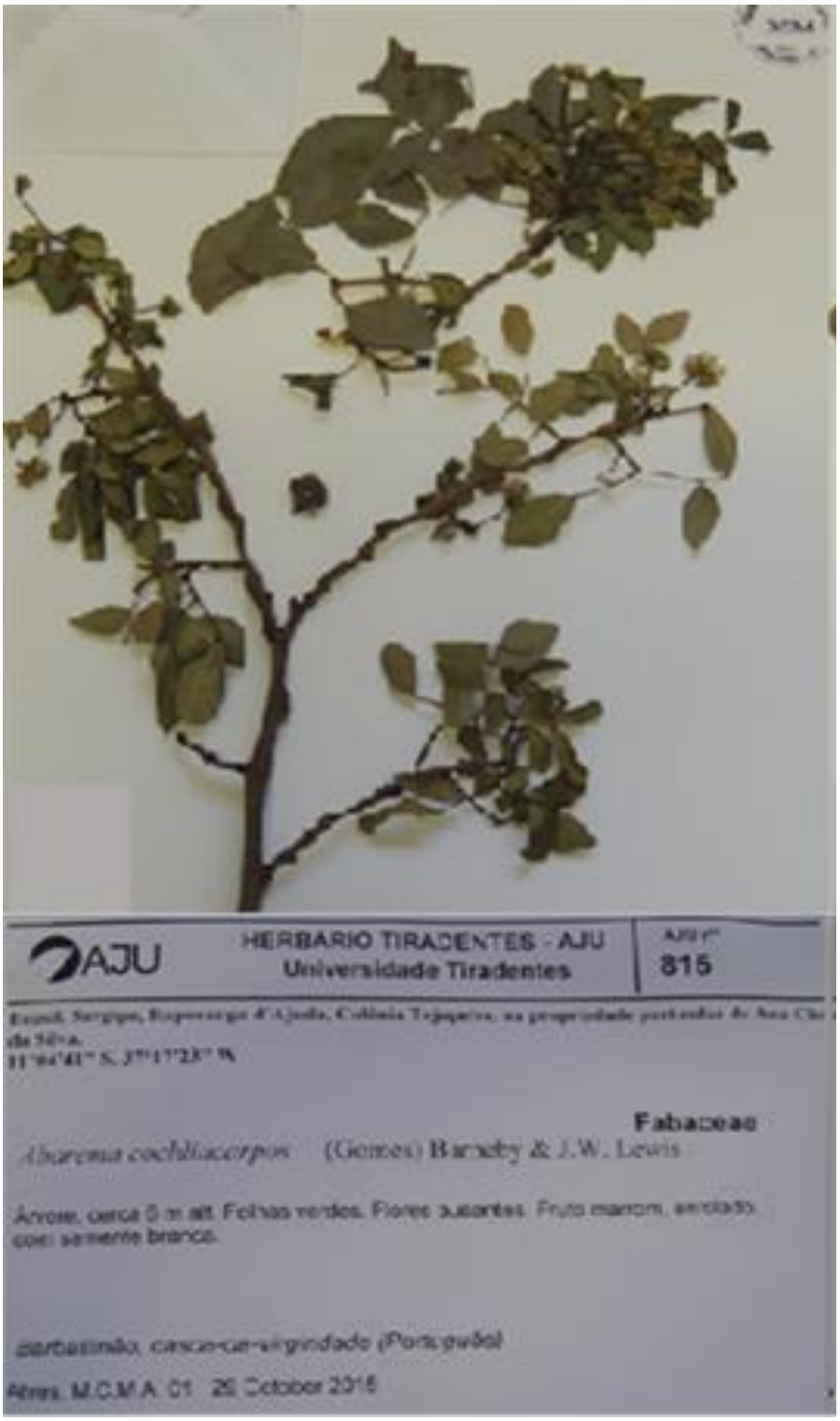



Figura 33: Exsicatas de *Abarema cochliacarpos*

.

## 3. Declaração da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

UNIVERSIDADE TIRADENTES
DIRETORIA DE PESQUISA E EXTENSÃO
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

**DECISÃO DA CEUA-UNIT**

O projeto de pesquisa, **"Avaliação do Potencial de membranas bioativas contendo extrato hidroalcoólico de Stryphnodendron adstrigens (barbatimão) e de Schinus terebinthifolius (aroeira)."**, processo nº **031114**, foi submetido à avaliação na CEUA-UNIT, pela pesquisadora **Isabel Bezerra Lima Verde**, onde recebeu o parecer de **Aprovado**, dos membros dessa comissão, na reunião realizada no dia 11 de dezembro de 2014.

Coordenador(a) da CEUA-UNIT

UNIVERSIDADE TIRADENTES - UNIT

UNIVERSIDADE TIRADENTES
AV. MURILO DANTAS Nº 300 B.FAROLÂNDIA
CEP: 49.032-490 | ARACAJU - SE - BRASIL

TELEFONE: (79)3218 2112
FAX: (79) 3218 21 00

Figura 34: Declaração da Comissão de Ética no uso de animais.