



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JOSÉ ALEX ALVES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO BABAÇU (*Attalea speciosa*  
Mart. ex Spreng, Arecaceae) A PARTIR DO SEU USO ETNOMEDICINAL**

Recife

2020

JOSÉ ALEX ALVES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO BABAÇU (*Attalea speciosa*  
Mart. ex Spreng, Arecaceae) A PARTIR DO SEU USO ETNOMEDICINAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

**Área de Concentração:** Fármacos e Medicamentos

**Orientador:** Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

**Coorientador:** Prof. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior

Recife

2020

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

- S237a Santos, José Alex Alves dos.  
Avaliação da atividade cicatrizante do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng, Arecaceae) a partir do seu uso etnomedicinal / José Alex Alves dos Santos. – 2020.  
158 f.: il.; tab.; 30 cm.
- Orientador: Rafael Matos Ximenes.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2020.  
Inclui referências e anexos.
1. Cicatrização. 2. Óleo de palmeira. 3. Catequina. 4. Compostos fenólicos. 5. Etnofarmacologia. I. Ximenes, Rafael Matos (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (20.ed.)

UFPE (CCS2021-037)

JOSÉ ALEX ALVES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO BABAÇU (*Attalea speciosa*  
Mart. ex Spreng, Arecaceae) A PARTIR DO SEU USO ETNOMEDICINAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: 12/03/2020

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Ivone Antônia de Souza (Avaliador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof. Dra. Cristiane Moutinho Lagos de Melo (Avaliador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira (Avaliador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof. Dra. Márcia Silva do Nascimento  
Universidade Federal de Pernambuco (Avaliador Externo)

---

Prof. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) (Avaliador Externo – Co-orientador)

Dedico este trabalho a Deus, como reconhecimento de tudo que ele tem feito em minha vida. Aos meus pais, Maria José e José Artur, por reconhecerem meu esforço, ao meu irmão e sobrinha, José Alberto e Maria Estela, por sempre me apoiarem, a minha esposa, Gabriely e ao meu filho Gabriel, pela paciência e amor dedicados durante este tempo, e a todos aos meus familiares, presentes e os que já partiram por sempre me apoiarem em minhas jornadas.

## AGRADECIMENTOS

Ao Deus que é presença forte e constante em minha vida, fonte de misericórdia, conforto e sabedoria, ao qual agradeço por tudo que proporciona em minha vida. A ti toda glória, toda honra e todo louvor.

Aos meus pais, Maria José Alves de Oliveira Santos e José Artur dos Santos, por todos esses anos de incentivo pela educação e formação cidadã/cristã. Ao meu irmão, José Alberto Alves dos Santos, pela amizade, cumplicidade, paciência e incentivo. A minha sobrinha, Maria Estela Barbosa dos Santos, por ser fonte de alegria e esperança, fazendo-me buscar sempre o melhor na minha vida.

A minha esposa, Gabriely Cristina Firmino de Almeida Alves, por compartilhar momentos de alegrias e tristezas, pela paciência, por todo carinho, amor, dedicação e compreensão por todo esse tempo. Obrigado por dividir seu amor e sua vida com a minha e ter me proporcionado a maior alegria de minha vida, nosso Gabriel.

Ao meu filho Gabriel Arthur de Almeida Alves, concebido nesta fase do Doutorado, quão desejado foste por nós. Como pode um ser tão pequeno fazer uma transformação tão grande? Seu sorriso irradiou meu viver. Agradeço a Deus a oportunidade de ser pai e peço a ele discernimento e muito amor para trilharmos uma linda jornada juntos.

Amo todos vocês!

Aos meus sogros José Correa de Almeida Filho e Maria das Neves Firmino de Almeida, pela acolhida e pelo incentivo que me proporcionaram nesta fase da minha vida.

Em memória, aos meus avós maternos José Gomes de Oliveira e Josefa Alves de Oliveira, avós paternos Severino Marcionílio dos Santos e Maria José dos Santos, tendo estes três últimos falecidos no meu Doutorado.

A todos os meus familiares, pelo apreço dado a minhas conquistas.

Ao Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes pela orientação e importantes contribuições, sendo fundamental no desenvolvimento deste trabalho, sempre mostrando desde o início do trabalho, qual seria o verdadeiro papel de um professor na instrumentalização e consolidação do aprendizado; pelo amigo, pela pessoa extremamente responsável e ética, meus eternos agradecimentos.

Ao grupo de colaboradores que fazem parte do Laboratório de Etnofarmacologia Aplicada (LEA), coordenado pelo Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes, em especial: Bárbara

Ramos, Caio Lucena, Camilla Alves, José Welliton, Maria de Fátima e Raudney Franklin. Meu muito obrigado pelas colaborações na pesquisa, pelas conversas e pelos conselhos.

Ao Prof. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior pela parceria desde 2009, com início da minha vida acadêmica (monitorias, iniciações científicas e mestrado). Por sua disponibilidade em aceitar mais um desafio em me coorientar neste projeto, sendo mais uma vez de grande valia sua contribuição em todo procedimento do projeto.

Ao Grupo de pesquisa, Ação de substâncias naturais biologicamente ativas no processo de reparo tecidual, coordenado pela Prof. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior, e Laboratório de Biotecnologia e Fármacos UFPE/CAV, em especial ao discente Pedro Tiago que tanto contribuiu nas análises histológicas, agradeço pelo acolhimento e facilitação do desenvolvimento de algumas etapas da pesquisa.

As professoras Teresinha Gonçalves, Kêsia Xisto, Márcia Vanusa, Betânia Oliveira e Cristiane Moutinho por disponibilizarem seus laboratórios para realização dos experimentos desta pesquisa, meus agradecimentos.

Aos minhas colegas docentes de Enfermagem do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia (IFPE – Campus Abreu e Lima): Ângela Amorim, Camilla Aquino, Danielle Bastos, Joana D'arc Lyra, Marcela Lourene, Marcelle Guimarães, Maria Luísa Correa, Michelline Santos, Patrícia Araújo, Pauline Cristine, Suzana Santos e Yole Silveira. Obrigado a todas pela positividade em suas palavras. Aos meus queridos alunos, que me ensinam a cada dia o valor do professor e a vontade de sempre vencer os desafios.

Aos professores que aceitaram participar da minha banca de defesa, doando parte do seu tempo para apreciação desta pesquisa e contribuindo de uma forma plausível com correções e sugestões sobre os experimentos realizados nesta tese, meus sinceros agradecimentos.

A todos os animais que participaram desta pesquisa doando suas vidas em prol deste estudo científico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa concedida em fases iniciais do doutorado, meus agradecimentos.

E a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pelo auxílio financeiro – aprovação de projeto.

Para tudo há uma ocasião, e um tempo para cada propósito debaixo do céu: tempo de nascer e tempo de morrer, tempo de plantar e tempo de arrancar o que se plantou (ECLESIASTES 3: 1,2).

## RESUMO

O babaçu (*Attalea speciosa*) é uma palmeira da família Arecaceae presente no bioma brasileiro e bastante utilizado como produto medicinal. Dentre os produtos extraídos do fruto (coco), o óleo e a farinha do mesocarpo são utilizados como anti-inflamatório e cicatrizante. O objetivo deste estudo foi investigar a atividade cicatrizante do óleo (OFB) e do extrato etanólico do mesocarpo (EEMB) de babaçu em ratos a partir do seu uso etnomedicinal. Para tanto, a extração do óleo foi obtida por prensagem a frio e sua caracterização foi realizada pelos métodos GC-FID (ácidos graxos) e ICP-OES ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ ). Para obtenção do extrato etanólico, a farinha do mesocarpo foi submetida a extrações com álcool absoluto, com agitação magnética e sem aquecimento. Na caracterização do EEMB foi investigada sua composição química (UPLC-DAD-qTOF-MS) e fitoquímica (compostos fenólicos, flavonóis e proantocianidinas). Logo após, foram realizados ensaios antimicrobianos com ambos compostos extraídos e atividade antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, FRAP e atividade antioxidante total) do EEMB. Para avaliação da atividade cicatrizante, previamente foram realizados ensaios *in vitro* (citotoxicidade, migração celular, dosagem de NO e citocinas). *In vivo*, foram confeccionadas feridas dorsais em ratos com halos de contenção, para manutenção das feridas abertas. Estas lesões foram tratadas uma vez ao dia com dosagens distintas de OFB (10, 30 e 100%) e EEMB (1, 3, 10%) até o 3º dia de reparo. Perpassados 3, 7 e 14 dias as feridas foram avaliadas por análise macroscópica (edema, eritema, crosta e tecido cicatricial) e histomorfométrica (células inflamatórias, vasos sanguíneos, fibroblastos e produção de colágeno). Ao analisar o OFB foram identificados 08 ácidos graxos, com predominância do ácido láurico e baixas concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$ , e o mesmo não apresentou atividade antimicrobiana. Já o EEMB, na análise química demonstrou a presença de monómeros, dímeros e trímeros de (epi)catequina, sendo confirmado na análise fitoquímica pelas altas concentrações de compostos fenólicos e proantocianidinas, o que resultou em boa atividade antioxidante e antimicrobiana. Ambos os compostos reduziram o infiltrado inflamatório e aumentaram a angiogênese e a fibroplasia no 7º dia de reparo tecidual, resultando na formação de cicatriz fibrótica no 14º dia. Portanto, tanto o OFB quanto EEMB demonstraram potencial cicatrizante nos protocolos experimentais realizados, devido a modulação do processo inflamatório e indução da proliferação de fibroblastos.

