



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

ALBENISE SANTANA ALVES BARROS

**ESTUDO DAS ATIVIDADES CICATRIZANTES NÃO CLÍNICA DO EXTRATO E
DO GEL DE *PORTULACA PILOSA* L. EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS
WISTAR**

**Macapá
2017**

ALBENISE SANTANA ALVES BARROS

**ESTUDO DAS ATIVIDADES CICATRIZANTES NÃO CLÍNICA DO EXTRATO E
DO GEL DE *PORTULACA PILOSA* L. EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS
WISTAR**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração: Biologia Farmacêutica.

Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho

**Macapá
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

615.321

B277e Barros, Albenise Santana Alves.

Estudo das atividades cicatrizantes não clínica do extrato e do gel de *Portulaca pilosa* L. **em feridas cutâneas de ratos Wistar** / Albenise Santana Alves Barros; orientador, José Carlos Tavares Carvalho. – Macapá, 2017.
69 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

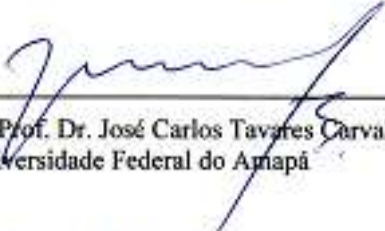
1. Plantas medicinais. 2. Cicatrização. 3. Fitoterápicos - Farmacologia. I. Carvalho, José Carlos Tavares, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

ALBENISE SANTANA ALVES BARROS

**ESTUDO DAS ATIVIDADES CICATRIZANTES NÃO CLÍNICA DO EXTRATO E
DO GEL DE *PORTULACA PILOSA* L. EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS
WISTAR**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração: Biologia Farmacêutica.

Data de Aprovação: 24 / 02 / 2017


Orientador: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho
Universidade Federal do Amapá


Prof. Dr. Caio Pinho Fernandes
Universidade Federal do Amapá


Dr. José Divino Bezerra Ferreira
Universidade Federal do Amapá

*Dedico esta obra ao meu filho André Santana, aos
meus pais Belmiro e Alcinda Alves.*

AGRADECIMENTOS,

A Deus

Ao meu amado esposo Adriano Veríssimo, tentei fazer o possível para que não sentisse minha ausência, obrigada pelo carinho, respeito, compressão e amor.

Ao meu querido orientador José Carlos Tavares,

Aos meus amigos do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Amapá:

Francineide Pena, D. Lourdes, Tereza Catarina, Elizamar, Patrícia, Augusto Oliveira,

Maurício Correa, Cléia Lamarão, Belmira Souza, Sônia Oliveira, Josué Sampaio, Maria

Aparecida, Terezinha de Jesus, Jean Rafael e à Mônica Luna em especial que com sua equipe

Anadir e Dhiego que elaborou com carinho os produtos usados neste estudo, todos do Núcleo de Plantas Medicinais e Produtos Naturais e ao Patrick Cantuária do Núcleo de

Biodiversidade que providenciou a coleta da minha planta para registro no Herbário e ao diretor-presidente Wagner Pinheiro.

Aos meus amigos da Unidade Básica de Saúde Congós, todos as técnicas de enfermagem e as foram diretoras neste período, Adriana Reis, Ana Lúcia e Maria Consolata em especial a minha amiga, afilhada e minha parceira companheira de sala Débora Montoril.

Aos meus novos amigos, colegas de turma de mestrados 2015: Antônio, Brenda, Daniele, Danilo, Gabryelle, Hina, Ivagner, Jaderson, Mário Omar, Patrício, Rangel, Rosany e Uriel e os demais alunos do programa de pós-graduação Talita, Dayse Cunha, Raphaelle, Ialle.

A todos do Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Unifap: Bia, Gisele, Jonatas, Igor, Antony, Jessinha, Adriana Bem, Dani, Clarice, Táfnis, Breno IC, Heitor, Nayara, Mariana, Adriana IC, Hady, Jimmy, Ariadna e em especial ao Hélison de Oliveira, que me ajudou a transgredir barreiras ao manipular os animais, e a Belmira que torceu positivamente para eu fazer parte dessa família, amiga de longas datas, da DAT/Iepa e do Comitê de Ética do Iepa.

A minha família que reclamam minha ausência e meu estresse meus irmãos Almiro, Amarildo, Aluísio, Alessandra e Aldilângela, aos meus sobrinhos Marryellem, Laura, Alejandro, João, Amanda, Elói, Enzo, Sara e Alicia, meus pais e meu filho André

A minha sogra Raimunda Barros, que leu e corrigiu o meu pré-projeto, amante das plantas medicinais, alimentícias e ornamentais.

À Coordenação do curso, Edson e Professor Fábio pelo excelente trabalho.

Aos que foram IC do Laboratório de Pesquisas em Fármacos Joe Marry e Letícia Cunha.

RESUMO

Portulaca pilosa L. pertencente à família Portulacaceae, é uma planta herbácea comum nas Américas e, na Amazônia é conhecida popularmente como amor-crescido. É usada tradicionalmente no tratamento de queimaduras, brotoejas, picadas de insetos e na cicatrização de feridas. Este estudo teve como objetivo avaliar as atividades cicatrizantes tópica não clínica do gel de *P. pilosa* à 10% (GPP) e do extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (EPP) em ratos Wistar. Na análise do EPP por cromatografia líquida de alta eficiência, foi possível detectar a presença de ácido gálico na concentração de 2.135 ± 0.081 mg/mL. Para a atividade cicatrizante foram empregados ratos Wistar divididos nos seguintes grupos: controle negativo (gel-veículo – GVE, 150 mg/kg), controle positivo (fibrinase® - FIB, 100 U/kg), gel de *Portulaca pilosa* 10% (GPP, 150 mg/kg) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (EPP, 150 mg/kg), que foram submetidos ao procedimento cirúrgico para a produção da ferida e, durante 7 dias consecutivos foram tratados uma vez ao dia por via tópica, período em que foram avaliados macroscopicamente. O EPP modulou de maneira significativa a resposta inflamatória tecidual, apresentando baixo número de células inflamatórias no estudo histopatológico. O tratamento com o EPP e com o GPP estimulou de maneira significativa a angiogênese e esta resposta foi superior ao grupo fibrinase®. O tratamento com o EPP e com o GPP estimulou de maneira significativa a proliferação de fibroblastos. Os grupos tratados com EPP e GPP apresentaram padrão de organização da epiderme e derme melhor que o grupo controle, com processo inflamatório leve, com proliferação de fibroblasto e aumento da formação de fibras colágenas. Assim sendo, a partir dos resultados obtidos pode-se sugerir que o marcador fitoquímico da espécie *P. pilosa* para a atividade cicatrizante é o ácido gálico e, aliado aos achados macroscópicos e microscópicos desencadeados pelas aplicações tópicas do EPP e GPP, pode-se concluir que esta espécie vegetal apresenta atividade cicatrizante tópica, com grande potencial de uso, já que nesta ação farmacológica está associada uma possível atividade anti-inflamatória tópica.

Palavras chaves: *Portulaca pilosa* L.. Cicatrização. Fitoterápico. Inflamação. Histopatologia.

ABSTRACT

Portulaca pilosa L. belongs to the family Portulacaceae, is a common herbaceous plant in Americas and in Amazon is popularly known as love-grown. It is used traditionally in the treatment of burns, buds, insect bites and wound healing. This study aims to evaluate the non-clinical topical healing activities of *P. pilosa* 10% gel (GPP) and *P. pilosa* propylene glycol extract (PPE) in Wistar rats. In analysis of the EPP by high performance liquid chromatography showed the presence of gallic acid at a concentration of $2,135 \pm 0,081$ mg/mL. For the healing activity, Wistar rats were divided into the following groups: negative control (GVE - vehicle, 150 mg/kg), positive control (Fibrinase[®]- FIB, 100 U/kg), *Portulaca pilosa* gel 10%, (GPP, 150 mg/kg), and propylenglycolic extract of *Portulaca pilosa* (EPP, 150 mg/kg), which were submitted to the surgical procedure for wound production and were treated for 7 consecutive days, one time a day by topical route, during which they were evaluated macroscopically. EPP significantly modulated the tissue inflammatory response, presenting low number of inflammatory cells in the histopathological study. Treatment with EPP and GPP significantly stimulated angiogenesis and this response was superior to the fibrinase[®] group. Treatment with EPP and GPP significantly stimulated the proliferation of fibroblasts. The groups treated with EPP and GPP presented an organization pattern of the epidermis and dermis better than the control group, with a mild inflammatory process, with fibroblasts proliferation and increased formation of collagen fibers. Thus, from the obtained results, it can be suggested that the phytochemical marker of the *P. pilosa* species for cicatrizant activity is gallic acid and, together with the macroscopic and microscopic findings triggered by the topical applications of EPP and GPP, it can be concluded that this plant species has topical healing activity, with great potential for use, since this pharmacological action is associated with a possible topical anti-inflammatory activity.

Key words: *Portulaca pilosa* L.. Healing. Phytotherapic. Inflammation. Histopathology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Partes aéreas da <i>P. pilosa</i> L.....	28
Figura 2 - Exsicata de <i>P.pilosa</i>	30
Figura 3 - <i>Portulaca pilosa</i> L. 39. Hábito; 40-41. Folhas; 42. Pixídio.....	30
Figura 4 - Cromatograma obtido por análise em HPLC da substância padrão, ácido gálico, com pico de retenção em 5,958 minutos. Fase móvel A: Água acidificada com 0.05% ácido acético e fase B: acetonitrila em sistema isocrático (70% de Fase A, 30% Fase B). Vazão 1,0 mL/min.....	39
Figura 5 - Perfil cromatográfico por análise em HPLC do EPP (extrato propilenoglicólico de <i>Portulaca pilosa</i>), com pico de retenção em 6,172 minutos equivalente ao ácido gálico. Fase móvel A: Água acidificada com 0.05% ácido acético e fase B: acetonitrila em sistema isocrático (70% de Fase A, 30% Fase B). Vazão 1,0 mL/min.....	40
Figura 6 - Aspectos macroscópicos das feridas tratadas com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP), no 1º. dia e 7º. dia de tratamento.....	41
Figura 7 - Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre a contração das feridas cutâneas em ratos Wistar. As barras representam a média $\pm$ desvio padrão (n = 5/grupo) das percentagens da contração da ferida. Onde * (p < 0.05) representa o resultado estatisticamente significativo. (a) comparado ao grupo GVE, (b) comparado ao grupo FIB. ANOVA one-way seguida pelo teste de Tukey.....	42
Figura 8 - Fotomicrografias de microscopia óptica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE). EP: epiderme, D: derme, N: neovasos, CI: células inflamatórias, F: fibroblastos e FC: fibras colágenas. HE.10X e MEV 500X.....	44
Figura 9 - Fotomicrografias de microscopia óptica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com Fibrinase® 100 U/kg (FIB). EP: epiderme, D: derme, N: neovasos, CI: células inflamatórias, F: fibroblastos e FC: fibras colágenas. HE.10X e MEV 500X.....	45

Figura 10 - Fotomicrografias de microscopia óptica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP). EP: epiderme, D: derme, CP: células epiteliais, N: neovasos, CI: células inflamatórias e F: fibroblastos. HE.10X e MEV 500X	45
Figura 11 - Fotomicrografias de microscopia óptica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP). EP: epiderme, D: derme, N: neovasos, F: fibroblastos e FB: fibras colágenas. HE.10X e MEV 500X.....	46
Figura 12 - Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre as células inflamatórias de feridas cutâneas em ratos Wistar. As barras representam a média $\pm$ desvio padrão do número de células inflamatórias (células/campo) dos grupos tratados. Sendo que $p < 0.001$ representa resultado estatisticamente significativo, onde: (a) comparado ao grupo GVE, (c) comparado ao grupo GPP e (d) comparado ao grupo EPP. ANOVA one-way seguido pelo teste de Tukey.....	47
Figura 13 - Fotomicrografia da derme apresentando as células inflamatórias após 7 dias de tratamento, Gel-veículo (150 mg/kg – GVE - A), Fibrinase® 100 U/kg (FIBF - B), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP - C) e extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP - D). Coloração H.E (100x). Setas pretas indicando células inflamatórias.....	48
Figura 14. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre a angiogênese de feridas cutâneas em ratos Wistar. As barras representam a média $\pm$ desvio padrão do número de vasos/campo. $p < 0.001$ representa resultados estatisticamente significantes onde: (a) comparado ao grupo Gel-veículo, (b) comparado ao grupo Fibrinase e (d) comparado ao grupo extrato propilenoglicólico. ANOVA one-way seguido do teste de Tukey.....	50
Figura 15. Fotomicrografia da derme apresentando a angiogênese após 7 dias de tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg – GVE - A), Fibrinase® 100 U/kg (FIB - B), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP - C) e extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP - D). Coloração H.E (100x). Setas pretas indicando formação de neovasos.	51

Figura 16. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre os fibroblastos de feridas cutâneas em ratos Wistar. As barras representam a média $\pm$ desvio padrão do número de fibroblastos/campo. $p < 0.001$ e $*p < 0.05$ representa resultados estatisticamente significantes onde: (a) comparado ao grupo Gel-veículo. ANOVA one-way seguido do teste de Tukey..... 52

Figura 17. Fotomicrografia da derme apresentando a proliferação fibroblástica após 7 dias de tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg – GVE - A), Fibrinase® 100 U/kg (FIB - B), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP - C) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP - D). Coloração H.E (100x). Setas pretas indicando fibroblastos..... 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e Extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre a contração das feridas cutâneas em ratos Wistar.	42
Tabela 2 - Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e Extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre as células inflamatórias de feridas cutâneas em ratos Wistar	47
Tabela 3 - Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e Extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre a angiogênese de feridas cutâneas em ratos Wistar.....	49
Tabela 4 - Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - GPP) e Extrato propilenoglicólico de <i>P. pilosa</i> (150 mg/kg - EPP) sobre fibroblastos de feridas cutâneas em ratos Wistar..	52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO	17
3.1.1 Fases do processo de cicatrização	17
3.1.2 Tipos de cicatrização	20
3.1.3 Pesquisas com cicatrização em ratos.....	20
3.2 PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE CICATRIZANTE	23
3.3 O GÊNERO PORTULACA	27
3.4 A ESPÉCIE <i>Portulaca pilosa</i> L	28
3.4.1 Aspectos Químicos e Farmacológicos	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO E CONSIDERAÇÃO ÉTICA	32
4.2 MATERIAL BOTÂNICO	32
4.3 PREPARO DO EXTRATO PROPILENOGLICÓLICO DE <i>P.pilosa</i> (EPP) ...	32
4.4 PREPARO DO GEL DE <i>P.pilosa</i> À 10% (GPP)	33
4.5 ANÁLISE DO EPP POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	33
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE TÓPICA	33
4.6.1 Animais e tratamentos	34
4.6.2 Procedimento cirúrgico para realização das feridas cutâneas.....	34
4.6.3 Procedimento de mensuração e registro fotográfico das feridas	35
4.6.4 Avaliação macroscópica da contração da ferida	35
4.6.5 Procedimento para biópsia e eutanásia	36
4.6.6 Procedimento e análise histopatológica	36
4.6.7 Análises estatística	38

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55
ANEXO 1 – Certificado do Comitê de ética no uso de animais	64
ANEXO 2 – Artigo no BCM Complementary and alternative medicine ...	65

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos, as plantas sempre estiveram ligadas à história da civilização humana, servindo como alimento e remédio para as suas enfermidades (Boletim Planfavi, 2014). No Brasil, há registros de que os primeiros médicos portugueses que vieram para cá, diante da escassez na colônia de remédios empregados na Europa, muito cedo foram obrigados a perceber a importância dos remédios de origem vegetal utilizados pelos povos indígenas (BRASIL, 2012). Neste contexto, as plantas medicinais eram usadas para estancar hemorragias e cicatrizar feridas (LIMA, 2009). As plantas têm imenso potencial no manejo e tratamento de feridas, sendo um grande número delas utilizado tradicionalmente em muitos países para o tratamento de feridas e queimaduras (THAKUR et al, 2011).

O conhecimento etnobotânico e etnofarmacológico da população brasileira são vantagens importantes no processo de desenvolvimento de programas e projetos de pesquisa de plantas medicinais, que devem ser fortalecidos com maior apoio à pesquisa e conhecimento para viabilizar uma indústria forte e adequada de produtos naturais, que não esteja em detrimento dos recursos utilizados, como agente de desenvolvimento econômico e social, que alcance um equilíbrio com o ambiente (SILVA et al, 2001).

Em levantamento etnofarmacológico de Alves et al. (2006), no Estado do Amapá que identificou as dez plantas medicinais mais utilizadas por quarenta e um curandeiros tradicionais, dentre estes, parteiras, raizeiros, mateiros, benzedeiras e agricultores, observou-se a relevante frequência de uso da *P. pilosa* em diferentes localidades. Houve vinte indicações para feridas, quinze para inflamações gerais e vinte indicações para seis outras patologias, ou seja, quase 50% dos curadores tradicionais utilizavam a *P. pilosa* para cicatrização de feridas. O que motivou a realização deste trabalho foi o interesse em investigar as atividades cicatrizantes do extrato e do gel da espécie *Portulaca pilosa* L.

Outrossim, a *P. pilosa* é uma espécie cultivável, o que pode possibilitar a produção de fitoterápico sem prejuízo ao ecossistema natural. Uma planta de uso tradicional no Norte do país, está contida na Renisus - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde – SUS (BRASIL, 2009), bem como é utilizada em fitocosmético, nas preparações de xampu e condicionador indicado para queda de cabelo, e fitoterápico na forma de gel, indicado como auxiliar no tratamento de queimaduras, brotoejas, picadas de insetos e como cicatrizante. No entanto, na pesquisa bibliográfica realizada não foram encontrados estudos científicos para tais fins terapêuticos.