**Palavras-chave:** Cicatrização. Óleo de Palmeira. Catequina. Compostos fenólicos. Etnofarmacologia.

## ABSTRACT

The babassu (*Attalea speciosa*) is a family Arecaceae palm present in the Brazilian biome and widely used as a medicinal product. Among the products extracted from the fruit (coconut), the mesocarp oil and mesocarp flour were used as anti-inflammatory and healing. The objective of this study was to investigate the healing activity of babassu oil (OFB) and ethanolic mesocarp extract (EEMB) in rats from their ethnomedicinal use. For that, the oil extraction was obtained by manual pressing and its characterization was performed by the methods GC-FID (fatty acids) and ICP-OES ( $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$ ). To obtain the ethanolic extract, the mesocarp flour was subject to extractions with absolute alcohol, with magnetic stirring and without heating. In the characterization of EEMB, its chemical composition (UPLC-DAD-qTOF-MS) and phytochemical (phenolic compounds, flavonols and proanthocyanidins) were investigated. Soon after, antimicrobial tests were performed with extracted compounds and antioxidant activity (DPPH<sup>•</sup>, FRAP and total antioxidant activity) from EEMB. In order to evaluate healing activity, *in vitro* tests (cytotoxicity, cell migration, NO dosage and cytokines) were previously performed. *In vivo*, dorsal wounds were made excisional wound splinting model in rats, to keep the wounds open. These lesions were treated once a day with different dosages of OFB (10, 30 and 100%) and EEMB (1, 3, and 10%) until the 3<sup>rd</sup> day of repair. After 3, 7 and 14 days, the wounds were evaluated by macroscopic analysis (edema, erythema, scab, and scar tissue formation) and histomorphometry (inflammatory cells, blood vessels, fibroblasts, and collagen production). When analyzing the OFB, 08 fatty acids were identified, with a predominance of lauric acid and low  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations and did not show antimicrobial activity. The EEMB, in the chemical analysis, demonstrated the presence of monomers, dimers and trimers of (epi)catechin, being confirmed in the phytochemical analysis by the high concentrations of phenolic compounds and proanthocyanidins, which resulted in good antioxidant and antimicrobial activity. Both compounds reduced the inflammatory infiltrate and increased angiogenesis and fibroplasia on the 7<sup>th</sup> day of tissue repair, resulting in the formation of fibrotic scarring on the 14<sup>th</sup> day. Therefore, both OFB and EEMB showed healing potential in the experimental protocols performed, due to the modulation of the inflammatory process and induction of fibroblast proliferation.

**Keywords:** Wound healing. Palm oil. Catechin. Phenolic compounds. Ethnopharmacology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Representação esquemática da constituição da pele.....	28
Figura 2 –	Fotomicrografia das camadas histológicas da pele humana. A – Pele Fina (coloração HE). Aumento de 400x. B – Pele espessa (coloração Tricômico de Masson). Aumento de 400x.....	29
Figura 3 –	Fotomicrografia de pele fina humana. Coloração HE – Aumento de 100x.....	31
Figura 4 –	Esquema ilustrativo das fases da cicatrização. A) Injúria tecidual – extravasamento de aminas vasoativas e células sanguíneas para a derme danificada; B) Coagulação – hemostasia por formação de coágulo de fibrina. C) Inflamação Inicial (recente) – recrutamento de PMNs por fatores plaquetários (PDGF e TGF- $\beta$ ); D) Inflamação Tardia – substituição das PMNs por macrófagos. E) Proliferação – fibroblastos são recrutados para a ferida, dando início a síntese do colágeno. F) Remodelamento – redução na síntese do colágeno e reestruturação do tecido neoformado.....	42
Figura 5 –	Estruturas dos ácidos graxos essenciais $\omega$ 6 (linoleico) (a) e $\omega$ 3 ( $\alpha$ -linolênico) (b).....	48
Figura 6 –	Distribuição geográfica dos babaçuais ( <i>Attalea spp.</i> ) no Brasil. A – Mapa do Brasil demonstrando as localizações e altitudes (entre parênteses) das regiões com alta abundância de <i>Attalea spp.</i> ; B – Uma população natural de <i>A. speciosa</i> ; e C – Cachos dos frutos (cocos).....	50
Figura 7 –	Imagem do coco babaçu – corte transversal. (a) epicarpo; (b) mesocarpo; (c) endocarpo; (d) amêndoas.....	51
Figura 8 –	Localização da área do estudo. Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil.....	59
Figura 9 –	Fruto da <i>Attalea speciosa</i> Mart. ex Spreng e amostras das extrações realizadas. A – Fruto (Coco); B – Amêndoas; C –	

	Mesocarpo após turbólise (farinha do mesocarpo); D – Óleo das amêndoas (OFB); E – Extrato do mesocarpo (EEMB).....	60
Figura 10 –	Transesterificação de um triglicerídeo.....	61
Figura 11 –	Reação de redução do molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu, pelo ácido gálico, padrão utilizado na determinação de fenóis totais.....	63
Figura 12 –	Esquema ilustrado da complexação do flavonóide quercetina com cloreto de alumínio (AlCl <sub>3</sub> ) o qual forma o complexo estável flavonóide-Al <sup>3+</sup> .....	64
Figura 13 –	Solução de radical de DPPH, de coloração roxa, é reduzida por antioxidantes contidos no extrato vegetal, modificando a coloração de roxo para amarelo.....	65
Figura 14 –	Redução do complexo Fe <sup>3+</sup> /tripiridiltriazina - TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) a Fe <sup>2+</sup> .....	66
Figura 15 –	Técnica de <i>scratch assay</i> (ensaio de migração celular). A – Plaqueamento dos fibroblastos em meio de cultura (DMEM incompleto); B – Após aderência o tecido é “riscado” com pipeta de 200 µL para produzir “feridas” entre 1200 e 1500 µm de largura; C – Remoção do sobrenadante, lavagem com PBS, incubação com DMEM e adição do composto a ser testado.....	71
Figura 16 –	Esquema representativo de confecções de feridas cutâneas abertas em ratos, modelo de contenção de feridas com halos de contenção ( <i>wound splinting model</i> ) (WANG et al, 2013). Seta – halo de silicone mais pontos sutura; asterisco – ferida.....	75
Figura 17 –	Histomorfometria <i>software ImageJ</i> versão 1.51. A – Quantificação de células inflamatórias, vasos sanguíneos, fibroblastos (HE); B – % de colágeno (Tricômico de Masson).....	76
Figura 18 –	Cromatograma do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB) – <i>Attalea speciosa</i> . 1 – Trímero I de procianidina; 2 – Trímero II de procianidina; 3 – (epi)catequina; 4 – Dímero I de procianidina; 5 – (epi)catequina; 6 – Dímero II de procianidina....	79
Figura 19 –	Principais substâncias isoladas do extrato etanólico do mesocarpo (EEMB), obtidos por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS.....	79

- Figura 20 – Ensaio MTT realizado para avaliar o efeito das doses de OFB. A – Viabilidade de fibroblastos L929; B – Viabilidade de macrófagos peritoneais murinos. Os resultados foram normalizados em relação ao grupo controle. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M.) Significância estatística é denotada por \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao controle. Teste ANOVA, *software* Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA)..... 82
- Figura 21 – Ensaio MTT realizado para avaliar o efeito das doses de EEMB. A – Viabilidade de fibroblastos L929; B – Viabilidade de macrófagos peritoneais murinos. Os resultados foram normalizados em relação ao grupo controle. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M.). Significância estatística é denotada por \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao controle. Teste ANOVA, *software* Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA)..... 82
- Figura 22 – Área sob a curva (AUC) de fibroblastos L929, determinado pela área de fechamento da ferida até 24h de análise. Os controles negativos dos fibroblastos foram tratados com o meio DMEM incompleto e o controle positivo com DMEM contendo 10% de soro fetal bovino (SFB). A – Tratados com OFB. B – Tratados com EEMB. Significância estatística é denotada por \* $p < 0,05$ , comparado ao controle negativo..... 83
- Figura 23 – Avaliação macroscópica de lesões cutâneas tratadas com Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB)..... 87
- Figura 24 – Fotomicrografias da cicatrização de lesões cutâneas em ratos (*Rattus norvegicus albinus*), no 3º dia do reparo tecidual, modelo de feridas de contenção com halos de silicone (*wound splinting model*) (WANG et al, 2013). Grupos: I – Controle Controle Negativo – Tween 80 (1%); II – Controle Positivo – Dersani<sup>®</sup>; III – OFB10%; IV – OFB30%; V – OFB100%. A1, B1, C1, D1 e E1 – Infiltrado Inflamatório (HE); A2, B2, C2, D2 e E2 – Produção de colágeno (Tricômico de Masson); A3, B3, C3, D3 e E3 –

	Fibrilas colágenas ( <i>software</i> ImageJ <sup>®</sup> ). Aumento final de 400x. Legenda: seta – células inflamatórias; cabeça de seta – colágeno; asterisco – vasos sanguíneos.....	91
Figura 25 –	Avaliação macroscópica de lesões cutâneas tratadas com Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB).....	93
Figura 26 –	Fotomicrografias da cicatrização de lesões cutâneas em ratos ( <i>Rattus norvegicus albinus</i> ), no 7º dia do reparo tecidual, com modelo de feridas de contenção com halos de silicone ( <i>wound splinting model</i> ) (WANG et al, 2013). Grupos: I – Controle Controle Negativo – DMSO 1%; II – EEMB1%; III – EEMB3%; IV – EEMB10%. A1, B1, C1, D1 e E1 – Tecido de granulação (HE); A2, B2, C2, D2 e E2 – Produção de colágeno (Tricômico de Masson); A3, B3, C3, D3 e E3 – Fibras colágenas ( <i>software</i> ImageJ <sup>®</sup> ). Aumento final de 400x. Legenda: seta – células inflamatórias; cabeça de seta – colágeno; asterisco – vasos sanguíneos.....	96