Assim, é de extrema importância que se faça pesquisas para confirmar os verdadeiros efeitos das plantas no organismo, uma vez que, podem existir efeitos indesejáveis. Também é importante incentivar estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos para aumentar o conjunto de informações sobre plantas medicinais, e ainda incentivar o uso sustentável dessa biodiversidade (FIRMO et al., 2011).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estudar as atividades cicatrizantes tópica do extrato propilenoglicólico e do gel de *P. pilosa* em feridas cutâneas de ratos, bem como, avaliar fitoquimicamente o extrato propilenoglicólico.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Estudar as atividades cicatrizantes tópica não clínica do gel e do extrato propilenoglicólico de *Portulaca pilosa* L. em feridas cutâneas abertas em ratos Wistar.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a ação cicatrizante do gel de *Portulaca pilosa* L. em ratos Wistar;
- Avaliar a ação cicatrizante do extrato propilenoglicólico de *Portulaca pilosa* L. em ratos Wistar;
- Avaliar fitoquimicamente o extrato propilenoglicólico de *Portulaca pilosa* L.;
- Realizar o estudo macroscópico das feridas tratadas, com o gel e extrato propilenoglicólico de *Portulaca pilosa* L.;
- Realizar o estudo histopatológico dos tecidos das feridas tratadas com o gel e extrato propilenoglicólico de *Portulaca pilosa* L.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

3.1.1 Fases do processo de cicatrização

O processo cicatricial compreende uma sequência de eventos moleculares e celulares que interagem para que ocorra a restauração do tecido lesado. Desde o extravasamento de plasma, com a coagulação e agregação plaquetária até a reepitelização e remodelagem do tecido lesado o organismo age tentando restaurar a funcionalidade tecidual (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009). Este processo pode ser dividido didaticamente em três fases sobrepostas: inflamatória, proliferativa e de remodelação (ISAAC et al 2010, LAUREANO; RODRIGUES, 2011).

3.1.1.1 Fase inflamatória

A primeira fase do processo de cicatrização inclui uma etapa precoce caracterizada por fenômenos vasculares, hemostase e coagulação e outra por mecanismos predominantemente celulares (LAUREANO; RODRIGUES, 2011, OLIVEIRA; DIAS, 2012, SAINI et al., 2016). Nos fenômenos vasculares a agregação plaquetária e a coagulação sanguínea geram um tampão, rico em fibrina, que além de restabelecer a hemostasia e formar uma barreira contra a invasão de microrganismos, organiza uma matriz provisória necessária para a migração celular (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009). Inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos estão presentes nos mecanismos celulares (MANDELBAUM, 2003).

Com a lesão tecidual, há liberação local de substâncias com propriedades vasoativas (histamina, serotonina e bradicinina) que causam vasodilatação e aumento de fluxo sanguíneo no local e, conseqüentemente, sinais inflamatórios como calor e rubor. A permeabilidade capilar aumenta causando extravasamento de líquidos para o espaço extracelular, e conseqüente edema (TAZIMA et al, 2008). Com extravasamento de sangue dos vasos lesionados, plaquetas são ativadas pelas substâncias da matriz extracelular que envolve o endotélio, fazendo com que tenha início os processos de adesão e agregação celular (LI et al., 2007). Proteínas de adesão, fatores de crescimento e proteases ativadas ditam o

desenvolvimento das outras fases do processo cicatricial (MANDELBAUM et al., 2003, LAUREANO; RODRIGUES, 2001).

As plaquetas secretam fatores como o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento de fibroblastos (FGF) que desempenham um papel vital para a progressão normal da cicatrização (BROUGHTON et al., 2006). As proteínas de adesão (fibrinogênio, fibronectina, trombospondina e fator de Von Willebrand) e ativação de enzimas (fator de Hageman) perpetuam a ativação e secreção plaquetárias, assim como a transformação do fibrinogênio em fibrina, por parte da trombina produzida localmente (ISAAC et al 2010).

Outros mediadores inflamatórios incluem os metabólitos do ácido araquidônico liberados pelas fosfolipases que iniciam reações complexas que levam à produção de eicosanóides, dentre estes: prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos. A síntese de eicosanóides segue uma de duas vias: a via da ciclo-oxigenase, que culmina na síntese de prostaglandinas, e a via da lipo-oxigenase, que culmina na síntese de leucotrienos. As prostaglandinas induzem a inflamação e potencializam os efeitos da histamina e de outros mediadores inflamatórios. A histamina e os leucotrienos são complementares em suas ações no fato de que têm funções similares, afetam a permeabilidade vascular na resposta inflamatória (PORTH; MATFIN, 2008).

A fase celular da inflamação envolve a liberação dos primeiros elementos celulares a alcançarem o local da ferida que são os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, linfócitos e os monócitos, com a função de desbridar as superfícies da ferida, fagocitar as partículas antigênicas e corpos estranhos. O pico de atividade dos polimorfonucleares ocorre nas primeiras 24-48 horas após o trauma, seguindo-se de um maior aporte de macrófagos durante os dois a três dias seguintes. O macrófago, também ativa os elementos celulares das fases subseqüentes da cicatrização tais como fibroblastos e células endoteliais. O macrófago é a célula inflamatória mais importante dessa fase. Permanece do terceiro ao décimo dia. Fagocita bactérias, desbrida corpos estranhos e direciona o desenvolvimento de tecido de granulação (MANDELBAUM et al., 2003, TAZIMA et al., 2008).

3.1.1.2 Fase proliferativa

O segundo estágio do processo de cicatrização é a fase de proliferação, que se caracteriza por fibroplasia, angiogênese e reepitelização. Na fibroplasia ocorrerão migração e

proliferação de fibroblastos, concomitante à síntese de novos componentes da matriz extracelular (ISAAC et al., 2011). Este processo ocorre geralmente 2 dias a 3 semanas após a lesão e resulta no tecido de granulação no espaço da ferida. A granulação é o efeito de fibroblastos e macrófagos que fornecem uma fonte contínua de fatores necessários para estimular a angiogênese e fibroplasia. Isso resulta num leito de colágeno que ajuda a preencher o defeito em torno das bordas da ferida e novos capilares são produzidos (MAYET et al., 2014).

A angiogênese é etapa fundamental do processo de cicatrização, na qual novos vasos sanguíneos são formados a partir de vasos preexistentes. Os novos vasos participam da formação do tecido de granulação provisório e suprem de nutrientes e de oxigênio o tecido em crescimento (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009). A síntese de colágeno é dependente da oxigenação das células, da hidroxilação da prolina e lisina, reação essa mediada por uma enzima produzida pelo próprio fibroblasto, em presença de co-enzimas (vitaminas A, C e E), ferro, testosterona, tiroxina, proteínas e zinco. O colágeno é o material responsável pela sustentação e pela força tensil da cicatriz, produzido e degradado continuamente pelos fibroblastos. Inicialmente, a síntese de colágeno novo é a principal responsável pela força da cicatriz, sendo substituída ao longo de semanas, pela formação de ligações cruzadas entre os feixes de colágeno (TAZIMA et al. 2008).

O queratinócito é um componente celular principal da epiderme, responsável pela restauração da epiderme após a lesão através de um processo denominado epitelização tem papel na reorganização da matriz extracelular (ISSAC et al., 2011; PASTAR et al., 2014).

3.1.1.3 Fase remodelação

A maturação da ferida tem início durante a 3ª semana e caracteriza-se por um aumento da resistência, sem aumento na quantidade de colágeno. Há um equilíbrio de produção e destruição das fibras de colágeno neste período, por ação da collagenase. O desequilíbrio desta relação favorece o aparecimento de cicatrizes hipertróficas e quelóides (TAZIMA et al., 2008). Moléculas de colágeno começam a se formar, sofrem mais modificações e começam a formar-se uma estrutura helicoidal tripla característica. O colágeno é liberado no espaço extracelular em que estáveis ligações cruzadas são formadas. Como colágeno amadurece no local da ferida mais e mais ligações cruzadas intramoleculares e intermoleculares são formadas (MAYET et al., 2014).

3.1.2 TIPOS DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

Normalmente, cicatrização de feridas dura até 2 anos, porém fatores nutricionais e metabólicos, tais como desnutrição, atrasam a cicatrização. Uma dieta nutricional seria provavelmente benéfica nestas condições. Outros fatores que influenciam a cicatrização de feridas são a tensão de oxigênio nos tecidos, o estado hemodinâmico e os efeitos de substâncias como cortisona, vitaminas A e C e zinco (HEUGHAN; HUNT, 1975). Para Porth e Matfin (2010) o objetivo principal do processo de cicatrização é preencher o espaço criado pela destruição tecidual e restaurar a continuidade estrutural lesada, desta forma, o reparo do tecido conjuntivo irá formar a cicatriz que pode acontecer de 2 formas:

3.1.2.1 Cicatrização por primeira intenção: ocorre quando as bordas são aproximadas, havendo perda mínima de tecido.

3.1.2.2 Cicatrização por segunda intenção: ocorre uma perda maior de tecido onde as bordas da ferida ficam afastadas.

3.1.2 Pesquisas com cicatrização em ratos

A cicatrização é uma cadeia de eventos altamente complexa e, embora nunca seja possível eliminar o risco de sofrer uma ferida, o arsenal clínico continua a se expandir com métodos para controlá-la (CHILDS; MURTHY, 2017). Desse modo, vários estudos têm sido realizados mostrando diferentes formas terapêuticas para a cicatrização de feridas em ratos. Recentemente, estudo com lucidone, uma ciclopentenodiona de ocorrência natural, demonstrou resposta específica sobre a proliferação celular, migração de queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais desencadeando a angiogênese em feridas provocadas em ratos através da ativação das metaloproteases que desencadeiam a cascata de sinalização molecular (PI3K/AKT, Wnt/ β -catenina e NF-kappa B) (YANG et al., 2017).

Em feridas provocadas no dorso de ratos diabéticos, o potencial terapêutico de um análogo ao agonista do receptor peptídico glucagon de tipo 1 (Glp-1) exendina-4 (Ex4; 0,5 mg/kg/d, i.p.), por 2 semanas, atenuou a resposta inflamatória e melhorou a angiogênese durante a fase de proliferação precoce da cicatrização de feridas, ao mesmo tempo que melhorou a regeneração mediada pelo TGF- β /metaloproteinase durante a fase de maturação (ROAN et al., 2017).

Kim et al., (2017) aplicaram compressas de nanofibras associada a proteína adesiva de mexilhão - MAP e policaprolactona - PCL na cicatrização de feridas cutâneas, as quais mostraram regeneração acelerada num modelo de cicatrização de feridas de pele de rato, o que pode ser atribuído a um ambiente altamente compatível para o crescimento de queratinócitos, capacidade de captar fatores inerentes ao crescimento e capacidade de absorção de exsudado. Assim, as nanofibras misturadas com MAP podem também ser potencialmente exploradas para diversas aplicações de regeneração de tecidos.

Um estudo com tensoativo lipopeptídeo microbiano com propriedades antimicrobiana, anti-ruga, hidratante e anti-radicaais livres, foram introduzidos com segurança em produtos dermatológicos, por apresentarem baixa citotoxicidade em células humanas. O potencial cicatrizante desse biossurfactante de lipopeptídeo de *Bacillus subtilis* (SPB1) foi avaliado em feridas induzidas por excisão em ratos. Os resultados para cicatrização com a aplicação tópica do gel de SPB1 no local da ferida a cada dois dias, aumentou significativamente a percentagem de contração da ferida. No décimo terceiro dia os animais apresentaram ferida totalmente re-epitelializada com perfeita regeneração epidérmica (ZOUARI, et al., 2016).

Um estudo randomizado com aplicação de polidesoxirribonucleotídeo (PDRN), em ratos machos com idades de 8 semanas e, que receberam laser, mostrou que promove a cicatrização de feridas aumentando a angiogênese e aumentando as taxas de crescimento de fibroblastos, evidenciando a espessura do tecido de granulação significativamente superior à do grupo de controle (YU; LEE, 2016).

Pesquisadores investigaram as propriedades cicatrizantes do extrato hexânico do rizoma de *Curcuma purpurascens* (HECP) com a administração tópica em feridas excisionais em ratos. Os resultados revelaram significativa redução da largura da cicatriz correlacionada com aumento do conteúdo de colágeno e células fibroblásticas, acompanhada pela redução das células inflamatórias no tecido de granulação. Ao nível molecular, o HECP facilitou o processo de cicatrização das feridas através da regulação negativa de Bax e da regulação positiva da proteína Hsp70 no local da ferida. A formação de novo vaso sanguíneo foi observada na coloração tricrômica de Masson de feridas tratadas com HECP (100 e 200 mg / kg). Além disso, a administração de HECP causou um aumento significativo nas atividades antioxidantes enzimáticas e um declínio na peroxidação lipídica. Ou seja, o HECP acelerou o processo de cicatrização de feridas em ratos através de atividade antioxidante, efeito de angiogênese e respostas anti-inflamatórias envolvendo Hsp70 / Bax. (ROUHOLLAHI et al., 2015).

CMC2.24, uma curcumina quimicamente modificada, foi testada na cicatrização de feridas cutâneas de ratos diabéticos, melhorando significativamente a contração da ferida. Estudos adicionais indicaram a eficácia da CMC2.24 durante período de tempo mais prolongados de até 30 dias (ZHANG et al., 2016). Também em ratos diabéticos, o gel com extrato bruto da casca de *Stryphnodendron adstringens* a 1% foi avaliado. O extrato bruto estimulou principalmente a migração celular e a proliferação de queratinócitos no início do tratamento e, atuou na reparação de tecidos, estimulando a produção de fibras colágenas no local da ferida. O extrato bruto favoreceu a formação da matriz extracelular deixando mais organizada e, preencheu toda a extensão da ferida e também promoveu a regulação da ciclo-oxigenase-2 e do fator de crescimento endotelial vascular, que são essenciais para o processo de cicatrização. Estas ações do extrato bruto em feridas diabéticas são provavelmente devidas à presença de proantocianidinas (PINTO et al., 2015).

Pesquisadores desenvolveram uma nova cobertura composta de camada esponjosa de ácido hialurônico (HA) contendo componentes bioativos. O curativo para feridas preparado pelo método de liofilização tem uma estrutura de duas camadas: uma camada superior composta de HA (HMW-HA) de elevado peso molecular reticulado e uma camada inferior composta de HA de baixo peso molecular (LMW-HA) contendo arginina (Arg), fosfato de ascorbil de magnésio (derivado de vitamina C: VC) e fator de crescimento epidérmico (EGF), denominado como curativo EGF. O potencial de cada curativo para feridas foi avaliado em testes em animais utilizando ratos Sprague Dawley (SD) e ratos com diabetes induzida. Os resultados mostraram que tanto o curativo livre de EGF como o curativo EGF diminuíram o tamanho da ferida e promoveram a formação de tecido de granulação associada à angiogênese mais eficazmente quando comparada com o grupo controle. Em particular, o curativo EGF tem maior potencial para cicatrização de feridas quando comparado com curativo sem EGF (SHIMIZU et al., 2014).

Eleutherine indica L. tem sido utilizada para cicatrização de feridas na medicina popular. O extrato metanólico de *E. indica* apresentou atividade cicatrizante em lesão cutânea de ratos Wistar, comprovada pela análise histopatológica e western blot. O extrato metanólico de *E. indica* apresentou atividade acelerando a cicatrização das feridas, evidenciado pela rápida taxa de contração da ferida e maior teor de hidroxiprolina no tecido de granulação. O ensaio de western blot revelou a propriedade do extrato metanólico de *E. indica* de estimular a produção de colágeno mediada pela proteína Smad. O estudo revelou que *E. indica* promove a cicatrização de feridas através do aumento da produção de colágeno mediada por Smad no tecido de granulação das feridas (UPADHYAY et al, 2013).

O extrato metanólico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (Família: Amaranthaceae) foi avaliado na cicatrização de feridas em ratos sprague dawley envelhecidos. Em comparação com o grupo controle, a porcentagem de contração da ferida foi significativamente maior no grupo tratado com *A. brasiliana* (pomada a 5% p/p). Os teores de colágeno, elastina e hidroxiprolina do tecido de granulação do grupo tratado com *A. brasiliana* aumentaram significativamente em relação ao grupo controle, indicando a atividade cicatrizante da planta. Estes achados também foram confirmados pelo estudo histopatológico (BARUA et al., 2012).

Estudos realizados com taninos extraídos dos frutos verdes de *Terminalia chebula* em feridas cutâneas de ratos, mostraram porcentagem superior de contração da ferida, formação do tecido de granulação e organização das fibras colágenas no grupo tratado com taninos em relação ao grupo controle. Assim, concluíram que os taninos dos frutos de *T. chebula* Retz promove a cicatrização cutânea em ratos, provavelmente devido a atividade anti-bacteriana e angiogênica (LI et al., 2011).

Shivhare et al. (2010) avaliaram o potencial cicatrizante do extrato metanólico dos frutos de *Trichosanthes dioica* em feridas por excisão e incisão em ratos. Observaram efeito cicatrizante significativo, quando comparado ao grupo controle. Todos os parâmetros, tais como: contração da ferida, período de epitelização, teor de hidroxiprolina, resistência à tração e estudos histopatológicos mostraram alterações significativas em relação ao grupo controle, demonstrando o potencial cicatrizante deste extrato.

As feridas, crônicas e agudas, continuam sendo motivos de grande preocupação e quando se avalia as condições socioeconômicas. Como tal, as tecnologias desenvolvidas em muitos ramos dentro das ciências e das engenharias são incorporadas constantemente em terapias inovadoras para a aplicação na cicatrização de feridas. Embora muitas dessas terapias sejam experimentais, elas resultaram em novos *insights* sobre a fisiopatologia da cicatrização de feridas e, por sua vez, no desenvolvimento de tratamentos mais especializados para estados de cicatrização de feridas normais e anormais (ZIELINS et al., 2014).

3. 2 PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE CICATRIZANTE

Diversos estudos biológicos já foram conduzidos para avaliar a ação cicatrizante em diferentes espécies vegetais (AGYARE et al., 2016, SAINI et al., 2016). Plantas com atividade cicatrizante podem ter ação direta na cicatrização de feridas, da mesma forma como

extratos de plantas com ação antimicrobiana podem evitar a contaminação das lesões (CSUPOR et al., 2010).

A *Aloe vera* é reconhecida como estimulante da proliferação de fibroblastos, angiogênese, produção de diversos fatores de crescimento, síntese dos componentes da matriz extracelular e pelo aumento da quantidade de ligações cruzadas entre as moléculas de colágeno na pele (TAKAHASHI, 2009; ATIBA, 2011; TARAMESHLOO, 2012).

Resultados obtidos com pomada do extrato metanólico das folhas de *Pupalia lappacea* mostraram aumento significativo na porcentagem de contração, repitelização e resistência à tração da ferida em ratos quando comparado aos grupos controle, bem como apresentou atividade antibacteriana, contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *B. subtilis*. Os animais não apresentaram sinais de toxicidade ao receberem 2.000 mg/kg do extrato administrado por via oral. Ou seja, validaram o uso desta planta da medicina tradicional para o tratamento de feridas (UDEGBUNAM et al., 2014).

Napoleona vogelii foi outra planta investigada pela sua propriedade cicatrizante. Neste estudo, o extrato de suas folhas apresentou efeito cicatrizante significativo quando utilizado topicamente em feridas provocadas em ratos albinos adultos, comparando aos grupos controle. A análise fitoquímica do extrato revelou vários constituintes bioativos incluindo glicosídeos, taninos, alcalóides, terpenóides, saponinas, esteróides, proteínas e carboidratos. Concluíram que o extrato de folha de *N. vogelii* contém compostos bioativos potentes com atividade na cicatrização de feridas, confirmando seu uso em feridas na medicina tradicional (ADIELE et al., 2014).

Dwivedi et al. (2015) investigaram a cicatrização de feridas em ratos Wistar, atividade antimicrobiana e antioxidante do extrato metanólico das folhas de *Pongamia pinnata*, por via oral, e obtiveram como resultados a maior porcentagem de contração da ferida, aumento da resistência a tração, resistência a ruptura, aumento das expressões de hidroxiprolina e hexosamina. Potente atividade antioxidante por inibição da peroxidação lipídica, redução do nível de glutathione e aumento da atividade da catalase. Níveis de TNF-alfa e de IL-6 aumentados foram observados com o tratamento com *P. pinnata* e atividade antimicrobiana significativa contra *S. aureus* e *C. albicans*. Os resultados indicaram que o extrato de *P. pinnata* apresenta potente capacidade de cicatrização de feridas.

Um estudo avaliou os efeitos sobre a cicatrização de feridas com a aplicação tópica de uma emulsão contendo o extrato padronizado das folhas de *Calophyllum brasiliense* Cambess (Clusiaceae) em ratos. No 14º dia, os animais tratados com a emulsão exibiram redução de 90,67% das áreas da ferida. A avaliação histológica revelou que no 21º dia, o grupo tratado

com a emulsão apresentou aumento significativo dos fibroblastos em comparação com os outros grupos (LORDANI et al., 2015).

Estudos com o gel contendo extrato aquoso de *Leptadenia reticulata* a 10% em incisão e queimaduras em ratos, mostrou um importante papel na atividade cicatrizante de feridas confirmado em estudos histopatológicos (SNEHA et al., 2016). Outro gel estudado, foi o gel do extrato bruto de *Poincianella pluviosa*, o qual promoveu a regulação de proteínas, estimulou a migração de queratinócitos e ajudou a acelerar os processos envolvidos na cicatrização, promovendo angiogênese precoce, o que levou a um aumento da superfície re-epitelializada, com significativa atividade mitótica. A maturação das fibras de colágeno também foi aumentada, o que afetou benéficamente a matriz extracelular (BUENO et al., 2016).

Um estudo com a utilização tópica da pomada contendo o pó da casca de *Caesalpinia ferrea* apresentou eficiência significativa no auxílio da reparação cicatricial de feridas cutâneas de caprinos (OLIVEIRA et al., 2010). Enquanto que, Kobayashi et al (2015) analisaram a composição fitoquímica do extrato etanólico dos frutos de *C. ferrea* e obtiveram açúcares redutores, fenóis e taninos, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, e antraquinonas como resultado. O mesmo extrato foi usado nas concentrações 12,5% e 50% para o tratamento de feridas cutâneas em ratos para avaliar o processo de cicatrização macro e microscopicamente e o extrato etanólico de *C. ferrea* a 12,5% foi significativamente mais eficiente do que a 50%.

Das plantas estudadas no Brasil merecem destaque as que possuem efeito cicatrizante *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (ARDISSON et al., 2002), *Aloe vera* (L.) Burman f, *Calendula officinalis* L, *Caesalpinia ferrea* Mart. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, que possuem suas preparações padronizadas no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2011) (quadro 1) e, as espécies *Anacardium occidentale* L. (SCHIRATO et al., 2006) e *Arrabidaea chica* Verlot. (ARO et al., 2013) por configurarem na Relação de Plantas de Interesse do SUS - RENISUS, e por possuírem publicações científicas comprovando a atividade cicatrizante, bem como, a *Portulaca pilosa* L. por ser usada tradicionalmente no tratamento de feridas.

Quadro 1. Plantas medicinais contidas no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira usadas para tratar feridas, reconhecidas pela Anvisa

Nome científico	Nome popular	Parte usada	Indicações (uso externo)
<i>Aloe vera</i> (L.) Burman f	Babosa.	Folhas	Cicatrizante.
<i>Arnica montana</i> L.	Arnica	Folhas	Anti-inflamatório em contusões e distensões, nos casos de equimoses e hematomas.
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Jucá	Fava	Cicatrizante e antisséptico.
<i>Calendula officinalis</i> L.	Calêndula	Folhas	Anti-inflamatório e cicatrizante.
<i>Cordia verbenacea</i> DC.	Erva-baleeira.	Folhas	Anti-inflamatório.
<i>Lippia sidoides</i> Cham.	Alecrim-pimenta.	Folhas	Anti-inflamatório, antisséptico da cavidade oral e nas afecções da pele e couro cabeludo.
<i>Malva grossheimii</i> Iljin.	Malva	Folhas e flores secas	Anti-inflamatório e antisséptico da cavidade oral.
<i>Plantago major</i> L.	Tanchagem, tansagem e tranchagem.	Folhas	Anti-inflamatório e antisséptico da cavidade oral.
<i>Punica granatum</i> L.	Romã.	Casca do fruto	Anti-inflamatório e antisséptico da cavidade oral.
<i>Salvia officinalis</i> L.	Salvia.	Folhas	Anti-inflamatório e antisséptico da cavidade oral.
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Aroeira-da-praia.	Cascas do caule.	Anti-inflamatório e cicatrizante ginecológico.
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	Barbatimão	Casca do caule.	Cicatrizante.

Fonte: Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, BRASIL, 2011.

Segundo Panizza et al., (2012) os constituintes fitoquímicos são metabólicos secundários responsáveis pela atividade biológica das plantas medicinais. Plantas ricas em taninos são empregadas tradicionalmente no tratamento de diversas patologias, dentre elas, as feridas. O tanino ajuda no processo de cura das feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo) sobre a pele ou mucosa danificada (SIMÕES et al., 2001). As atividades antioxidante e antimicrobiana apresentadas pelos extratos polares parecem ser devidas à constituição e teor de compostos fenólicos da classe dos taninos presentes na casca de *S. adstringens* (SOUZA, 2007).

O extrato etanólico das folhas de *Chrysophyllum cainito* foi padronizado em termos de seu conteúdo em ácido gálico (um composto fenólico com propriedade cicatrizante) utilizando uma técnica de HPTLC validada. A atividade antioxidante das folhas de *C. cainito* também foi avaliada *in vitro*. A aplicação tópica revelou o potencial cicatrizante de feridas em ratos albinos Wistar machos ao comparar com os grupos controle (SHAILAJAN; GURJAR, 2016).

Os efeitos do ácido gálico (AG, ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico, um composto polifenólico derivado de plantas) sobre o processo de cicatrização em condições normais e hiperglicídica, similar ao diabetes, em queratinócitos e fibroblastos humanos, revelam que AG é um potente antioxidante que diretamente regula a expressão de genes antioxidantes. Além disso, AG acelera a migração celular de queratinócitos e fibroblastos em condições normais e hiperglicídica. Além disso, fatores ativados no tratamento com AG conhecidos por serem marcadores da cicatrização de feridas, tais como cinases de adesão focal (FAK), quinases N-terminais c-Jun (JNK) e quinases reguladoras de sinal extracelular (Erk), sustenta o papel benéfico de AG na reparação de feridas, demonstrando que AG pode ser um agente viável para a cicatrização de feridas e possui potencial para o tratamento de feridas resultantes de complicações metabólicas (YANG et al., 2016).

Além dessas plantas, existem diversos produtos de origem natural que tiveram sua atividade cicatrizante comprovada cientificamente, como o óleo de *Copaifera sp.* (VIEIRA et al., 2008, CORREIA et al., 2008, MENDONÇA; ONOFRE, 2009, ESTEVÃO et al., 2009, GARCIA; YAMAGUCHI, 2012), o fruto de *Cacarica papaya* (LEITE et al., 2012, DE BRITO; DE LUCENA FERREIRA, 2015), o óleo de girassol (CARVALHO, 2014), o extrato da casca do fruto de *P. granatum* (NAYAK et al., 2013, ZEKAVAT et al., 2016), ou seja, há um mercado crescente nesta área e interesse no desenvolvimento de pesquisas que comprovem a eficácia de produtos de origem natural, inclusive fitoterápicos com atividade cicatrizante de feridas como alternativa de tratamento, a fim de garantir acesso com segurança e qualidade. Melhor seria se os produtos originados fossem da biodiversidade amazônica uma vez que agregaria valor sócio-econômico na região.

3.3 O GÊNERO *Portulaca*

O gênero *Portulaca* inclui plantas herbáceas, carnosas, anuais ou perenes, com folhas alternadas, inflorescência em cimeira, 2 sépalas, 4 a 5 pétalas livres, estames geralmente numerosos, ovário ínfero e fruto cápsula com deiscência longitudinal ou transversal. É amplamente distribuído nos neotrópicos e regiões tropicais e subtropicais da África,

ocorrendo também algumas poucas espécies na Austrália, Europa e Ásia (COELHO; GIULETTI, 2010a).

No Brasil, o gênero inclui 13 espécies e uma ampla distribuição, ocorrendo em todas as regiões, porém com maior concentração e diversidade nas regiões Nordeste e Sudeste, especialmente nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. As espécies são encontradas nos mais variados ambientes, especialmente em áreas abertas, campos arenosos e solos pedregosos do campo rupestre (COELHO; GIULETTI, 2010b).

3.4 ESPÉCIE *Portulaca pilosa*

A *P. pilosa* L. (figura 1) é uma planta cultivável pertence à família Portulacaceae, conhecida popularmente como amor-crescido herbácea, prostrada que apresenta folhas carnosas lanceoladas, possui flores púrpuras em cachos terminais sendo comum nas Américas (MENDES et al., 2011), com distribuição geográfica na Argentina, Belize, Bolívia, Caribe, Chile, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Groelândia, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Peru, África do Sul, EUA, Venezuela (CARVALHO, 2011). No Brasil tem ocorrência confirmada nas regiões Norte, Nordeste e Centro-oeste (PORTULACEAE, 2017).



FIGURA 1. Parte aérea da espécie vegetal *Portulaca pilosa* L.

Foto: Autora, 2015.

A descrição macroscópica da *P. pilosa* refere ser uma erva com caule geralmente prostrado, ramos 5 a 15 cm de comprimento, verdes, muito ramificado, tricomas axilares 4

mm comprimento, multisseriados, interaxilares, conspícuos, lanosos, esbranquiçados (Figura 2). Folhas com pecíolo 1,5 a 2 mm, cilíndrico; limbo 12 a 24 x 1 a 2 mm, linear-lanceolado, subglobosos, nervura central não evidente; base atenuada; ápice agudo; margem inteira sem bordo esbranquiçado; glabras; persistentes; folhas involucrais 5 a 10 por inflorescência, 15 a 20 x 1 a 2 mm, linear-lanceolada; base arredondada; ápice agudo; margem inteira sem bordo esbranquiçado; glabras. Inflorescência 3 a 7 flores, cada uma abrindo de uma vez. Flores sésseis com 0,4 a 0,8 cm de diâmetro; sépalas 5 a 7 mm de comprimento, glabra, dorso côncavo, ápices agudos; pétalas 5, purpúreas; lâmina obcordada 4 a 8 mm, ápice emarginado; estames 15 a 20; filetes 2 a 3 mm de comprimento, anteras 0,8 a 1 mm de comprimento; estilete 1,5 a 3 mm comprimento, ramos estigmáticos 4 a 5, 1,5 a 2,0 mm compr. Pixídio 3 a 5 mm comprimento (Figura 3), pedicelado, pedicelo 0,5 mm, opérculo cônico 1 a 2 mm alt. Sementes 10 a 15 por fruto, negras, opacas, 0,5 a 0,7 mm (COELHO e GIULETTI, 2010).



Figura 2. Exsicata da espécie vegetal *Portulaca pilosa* L.
Fonte: ABBOTT, 2015.

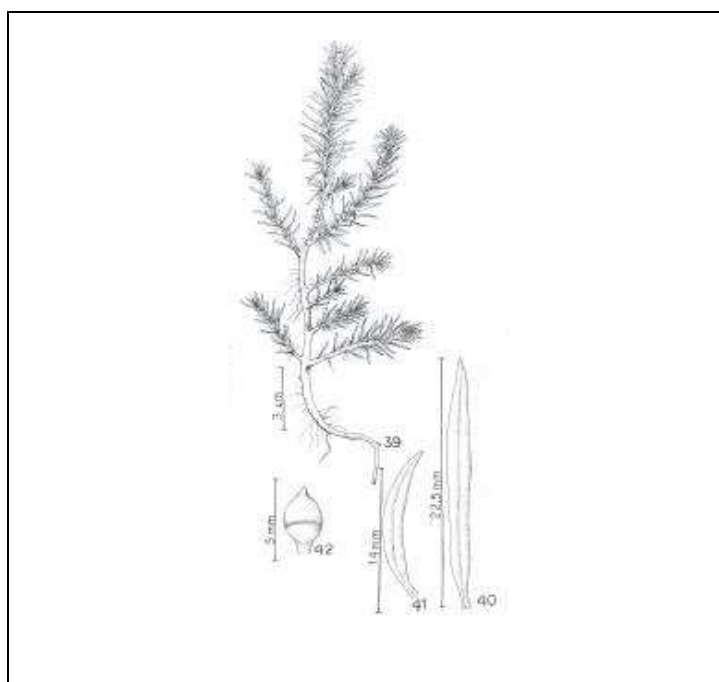


Figura 3. *Portulaca pilosa* L. 39. Hábito; 40-41. Folhas; 42. Pixídio.
Fonte: COELHO; GIULETTI, 2010.

3.4.1 Aspectos químicos e farmacológicos de *Portulaca pilosa* L.

Segundo Vieira (1991), a *Portulaca pilosa* L. tem como constituintes: mucilagem, vitaminas A, B1, B2 e C. Os testes químicos mostraram-se positivo para flavonoides, mucilagem e taninos (CALDAS; MORAES, 2003). A prospecção fitoquímica revelou a presença de açúcares redutores, fenóis e taninos, esteroides e triterpenoides, glicosídeos cardíacos e carotenoides no extrato etanólico seco de *P. pilosa* (MENDES et al., 2011).

As propriedades da vitamina A têm sido utilizadas na medicina, sobretudo no tratamento de distúrbios cutâneos, como acne e seborréia. A vitamina C (ácido ascórbico) é essencial para o crescimento e para as forças das fibras no tecido subcutâneo, cartilagem, ossos e dentes (MANN, 2009). Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas patologias como diarreia, reumatismo, hemorragias, feridas e queimaduras (PANIZZA; VEIGA; ALMEIDA, 2012). Baurin et al. (2002) mostraram que o extrato de *P. pilosa* sobre cogumelos apresentou 93% de atividade de inibição da tirosinase, sendo útil no desenvolvimento de agente para clareamento da pele.

Pesquisa não clínica realizada pela Central de Medicamentos-CEME sob o Parecer Técnico nº 007/91 com o objetivo de avaliar farmacologicamente o extrato de *P. pilosa*, obteve como resultado que o extrato aquoso e hidroalcolico da planta, quando administrados por via oral, não apresentaram qualquer toxicidade, ao passo que na administração intravenosa foi evidenciado efeito tóxico. A preconizada atividade antipirética foi observada nos animais que receberam o extrato intraperitonealmente, ao passo que nos tratados por via oral o extrato não foi capaz de reduzir a hipertermia. Foi confirmada a atividade anti-inflamatória da *P. pilosa*, mediante avaliação da atividade antiedematogênica e da inibição do aumento da permeabilidade vascular. E, por fim, foi evidenciada, após realização de testes específicos, a sua atividade antiespasmódica (BRASIL, 2006).

Pesquisa de Mendes et al. (2011) com o extrato etanólico seco de *P. pilosa* L. revelou que possui entre moderada e boa atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*. Portanto, têm potencial para ser usado na produção de fitoterápicos contra infecções causadas por microrganismos gram-negativos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO E CONSIDERAÇÃO ÉTICA

O estudo experimental controlado, quantitativo, não clínico e randomizado, foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Fármacos, do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, localizada na Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 02, s/n, bairro Zerão, município de Macapá, Estado do Amapá, Brasil.

O estudo foi realizado de acordo com as recomendações dispostas pela Declaração Universal dos Direitos dos Animais, pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e com as resoluções do Conselho Federal de Medicina Veterinária e demais leis vigentes que estabelecem normas práticas didático-científica de conduta de pesquisa experimental em animais. Este estudo foi encaminhado à Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) para a avaliação e emissão do parecer consubstanciado, sendo aprovado sob o protocolo nº 0016/2015 de 01 de julho de 2015 (ANEXO 1).

4.2 MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico utilizado corresponde as partes aéreas da espécie *P. pilosa* L. que foi coletado no mês de agosto no ano de 2015, no Polo Hortifrutigranjeiro do Distrito Fazendinha, sob as coordenadas latitude -0,017924 0° 1'4,53" S longitude -51,104460 51° 6'16,06" W, 05.VII.2015, Município de Macapá, Estado do Amapá, Brasil, por A.S.A. Barros e P.C. Cantuária. A exsicata foi preparada e depositada no Herbário Amapaense do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá - IEPA (HAMAB).

4.3 PREPARO DO EXTRATO PROPILENOGLICÓLICO DE *P. pilosa* (EPP)

Para a obtenção do EPP, 1 kg das partes aéreas da planta foram secadas em estufa de ar circulante e moídas, em seguida, submetidas a extração em percolador modelo (LM20) com solução hidropropilenoglicólica a 70% (v/v), à temperatura de 37°C, por 10 dias, na proporção de 1:1 (m/v). A solução extrativa foi filtrada, obtendo-se rendimento de 48% e densidade 1.022 g/mL.

4.4 PREPARO DO GEL DE *P. pilosa* (GPP)

A seguinte formulação foi empregada:

Fase A: Metilparabeno (290 mg)

Propilparabeno (190 mg)

Propilenoglicol (4 g)

Fase B: Carbopol (2 g)

Água destilada (93.5g)

Foram aquecidos os componentes da fase A e B, logo em seguida as fases foram misturadas lentamente com auxílio de agitador mecânico até obtenção de aspecto e característica de gel base, a correção do pH para 6,5 foi realizado utilizando trietanolamina.

O GPP foi obtido acrescentando 10 mL de extrato propilenoglicólico em 100g de gel base, assim obtendo a concentração de 10%.

4.5 ANÁLISE DO EPP POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Utilizou-se cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu modelo LC-9A em sistema isocrático composto por bomba, controlador de sistema e auto-injetor Shimadzu SCL-6B, forno de coluna Shimadzu CTO-6A com a coluna Shimadzu ODS-H, coluna de fase reversa C18 (Shim-pack VP-ODS, 150x4.6mm; 5 µm), mantido à temperatura 30°C e detector UV-VIS com arranjos de fotodiodo Shimadzu SPD-M6A, ajustado para 280nm. O extrato foi diluído em metanol (1:5 m/v) e filtrado em membrana Millipore de 0,45 µm. O volume de injeção foi de 10 µL. A fase móvel foi composta por fase A: Água acidificada com 0.05% ácido acético (Synth[®]) e fase B: acetonitrila (P.A., Synth[®]) em sistema isocrático (70 % de Fase A, 30% Fase B). A vazão da fase móvel foi ajustada para 1,0 mL/min.