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Principais tipos celulares da epiderme e suas respectivas funções e localizações.....	30
Tabela 2 –	Resumo da teoria da coagulação baseada nas superfícies celulares.....	35
Tabela 3 –	Citocinas na fase inflamatória da cicatrização.....	37
Tabela 4 –	Óleos vegetais utilizados no tratamento de feridas.....	47
Tabela 5 –	Composição dos ácidos graxos do babaçu.....	53
Tabela 6 –	Composição média da farinha de babaçu.....	55
Tabela 7 –	Estudos pré-clínicos realizados com a <i>Attalea</i> spp.....	55
Tabela 8 –	Isolados utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana do óleo fixo das amêndoas do babaçu (OFB) e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB).....	67
Tabela 9 –	Grupos experimentais – feridas cutâneas tratadas com óleo fixo das amêndoas <i>A. speciosa</i> Mart. ex Spreng.....	73
Tabela 10 –	Grupos experimentais – feridas cutâneas tratadas com extrato etanólico do mesocarpo de <i>A. speciosa</i> Mart. ex Spreng.....	73
Tabela 11 –	Caracterização dos ácidos graxos do óleo fixo de <i>Attalea speciosa</i> .....	77
Tabela 12 –	Compostos fitoquímicos e atividade antioxidante do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB).....	78
Tabela 13 –	Compostos fitoquímicos e atividade antioxidante do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB).....	80
Tabela 14 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB), <i>Attalea speciosa</i> (Mart.) ex Spreng. Testados contra cepas bacterianas Gram-positivas ( <i>Staphylococcus aureus</i> ), Gram-negativas ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) e leveduras ( <i>Candida albicans</i> ).....	81
Tabela 15 –	Influência dos compostos extraídos da <i>Attalea speciosa</i> na concentração de óxido nítrico e citocinas <i>in vitro</i> .....	85

Tabela 16 –	Análise Macroscópica de feridas tratadas com Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB).....	87
Tabela 17 –	Análise histomorfométrica de feridas cutâneas tratadas com Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB).....	90
Tabela 18 –	Análise Macroscópica de feridas tratadas com Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB).....	92
Tabela 19 –	Análise histomorfométrica de feridas cutâneas tratadas com Extrato Etanólico do mesocarpo do Babaçu (EEMB).....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
AGE	Ácidos Graxos Essenciais
ATP	Adenosina Trifosfato
ATT	Atividade Antioxidante Total
AUC	Área Sob a Curva
BHI	Caldo <i>Brain Heart Infusion</i>
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de Cálcio
CBA	<i>Cytometric Bead Array System</i>
CEUA	Comissão de Ética em Uso de Animais
CH <sub>3</sub> COOH	Ácido Etanóico
CH <sub>3</sub> COONa	Acetato de Sódio
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
COX	Cicloxigenase
DMEM	Meio de Cultura <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EEMB	Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu
EGF	Fator de Crescimento Epidérmico
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FeCl <sub>3</sub>	Cloreto de Ferro
FGF	Fator de Crescimento Derivado dos Fibroblastos
FT	Fator Tecidual
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
GAGs	Glicosaminoglicanos
GC-FID	Cromatografia Gasosa Acoplada a um Detector de Ionização de Chama
GC-MS	Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massas
HCl	Ácido Clorídrico
HE	Hematoxilina e eosina
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrogênio
HNO <sub>3</sub>	Ácido Nítrico

ICAM-1	Molécula de Adesão Celular
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado
IFN- $\gamma$	Interferon Gama
IGF	Fator de Crescimento <i>Insulin-like</i>
ILs	Interleucinas
iNOS	Oxído Nítrico Sintetase Induzível
KGF	Fator de Crescimento de Queratinócitos
KOH	Hidróxido de Potássio
LPS	Lipopolissacarídeos
MEC	Matriz Extracelular
MHB	Caldo Mueller Hinton
MMPs	Metaloproteinases
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium
NaNO <sub>2</sub>	Nitrito de Sódio
NBF	Formol Neutro Tamponado
NGF	Fator de Crescimento Nervoso
NO	Óxido Nítrico
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Radical Superóxido
OFB	Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu
OH <sup>*</sup>	Radical Hidroxila
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
PBS	Tampão Fosfato Salino
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PMN	Leucócitos Polimorfonucleares
PO	Pós-operatório
RT	Tempo de Retenção
SELE-E	Selectina E
SFA	Substância Fundamental Amorfa
TCM	Triglicérides de Cadeia Média
TGF- $\beta$	Fator de Crescimento de Transformação Beta
TIMPs	Inibidores de Metaloproteinases
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina

UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UPLC-MS <sup>E</sup>	Cromatografia líquida de ultra performance - espectrometria de massa <sup>Energia Elevada</sup>
VCAM-1	Molécula de Adesão Vascular
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\mu\text{m}$	Micrômetro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
m	Metro
nm	Nanômetro
M	Molar
$\mu\text{M}$	Micromolar
g	Gramma
ng	Nanograma
pg	Picograma
g	Constante Gravitacional
kg	Quilograma
$\mu\text{g}$	Micrograma
mL	Mililitro
$\mu\text{L}$	Microlitro
v/v	Volume/volume
p/v	Peso/volume
ppm	Partes por milhão
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
$\pm$	Mais-menos
h	Hora
min	Minuto
pH	Potencial Hidrogeniônico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>28</b>
2.1	Pele.....	28
<b>2.1.1</b>	<b>Epiderme.....</b>	<b>29</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Derme.....</b>	<b>31</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Hipoderme.....</b>	<b>32</b>
2.2	Feridas e mecanismos de cicatrização.....	33
<b>2.2.1</b>	<b>Fase hemostática.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Fase inflamatória .....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Fase proliferativa.....</b>	<b>39</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Fase remodelativa.....</b>	<b>43</b>
2.3	Produtos de origem vegetal no tratamento de feridas.....	44
<b>2.3.1</b>	<b>Extratos.....</b>	<b>45</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Óleos.....</b>	<b>46</b>
2.4	<i>Attalea speciosa</i> (Mart.) ex Spreng – Babaçu.....	49
<b>2.4.1</b>	<b>Distribuição e características botânicas.....</b>	<b>49</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Etnobotânica.....</b>	<b>51</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Estudos – óleo e mesocarpo do babaçu.....</b>	<b>53</b>
<b>2.4.4</b>	<b>Atividades biológicas.....</b>	<b>55</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>58</b>
3.1	Objetivo Geral.....	58
3.2	Objetivos Específicos.....	58
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
4.1	Material Vegetal.....	59
4.2	Obtenção do óleo fixo das amêndoas do babaçu (OFB) e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB).....	60
4.3	Caracterização do OFB.....	60
<b>4.3.1</b>	<b>Perfil dos ácidos graxos.....</b>	<b>60</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Níveis de Cálcio e Zinco.....</b>	<b>61</b>
4.4	Caracterização do EEMB.....	62
4.5	Dosagem de Compostos do EEMB.....	62

4.5.1	<b>Quantificação de Compostos Fenólicos.....</b>	<b>62</b>
4.5.2	<b>Quantificação de Flavonóis.....</b>	<b>63</b>
4.5.3	<b>Quantificação de Proantocianidinas.....</b>	<b>64</b>
4.6	Determinação da atividade antioxidante do EEMB.....	64
4.6.1	<b>Sequestro de radicais livres pelo DPPH:.....</b>	<b>64</b>
4.6.2	<b>Atividade Antioxidante Total.....</b>	<b>65</b>
4.6.3	<b>Atividade Redutora do Íon Férrico (FRAP).....</b>	<b>66</b>
4.7	Atividade Antimicrobiana do OFB e do EEMB.....	66
4.7.1	<b>Micro-organismos testados.....</b>	<b>67</b>
4.7.2	<b>Preparo do inóculo.....</b>	<b>67</b>
4.7.3	<b>Preparo das amostras e do antimicrobiano padrão.....</b>	<b>68</b>
4.7.4	<b>Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida (CBM), Concentração Fungicida Mínima (CFM).....</b>	<b>68</b>
4.8	Citotoxicidade do OFB e do EEMB.....	69
4.8.1	<b>Linhagens Celulares.....</b>	<b>69</b>
4.8.2	<b>Viabilidade Celular.....</b>	<b>69</b>
4.9	Atividade Farmacológica <i>in vitro</i> do OFB e do EEMB.....	70
4.9.1	<b>Ensaio de migração celular – <i>Scratch assay</i>.....</b>	<b>70</b>
4.9.2	<b>Dosagem de óxido nítrico em macrófagos peritoneais.....</b>	<b>71</b>
4.9.3	<b>Dosagem de citocinas em macrófagos peritoneais.....</b>	<b>71</b>
4.10	Reparo tecidual cutâneo <i>in vivo</i> do OFB e do EEMB.....	72
4.10.1	<b>Animais.....</b>	<b>72</b>
4.10.2	<b>Grupos Experimentais.....</b>	<b>73</b>
4.10.3	<b>Procedimento Cirúrgico.....</b>	<b>74</b>
4.10.4	<b>Análise Macroscópica.....</b>	<b>75</b>
4.10.5	<b>Análise Histomorfométrica.....</b>	<b>75</b>
4.11	Análise Estatística.....	76
5	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>77</b>
5.1	Caracterização do OFB.....	77
5.2	Caracterização do EEMB.....	77
5.3	Quantificação dos compostos fitoquímicos e determinação da atividade antioxidante do EEMB.....	80