A quantificação de ácido gálico (Sigma-Aldrich, USA) foi realizada por comparação da área do cromatograma utilizando solução padrão contendo 1 mg/mL.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE TÓPICA

4.6.1 Animais e tratamentos

A espécie animal utilizada no estudo foi ratos Wistar provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório CEMIB – Universidade de Campinas, UNICAMP, com 21 dias de idade, os quais ficaram por um período de ambientação, agrupados em grupo de cinco animais por gaiolas de polietileno, mantidos sob condições controladas de temperatura ($21 \pm ^\circ\text{C}$), com livre acesso à alimentação e água potável, com ciclos claro/escuro de 12 horas e troca de maravalha, no Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Universidade Federal do Amapá.

Foram empregados 20 ratos, adultos, machos e fêmeas, pesando entre 250-350g, divididos aleatoriamente em quatro grupos ($n = 5/\text{grupo}$) e posteriormente alocados em gaiola metabólica, individualmente, após provocada a lesão até o final do experimento recebendo ração e água *ad libitum*.

Os tratamentos propostos foram administrados nas feridas imediatamente após o procedimento cirúrgico diariamente, por via tópica com auxílio de espátula descartável, sempre no mesmo período do dia, durante 7 dias de acordo com os grupos e doses:

Grupo 1: Controle negativo - Gel-veículo 150 mg/kg (GVE)

Grupo 2: controle positivo - Fibrinase[®] (desoxirribonuclease 666 U, fibrinolizina 1U, cloranfenicol 0,01g e excipiente q.s.p. 1,0g – Cristália[®]) 100 U/kg (FIB)

Grupo 3: Gel de *P. pilosa* a 10% -150 mg/kg (GPP)

Grupo 4: Extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* -150 mg/kg (EPP)

4.6.2 Procedimento cirúrgico para realização das feridas cutâneas

Para realizar o procedimento cirúrgico os animais foram previamente anestesiados com maleato de acepromazina 1% (10 mg/kg, UNIVET[®]) e tiopental sódico (45 mg/kg, Cristália[®]) por via intraperitoneal (SILVA, 2011), logo após procedeu-se a tricotomia da região dorsal de todos os animais, com máquina de tosa delimitando uma área retangular de aproximadamente 3 cm x 5 cm, posteriormente foi realizada assepsia com álcool iodado e induzida lesão circular de 6mm no dorso interescapular do animal, com auxílio de *punch* para biópsia de pele, tesoura e pinça para remoção do tecido até exposição da fáscia muscular dorsal. Assim, a ferida cutânea foi produzida.

4.6.3 Procedimento de mensuração e registro fotográfico das feridas

Para avaliar as áreas das lesões, estas foram mensuradas utilizando paquímetro digital ZAAS Precision-Digital Caliper 0-150mm e registradas com câmera fotográfica digital Samsung, modelo NX30, 20,3 megapixels, acoplada a um tripé fixado perpendicularmente ao plano horizontal, sendo mantida uma distância de 30 cm desse plano, propiciando focalização melhor da ferida. As imagens digitais das feridas foram obtidas imediatamente após o procedimento cirúrgico e no 7º dia de tratamento. As fotografias foram armazenadas no formato Windows Jpeg (JPEG).

O cálculo da área das feridas foi realizado com base nas medidas dos diâmetros das imagens obtidas com paquímetro digital, e as análises foram processadas através do programa Able Image Analyser, versão 3.6, MuLabs, *software* desenvolvido para realizar a mensuração da área de feridas por imagens digitais. O programa permite medições dimensionais: distância, área, ângulo em imagens digitais e sua calibração espacial está disponível para fornecer medições dimensionais em vários sistemas de conversão de unidades, filtros de correção de imagens, inúmeros formatos de exportação. Desta forma, obteve-se as áreas iniciais e finais das feridas.

4.6.4 Avaliação macroscópica da contração da ferida

A avaliação macroscópica foi realizada a partir dos valores das médias das áreas das feridas obtidas, utilizando o cálculo do grau de contração da ferida expresso em percentual, pela seguinte fórmula (RAMSEY et al., 1995):

$$\text{Percentual de contração da ferida (\%)} = \frac{(A_0 - A_f)}{A_0} \times 100.$$

A₀

Onde: **A₀** é a área inicial, corresponde ao dia do procedimento cirúrgico e **A_f**, área final, 7º dia de tratamento.

Na análise macroscópica, a evolução da cicatrização da ferida de cada grupo foi avaliada pelas características do leito da ferida, presença de exsudato, edema e ocorrência de hemorragia.

4.6.5 Procedimento para biópsia e eutanásia

Ao finalizar o tratamento, os animais foram submetidos a um procedimento cirúrgico com anestesia prévia, para exérese do tecido com a ferida em processo de cicatrização para análise histológica. Foi usada a associação de anestésicos anteriormente descrita, a qual foi bem tolerada pelos animais, realizada a assepsia com álcool iodado e posteriormente, a ferida foi excisada com margem de segurança de 1cm da pele íntegra em torno da lesão, em profundidade até a fáscia muscular com auxílio de pinça anatômica e tesoura. O tecido removido foi imediatamente imerso em solução de bouin, em frasco previamente identificado com o nome de cada grupo. Em seguida, os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de dióxido de carbono em câmara de gás.

4.6.6 Procedimento e análise histopatológica

O 7º. dia após a indução cirúrgica da lesão excisional foi escolhido para avaliar histologicamente as características morfológicas e celulares do processo cicatricial e, os seguintes parâmetros foram avaliados: presença de células inflamatórias, proliferação fibroblástica e angiogênese e caracterização das fibras colágenas. O tecido estudado passou por preparação para análise em microscópio de luz que consistiu em acondicioná-lo em cassete, previamente identificado, posteriormente, passou pelos seguintes processos: fixação, desidratação, diafanização, inclusão, microtomia até a obtenção das lâminas para coloração, conforme protocolo do Laboratório de Pesquisa de Fármacos do DCBS da Unifap - Macapá - AP.

A Preparação do tecido para exame microscópico incluiu:

Fixação: a fixação tem várias finalidades dentre elas, a de evitar a digestão dos tecidos por enzimas presentes nas próprias células (autólise), ou por bactérias e preservar em grande parte a estrutura e a composição molecular dos tecidos (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2013). Neste caso, o tecido foi imerso em solução de Bouin por 24 horas.

Desidratação: foi obtida com a imersão do tecido em recipientes contendo soluções de álcool com concentrações crescentes (álcool 70%, álcool 80%, álcool 100% I e álcool 100% II), o qual permaneceu uma hora em cada solução, a fim de remoção completa da água para ser incluído em parafina.

Diafanização: o álcool presente no tecido foi substituído por xilol que é miscível tanto em álcool como em parafina. Desta forma, o tecido foi imerso em xilol (xilol I e II) permanecendo 40 minutos em cada recipiente, a fim de promover a total remoção do álcool e a parafina pudesse penetrar eficientemente no tecido.

Inclusão: em estufa mantida em 56°C, o tecido passou pela infiltração por meio de imersão em dois banhos de parafina líquida durante 3 horas. Após este procedimento, o tecido foi removido do cassete e incluído em molde de inox contendo parafina, sobrepondo a base do cassete identificada inicialmente. Este se solidificou em contato com temperatura ambiente. Após resfriamento, o molde pode ser removido e obteve-se um bloco de parafina com o tecido em seu interior, o qual foi levado ao processo de corte em micrótomo.

Microtomia e montagem dos cortes sobre as lâminas: para obtenção das secções bem finas e uniformes, os blocos foram submetidos ao processo de corte no micrótomo, sendo obedecida a espessura de 5 µm. À medida em que os cortes foram realizados, eles eram imediatamente colocados para flutuar em recipiente contendo água a 40°C, para promover o seu estiramento. Em seguida, os cortes foram posicionados sobre a lâmina, previamente desengordurada e identificada, colocados em um suporte de vidro (berço) e levados à estufa à 50°C para secagem por 25 minutos. Após esse procedimento as lâminas foram submetidas à etapa de coloração.

Coloração: os corantes usados foram a combinação de hematoxilina e eosina (HE) para contagem de células com características histomorfológicas associadas aos processos inflamatório e reparador. O processo consistiu na passagem das lâminas em banhos xilol, álcool e água, promovendo a desparafinização, eliminação do solvente, fixação e hidratação seguindo os procedimentos descritos abaixo:

Xilol.....	10 minutos
Álcool absoluto I.....	3 minutos
Álcool absoluto II.....	3 minutos
Álcool 95%.....	3 minutos
Álcool 80%.....	3 minutos
Álcool 70%.....	3 minutos

Água destilada.....	imersão rápida
Hematoxilina.....	3 minutos
Água destilada.....	5 minutos
Eosina.....	6 minutos
Água destilada.....	10 segundos
Álcool 70%.....	10 segundos
Álcool 80%.....	10 segundos
Álcool 90%.....	10 segundos
Álcool absoluto I.....	10 segundos
Álcool absoluto II.....	1 minuto
Xilol.....	1 minuto

Após este processo, as lâminas foram colocadas individualmente sob papel toalha para absorção do excesso de solução e posteriormente a lamínula foi fixada na lâmina empregando-se o balsamo de Canadá, finalizando o preparo do tecido em lâmina para análise no microscópio de luz.

As imagens histológicas destas lâminas foram capturadas por câmera digital (MDCE-5C) acoplada ao microscópio óptico (Olympus CX41), sob foco fixo e clareza de campo utilizando-se as objetivas de 10, 40 e 100 vezes de aumento. Os critérios histológicos incluíram: células inflamatórias, proliferação fibroblástica e angiogênese, os quais foram quantificados de acordo com focos/corte. Utilizou-se também análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV, modelo TM3030, Hitachi), para tanto, as lamínas foram preparadas com corte tecidual de 15 µm sem submissão a coloração.

4.6.7 Análises estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos, foram utilizadas múltiplas comparações entre os grupos experimentais e análise de variância (ANOVA) seguida do Teste de Tukey. Resultados com níveis de significância de $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os programas estatísticos utilizados foram GraphPad InStat e Prism (versão 5.03).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados cromatográficos do EPP (**Figura 4 e 5**), foi possível identificar o ácido gálico comparando a frequência do tempo de retenção, o pico correspondente ao ácido gálico apresentou tempo de retenção em 6.034 ± 0.107 minutos ($n = 4$) e sua quantificação no EPP foi de 2.135 ± 0.081 mg/mL ($n = 4$).

O ácido gálico é um componente da classe dos taninos muito frequente em diversas classes de plantas, principalmente naquelas que possuem continua exposição à luz solar. Estudos envolvendo a composição química do extrato de *Portulaca pilosa* já demonstraram a presença de componentes polifenólicos principalmente flavonóides e taninos (MENDES et al., 2011). Estudos descreveram que a presença de taninos em plantas medicinais está relacionada à atividade cicatrizante, pois as propriedades antibacterianas e a capacidade de ligação desses compostos com o tecido lesionado são fatores que contribuem na aceleração do processo de cicatrização (LI et al., 2011; KOBAYASHI et al., 2015).

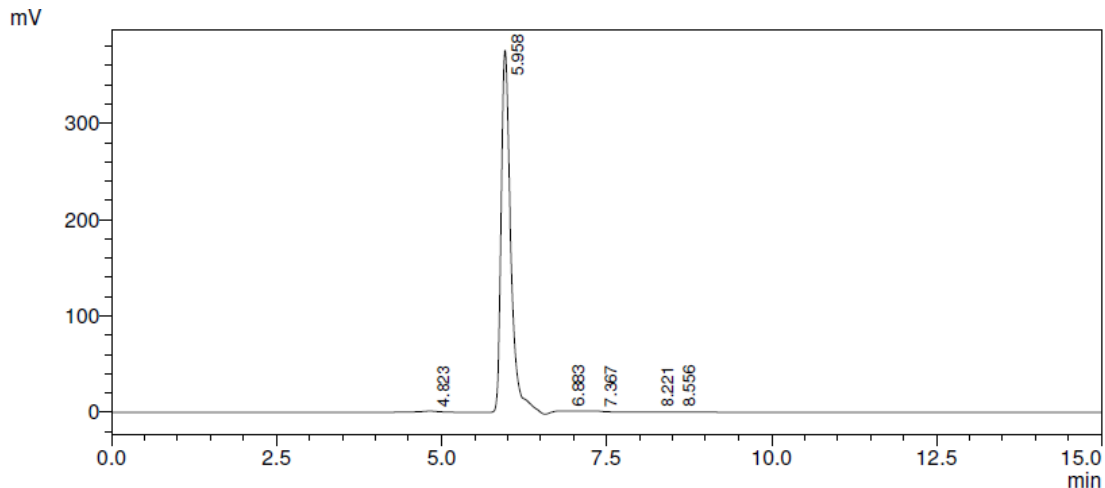


Figura 4. Cromatograma obtido por análise em HPLC da substância padrão, ácido gálico, com pico de retenção em 5,958 minutos. Fase móvel A: Água acidificada com 0.05% ácido acético e fase B: acetonitrila em sistema isocrático (70% de Fase A, 30% Fase B). Vazão 1,0 mL/min.

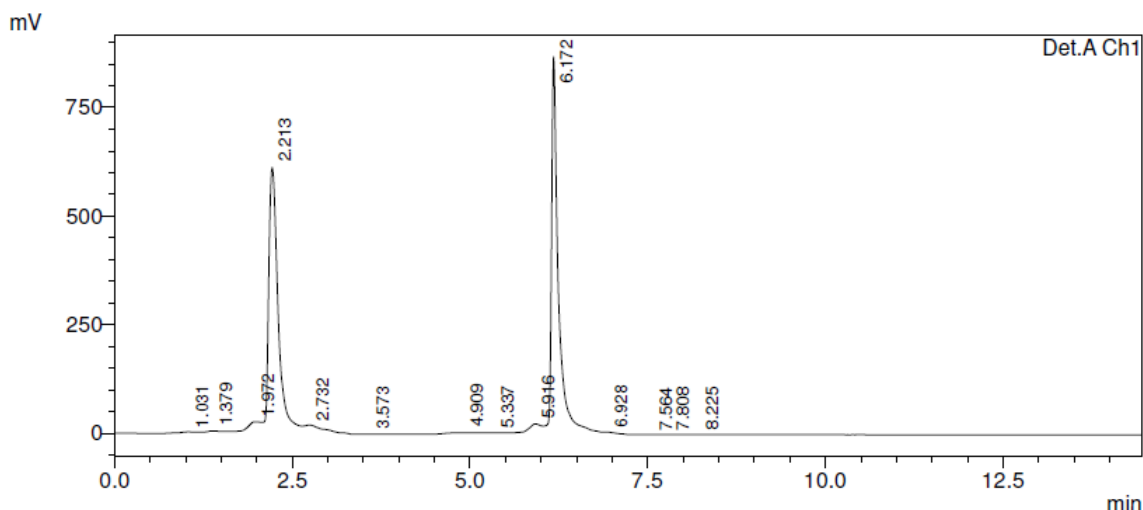


Figura 5. Perfil cromatográfico por análise em HPLC do EPP (extrato propilenoglicólico de *Portulaca pilosa*), com pico de retenção em 6,172 minutos equivalente ao ácido gálico. Fase móvel A: Água acidificada com 0.05% ácido acético e fase B: acetonitrila em sistema isocrático (70% de Fase A, 30% Fase B). Vazão 1,0 mL/min.

Em relação aos estudos da avaliação cicatrizante, observou-se que o grupo GVE, teve predomínio de exsudato com crosta espessa aderida à epiderme, já os demais grupos tratados (EPP, GPP e FIB), apresentaram exsudação apenas nas primeiras horas do início da lesão, com posterior predomínio de tecido de granulação (**Figura 6**).

O exsudato é um líquido derivado dos fluidos que escapa dos vasos sanguíneos para o leito da ferida, e aparece logo no início da fase inflamatória do processo de cicatrização em resposta a lesão tecidual, favorece a cicatrização propiciando a migração de células inflamatórias para o local da lesão, além de veicular nutrientes importantes para a proliferação celular. Em feridas cutâneas, a presença de exsudato é normal durante as primeiras horas, a predominância de exsudação por um longo período pode promover retardo no processo de cicatrização, fato que pode explicar o retardo observado na cicatrização do grupo tratado com GVE (**Figura 6**), pois quando o exsudato persiste pode haver o favorecimento de infecção e, dificulta o desenvolvimento do tecido de granulação (CHADWICK; MCCARDLE, 2015).

Na medida em que ocorre o processo de cicatrização, a tendência é que ocorra a diminuição da quantidade de exsudato produzido pela ferida (SPEAR, 2012), isso pode explicar a redução de exsudação apresentada nos grupos tratados com FIB, GPP e EPP. No estudo de cicatrização utilizando extrato da espécie *Luehea divaricata* foi observado que a formação de exsudato estava presente apenas no período inicial da lesão (BATISTA et al., 2015).

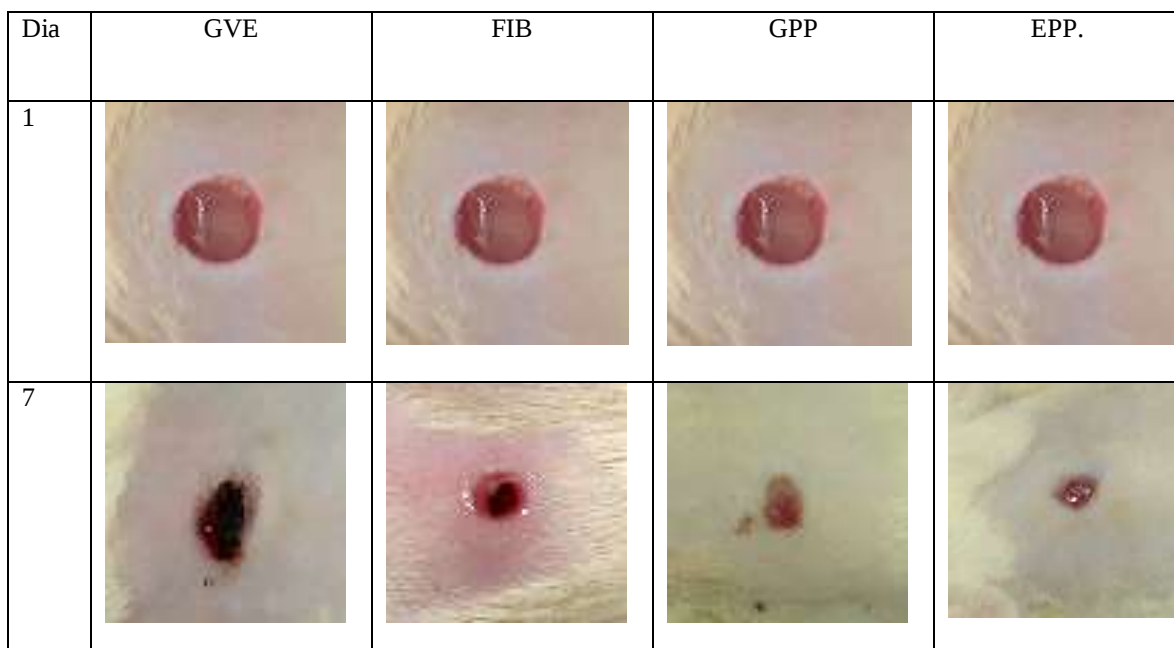


Figura 6. Aspectos macroscópicos das feridas tratadas com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) no 1º. dia e 7º. dia de tratamento.