5.4	Atividade antimicrobiana do OFB e do EEMB.....	80
5.5	Citotoxicidade do OFB e do EEMB.....	81
<b>5.5.1</b>	<b>Viabilidade celular.....</b>	<b>81</b>
5.6	Reparo tecidual <i>in vitro</i> do OFB e do EEMB.....	83
<b>5.6.1</b>	<b>Ensaio de migração celular.....</b>	<b>83</b>
<b>5.6.2</b>	<b>Produção de Óxido Nítrico e Citocinas em Macrófagos Peritoneais.....</b>	<b>83</b>
5.7	Atividade cicatrizante <i>in vivo</i> do OFB e do EEMB.....	86
<b>5.7.1</b>	<b>Análise Macroscópica de Feridas Cutâneas Tratadas com OFB.....</b>	<b>86</b>
<b>5.7.2</b>	<b>Análise Histomorfométrica de Feridas Cutâneas Tratadas com OFB.....</b>	<b>88</b>
<b>5.7.3</b>	<b>Análise Macroscópica de Feridas Cutâneas Tratadas com OFB.....</b>	<b>92</b>
<b>5.7.4</b>	<b>Análise Histomorfométrica de feridas cutâneas tratadas com EEMB.....</b>	<b>93</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>97</b>
6.1	Obtenção e Caracterização do OFB.....	97
6.2	Obtenção e Caracterização do EEMB.....	98
6.3	Determinação da Atividade Antioxidante do EEMB.....	100
6.4	Atividade Antimicrobiana do OFB e do EEMB.....	102
6.5	Atividade Cicatrizante do OFB e do EEMB.....	105
<b>6.5.1</b>	<b>Ensaio <i>In vitro</i>.....</b>	<b>106</b>
6.5.1.1	Viabilidade celular.....	106
6.5.1.2	Ensaio de migração celular.....	108
6.5.1.3	Produção de Óxido Nítrico e Citocinas por Macrófagos Peritoneais.....	110
<b>6.5.2</b>	<b>Ensaio <i>In vivo</i>.....</b>	<b>114</b>
6.5.2.1	Feridas Tratadas com OFB.....	114
6.5.2.2	Feridas Tratadas com EEMB.....	115
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>118</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>120</b>
	<b>ANEXO A – APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA</b>	

<b>NO USO DE ANIMAIS DA UFPE.....</b>	<b>159</b>
---------------------------------------	------------

## 1 INTRODUÇÃO

No processo de injúria tecidual a pele pode romper suas estruturas anatômicas e alterar suas funções fisiológicas. Em contrapartida, o processo de reparo tecidual se inicia imediatamente após o ferimento e é dividido em quatro fases inter-relacionadas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento (DWIVED et al., 2017). Basicamente estas fases têm por objetivos: minimizar os danos aos tecidos, prevenir infecções, proporcionar perfusão e uma oxigenação tissular adequada, nutrição adequada e um ambiente úmido para o fechamento da lesão (KOVÁČ et al., 2015).

No campo terapêutico há a procura cada vez maior pela utilização de terapias alternativas e complementares para o tratamento de lesões cutâneas, pois o acesso a insumos nem sempre é possível, tendo as plantas e/ou até mesmo animais como fonte de produtos naturais (RIBEIRO et al., 2011). Ainda neste cenário, a indústria farmacêutica tem feito grandes avanços no fornecimento de medicamentos capazes de estimular o processo de cicatrização, mas apenas 1-3% de todos os medicamentos listados nas farmacopeias ocidentais destinam-se ao uso na pele ou feridas cutâneas. Destes, pelo menos um terço são obtidos de plantas (LORDANI et al., 2018).

Aliada a este fato, as pesquisas etnomedicinais e etnofarmacológicas têm proporcionado às indústrias um alto faturamento com a descoberta destes compostos bioativos, sendo estes convertidos em produtos e empregados nas mais diversas afecções corpóreas (NOVELLO et al., 2012; LIMA et al., 2015). Para tanto, vários estudos experimentais vêm trabalhando em novas abordagens para cicatrizações de feridas na pele, utilizando produtos de extração vegetal (NASOPOULOU et al., 2014; LANIA et al., 2017; MOALLA et al., 2016; NAYAK et al., 2017; POLJŠAK et al., 2019).

Neste contexto, é importante ressaltar que o Brasil apresenta como característica marcante de seu ecossistema a biodiversidade, com habitats específicos para plantas medicinais (COSTA-FILHO et al., 2012). Dentre as plantas utilizadas como fitoterápicos no Brasil destaca-se o babaçu *Attalea speciosa* Mart ex. Spreng (CAVALLARI e TOLEDO, 2016) que abrange grandes áreas em Minas Gerais, Cerrado e Mata dos Cocais (NEVES et al., 2013). Além das regiões citadas o babaçu pode ser encontrado em abundância também em outras regiões mais restritas, como na Chapada do Araripe/CE e no Vale do Catimbau/PE (BRAGA, 1976; RUFINO et al., 2008).

Atualmente, a *A. speciosa* é uma das principais fontes de produtos extrativistas do Brasil, contribuindo de maneira significativa para a economia de alguns estados da federação

(LORENZI et al., 2010; GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2012). Deste modo, há a utilização de diversas partes desta palmeira por seu potencial biotecnológico, como nas produções de biocombustíveis (CAMPOS et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016) e cosmético (PINHEIRO et al., 2012; SOUZA et al., 2011). Em relação ao uso na medicina popular, o óleo, a borra e a farinha do mesocarpo são os principais produtos utilizados. O óleo é empregado na forma tópica para o tratamento de inflamações, pancadas, artrite, otite, conjuntivite, leucorréia e na cicatrização de feridas (BARBOSA et al., 2012; REIS et al., 2017). A borra, resíduo obtido após a extração do óleo pelo método tradicional, também é utilizada no tratamento de feridas de pele. Já a farinha do mesocarpo é utilizada, tanto pela forma tópica quanto oral, para tratamento de gastrite, cicatrização de feridas, leucorréia e inflamação (RUFINO et al., 2008; SOUZA et al., 2011).

Nesse âmbito, estudos farmacológicos demonstraram diferentes propriedades biológicas do babaçu que explicam seu uso na medicina popular, como atividade antitireoidiana (GAITAN et al., 1991); atividade antitrombótica (AZEVEDO et al., 2007); atividade antifúngica (CAETANO et al., 2002); atividade antimicrobiana (GUERRA et al., 2011a); atividade antitumoral (NASCIMENTO et al., 2006); adjuvante nas respostas imunes (GUERRA et al., 2011b); e atividade imunomoduladora (FREITAS JUNIOR et al., 2013). Nenhuma toxicidade do babaçu foi observada em estudos *in vivo*, o que demonstra a segurança no seu uso (SILVA et al., 2012; BARROQUEIRO et al., 2016).

Por causa do seu potencial terapêutico, esta espécie foi incluída desde 2009 na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS, 2009). Entretanto, os estudos pré-clínicos para avaliação dos efeitos cicatrizantes da referida espécie ainda estão escassos. Este efeito, quando relatado na literatura, é associado ao mesocarpo (AMORIM et al., 2006; BALDEZ et al., 2006; BRITO FILHO et al., 2006; BATISTA et al., 2006; FERREIRA et al., 2006; MARTINS et al., 2006; SILVA, et al., 2015; SCHEIBE et al., 2016), porém todos estes estudos estão relacionados ao uso do extrato aquoso, não sendo encontrados relatos na literatura sobre o uso do extrato etanólico no tratamento de lesões cutâneas.

Da mesma forma, ainda não havia relatos na literatura de estudos que avaliassem a atividade cicatrizante do óleo das amêndoas, sendo relatados apenas as atividades que auxiliam no processo cicatricial como anti-inflamatória (BARBOSA et al., 2012; REIS et al., 2017), antioxidante (BAUER et al., 2019), antimicrobiana (HOVORKOVÁ et al., 2018) e imunomodulatória (PESSOA et al., 2014; SILVA et al., 2015). Sendo assim, a partir do uso tópico etnomedicinal do óleo e do mesocarpo do babaçu, este estudo propôs-se investigar suas

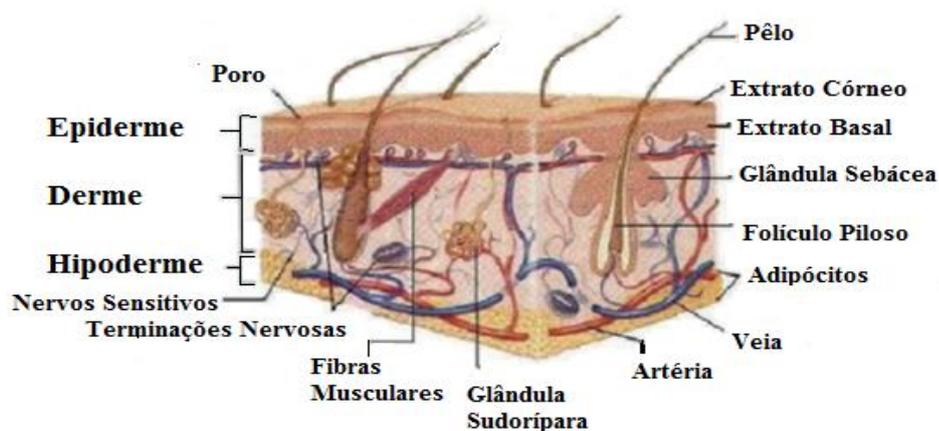
ações no processo cicatricial feridas cutâneas em ratos, incluindo as atividades complementares, de forma a determinar a sua eficácia terapêutica em modelos cicatriciais *in vitro* e *in vivo*.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Pele

A pele é o maior órgão do corpo, correspondendo a cerca de 16% do peso corporal, com peso médio de 4kg e pode atingir uma área de 1,8m<sup>2</sup> da superfície corporal. Suas principais funções estão relacionadas as capacidades de termorregulação, participação nas respostas imunes inata e adaptativa, controle do fluxo sanguíneo e regulação das funções sensoriais (tato, dor, pressão, calor e frio), além disso, a pele é responsável pelo processo de síntese endógena das moléculas do grupo vitamina D3 e peptídeos antimicrobianos (CASTRO, 2011). Sendo assim, este órgão é considerado metabolicamente ativo, com uma variedade de funções essenciais para manutenção da homeostase e da proteção do corpo (KENDALL e NICOLAOU, 2013).

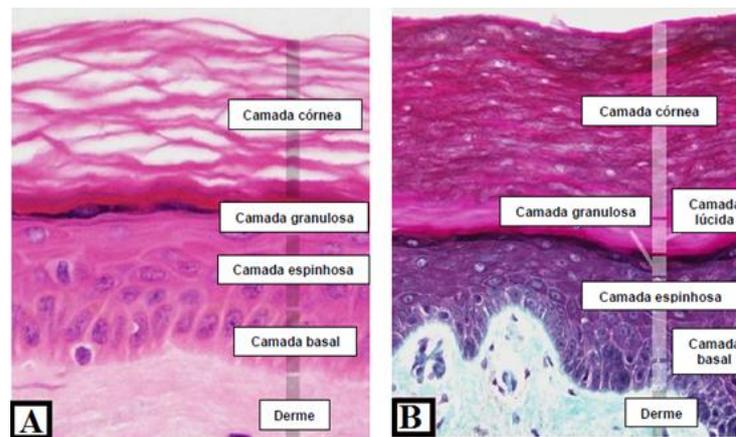
A pele é dividida em três camadas distintas: epiderme, derme e hipoderme (Fig.1), da mais externa para a mais profunda, respectivamente (BOLZINGER et al., 2012). Em termos de classificação, este órgão ainda pode ser rotulado segundo a espessura da epiderme como pele espessa (0,8 - 1,5 mm) e pele fina (0,07 - 0,15 mm). A pele espessa, também denominada de glabra, é caracterizada pela ausência de pelos, músculos pilo-erector e glândulas sebáceas, sendo encontrada nas superfícies palmares e plantares. Já a pele fina, é encontrada no restante da superfície corporal. (OVALLC e NAHIRNCY, 2013; SEUNG-HYUN, 2014).



**Figura 1.** Representação esquemática da constituição da pele. **Fonte:** RUIVO, 2014.

### 2.1.1 Epiderme

A epiderme é a camada mais superficial do tecido epitelial e é subdividido em cinco estratos ou camadas, de forma justaposta e ascendente são denominadas: camada basal, camada espinhosa, camada granulosa, camada lúcida e camada córnea (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017) (Fig. 2).



**Figura 2.** Fotomicrografia das camadas histológicas da pele humana. A – Pele Fina (coloração HE). Aumento de 400x. B – Pele espessa (coloração Tricômico de Masson). Aumento de 400x. **Adaptado:** SLOMIANKA, 2009.

A camada basal, também é denominada como camada germinativa por apresentar células-tronco em sua estrutura. Primordialmente este estrato possui os queratinoblastos, células ricas em água (70%) e cisteína. Ao ser oxidada, a cisteína dá origem a cistina, iniciando o processo de síntese de queratina (BOLZINGER et al., 2012). O estrato germinativo é responsável pela renovação fisiológica do epitélio e do reparo do leito cruento de lesões cutâneas. À medida que novas células (queratinoblastos) são formadas, elas substituem as que foram produzidas anteriormente “guiando-as” em sentido a camada mais externa (SAMUELSON, 2011; OVALLC e NAHIRNCY, 2013).

A camada espinhosa é composta por células poliédricas a pavimentosas. Neste nível há uma diferenciação celular e os queratinoblastos passam a se denominar queratinócitos, estas células ao se deslocarem para a superfície perdem água e, conseqüentemente, há um achatamento da estrutura celular com aspecto espinhoso, o que justifica a nomenclatura empregada neste estrato (GARTNER e HIATT et al., 2017).

Logo acima da camada espinhosa encontra-se a camada granulosa, por sua vez ela é formada por células mais achatadas que as células do estrato espinhoso. A estrutura pavimentosa é composta de três a quatro camadas de células que contém em seu interior querato-hialina, substância precursora na formação da queratina (EMING et al., 2014; GARTNER e HIATT, 2017).

A camada lúcida é um estrato extremamente fino e com alta dispersão de querato-hialina o que, conseqüentemente, deixa-o com aspecto transparente (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Já a camada córnea é o estrato mais superficial da pele. Ela é composta por cerca de 20 a 25 camadas de células mortas, sendo elas achatadas, anucleadas, desidratadas e descamativas. As células são compostas predominantemente por queratina ligada por um cimento intercelular lipofílico (colesterol, ceramidas, ácidos graxos e triglicerídeos), no qual conferem elasticidade e resistência, além disso, servem como barreira física e química para o meio ambiente (HARRIS, 2009; DANCİK et al., 2015).

Em resumo, no estrato epidérmico são encontrados tipos celulares distintos, cujas descrições, funções e localizações estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Principais tipos celulares da epiderme e suas respectivas funções e localizações.

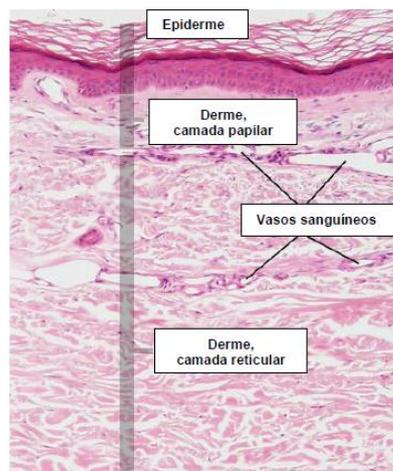
<b>Tipos celulares</b>	<b>Funções</b>	<b>Localizações</b>
Queratinoblastos/ Queratinócitos	Produzem citocinas pró-inflamatórias (IL-1), anti-inflamatórias (IL-10), produzem queratina, conferem resistência mecânica ao tecido.	Camada Basal, Espinhosa e Granulosa
Corneócitos (queratinócitos anucleares)	Barreira contra microorganismos impedem a desidratação do tecido para o meio externo, permitem a absorção de substâncias lipossolúveis.	Camada córnea
Melanócitos	Protegem contra ações nocivas dos raios ultravioletas e sintetiza o pigmento melanina, conferindo a cor da pele.	Camada Basal
Células de Langerhans	Capacidade fagocitária – ativação de linfócitos T.	Camada Espinhosa (Mais frequente)
Células de Merkel	Sensibilidade tátil.	Camada Basal

**Fonte:** BOLZINGER et al., 2012; MARKS e LOOKINGBILL, 2013.

### 2.1.2 Derme

A derme está localizada logo abaixo da epiderme, sendo separada desta camada por uma estrutura denominada de lâmina dermo-epidérmica. Esta estrutura é constituída por papilas dérmicas que são originárias da lâmina basal da epiderme. Esta, por sua vez, permite a nutrição da pele, de forma ascendente, e permite a absorção de substâncias pela pele, de forma descendente (BARONI et al., 2012; BHUSHAN, 2012).

Estruturalmente a derme é dividida em duas camadas: derme papilar e a derme reticular (Fig.3). A derme papilar encontra-se interligada à epiderme, por causa desta ligação esta camada emite projeções denominadas de papilas dérmicas em direção à camada epidérmica. Estas papilas são compostas de uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo, com numerosos fibroblastos, fibras colágenas tipo III, fibrilas colágenas tipo IV, fibras elásticas e vasos sanguíneos de menor calibre (ROBERT et al., 2010; RITTIÉ, 2016). Já a derme reticular está localizada logo abaixo da derme papilar e é formada por um tecido conjuntivo denso não modelado, fibrilas elásticas e colágeno tipo I. Contém ainda, vasos (sanguíneos e linfáticos), nervos e estruturas anexas derivadas da epiderme (folículos pilosebáceos e glândulas sudoríparas) (KENDALL e NICOLAOU, 2013).



**Figura 3.** Fotomicrografia de pele fina humana. Coloração HE – Aumento de 100x.  
**Adaptado:** SLOMIANKA, 2009.

No que se refere a esta região, pode-se afirmar que é responsável pela resistência estrutural da pele. A superfície da derme é irregular por acompanhar as reentrâncias da epiderme. Devido a este fato, há um aumento da superfície de contato entre as duas camadas, proporcionalmente, o tecido torna-se mais resistente a pressões e atritos pela formação das

papilas dérmicas (HARRIS, 2009; LUCEY e GOLDBERG, 2014; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

O principal tipo celular desta camada são os fibroblastos, essas células possuem prolongamentos no citoplasma, são dotados de motilidade e capacidade de adaptação. Desta forma, os fibroblastos podem se diferenciar em miofibroblastos, esta diferenciação confere a célula a proteína  $\alpha$ -actina, a mesma proteína contrátil presente em células musculares lisas. Estas células contráteis possuem um papel essencial na fase de remodelamento da cicatrização tecidual, já que por sua ação contrátil realizam a aproximação das bordas das feridas (RITTIÉ, 2016).

Os fibroblastos desempenham uma função fundamental na síntese e deposição da matriz extracelular (MEC), colágeno (tipo I e III), elastina e substância fundamental amorfa (SFA). A deposição da MEC (colágeno, fibronectina, glicosaminoglicanas, proteoglicanos e ácido hialurônico) é uma etapa importante, pois fornece um arcabouço para adesão celular e regula e organiza criticamente o crescimento, movimento e diferenciação das células (ECKES et al., 2010; BARKER, 2011). Durante o processo de cicatrização tecidual o movimento e diferenciação celular estão relacionados com a estimulação da adesão e migração das células, assim como a mediação das interações entre as células, entre as células e a matriz, ou entre as proteínas da MEC (SHULTZ e WYSOCKI, 2009; SHULTZ et al., 2011).