No processo de contração, as células epiteliais começam a proliferação poucos dias após a ocorrência da lesão, estimuladas por fatores de crescimento liberados principalmente por macrófagos, a diminuição da área delimitada pela ferida ocorre por conta do movimento migratório das células basais dos limites da ferida em direção ao centro com a finalidade de reparar o local lesionado (DI-NARDI et al., 2004).

Na análise do percentual de contração da ferida, observou-se que ao término do período de tratamento, o grupo tratado com EPP apresentou resultado estatisticamente significativo quando comparado com o grupo GVE, evidenciando aumento percentual de contração de 56%. Já os grupos tratados com GPP e FIB, apesar de terem demonstrado aumento do percentual de contração em relação ao grupo GVE (41,52% e 32% respectivamente), mas não foram estatisticamente diferentes do controle (**Figura 7**). Observa-se que o grupo tratado com EPP apresentou diminuição da área da ferida quando comparado com os demais grupos, principalmente com relação ao grupo GVE (**Tabela 1**).

Tabela 1. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre a contração das feridas cutâneas em ratos Wistar.

Grupo	Dia1 - A_0 (mm ²)	Dia 7 - A_f (mm ²)	Contração (%)
GVE	28,6± 0.51	20,6±6.5	29,42±12
FIB	28,74±0.42	19,6±8,2	32±9.1
GPP	28.66±0.47	16,8±4,3	41,52±9.2
EPP	28.74±0.42	12,68±5	56±8.9

Os números representam a média da área das feridas (mm²), avaliadas imediatamente após o procedimento cirúrgico (1º. dia) e 7 dias após o tratamento. Média e desvio padrão da área e percentagem de contração dos grupos experimentais (n=5).

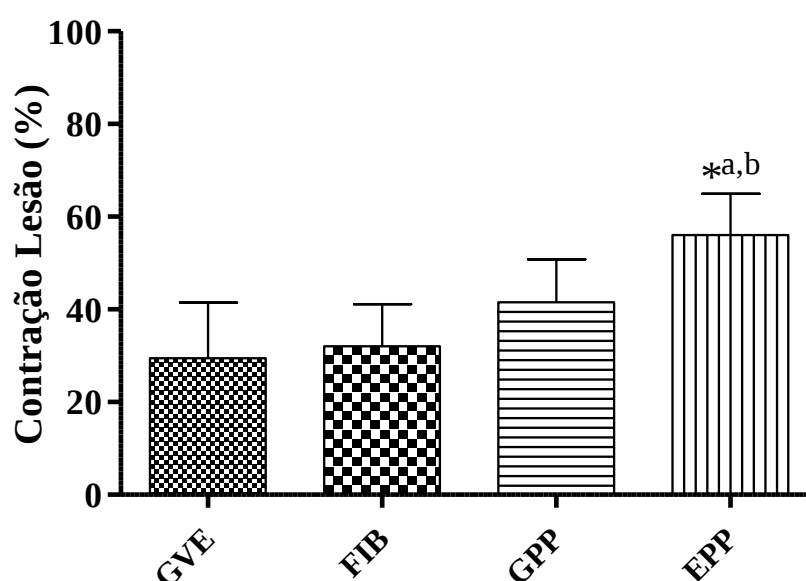


Figura 7. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre a contração das feridas cutâneas em ratos wistar. As barras representam a média ± desvio padrão (n = 5/grupo) das percentagens da contração da ferida. Onde * (p < 0.05) representa o resultado estatisticamente significativo. (a) comparado ao grupo GVE, (b) comparado ao grupo FIB. ANOVA one-way seguida pelo teste de Tukey.

O aumento do percentual de contração da ferida observado pelo grupo tratado com EPP, também foi demonstrado utilizando outras espécies, no estudo descrito por Parente et al., (2009), que demonstrou aumento do percentual de contração da ferida de 47,91%, já no estudo com *Sida cordifolia*, foi descrito que no oitavo dia de tratamento houve aumento do percentual de contração de 88.44% (PAWAR et al., 2013). Os resultados obtidos no ctomatograma para o EPP, corroboram com estudos que vêm demonstrando o potencial cicatrizante de espécies vegetais contendo componentes fenólicos, principalmente taninos. Em estudo realizado por Bueno et al., (2014) foi demonstrado o potencial cicatrizante do extrato da espécie *Poincianella pluviosa* e na sua composição fitoquímica apresentava como componente majoritário tanino, com ênfase no ácido gálico. No estudo utilizando a espécie *Phoenix dactylifera* L. foi confirmado a atividade cicatrizante desta espécie e a presença de compostos fenólicos e taninos (ABDENNABI et al., 2016).

A cicatrização da ferida envolve a progressão de eventos que buscam restabelecer a integridade do tecido danificado, os principais eventos compreendem os processos inflamatórios que favorecem a diapedese de células do sistema imune para o local da ferida, a hiperplasia de fibroblastos e de células endoteliais dando início a angiogênese para compor a formação do tecido de granulação e, a proliferação de células basais da epiderme que auxiliam no remodelamento do tecido traumatizado e a formação de fibras de colágeno que aumentam a resistência do tecido lesionado (HOUGHTON et al., 2005; MACRI; CLARK, 2009; ISAAC et al., 2010; LAUREANO et al., 2011).

Na avaliação histopatológica das feridas dos animais após 7 dias de tratamento, foi possível observar que o grupo tratado com GVE apresentou áreas desorganizadas tanto na epiderme quanto na derme. Observa-se reduzida hiperplasia epidérmica das células basais, tecido de granulação pouco organizado em consequência a reduzida proliferação de fibroblastos, observa-se discreta formação de neovascularização e predomínio de células inflamatórias (**Figura 8**). Os grupos tratados com FIB e GPP, apresentaram epiderme e derme mais organizada em relação ao grupo GVE, demonstrando a presença de poucas células inflamatórias com predominância de proliferação de fibroblasto e pouca formação de neovasos (**Figuras 9 e 10**). O grupo tratado com EPP também apresentou a epiderme e derme organizadas, abundantes células epiteliais e espessa camada de queratina, presença de poucas células inflamatórias com discreta angiogênese, predominância de fibroblastos e aumento da formação de fibras de colágeno (**Figura 11**).

As análises histopatológicas associadas ao percentual de contração das feridas, reforçam que o tratamento tanto com GPP quanto com EPP, induziram a cicatrização, no

entanto, o tratamento com EPP foi o que apresentou melhor resultado, o que pode ser confirmado pelos achados histopatológicos, uma vez que a redução da presença das células inflamatórias e a extensa formação de colágeno é característico de cura tecidual, pois o colágeno não só confere força e integridade à matriz de tecidos como também desempenha um papel importante na homeostase e na reepitelização na última fase de cicatrização (SUNTAR et al., 2010). Baseado neste fato, pode-se sugerir que o tratamento com EPP acelerou o processo de cicatrização levando à reparação tecidual.

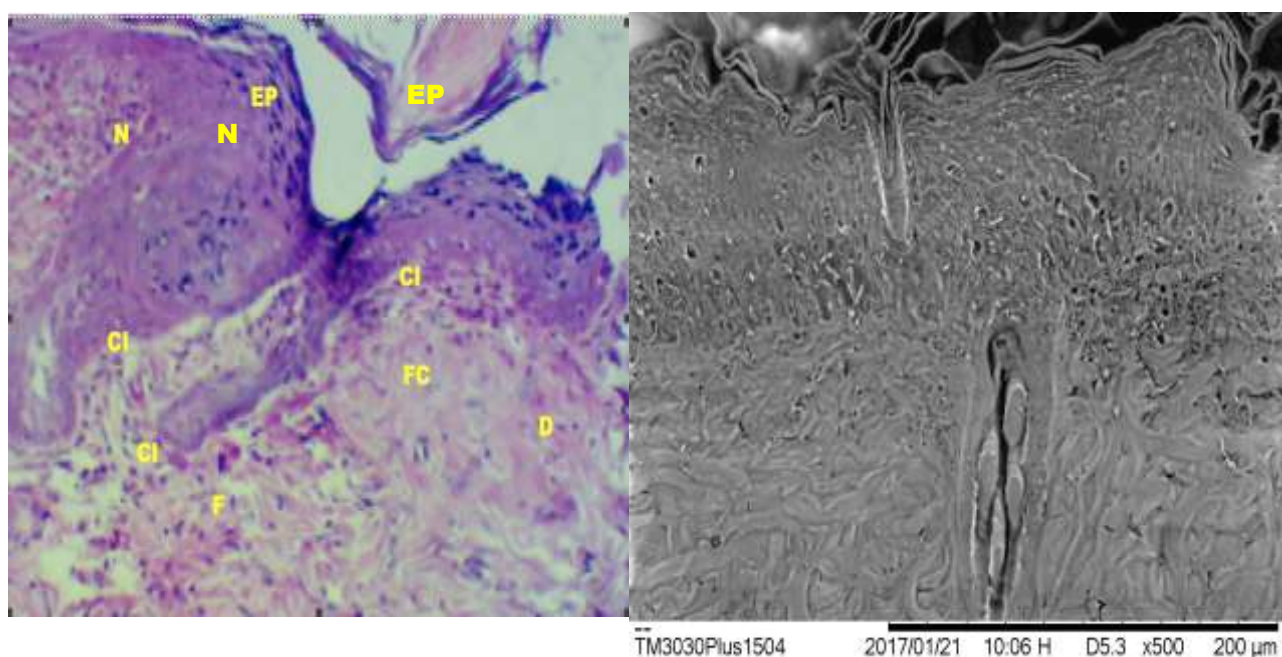


Figura 8. Fotomicrografias de microscopia óptica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE). EP: epiderme, D: derme, N: neovasos, CI: células inflamatórias, F: fibroblastos e FC: fibras colágenas. HE.10X e MEV 500X

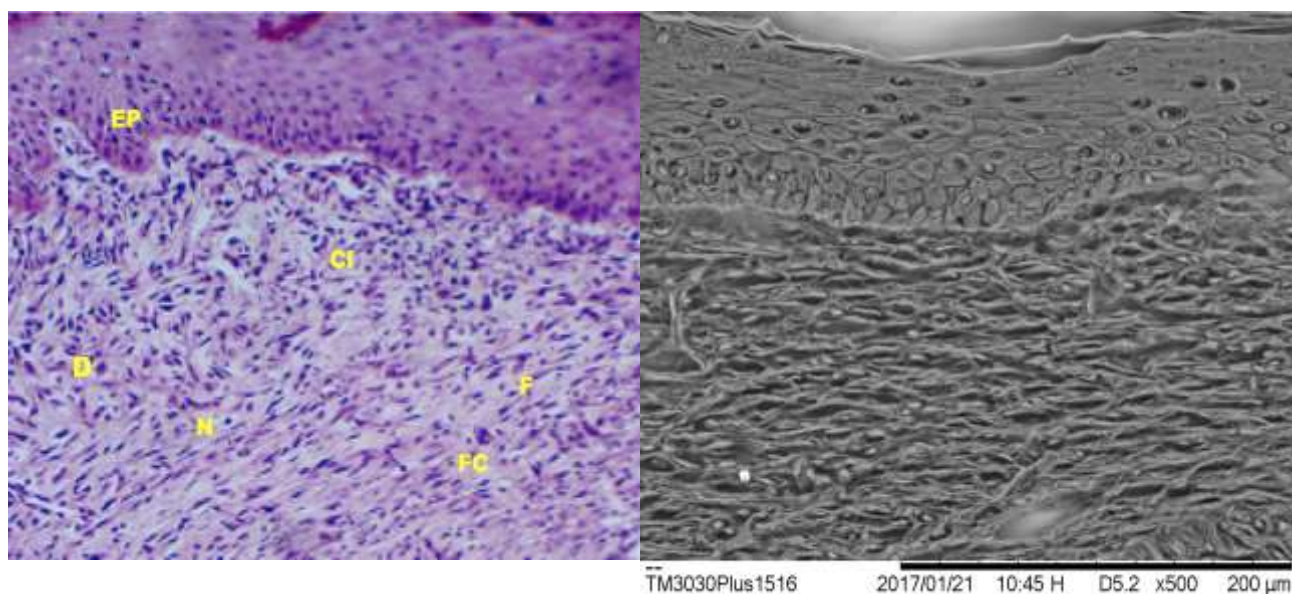


Figura 9. Fotomicrografias de microscopia optica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com Fibrinase® 100 U/kg (FIB). EP: epiderme, D: derme, N: neovasos, CI: células inflamatórias, F: fibroblastose FC: fibras colágenas. HE.10X e MEV 500X.

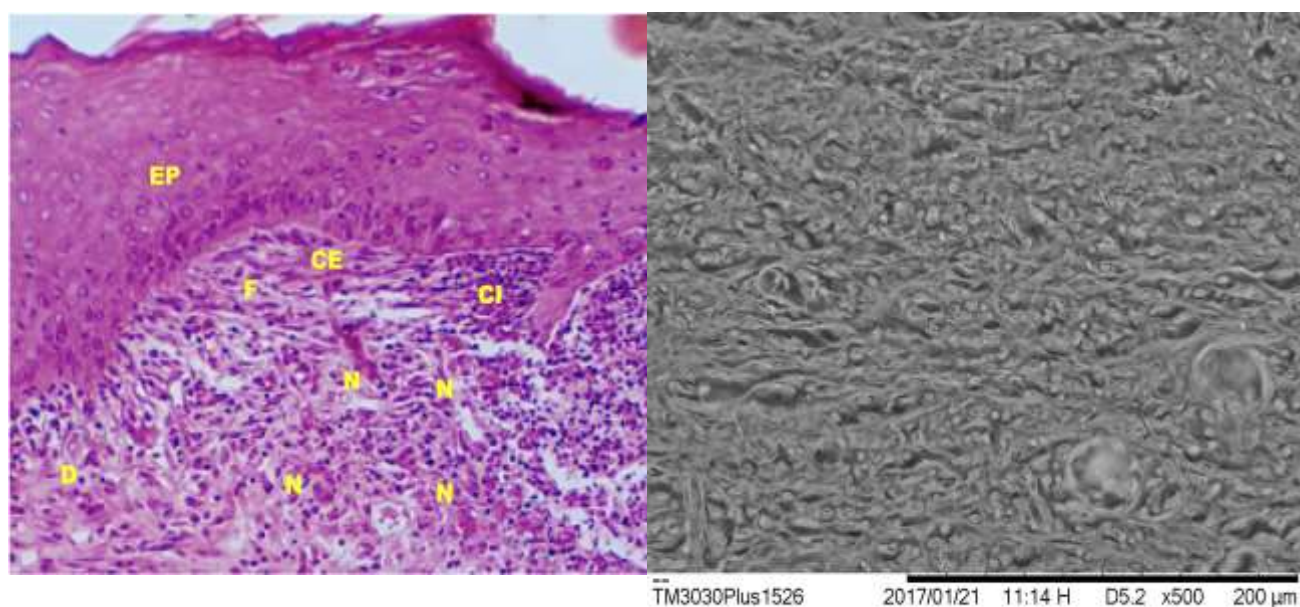


Figura 10. Fotomicrografias de microscopia optica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP). EP: epiderme, D: derme, CP: células epiteliais, N: neovasos, CI: células inflamatórias e F: fibroblastos. HE.10X e MEV 500X.

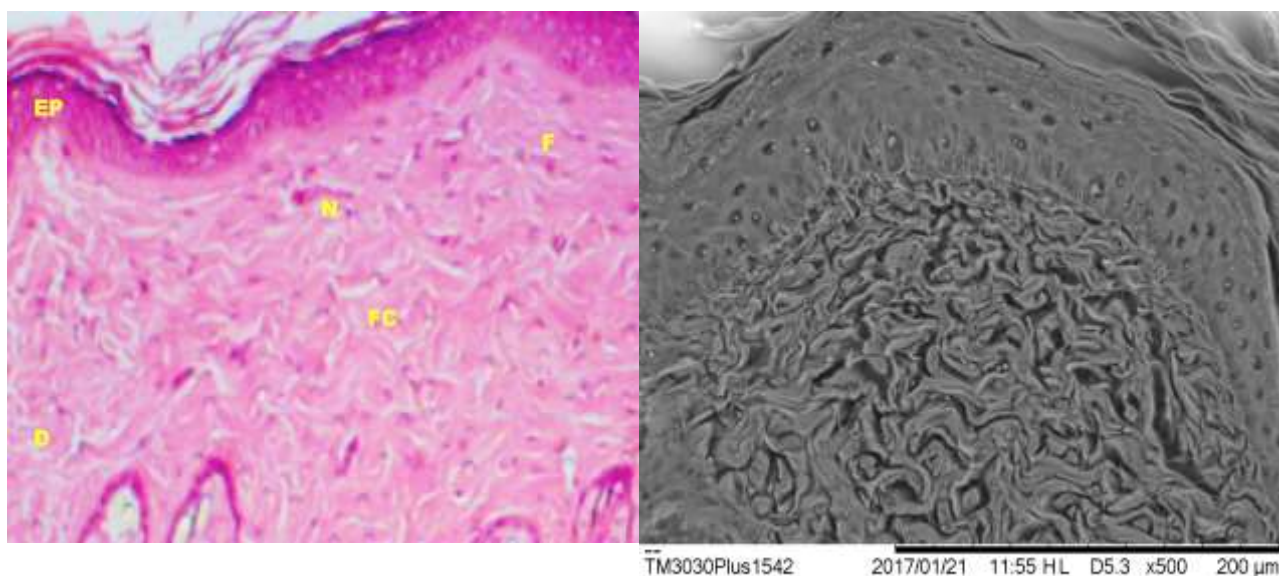


Figura 11. Fotomicrografias de microscopia optica e eletrônica de varredura da ferida do grupo tratado com extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP). EP: epiderme, D: derme, N: neovasos, F: fibroblastos e FB: fibras colágenas. HE.10X e MEV 500X.