### 2.1.3 Hipoderme

A hipoderme é a camada mais interna da pele. É constituída basicamente por vasos sanguíneos e adipócitos. Estas células são envolvidas em feixes de tecido conjuntivo e formam lobos de gordura. As principais funções deste estrato são: isolamento térmico, proteção mecânica, produção de energia, além de liberar compostos bioativos (adipocinas) que influenciam outras células cutâneas. Estes compostos estão presentes em processos como a hiperplasia dos adipócitos. O aumento no volume destas células ocasiona a liberação de ácidos graxos livres, estes por sua vez, alteram a função dos fibroblastos, comprometendo sua proliferação, afetando também a produção de colágeno e, conseqüentemente, comprometendo o processo de reparo tecidual (BARONI et al., 2012; KENDALL e NICOLAOU, 2013).

## 2.2 Feridas e Mecanismos de Cicatrização

A ferida pode ser definida como ruptura de uma estrutura anatômica normal da pele e, principalmente de sua função (SCHEMONS e ELSTON, 2011; BUENO et al. 2016). Elas podem acometer os mais diversos tipos de tecidos corpóreos desde camadas superficiais, como na pele (epiderme, derme e tecido subcutâneo), até camadas mais profundas, como aponeuroses, músculos e ossos, gerando lesões superficiais e/ou profundas, respectivamente (XIE et al. 2013; SANTOS et al., 2014).

Clinicamente a profundidade e a perda tecidual das lesões é o que determina a forma de cicatrização e a classificação ocorre em três categorias: primeira intenção, segunda intenção e terceira intenção. Na primeira intenção ocorre pouca perda tecidual na ferida, sendo uma lesão mais linear (ferida cirúrgica, por exemplo), e ela pode ter suas bordas aproximadas por meio de suturas, grampos ou fitas adesivas. O período de reparo ocorre em até 10 dias. Já a de segunda intenção ocorre quando a perda tecidual não permite a aproximação das bordas da ferida, e a mesma é preenchida lentamente com tecido de granulação (rico em vasos, fibroblastos e fibras colágenas). Normalmente, este tipo de cicatrização ocorre em pacientes com comorbidades subjacentes (úlceras vasculares ou de pressão) ou em pacientes com pós-operatório (PO) que desenvolveram deiscência (devido à infecção ou hematoma). Entretanto, a terceira intenção é considerada por alguns autores por se tratar de uma “intenção primária tardia”, ou seja, ocorre após a abertura da ferida, devido à infecção ou contaminação. Os tecidos não viáveis são removidos, e na sequência as bordas são aproximadas e a cura continua como por intenção primária (BELDON, 2010; ROUBELAKIS, 2014).

Fisiologicamente o mecanismo do reparo tecidual inicia-se quando o tecido é danificado, posteriormente, o mesmo tecido é degradado e substituído gradualmente por células que formam um tecido novo até que a integridade da pele seja restaurada. O processo cicatricial depende da extensão e da profundidade da lesão, podendo durar meses ou até mesmo anos. Em injúrias superficiais, na epiderme, as células regenerativas migram do tecido profundo para o mais superficial, finalizando a epitelização de 7 a 10 dias. Entretanto, nas injúrias mais profundas em que ocorre perda de tecido dérmico e anexos (glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos) e a reepitelização só é finalizada quando toda a área da lesão é preenchida por tecido conectivo (BELDON, 2010). Na literatura o mecanismo da cicatrização é classificado em quatro fases: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento (BOATENG et al., 2008; IRION, 2010; BEITZ, 2012).

Em resumo, essas fases iniciam com o extravasamento de células sanguíneas para o tecido. Como resposta imediata há a ativação plaquetária, início da cascata de coagulação e formação da malha de fibrina, formando uma matriz provisória para migração celular. Até 72h da lesão há o influxo de células inflamatórias para o leito da lesão, especialmente neutrófilos e macrófagos que opsonizam os microorganismos e realizam a limpeza de células mortas. Por volta do 4º dia há a liberação de fatores de crescimento que estimulam proliferação e migração de fibroblastos, neoangiogênese e formação do tecido de granulação. Geralmente, ao 15º dia há migração e diferenciação de queratinócitos, substituição do colágeno II por colágeno I com intensa ação das metaloproteinases da matriz (MMP's) (Fig. 4) (BEITZ, 2012; SANTOS et al., 2016).

### 2.2.1 Fase hemostática

Esta fase é o primeiro evento que ocorre após a injúria tecidual (MOHD et al., 2012). Com o sangramento ativo os vasos danificados sofrem a ação de fatores vasoconstritores tais como serotonina, tromboxano A2 e adrenalina, assim como a adesão, agregação e ativação plaquetária, no local da lesão (WU e CHEN, 2014). As plaquetas agem inicialmente como modulador inicial no processo cicatricial. Assim que a injúria tecidual acontece, os componentes sanguíneos entram em contato com o colágeno e outros elementos da MEC do epitélio lesionado, esta ação provoca uma rápida ativação plaquetária, iniciando a cascata da coagulação (ISAAC et al., 2010; VERSTEEG et al. 2013).

Por meio do modelo de cascata (MACFARLANE, 1964; DAVIE e RATNOFF; 1964), a coagulação ocorre a partir da ativação proteolítica sequencial de pró-enzimas por proteases do plasma, resultando na formação de trombina que, então, quebra a molécula de fibrinogênio em monômeros de fibrina, este último se polimeriza pela ação do fator XIII, formando assim um coágulo (REINKE e SORG, 2012). Esta proposta dividiu a coagulação em via extrínseca (envolvendo elementos do sangue e também elementos que usualmente não estão presentes no espaço intravascular) e uma via intrínseca (iniciada por componentes presentes no espaço intravascular), que convergem para uma via comum, a partir da ativação do fator X.

Outros estudos (RIDDEL et al., 2007; TANAKA et al., 2009; ZABCZYK et al., 2010) propuseram um modelo baseado em superfícies celulares, no qual a hemostasia requer substâncias procoagulantes ativadas que permaneçam localizadas no sítio da lesão para a formação de tampão plaquetário e de fibrina neste local. Neste modelo, o fator tecidual (FT) não é expresso nas células endoteliais, mas está presente nas membranas das células ao redor

do leito vascular, como células do músculo liso e fibroblastos. Sendo assim, as evidências sugerem que o FT está também presente no sangue em micropartículas celulares (podem desempenhar importante papel nos processos trombóticos) provenientes de membranas fragmentadas de vários tipos de células, como leucócitos e células endoteliais, bem como de plaquetas. Esta teoria da coagulação é baseada em quatro fases (Tab. 2).

**Tabela 2.** Resumo da teoria da coagulação baseada nas superfícies celulares.

Fases da Coagulação			
Iniciação	Amplificação	Propagação	Finalização
Endotélio vascular e células sanguíneas circulantes são perturbados;	Trombina ativa plaquetas, cofatores V e VIII, e fator XI na superfície das plaquetas.	Produção de grande quantidade de trombina, formação de um tampão estável no sítio da lesão e interrupção da perda sanguínea.	Processo da coagulação é limitado para evitar a oclusão trombótica ao redor das áreas íntegras do vaso.
Interação do Fator VIIa derivado do plasma com FT.			

**Fonte:** FERREIRA et al., 2010.

Os resultados dos processos hemostáticos dão origem a moléculas de fibrina insolúvel, sendo esta responsável pela hemostasia dos capilares lesionados e liberação de grânulos presentes nas plaquetas contendo fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento de transformação beta (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento *insulin-like* (IGF), prostaglandinas e tromboxanos (BOATENG et al., 2008; ROUBELAKIS et al., 2014).

O TGF- $\beta$  promove a proliferação de células endoteliais, fibroblastos e células epiteliais. Além disso, os outros fatores supracitados participam de diversos processos moleculares, incluindo: a migração dirigida de células alvo, quimiotaxia de fibroblastos e queratinócitos (PDGF) e síntese de colágeno e outras proteínas da MEC (TGF- $\beta$ , FGF e IGF) e no microambiente da ferida regula a inflamação e remodela o tecido conjuntivo recém-formado (TGF- $\beta$ ) (BELDON, 2010; IRON, 2010).

### 2.2.2 Fase inflamatória

Esta fase é considerada como a segunda etapa do processo da cicatrização da ferida, todavia, ela é iniciada a partir dos mediadores liberados pelas células lesadas, ativação das

plaquetas e citocinas, e ainda pelos subprodutos da hemostasia. Por esta razão, o resultado desta etapa é o controle do sangramento, estabelecimento de uma matriz provisória, com propriedades quimioatrativas e de um leito limpo para a cicatrização da lesão (BOATENG et al., 2008; HSU e MUSTOE, 2010, PARK et al. 2014).

Nesta fase há respostas celulares e vasculares como a vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar, a ativação do complemento, e a migração de leucócitos polimorfonucleares (PMN) (BOATENG et al., 2008; BELDON, 2010; BEITZ, 2012). Os eventos vasculares supracitados causam extravasamento do exsudato, com aumento da temperatura da lesão e esse microambiente favorece a migração e ativação das células inflamatórias. Sendo assim, a inflamação desencadeia cinco sinais, também denominados de cardinais ou flogísticos: dor, calor (aumento da temperatura), tumor (edema), rubor (eritema) e perda da função da região afetada (lesões das terminações nervosas). Esses sinais são consequências de eventos vasculares e celulares, desencadeados pela ativação de mediadores químicos, que controlam e modulam todo processo inflamatório (SCHULTZ et al., 2003; IRON, 2010).

Os mediadores do tecido lesionado, juntamente com a ativação do sistema complemento, iniciam o recrutamento de células inflamatórias. Os neutrófilos são as primeiras células que migram para o tecido lesionado, chegam ao local em até 24h e podem permanecer no local por horas ou dias até que o tecido esteja livre de bactérias e tecidos desvitalizados (BELDON, 2010; SIEBERT et al. 2011, LAMEL e KIRSNER, 2013). Para tanto, essas células necessitam de um processo denominado diapedese para atravessar os vasos sanguíneos, chegar ao local da lesão e, efetivamente, realizarem suas funções. Para que ocorra a diapedese as células do endotélio, em resposta a citocinas como interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), passam a expressar molécula de adesão celular (ICAM-1), molécula de adesão de célula vascular (VCAM-1) e E-selectina (SELE). No âmbito molecular as citocinas possuem ações estimulantes e inibitórias sobre as células inflamatórias (Tab.3) (KUJATH e MICHELSEN, 2008; HOU et al. 2015). Após as modificações do endotélio, juntamente com a adesão celular e à exposição a quimiocinas, o citoesqueleto dos PMN é modificado, o que permite a chegada delas ao local injuriado (VESTWEBER, 2015).

**Tabela 3.** Citocinas na fase inflamatória da cicatrização.

	<b>Citocinas</b>	<b>Principais Atividades</b>	<b>Referências</b>
<b>Células T helper 1 (Th1)</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Atua em várias etapas do mecanismo de recrutamento de leucócitos, neutrófilos e macrófagos, induzindo a regulação da adesão molecular, produção de quimiocinas e matriz de metaloproteinase, bem como inibidores teciduais de metaloproteinases.	OLIVEIRA et al., 2011; GRAGNANI et al., 2013.
	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	É uma interleucina chave da resposta antimicrobiana por amplificação da resposta inflamatória; Estimula o recrutamento de leucócitos, Aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos; Em fases mais tardias, agem na quimiotaxia de fibroblastos e queratinócitos.	MACLEOD et al., 2014; ZHAO et al., 2016.
	<b>IL-2</b>	Ativação e crescimento de células T; Aumentam a infiltração fibroblástica e o metabolismo celular.	MELO et al., 2010; DOERSCH et al., 2016.
	<b>IL-6</b>	Mediador pró-inflamatório solúvel com atividades pleiotrópicas na inflamação; Estimulam a proliferação de fibroblastos.	JOHNSON e WILGUS, 2012 TANAKA et al., 2014.
	<b>IL-8</b>	Promovem a quimiotaxia de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares (PMN) e a maturação de queratinócitos. Em consequência, estimulam a reepitelização, angiogênese e o remodelamento da matriz extracelular.	KOLACZKOWSKA e KUBES, 2013; WULFF e WILGUS, 2013.
	<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Em macrófagos e PMN ativados estimulam a atividade da collagenase; Produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e TNF- $\alpha$ .	KANO et al., 2019
<b>Células Th2</b>	<b>IL-4</b>	Inibição de TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, da proliferação de fibroblastos, e da síntese de colágeno; Repressão das proteínas fibrosas da matriz, mais especificamente a fibronectina, refletindo no retardo na reepitelização da ferida.	KAPELLOS e IQBAL, 2016. SEREZANI et al., 2017.
<b>Células Th17</b>	<b>IL-17</b>	Formação de IL-6 e IL-8 (quimiocina) e da molécula de adesão intercelular em fibroblastos. Tem papel importante na resposta imune a certos patógenos, como bactérias extracelulares e fungos.	GENOVESE et al., 2010; RODERO et al., 2012.

Células T Regulatórias (T <sub>REG</sub> )	<b>IL-10</b>	Inibição de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6; Regula citocinas fibrogênicas, como a transformação do fator de crescimento $\beta$ (TGF- $\beta$ ), como parte de seu papel na regulação da remodelação tecidual.	NORRIS et al. 2014; BESERRA et al., 2019.
--	--------------	--	--

TNF- $\alpha$ : Fator de Necrose Tumoral Alfa; IL's: Interleucinas; IFN- $\gamma$ : Interferon Gama.

**Adaptado:** Próprio Autor.

Os neutrófilos atuam ainda na liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs), nitrogênio (ERNs) e de proteases (elastase, colagenase e catepsina G). Entretanto, após cerca de 2 – 5 dias da diapedese os PMN entram num processo de apoptose, resultando na produção de secreções (exsudato), e são gradualmente substituídos por monócitos (LAMEL e KIRSNER, 2013; WILGUS et al., 2013; WU e CHEN, 2014). Os monócitos, assim como os neutrófilos, migram para a MEC por estímulo quimiotático. Neste ambiente os monócitos sofrem a ação de mediadores inflamatórios, como o TGF- $\beta$  e produtos de degradação de fibrina e fibronectina, proveniente da MEC “temporária” (GUO; DIPIETRO, 2010). Após a ação dos mediadores inflamatórios os monócitos passam a ser denominados de macrófagos. No que lhe concerne participa da fagocitose e eliminação de bactérias e/ou remoção de células e tecidos mortos, através da secreção de MMPs da matriz (colagenase e elastase) (GUO e DIPIETRO, 2010; MOHD et al., 2012).

Iniciando o processo de transição para a próxima fase, há a degradação da MEC e tecido necrótico a fim de facilitar o trânsito na região de lesão, além da fagocitose, os neutrófilos e macrófagos secretam MMPs e inibidores das metaloproteinases (TIMPs) (VÉROLLET et al., 2011; EMING et al., 2014). Além disso, os macrófagos secretam diversos fatores de crescimento, dentre os quais se incluem: EGF, FGF, PDGF, TGF- $\beta$  e VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular) (REINKE e SORG, 2012). Esses fatores atuam positivamente na migração e proliferação de fibroblastos (EGF e PDGF) e queratinócitos (FGF), na deposição de elementos na MEC (TGF- $\beta$ ) e fatores angiogênicos (VEGF e FGF) (HSU & MUSTOE, 2010; SIEBERT et al. 2011, LAMEL e KIRSNER, 2013).

O término da fase inflamatória inicia-se com a redução de macrófagos e a ausência de neutrófilos no local da ferida é o que caracteriza o início da fase proliferativa. Portanto, a remoção dos neutrófilos é essencial para a ferida seguir para a próxima etapa do processo cicatricial. Esta remoção é realizada, principalmente pelos macrófagos que induzem a

apoptose dos neutrófilos, em um processo chamado eferocitose (DIEGELMANN e EVANS, 2004; TOWNSEND et al., 2012).

### 2.2.3 Fase proliferativa

Esta fase se inicia a partir da intensa produção e liberação de mediadores químicos produzidos pelos macrófagos, que induzem a migração celular e a proliferação dos fibroblastos. Sendo assim, a fase proliferativa é constituída pelas seguintes etapas: epitelização, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Já nas primeiras 24h as células epiteliais iniciam a migração da periferia para o centro da lesão a fim de restabelecer a integridade tecidual (CAMPOS, 2007; IRION, 2012; PARK et al. 2014).

Os mecanismos envolvidos na proliferação tecidual estão destinados a cobrir a área da ferida com uma nova pele (reepitelização), esse processo é estimulado pela IL-1 e o EGF (BEITZ, 2012). Para que o leito da lesão seja preenchido é necessário um estímulo para a migração e proliferação celular (fibroblastos e queratinócitos) das margens para o centro da ferida (Fig. 5). Este mecanismo foi descrito por Montesano e Orci (1988) e foi denominado de “efeitos de vizinhança livre”. Através destes efeitos as células basais próximas à região da ferida perdem a interação com as células adjacentes e, à medida que a adesão celular se desfaz, as mesmas células são ativadas e adquirem propriedades mitóticas para a reepitelização da lesão (REIKE e SORG, 2012). O preenchimento superficial da ferida é influenciado por diversos sinais alusivos com a injúria tecidual, como fatores de crescimento, incluindo o IGF, fator de crescimento de queratinócitos (KGF), fator do crescimento nervoso (NGF); citocinas e óxido nítrico (NO), este último sintetizado pelos macrófagos e células endoteliais (BARRIENTOS et al., 2008; OVALLC e NAHIRNCY, 2013).

As células do estrato basal se desprendem da membrana basal, se diferenciam em queratinócitos ativos e migram para formar as camadas superiores. O desprendimento destas células da membrana basal dá-se pela ação de enzimas como MMPs 2 e 9. Estas enzimas por sua vez degradam o colágeno (tipo IV) da membrana basal e o colágeno (tipo VII) responsável pela formação de fibrilas de ancoragem do epitélio com a membrana basal (OLCZYK et al., 2014). Ademais, há três fontes de fornecimento de queratinócitos para reposição dos estratos epiteliais: a partir da borda da ferida, dos anexos cutâneos como os folículos pilosos e glândulas sudoríparas, que se proliferam e perdem seus desmossomos e os filamentos internos de queratina, migrando para o centro da lesão. (LAU et al., 2009; GARTNER e HIATT, 2017).

Os queratinócitos desenvolvem filamentos de actina, perdem sua polaridade apical/basal e utilizam seus pseudópodes em direção ao centro da lesão, produzindo provisoriamente uma matriz de fibrina, fibronectina e colágeno tipo V. Essa migração de queratinócitos é dependente do tecido de granulação, pois, a mesma só inicia quando o tecido de granulação alcança o nível da epiderme (IRON, 2010; SARANDY et al. 2015).

Para a formação do tecido de granulação são necessárias duas condições: migração e proliferação fibroblástica (fibroplasia) e a formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese). Estes dois processos substituem temporariamente a derme até que o processo de maturação possa reestruturar esta camada, na fase de remodelamento. O tecido de granulação contém uma grande quantidade de fibroblastos, células inflamatórias (granulócitos e macrófagos) e vasos sanguíneos (SCHULTZ e WYSOCKIW, 2009; BAHRAMSOLTANI et al. 2014). O aspecto granuloso do tecido conjuntivo recém-formado, juntamente com um “emaranhado” de capilares, denomina o termo “granulação” ao tecido neoformado. Este tecido apresenta um metabolismo mais rápido, comparado com a derme, possuindo células com alta demanda energética. Isto porque nestas células, a migração celular, divisão e biossíntese de proteína são intensificadas (NAUTA et al., 2011).