O processo inflamatório começa imediatamente após a lesão tecidual com a agregação plaquetária e a coagulação, que reestabelecem a hemostasia e formam uma barreira contra a invasão de microrganismos, em seguida a liberação de citocinas, mediadores pró-inflamatórios que levam à produção de eicosanoides e a liberação de substâncias vasodilatadoras como histamina e bradicinina promovem à migração de células inflamatórias para o local da ferida. Os neutrófilos e macrófagos vão para o local da ferida e realizam a fagocitose de microorganismos, materiais estranhos e tecido danificado. Uma vez que o local da ferida é limpo, os fibroblastos migram para iniciar a formação do tecido e depositar a nova matriz extracelular (DIEGELMANN; EVANS 2004; LODHI et al., 2016; ZHANG et al., 2016).

Na análise microscópica quantitativa do número de células inflamatórias nas feridas, observou-se que o grupo tratado com GVE apresentou o maior valor médio com $17,8 \pm 2,37$ células/campo, e quando comparado aos outros grupos o resultado é estatisticamente de extrema significância ($p < 0.001$). O grupo tratado com GPP apresentou média de $12,12 \pm 1,6$ células/campo, valor superior e extremamente significativo ($p < 0.001$) quando comparado com os valores registrados nos grupos tratados com FIB ($5,9 \pm 1,14$) e EPP ($4,1 \pm 1,88$) (Tabela 2 e Figuras 12 e 13).

Tabela 2. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre as células inflamatórias de feridas cutâneas em ratos Wistar.

<i>Animais</i>	<i>GVE</i>	<i>FIB</i>	<i>GPP</i>	<i>EPP</i>
R1	15.9	7	12	5
R2	20.5	4,5	14.5	2,5
R3	17.2	6	11	7
R4	17.4	7	14	3
R5	16.7	5	11.5	3
Média±dp	17,8±2.37	5,9±1,14	12,12±1.6	4,1±1,88

Os números representam a presença de células inflamatórias nas feridas cutâneas dos grupos tratados com GVE, FIB, GPP e EPP. Media e desvio padrão (células/campo).

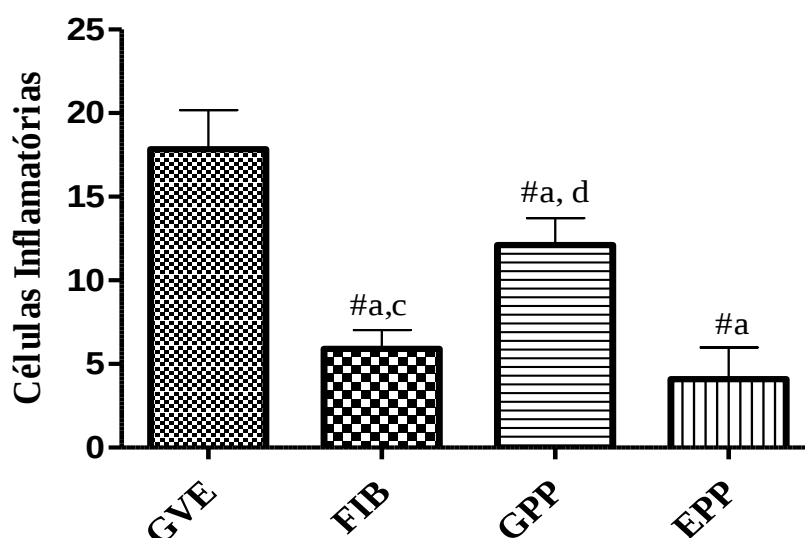


Figura 12. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre as células inflamatórias de feridas cutâneas em ratos wistar. As barras representam a média ± desvio padrão do número de células inflamatórias (células/campo) dos grupos tratados. Sendo que $p < 0.001$ representa resultado estatisticamente significante, onde: (a) comparado ao grupo GVE, (c) comparado ao grupo GPP e (d) comparado ao grupo EPP. ANOVA one-way seguido pelo teste de Tukey.

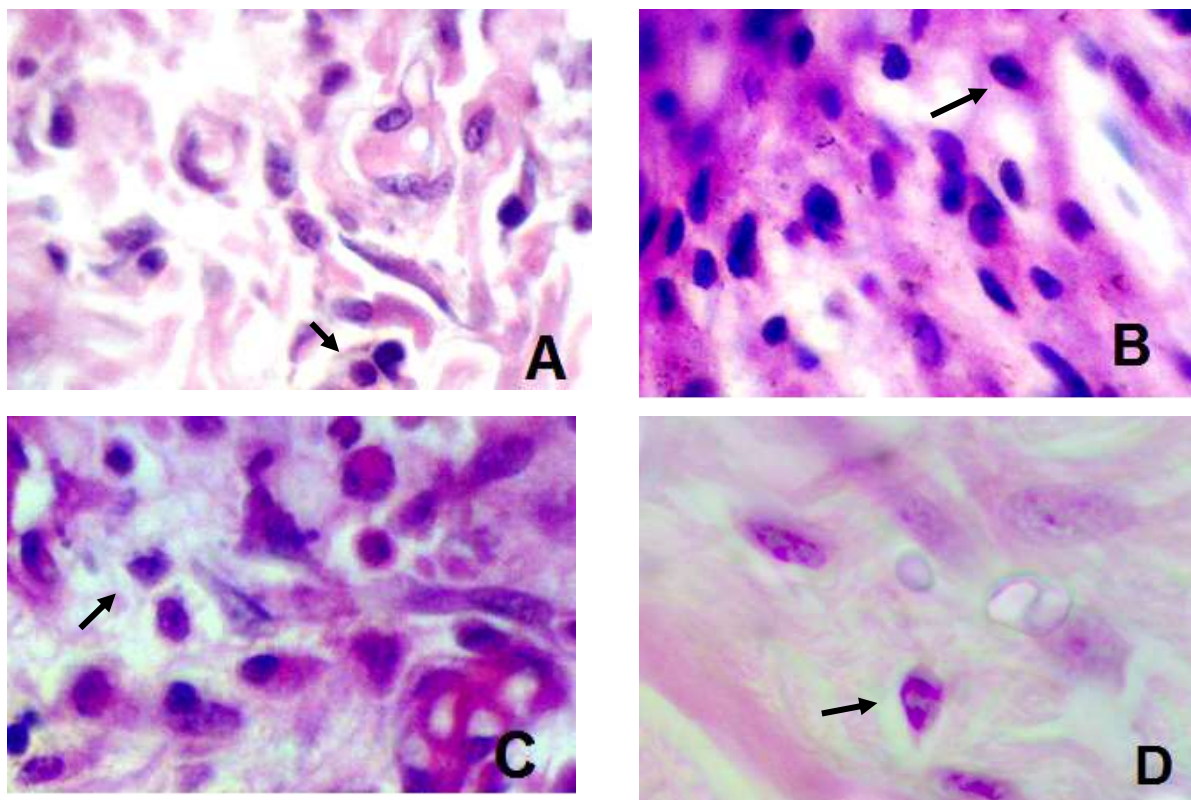


Figura. 13 - Fotomicrografia da derme apresentando as células inflamatórias após 7 dias de tratamento, Gel-veículo (150 mg/kg – GVE - **A**), Fibrinase® 100 U/kg (FIBF - **B**), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP - **C**) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP - **D**). Coloração H.E (100x). Setas pretas indicando células inflamatórias.

Os resultados evidenciam que os tratamentos com GPP, EPP e FIB foram bastante efetivos sobre a fase inflamatória do processo de cicatrização, uma vez que a redução de células inflamatórias no local da ferida interfere na proliferação de fibroblastos e consequentemente na formação do tecido de granulação. A ação das células inflamatórias em resposta ao trauma tecidual eleva as concentrações de espécies reativas de oxigênios (ROS). Nesse ponto, o processo de cicatrização da ferida pode ser dificultado pela presença de radicais livres que podem causar danos na reparação tecidual (HOUGHTON et al., 2005).

A angiogênese é uma das características histológicas mais importantes do tecido de granulação no processo de cicatrização da pele. A vascularização envolve a diferenciação e a proliferação de células endoteliais para formar neovasos que serão componentes de um novo sistema de vascularização. O processo estabelece uma importante base para a cicatrização de feridas, pois os novos vasos sanguíneos formados a partir de vasos pré-existentes, liberam oxigênio e nutrientes que são essenciais para reparo da ferida (BAUER et al., 2005; LI et al., 2011; OUDEGA, 2012).

No que se refere à análise microscópica quantitativa da angiogênese (**Tabela 3 e Figuras 14 e 15**), é possível observar que o grupo de animais tratados com GVE apresentou valor médio de $10,9 \pm 1,67$ vasos/campo, e quando comparado à média dos grupos GPP ($21,8 \pm 4,08$ vasos/campo) e EPP ($34,4 \pm 5,17$ vasos/campo), observa-se uma diferença estatística extremamente significativa com $p < 0.001$, no entanto, é notório que o resultado obtido no EPP é superior ao do GPP, uma vez que houve diferença significativa ($p < 0.001$) entre esses grupos. Já o grupo tratado com FIB, apesar de ter demonstrado aumento ($17,2 \pm 1,92$ vasos/campo), não apresentou diferença significativa em relação ao grupo GVE.

Tabela 3 - Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre a angiogênese de feridas cutâneas em ratos Wistar.

Animais	GVE	FIB	GPP	EPP
R1	12	16	20	28
R2	11	17	19	30
R3	13	15	20	36
R4	9	20	29	38
R5	9,5	18	21	40
Media± Dp	10,9±1,67	17,2±1,92	21,8±4,08	34,4±5,17

Os números representam a presença de angiogênese nas feridas cutâneas dos grupos tratados com GVE, FIB, GPP e EPP. Média e desvio padrão (número de vasos/campo).

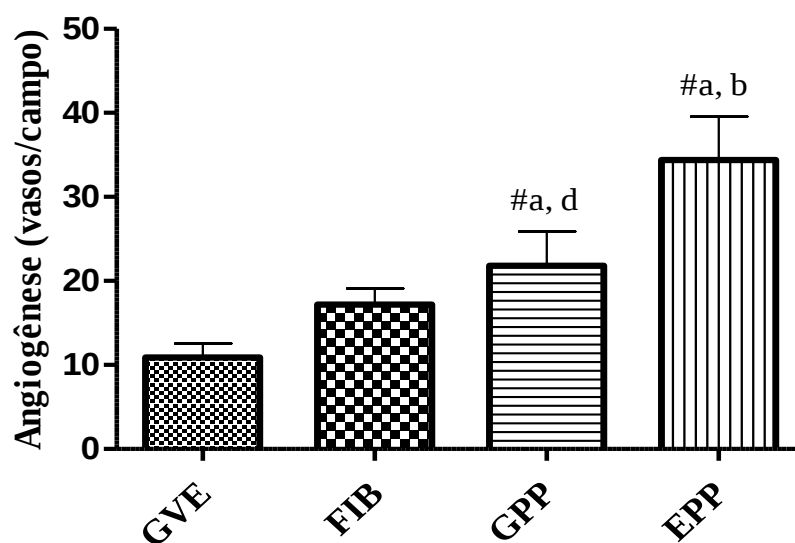


Figura 14. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre a angiogênese de feridas cutâneas em ratos Wistar. As barras representam a média $\pm$ desvio padrão do número de vasos/campo. $p < 0.001$ representa resultados estatisticamente significantes onde: (a) comparado ao grupo Gel-veículo, (b) comparado ao grupo Fibrinase e (d) comparado ao grupo extrato propilenoglicólico. ANOVA one-way seguido do teste de Tukey.

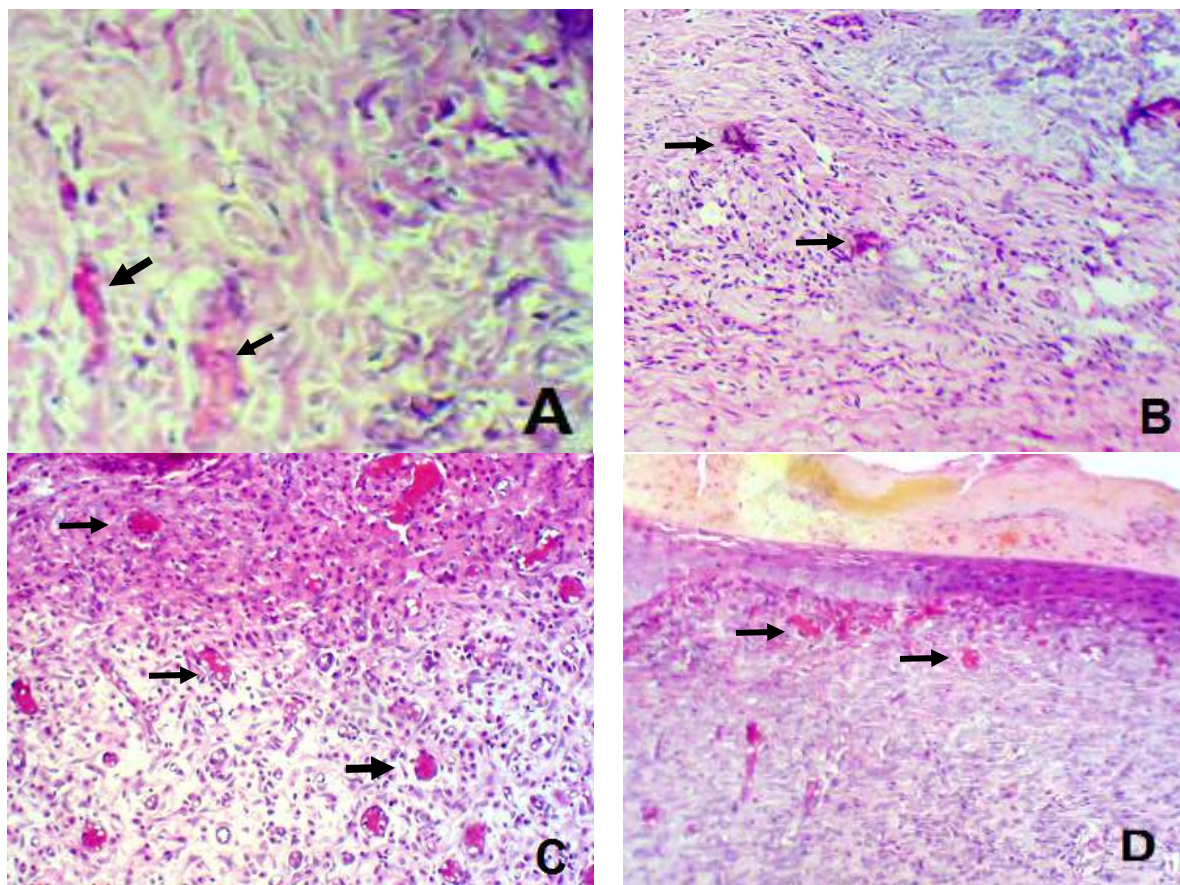


Figura 15. Fotomicrografia da derme apresentando a angiogênese após 7 dias de tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg – GVE - **A**), Fibrinase® 100 U/kg (FIB - **B**), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP - **C**) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP - **D**). Coloração H.E (100x). Setas pretas indicando formação de neovasos.

Em parte, o aumento significativo da angiogênese observadas nos grupos tratados com GPP e EPP, pode ser devido ao fato de que a neovascularização ocorre em resposta a fatores pró-angiogênicos, incluindo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), angiogenina e angiotropina liberados principalmente por células do sistema fagocitário (RISAU, 1997; GREAVES et al., 2013). A densa população de fibroblastos e células inflamatórias inseridas dentro da matriz de granulação observada nos grupos tratados pode contribuir para o aumento desses fatores e, dessa forma acelerar o processo angiogênico.

Quanto à da proliferação de fibroblastos, observou-se que o grupo tratado com FIB apresentou extrema significância ($p < 0.001$) em relação ao grupo GVE, com média de $43 \pm 7,87$ células/campo. Os grupos tratados com GPP e EPP também apresentaram valores significativos ($p < 0.05$) em relação ao grupo GVE, com médias de $28,42 \pm 2,87$ e $31,72 \pm 5,85$ células/campo, respectivamente (**Tabela 4 e Figuras 16 e 17**).

Tabela 4. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre fibroblastos de feridas cutâneas em ratos Wistar.

Animais	GVE	FIB	GPP	EPP
R1	15	53	24	37,5
R2	16	31	30,6	24,3
R3	22	43	30	37,5
R4	25,3	45	30,5	31,5
R5	19,5	43	27	27,8
Media±dp	19,56±4,25	43±7,87	28,42±2,87	31,72±5,85

Os números representam a presença de fibroblastos nas feridas cutâneas dos grupos tratados com GVE, FIB, GPP e EPP. Média e desvio padrão (células/campo).

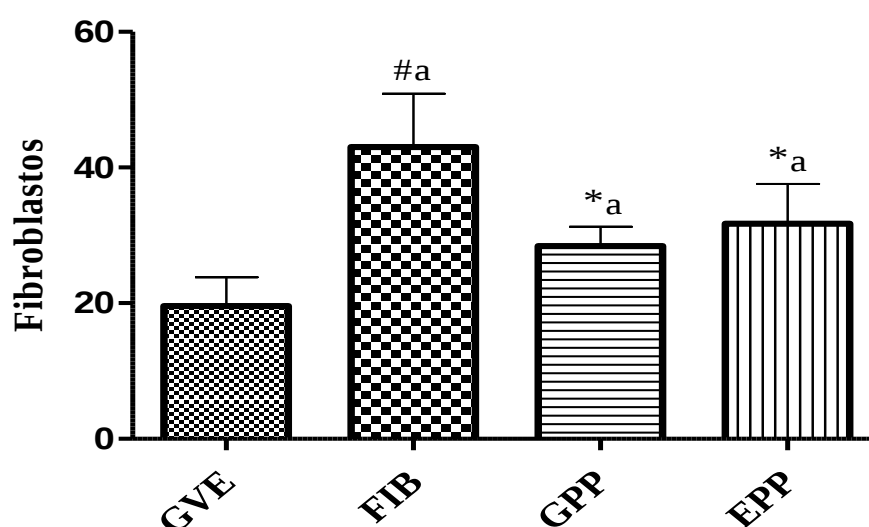


Figura 16. Efeito do tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg - GVE), Fibrinase® 100 U/kg (FIB), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP) sobre os fibroblastos de feridas cutâneas em ratos Wistar. As barras representam a média ± desvio padrão do número de fibroblastos/campo. $p < 0,001$ e $*p < 0,05$ representa resultados estatisticamente significantes onde: (a) comparado ao grupo Gel-veículo. ANOVA one-way seguido do teste de Tukey.

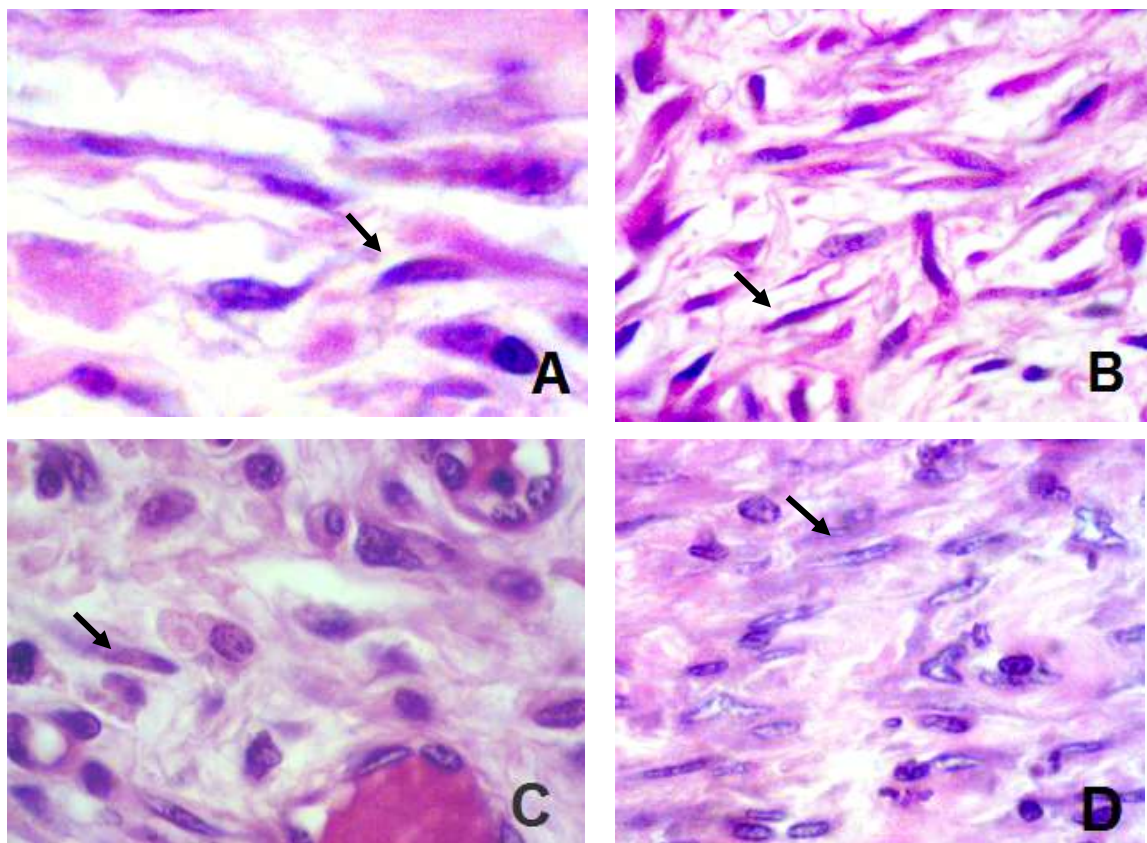


Figura 17. Fotomicrografia da derme apresentando a proliferação fibroblástica após 7 dias de tratamento com Gel-veículo (150 mg/kg – GVE - **A**), Fibrinase® 100 U/kg (FIB - **B**), Gel de *P. pilosa* (150 mg/kg - GPP - **C**) e extrato propilenoglicólico de *P. pilosa* (150 mg/kg - EPP - **D**). Coloração H.E (100x). Setas pretas indicando fibroblastos.

A fibroplasia é observada na fase proliferativa, em que ocorre a migração e proliferação de fibroblastos, assim como a produção de outros componentes que irão formar o tecido de granulação e logo em seguida o remodelamento da ferida (ISAAC et al., 2011). Diversos estudos descrevem que o potencial cicatrizante de plantas medicinais é acompanhado do aumento do número de fibroblastos e fibras colágenas no tecido de granulação (NITZ et al., 2006), fato este que pode ser observado nos grupos tratados tanto com o FIB quanto com o GPP e EPP.

Em estudos realizados por Silva et al., (2015) em que foi avaliado a atividade cicatrizante das espécies *Carapa guianensis* e *Orbignya phalerata*, foi possível também observar o aumento do número de fibroblastos associado à ação cicatrizante dessas espécies. Outros estudos relatam que a importância do número de fibroblastos está relacionada com fases posteriores à fase proliferativa, pois os fibroblastos assumem o fenótipo de miofibroblastos que possuem α -actina e, isso favorece a contração da ferida a partir do sexto dia de lesão (GURTNER et al., 2008; MACRI, CLARK, 2009; GREAVES et al., 2013).

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se sugerir as seguintes conclusões:

- a) O marcador fitoquímico relacionado com a atividade cicatrizante tópica da espécie vegetal *Portulaca pilosa* é o ácido gálico;
- b) O extrato proprilenoglicólico de *Portulaca pilosa* apresentou melhor resultado sobre o processo de cicatrização, em comparação com o gel de *Portulaca pilosa* 10%. Este fato pode estar relacionado com a interação farmacotécnica do gel base com o marcador fitoquímico ácido gálico, diminuindo a sua liberação;
- c) O extrato proprilenoglicólico de *Portulaca pilosa* modulou de maneira significativa a resposta inflamatória tecidual, já que apresentou baixo número de células inflamatórias no estudo histopatológico;
- d) O tratamento com o extrato proprilenoglicólico de *Portulaca pilosa* e o gel de *Portulaca pilosa* 10% estimulou de maneira significativa a angiogênese e esta resposta foi superior ao medicamento padrão utilizado fibrinase®;
- e) O tratamento com o extrato proprilenoglicólico de *Portulaca pilosa* e o gel de *Portulaca pilosa* 10% estimulou de maneira significativa a proliferação de fibroblastos;
- f) Os grupos experimentais que foram tratados com o extrato proprilenoglicólico de *Portulaca pilosa* e o gel de *Portulaca pilosa* 10% apresentaram padrão de organização da epiderme e derme melhor que o grupo controle, com leve processo inflamatório, com proliferação de fibroblasto e aumento da formação de fibras colágenas.

Assim sendo, a partir desse estudo inédito que descreve-se o marcador fitoquímico da espécie *P. pilosa* e, aliado aos achados macroscópicos e microscópicos desencadeados pelas aplicações tópicas do extrato proprilenoglicólico e o gel de *Portulaca pilosa* 10%, pode-se concluir que esta espécie vegetal apresenta atividade cicatrizante tópica, com grande potencial de uso, já que nesta ação farmacológica está associada uma possível atividade anti-inflamatória tópica.

REFERÊNCIAS

- ABDENNABI, R.; BARDAA, S.; MEHDI, M.; RATEB, M.E.; RAAB, A.; ALENEZIF, F.N.; SAHNOUN, Z.; GHARSALLAH, N.; BELBAHRI, L. *Phoenix dactylifera* L. sap enhances wound healing in Wistar rats: Phytochemical and histological assessment. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.88, p. 443–450, 2016.
- ABBOTT, J.R. **Tropicos.org. Jardim Botânico de Missouri**. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Image/100374388>. Acesso: 09/04/2015.
- ADIELE, L.C.; ADIELE, R.C.; ENYE, J.C. Wound healing effect of methanolic leaf extract of *Napoleona vogelii* (Family: Lecythidaceae) in rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** p.620-624, 2014. DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60104-8.
- ALVES A.S, PINHEIRO E.S.R, OLIVEIRA JÚNIOR A, PENA F.P.S, UDHE M - As dez plantas medicinais mais indicadas pelos curadores Tradicionais no estado do Amapá. **Revista de Ciências Agroveterinárias** V.5, n.2, 2006.
- ARDISSON, L., GODOY, J.S., FERREIRA, L. A. M., STEHMANN, J. R., BRANDÃO, M. G. L. Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.12, p:27-34, 2002.
- AGYARE, C; BOAKYE, Y.D, BEKOE, E.O; HENSEL, A; DAPAAH, S.O; APPIAH, T. Review: African medicinal plants with wound healing properties. **Journal of Ethnopharmacology**. v.177. p.85–100, 2016.
- ARO, A. A.; FREITAS, K. M.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; DOLDER, H.; GOMES, L.; VIDAL, B. C.; PIMENTEL, E. R. Effect of the *Arrabidaea chica* extract on collagen fiber organization during healing of partially transected tendo. **Life Sciences**. v. 92, n. 13, p. 799-807, 2013.
- ATIBA, A.; NISHIMURA, M.; KAKINUMA, S.; HIRAOKA, T.; GORYO, M.; SHIMADA, Y. *Aloe vera* oral administration accelerates acute radiation-delayed wound healing by stimulating transforming growth factor- β and fibroblast growth factor production. **Am J Surg**, v.201, n. 6, p. 809-18, 2011.
- BATISTA, E.K.F.; TRINDADE, H.I.T.; MAIA, F.S.P.; ARAÚJO, K.N.S.; SOUSA, J.M.; BATISTA, M.C.S. Avaliação macroscópica da atividade cicatrizante da planta *Luehea divaricata* (açoita-cavalo) na terapêutica tópica de feridas cutâneas. **Archives of Veterinary Science**. v. 20, n.4, p.26-35, 2015.
- BAUER, S.M.; BAUER, R.J.; VELAZQUEZ, O.C. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. **Vasc Endovasc Surg**, v.39, n. 4, p. 293–306, 2005.
- BAURIN, N., ARNOULT, E., SCIOR T., BERNARD Q.T.P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. **Journal of Ethnopharmacology**. V.82, p: 155-158, 2002.

Boletim Planfavi - Sistema de farmacovigilância em plantas medicinais. São Paulo. UNIFESP- Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Medicina Preventiva - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas. Nº 29, janeiro à março /2014.

BARUA, C. C.; BEGUM, S. A.; SARMA, D. K.; PATHAK, D. C.; BORAH, R. S. Healing efficacy of methanol extract of leaves of *Alternanthera brasiliana* Kuntze in aged wound model. **J Basic Clin Pharm.** v.3, n.4, p.341-345, 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos.** Distrito Federal: Gráfica e Editora Ideal Ltda. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **MS elabora Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção à Saúde. **Práticas Integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica.** Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BROUGHTON, G. 2ND; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. The basic science of wound healing. **Plast Reconstr Surg.** v. 117, n.7 Suppl, p.12S-34S, 2006.

BUENO, F.G.; PANIZZON, G.P.; MELLO, E.V.S.L.; LECHTENBERG, M.; PETEREIT, F.; MELLO, J.C.P.; HENSEL, A. Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from *Poincianella pluviosa* stem bark and its wound-healing properties: Phytochemical investigations and influence on in vitro cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. **Fitoterapia.** v. 99, p. 252–260, 2014.

BUENO, F. G.; MOREIRA, E. A.; MORAIS, G. R.; PACHECO, I. A.; BAESSO, M. L.; LEITE-MELLO, E.V.S.; MELLO, J. C. P. Enhanced Cutaneous Wound Healing In Vivo by Standardized Crude Extract of *Poincianella pluviosa*. **PLOS ONE.** v.11, n.3, 2016.

CALDAS, G.S; MORAES, M.S. **Desenvolvimento e produção piloto de fitoterápicos de partes aéreas de *Portulaca pilosa* L.** VI Jornada de plantas medicinais. São Pedro- SP, 2003.

CARVALHO, A.C.B. **Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies oficializadas do Brasil.** 2011. 318p. Tese. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde- UnB, Brasília.

CARVALHO, M. S. Evidências na utilização dos ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Ciências Biológicas e de Saúde Unit Aracaju.** v. 2, n.3, p. 55-64, 2014.

CHADWICK, P.; MCCARDLE, J. Exudate management using a gelling fibre dressing. **The Diabetic Foot Journal.** v.18, n. 1, p. 43-48, 2015.

CHILDS, D. R.; MURTHY A. S. Overview of Wound Healing and Management. **Surg Clin North Am.** V. 97, n.1, p. 189-207.2017.

COELHO, A. A. O.P; GIULIETTI, A. M. O gênero *Portulaca* L. (Portulacaceae) no Brasil. **Acta Bot. Bras.** V.24, n.3, p: 655-670, 2010.

CORREIA, A. F., SEGOVIA, J. F. O., GONÇALVES, M. C. A., DE OLIVEIRA, V. L., SILVEIRA, D., CARVALHO, J. C. T., KANZAKI, L. I. B. Amazonian plant crude extract screening for activity against multidrug-resistant bacteria, **European Review for Medical and Pharmacological Sciences.** v.12, p.369-380, 2008.

CSUPOR, D.; BLAZSÓ, G.; BALOGH, A.; HOHMANN, J. The traditional Hungarian medicinal plant *Centaurea Sadleriana* Janka accelerates wound healing in rats. **Journal Ethnopharmacology**, v. 127, p. 193-195, 2010.

DE BRITO JUNIOR, L. C.; DE LUCENA FERREIRA, P. Cicatrização de feridas contaminadas tratadas com papaína. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 48, n. 2, p. 168-174, 2015.

DIEGELMANN, R.F.; EVANS. M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Front Biosci**, v. 9, p. 283–289, 2004.

DI-NARDI, A. B.; RODASKI, S.; SOUZA, R. S.; BAUDI, D.L.K.; CASTRO, J.H.T. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácidos graxos , vitamina A e E, lecitina de soja e Iodo polivinilpirrolidona em cães. **Archives of veterinary Science.** v.9, n. 1, p.1-16, 2004.

DWIVEDI, D.; DWIVEDI, M.; MALVIYA, S; SINGH, V. Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine.** v. xxx, p.1-7, 2016.

ESTEVAO, L.R.M; MEDEIROS, J.P; SCOGNAMILLO-SZABÓ, M.V.R; BARATELLA-EVÊNCIO, L; GUIMARÃES, E.C; CÂMARA, C. A. G; EVÊNCIO-NETO, J. Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. **Pesquisa agropec. bras.**, Brasília , v. 44, n. 4, p. 406-412, 2009 .

FIRMO, W.C.A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de Pesquisa**, São Luís - MA, v. 18, n. especial, dez. 2011.

GARCIA, R. F; YAMAGUCHI, M.H. Óleo de copaíba e suas propriedades medicinais: revisão bibliográfica. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, n. 1, p. 137-146, jan./abr. ISSN 1983-1870, 2012.

GREAVES, N.S.; ASHCROFT, K. J.; BAGUNEID, M.; BAYAT, A. Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. **Journal of Dermatological Science**, v. 72, p. 206–217, 2013.

GURTNER, G.C.; WERNER, S.; BARRANDON, Y.; LONGAKER, M.T. Wound repair and regeneration. **Nature** v. 453, n.7193, p.314–21, 2008.

HOUGHTON, P.J.; HYLANDS, P.J.; A.Y. MENSAHB, A.Y.; HENSEL, A.; DETERS, A.M. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example **J Ethnopharmacol**, v. 100, p. 100–107, 2005.

HEUGHAN, C.; HUNT, T. K. Some aspects of wound healing research: a review. **Can J Surg**. v.18, n.2, p. 118-126, 1975.

ISAAC C.; LAMEIRA, P.R.S.; REGO, F.M.P.; ALDUNATE, J.C.B; FERREIRA M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista Med (São Paulo)**. v.89, n.3/4, p:125-31, 2010.

ISAAC C.; PAGGIARO A. O.; CONDUTA J. L.; ALDUNATE B.; HERSON M. R.; ALTRAN S. C.; MATHOR M. B.; FERREIRA M. C. Papel do queratinócito na contração da ferida: avaliação de impacto usando um modelo de matriz de colágeno povoada por fibroblastos. **Revista Brasileira Cirurgia Plástica**. v.26, n.3, p: 402-6, 2011.

JUNQUEIRA, L.C.U. CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KIM, B.J.; CHEONG, H.; CHOI, E.S.; YUN, S.H.; CHOI, B.H.; PARK, K.S.; KIM, I.S.; PARK, D.H.; CHA, H.J. Accelerated skin wound healing using electrospun nanofibrous mats blended with mussel adhesive protein and polycaprolactone. **J Biomed Mater Res A**. v. 105, n.1, p.218-225, 2017.

KOBAYASHI, Y. T. S; ALMEIDA, V.T.; BANDEIRA, T.; ALCÂNTARA, B. N; SILVA A. S. B.; BARBOSA, W. L. R; SILVA, P. B.; MONTEIRO, M.V.B.; ALMEIDA, M. B. Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Brasil, v. 52, n. 1, p. 34-40, 2015.

LAUREANO, A., RODRIGUES A. M. Cicatrização de Feridas. **Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia**. v.69, n.3, 2011.

LEITE, A.P; OLIVEIRA, B.G.R.B; SOARES, M.F; BARROCAS, D.L. R. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, Porto Alegre, v. 33, n. 3, p. 198-207, 2012.

LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clin Dermatol**. v.25, n.1, p: 9-18, 2007.

LI, K; DIAO, Y; ZHANG H, WANG, S; ZHANG, Z, YU, B; HUANG, S; YANG, H. Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine** 2011.

LIMA, A. **Plantas medicinais no tratamento de feridas**. Rio de Janeiro: EPUB, 2009.

LODHI, S.; JAIN, A.P.; RAI, G.; YADAV, A.K. Preliminary investigation for wound healing and anti-inflammatory effects of *Bambusa vulgaris* leaves in rats. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 7, n. 1, p.14–22, 2016.

LORDANI, T. V.; BREZAN, M. A.; CORTEZ, L. E.; LORDANI, C. R.; HONDA, P. A. LONARDONI, M. V.; CORTEZ, D. A. Effect of a topical formulation containing *Calophyllum brasiliense* Camb. extract on cutaneous wound healing in rats. **Nat Prod Res.** v. 29, n.10, p. 953-957, 2015.

MACRI, L.; CLARK, R.A.F. Tissue engineering for cutaneous wounds: selecting the proper time and space for growth factors, cells and the extracellular matrix. **Skin Pharmacol Physiol** v. 22, n. 2, p.83-93, 2009.

MANDELBAUM, S. H. DI SANTIS, É. P. MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia.** Rio de Janeiro, v.78, n.4, p:393-410, 2003.

MANN, J.; TRUSWELL, A.S. **Nutrição humana.** Tradução por Carlos Henrique Cosendey *et al.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

MAYET, N; CHOONARA, Y.E; KUMAR, P; TOMAR, L.K; TYAGI C; TOIT L. C. D; PILLAY, V. A Comprehensive Review of Advanced Biopolymeric Wound Healing Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences.** v.103, p:2211-2230, 2014.

MENDES, L.P.M; MACIEL, K.M; VIEIRA, A.B.R; MENDONÇA, L.C.V; SILVA, R.M.F; ROLIM NETO, P.J; BARBOSA, W.L.R; VIEIRA, J.M.S. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.** ISSN 1808-4532 .v.32, n.1, 2011.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Antimicrobial activity of the oil-resin produced by copaiba *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). Brazilian **Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.2B, p.577-581, 2009.

MENDONÇA R. J., COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiro de Dermatologia.**v.84, n.3, p:257-62, 2009.

NAYAK, S. B.; RODRIGUES, V.; MAHARAJ, S.; BHOGADI, V.S. Wound healing activity of the fruit skin of *Punica granatum*. **J Med Food.** v.16. n.9, p.857-861, 2013.

NITZ, A.C.; ELY, J.B.; D'ACAMPORA, A.J.; TAMES, D.R.; CORRÊA, B.P. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopus didymus* e *Calendula officinal*. **Arq Catarin Med.** v.35, n.4, p.74-9, 2006.

OLIVEIRA, A.F.; BATISTA, J.S.; PAIVA, E.S.; SILVA, A.E.; FARIAS, Y.J.M.D.; DAMASCENO, C.A.R.; BRITO, P.D.; QUEIROZ, S.A.C.; RODRIGUES, C.M.F.; FREITAS, C.I.A. Avaliação da atividade cicatrizante do jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *ferrea*) em lesões cutâneas de caprinos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.3, p.302-310, 2010.

OLIVEIRA, I.V.P.M; DIAS, R.V.C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p.267-271, 2012.

OUDEGA, M. Molecular and cellular mechanisms underlying the role of blood vessels in spinal cord injury and repair. **Cell Tissue Research.** p.349- 369, 2012.

PANIZZA, S.T.; VEIGA, R.S.; ALMEIDA, M. **Uso tradicional de plantas medicinais e fitoterápicos**. São Luis- MA: CONBRAFITO, 2012.

PARENTE, L.M.L.; SILVA, M.S.B.; BRITO, L.A.B.; LINO-JÚNIOR, R.S.; PAULA, J.R.; TREVENZOL, L.M.F.; ZATTA, D.T.; PAULO, N.M. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.** v.11, n.4, p.383-391, 2009.

PASTAR, I.; STOJADINOVIC, O.; YIN, N. C.; RAMIREZ, H.; NUSBAUM, A. G.; SAWAYA, A.; PATEL, S. B. KHALID, L. ; ISSEROFF, R. R.

TOMIC-CANIC, M. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. **Adv Wound Care (New Rochelle)**. v.3, n.7, p.445-464.

PAWAR, R.S.; CHAURASIYA, P.K.; RAJAK, H.; SINGOUR, P.K.; TOPPO, F.A.; JAIN, A. Wound healing activity of *Sida cordifolia* Linn. in rats. **Indian J Pharmacol.** v. 45, n.5, p. 474–478, 2013.

PINTO, S. C.; BUENO, F. G.; PANIZZON, G. P.; MORAIS, G.; DOS SANTOS, P. V.; BAESSO, M. L.; LEITE-MELLO, E. V.; DE MELLO, J. C. *Stryphnodendron adstringens*: clarifying wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. **Planta Med.** v. 81, n.12-13, p.1090-1096, 2015.

PORTH, C. M; MATFIN, G. Fisiopatologia. 8ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

PORTULACEAE in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/>. Acesso:10/01/2017.

RAMSEY, D.T; POPE, E.R.; WAGNER-MANN, C.; BERG, J.N.; SWAIM, S.F. Effects of three occlusive dressing materials on healing of fullthickness skin wounds in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n.7, p.941-949, 1995.

RISAU, W. Mechanisms of angiogenesis. **Nature**; v. 386, n.6626, p.671–4. 1997.

ROAN, J. N; HAN-NI, C; CHAO-CHUNG, Y. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 analogue, accelerates diabetic wound healing. **J Surg Res.** V. 208, p. 93-103, 2017.

ROUHOLLAHI, E.; MOGHADAMTOUSI, S.Z.; HAJIAGHAALIPOUR, F.; ZAHEDIFARD, M.; TAYEBY, F.; AWANG, K.; ABDULLA, M.A.; MOHAMED, Z.; *Curcuma purpurascens* BI. rhizome accelerates rat excisional wound healing: involvement of Hsp70/Bax proteins, antioxidant defense, and angiogenesis activity. **Drug Des Devel Ther.** V.9, p. 5805-5813, 2015.

SAINI, S; DHIMAN, A.; NANDA S. Traditional indian medicinal plants with potential wound healing activity: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**; Vol. 7, n.5, p: 1809-1819, 2016.

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; FILHO, J. L. L.; LEÃO, A. M. A. C.; PORTO, A. L. F. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do

processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.1, p.149-154, jan-fev, 2006.

SHAILAJAN, S.; GURJAR, D. Wound healing activity of *Chrysophyllum cainito* L. leaves: Evaluation in rats using excision wound model. **J Young Pharm.**v. 8, n.2, p: 96-103, 2016.

SHIMIZU, N.; ISHIDA, D.; YAMAMOTO, A.; KUROYANAGI, M.; KUROYANAGI, Y. Development of a functional wound dressing composed of hyaluronic acid spongy sheet containing bioactive components: evaluation of wound healing potential in animal tests. **J Biomater Sci Polym Ed.** v. 25, n.12, p.1278-1291, 2014.

SHIVHARE, Y.; SINGOUR, P. K.; PATIL, U. K.; PAWAR, R. S. Wound healing potential of methanolic extract of *Trichosanthes dioica* Roxb (fruits) in rats. **J Ethnopharmacol.** v.127, n.3, p.614-619, 2010.

SILVA, S. R; BUITRÓN, OLIVEIRA, L. H; MARTINS, M. V. **Plantas medicinais do Brasil:** aspectos gerais sobre legislação e comércio. TRAFFIC América do Sul-IBAMA. Quito, Equador. 44 p, 2001.

SILVA, C. E. S.; SANTOS, O. J.; RIBAS-FILHO, J M.; TABUSHI, F. I.; KUME, M. H.; L. JUKONIS, B.; CELLA, I. F. Efeito da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) e *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização de colorrafias em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.** V.42, n.6, p. 399-406, 2015

SILVA, C.T.L. **Avaliação da Atividade Biológica in vitro e in vivo do extrato hidroalcoólico das sementes de *Vatairea guianensis* Aubl.** 2011. 118f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará. 2011. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/5617>. Acesso:09/04/2015.

SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G... [et al]. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6ª. Edição. Porto Alegre: Editora da UFRS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2001.

SNEHA, B; GANGA RAJU, M.; BABU, V. Wound healing activity of aqueous extract of *leptadenia reticulata* in wistar albino rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.** Vol. 7, n.3, p:1240-1244, 2016.

SPEAR, M. Wound Exudate - the good, the bad and the ugly. **Plastic Surg Nurs.** v.32, p. 77–9, 2012.

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**, v. 28, n.2, p.221-226, ISSN 1808-4532, 2007.

SUNTAR, I.P.; AKKOL, E.K.; YILMAZER, D.; BAYKAL, T.; KIRMIZIBEKMEZ, H.; ALPER, M.; YEŞİLADA, E. Investigations on the in-vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. **J Ethnopharmacol**, v. 127, p.468–477, 2010.

TAKAHASHI, M.; KITAMOTO, D.; ASIKIN, Y.; TAKARA, K.; WADA, K. Liposomes encapsulating *Aloe vera* leaf gel extract significantly enhance proliferation and collagen synthesis in human skin cell lines. **Journal of Oleo Science**, v. 58, n. 12, p. 643-650, 2009.

TARAMESHLOO, M.; NOROUZIAN, M.; ZAREIN-DOLAB, S.; DADPAY, M.; GAZOR, R.A. Comparative study of the effects of topical application of *Aloe vera*, thyroid hormone and silver sulfadiazine on skin wounds in Wistar rats. **Laboratory Animal Research**, v. 28, n. 1, p. 17-21, 2012.

TAZIMA, M.F.G.S; VICENTE, Y.A.M.V.A.; MORIYA T. **Biologia da ferida e cicatrização**. Medicina (Ribeirão Preto). v. 41, n.3, p: 259-64, 2008.

THAKUR, R; JAIN. N., PATHAK, R, SANDHU S. S. Practices in Wound Healing Studies of Plants. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. Hindawi Publishing Corporation. V.2011 (2011), Article ID 438056, 17 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2011/438056>. Acesso:15/04/2015.

UDEGBUNAM, S. O.; UDEGBUNAM, R. I.; MUOGBO, C. C; ANYANWU, M. U.; NWAEHUJOR, C. O. Wound healing and antibacterial properties of methanolic extract of *Pupalia lappacea* Juss in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v.14, p.157, 2014.

UPADHYAY, A.; CHATTOPADHYAY, P.; GOYARY, D.; MAZUMDER, P. M.; VEER, V. Eleutherine indica L. accelerates in vivo cutaneous wound healing by stimulating Smad-mediated collagen production. **J Ethnopharmacol**. v.146, n.2, p. 490-494, 2013.

VIEIRA, L.S. **Manual da medicina popular: a fitoterapia da Amazônia**. Belém. FCAP, 1991.

VIEIRA, R. C., BOMBARDIERE, E., OLIVEIRA, J. J., LINO J. R. R. S., BRITO, L. A. B., JUNQUEIRA-KIPNIS, A. P. Influence of *Copaifera langsdorffii* oil on the repair of a surgical wound in the presence of foreign body. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.28, p.358-366, 2008.

YANG, H.L.; TSAI, Y.C.; KORIVI, M.; HSEU, Y.C. Lucidone Promotes the Cutaneous Wound Healing Process via Activation of the PI3K/AKT, Wnt/beta-catenin and NF-kappaB Signaling Pathways. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**. v.1864, n1, p.151-168, 2017.

YANG, D.J.; MOH, S.H.; SON, D.H.; YOU, S.; KINYUA, A.W.; KO, C.M.; SONG, M.; YEO, J.; CHOI, Y.H.; KIM, K.W. Gallic Acid Promotes Wound Healing in Normal and Hyperglucidic Conditions. **Molecules**. v. 21, n.7, 2016.

YU, M.; J. Y. LEE. Polydeoxyribonucleotide improves wound healing of fractional laser resurfacing in rat model. **J Cosmet Laser Ther**. p. 1-6, 2016.

ZEKAVAT, O.; AMANAT, A.; KARAMI, M; PAYDAR, S.; GRAMIZADEH, B.; ZAREIAN-JAHROMI, M. Wound healing studies using *punica granatum* peel: an animal experimental study. **Adv Skin Wound Care**. V.29, n.5, p.217-25, 2016.

ZHANG, Y.; LI, L.; LIU, Y.; LIU, Z.R. PKM2 released by neutrophils at wound site facilitates early wound healing by promoting angiogenesis. **Wound Repair Regen**, v. 24, n.2, p.328-336, 2016.

ZHANG, Y.; MCCLAIN, S. A.; LEE, H. M.; ELBURKI, M. S.; YU, H.; GU, Y.; WOLFF, M.; JOHNSON, F.; GOLUB, L. M. A Novel Chemically Modified Curcumin "Normalizes" Wound-Healing in Rats with Experimentally Induced Type I Diabetes: Initial Studies. **J Diabetes Res**. v. 2016, ID 5782904, 11 p., 2016.

ZIELINS, E.R.; ATASHROO, D. A.; MAAN, Z. N.; DUSCHER, D.; WALMSLEY, G. G.; HU, M. SENARATH-YAPA, K.; MCARDLE, A.; TEVLIN, R.; WEARDA, T.; PAIK, K. J.; DULDULAO, C.; HONG, W. X.; GURTNER, G. C.; LONGAKER, M. T. Wound healing: an update. **Regen Med**. v.9, n.6, p. 817-830, 2014.

ZOUARI, R.; MOALLA-REKIK, D.; SAHNOUN, Z.; REBAI, T.; ELLOUZE-CHAABOUNI, S.; GHRIBI-AYDI, D. Evaluation of dermal wound healing and in vitro antioxidant efficiency of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant. **Biomed Pharmacother**. V. 84, p. 878-891, 2016.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UNIFAP

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá **APROVOU**, na reunião de 01 de junho de 2015, o parecer referente ao protocolo no. **0016/2015** e certifica que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Avaliação da atividade cicatrizante e toxicológica não-clínica do gel de *Portulaca pilosa* em ratos"** coordenado por **Albenise Santana Alves Barros**, está de acordo com os princípios de ética e bem estar animal.

CERTIFICATE

The Ethics Committee on Animal Use of the Amapá Federal University **APPROVED** at the meeting of 01 July 2015, the final decision about the Protocol **0016/2015** and certify that the research project entitled **"Avaliação da atividade cicatrizante e toxicológica não-clínica do gel de *Portulaca pilosa* em ratos"** coordinated by **Albenise Santana Alves Barros**, is in accordance with the principles of ethics and animal welfare.

Macapá, 01 de julho de 2015


Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
Presidente CEUA-UNIFAP
Port. No. 1733/2014

Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA – UNIFAP
Rod. Juscelino Kubitschek, km 02 – Campus Marco Zero,
Macapá - AP, 68903-419 e-mail: famacos@unifap.br
Fone (95)4009-2607

ANEXO 2

BMC Complementary and Alternative Medicine

Study of the non-clinical healing activities of the extract and gel of *Portulaca pilosa* L. in skin wounds in wistar rats
 –Manuscript Draft–

Manuscript Number:		
Full Title:	Study of the non-clinical healing activities of the extract and gel of <i>Portulaca pilosa</i> L. in skin wounds in wistar rats	
Article Type:	Research article	
Section/Category:	Basic Research	
Funding Information:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (407768/2013-0)	Dr Jose Carlos Tavares Carvalho
Abstract:	Background: <i>Portulaca pilosa</i> L., belonging to the family <i>Portulacaceae</i>, is a common herbaceous plant in the Americas and in the Amazon, is popularly known as love-grown and is traditionally used as an aid in the treatment of burns, buds, insect bites and wound healing. This study aims to evaluate the non-clinical topical healing activity of the <i>P. pilosa</i> gel (GPP) and the propyleneglycol extract of <i>P. pilosa</i> (EPP) in Wistar rats. Methods: For the healing activity, wistar rats were divided into the following groups: negative control (GVE - vehicle, 150 mg/kg), positive control (Fibrinase®- FIB, 100 U/kg), <i>Portulaca pilosa</i> gel 10%, (GPP, 150 mg/kg), and propyleneglycolic extract of <i>Portulaca pilosa</i> (EPP, 150 mg/kg), which were submitted to a surgical procedure to obtain the wounds, and were treated topically for 7 days. After treatment, the treated area was removed and a histopathological analysis was performed. Results: The EPP when analyzed in HPLC was able to identify the presence of gallic acid. EPP significantly modulated the tissue inflammatory response, presenting low number of inflammatory cells in the histopathological study. Treatment with EPP and GPP significantly stimulated angiogenesis and this response was superior to the fibrinase® group. Treatment with EPP and GPP significantly stimulated the proliferation of fibroblasts. The groups treated with EPP and GPP presented an organization pattern of the epidermis and dermis better than the control group, with a mild inflammatory process, with fibroblast proliferation and increased formation of collagen fibers. Conclusion: Thus, from the results obtained it can be suggested that the phytochemical marker of the <i>P. pilosa</i> species for healing activity is gallic acid and, together with the macroscopic and microscopic findings triggered by the topical applications of EPP and GPP, it can be concluded that this plant species has topical healing activity, with great potential for use, since this pharmacological action is associated with a possible topical anti-inflammatory activity.	
Corresponding Author:	Jose Carlos Tavares Carvalho, PhD Universidade Federal do Amapá Macapá, AP BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal do Amapá	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Jose Carlos Tavares Carvalho, PhD	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Jose Carlos Tavares Carvalho, PhD Albenise Santana Alves Barros, PhD Student Helson Oliveira Carvalho, PhD Student	

	Igor Victor Ferreira dos Santos, PhD Student
	Talisson Taglialegna, Student
	Tafnis Ingrid dos Santos Sampaio, PhD Student
	Jonatas Lobato Duarte, PhD Student
	Caio Pinho Fernandes, PhD
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	Leandro Macahado Rocha, PhD Full Professor, Universidade Federal Fluminense lean.machado@gmail.com He is expert in pharmacognosy and experimental research.

Study of the non-clinical healing activities of the extract and gel of *Portulaca pilosa* L. in skin wounds in wistar rats

Albenise Santana Alves Barros¹, Helison Oliveira Carvalho², Igor Victor Ferreira dos Santos^{1,2}, Talisson Taglialegna³, Tainis Ingrid dos Santos Sampaio^{1,2}, Jonatas Lobato Duarte², Caio Pinho Fernandes¹, Jose Carlos Tavares Carvalho^{1,2*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacológicas, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá

²Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Curso de Farmácia, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá

³Laboratório de Nanobiotecnologia Fitofarmacológica, Curso de Farmácia, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá

*Corresponding author: farmacos@unifap.br

Abstract

Background: *Portulaca pilosa* L., belonging to the family Portulacaceae, is a common herbaceous plant in the Americas and in the Amazon, is popularly known as love-grown and is traditionally used as an aid in the treatment of burns, buds, insect bites and wound healing. This study aims to evaluate the non-clinical topical healing activity of the *P. pilosa* gel (GPP) and the propyleneglycol extract of *P. pilosa* (EPP) in Wistar rats.

Methods: For the healing activity, wistar rats were divided into the following groups: negative control (GVE - vehicle, 150 mg/kg), positive control (Fibrinase[®]- FIB, 100 U/kg), *Portulaca pilosa* gel 10%, (GPP, 150 mg/kg), and propyleneglycolic extract of *Portulaca pilosa* (EPP, 150 mg/kg), which were submitted to a surgical procedure to obtain the wounds, and were treated topically for 7 days. After treatment, the treated area was removed and a histopathological analysis was performed.

Results: The EPP when analyzed in HPLC was able to identify the presence of gallic acid. EPP significantly modulated the tissue inflammatory response, presenting low number of inflammatory cells in the histopathological study. Treatment with EPP and GPP significantly stimulated angiogenesis and this response was superior to the fibrinase[®] group. Treatment with EPP and GPP significantly stimulated the proliferation of fibroblasts. The groups treated with EPP and GPP presented an organization pattern of the epidermis and dermis better than the control group, with a mild inflammatory process, with fibroblast proliferation and increased formation of collagen fibers.

Conclusion: Thus, from the results obtained it can be suggested that the phytochemical marker of the *P. pilosa* species for healing activity is gallic acid and, together with the macroscopic and microscopic findings triggered by the topical applications of EPP and GPP, it can be concluded that this plant species has topical healing activity, with great potential for use, since this pharmacological action is associated with a possible topical anti-inflammatory activity.