No processo de fibroplasia ocorre a migração e proliferação de fibroblastos e conseqüentemente síntese de novos componentes da MEC. De forma geral, nesta fase os fibroblastos são as células em maior quantidade no tecido conjuntivo e são responsáveis pela síntese da maior parte da MEC que a compõe (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). Os fibroblastos iniciam seu processo de migração e proliferação, cerca 48 – 72 horas a partir do momento em que a lesão aparece. Inicialmente, a partir das margens livres da ferida as células mesenquimais da derme se diferenciam em fibroblastos, após a ação de citocinas e fatores de crescimento derivados de plaquetas, neutrófilos e macrófagos (SORRELL et al., 2004; MARKS e LOOKINGBILL, 2013).

Com o aumento dos fibroblastos ativados para a produção de colágeno local, a MEC começa a ser substituída por um tecido conjuntivo mais forte e mais elástico. Estas células migram para a ferida, são ativadas pelo PDGF e saem do seu estado de quiescência. Esse movimento é direcionado pela orientação da matriz provisória, um fenômeno conhecido como “guia de contato”, e é facilitado quando a composição da MEC temporária é mais rica em gel de fibronectina que em colágeno, sendo orientado pelo gradiente de substâncias quimioatraentes (EGF e PDGF) (MCDUGALL, 2006; BAHRAMSOLTANI et al. 2014).

Ainda sobre a MEC temporária, ela possui moléculas de ácido hialurônico que são glicosaminoglicanos (GAGs) com uma alta capacidade de associação a água, o que garante a

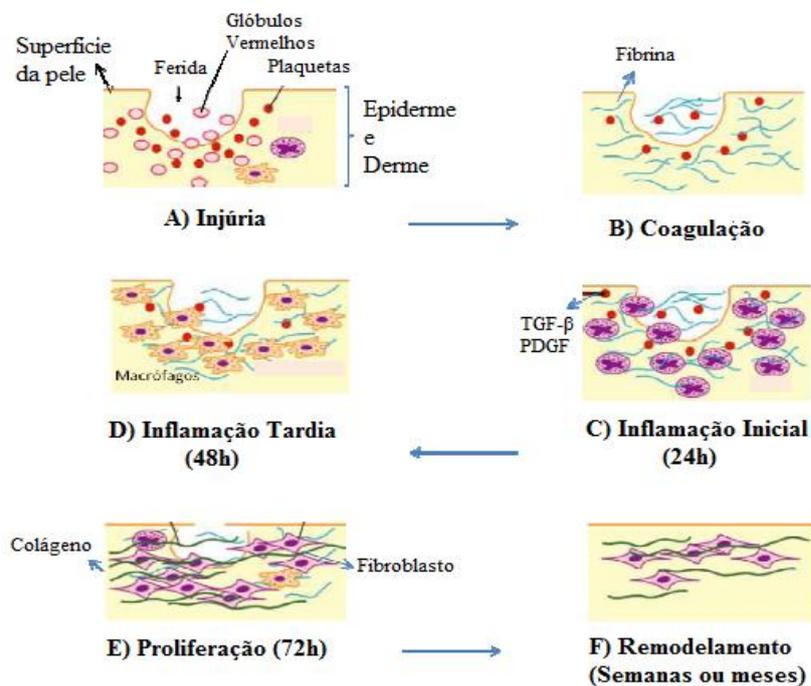
característica viscosa e espaçada, além disso, a MEC possui outros componentes como colágeno do tipo I e III, elastina, proteoglicanos e proteínas não colágenas. Sendo assim, suas características estruturais iniciais permitem o recrutamento de mais células para a área da ferida. Os componentes da MEC são sintetizados principalmente por fibroblastos que tem sua atividade regulada por PDGF e TGF- $\beta$  (HINZ, 2007; SCHULTZ e WY SOCKI W, 2009; SINNO e PRAKAS, 2013).

Os fibroblastos sofrem mudanças fenotípicas (IRON, 2010; SARANDY et al. 2015). Alguns fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos (fibroblastos com capacidade contrátil) (Fig.6). Para a formação do miofibroblasto é necessária uma alta concentração de oxigênio para a hidroxilação dos resíduos de prolina e lisina nas cadeias polipeptídicas do colágeno, montadas no citoplasma dos fibroblastos, sendo isto proporcionado pela rede capilar neoformada (PEREIRA et al., 2008; SHINGEL et al., 2008; RAM et al. 2015). O ressecamento da crosta superficial da ferida também auxilia no processo de contração, pois, a desidratação leva à redução do tamanho da lesão e arrasta o tecido a ela aderido. Nesta condição para fechamento da lesão as margens se movem uma em direção à outra como se existisse uma linha de tensão invisível entre elas, mesmo quando o espaço da lesão está preenchido com tecido de granulação (SHINGEL et al., 2008; HATANAKA et al., 2013).

Para que haja formação do tecido de granulação o processo de angiogênese é importante, pois restaura a circulação no local danificado, impedindo o desenvolvimento de necrose isquêmica, ao mesmo tempo estimula o processo de reparo nos tecidos. Esta neovascularização é desencadeada pela ação direta dos fatores de crescimento sobre o endotélio vascular (VEGF e TNF- $\alpha$ ), baixa tensão de oxigênio que ocorre no centro da ferida e pH reduzido e/ou concentração elevada de ácido lático (SHINGEL et al., 2008; HATANAKA et al., 2013; SANTOS et al., 2014). Além disso, outros mediadores solúveis têm participação, tais como fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), TGF- $\beta$ , angiogenina e angiotropina, que são advindos de células epiteliais, fibroblastos, células endoteliais e macrófagos e apresenta uma forte atividade pró-angiogênica (SINNO e PRAKAS, 2013).

A angiogênese permite a troca de gases e nutrem as células metabolicamente ativas. Com os estímulos dos fatores de crescimento, já supracitados, as células endoteliais dos capilares íntegros, na margem da lesão, passam a secretar MMP (MMP-1 ou colagenase) e ativador do plasminogênio. Essas substâncias promovem aberturas na membrana basal permitindo a migração das células endoteliais que, ao atravessarem a parede do vaso e utilizarem como substrato a MEC provisoriamente produzida, segue em direção à região da

lesão. Ao sair do vaso, essas células se diferenciam para formarem novos tubos capilares, ou também denominados de brotos capilares (Fig. 4). Esses brotos se unem ao capilar de origem para o reestabelecimento do fluxo sanguíneo (PEREIRA et al., 2008; SHINGEL et al., 2008; RAM et al. 2015).



**Figura 4.** Esquema ilustrativo das fases da cicatrização. A) Injúria tecidual – extravasamento de aminas vasoativas e células sanguíneas para a derme danificada; B) Coagulação – hemostasia por formação de coágulo de fibrina. C) Inflamação Inicial (recente) – recrutamento de PMNs por fatores plaquetários (PDGF e TGF-β); D) Inflamação Tardia – substituição das PMNs por macrófagos. E) Proliferação – fibroblastos são recrutados para a ferida, dando início a síntese do colágeno. F) Remodelamento – redução na síntese do colágeno e reestruturação do tecido neoformado. **Fonte:** BEANES et al., 2003.

Ao final desta etapa, o leito da lesão está preenchido em sua totalidade por tecido de granulação, a circulação é restabelecida pela angiogênese e a rede linfática está passando por regeneração. Além disso, as células voltam a apresentar o fenótipo original, a membrana basal é refeita e os hemidesmossomos e desmossomos são reconstituídos. A aparência de cicatriz começa a se estabelecer pelo acúmulo de massa fibrosa (PEREIRA et al., 2008; SHINGEL et al., 2008; PARK et al. 2014).

#### 2.2.4 Fase remodelativa

Esta fase representa a última etapa do processo cicatricial, podendo levar meses ou até anos para se completar (BELDON, 2010; MARKS e LOOKINGBILL, 2013). Por volta do décimo dia, o leito da lesão encontra-se totalmente preenchido pelo tecido de granulação e por uma rede linfática em fraca regeneração, devido a sua reconstrução iniciar-se após a angiogênese. O tecido neoformado vai, paulatinamente, sendo enriquecido inicialmente com fibras de colágeno mais finas (tipo III), e aos poucos será substituído por um colágeno mais espesso (tipo I). Esse processo de substituição reduz o colágeno tipo III de 30% para 10%, todavia, apesar dessa mudança aumentar a resistência do tecido, o novo tecido cicatricial só apresenta apenas 80% da força de tensão da pele não lesionada (BALBINO, 2005; SHINGEL et al., 2008; IRION, 2012).

A resistência de uma cicatriz é demonstrada pela quantidade de colágeno que é produzida, depositada e, principalmente, pela forma em que as fibras estão organizadas. Sendo assim, o processo de remodelamento da cicatriz envolve a produção, digestão e orientação das fibras de colágeno. Inicialmente, a deposição é dependente da natureza e direção das tensões aplicadas ao tecido, além disso, este depósito é realizado de maneira aleatória tendo como orientação a organização da fibronectina. Subsequentemente, as fibras depositadas são digeridas pela colagenase, re-sintetizadas, rearranjadas de acordo com a organização das fibras do tecido conjuntivo adjacente e lateralmente ligadas por ligações covalentes. Esse tipo de ligação ocorre entre moléculas de tropocolágeno no âmbito da fibrila e entre as próprias fibrilas (CAMPOS, 2007; PEREIRA et al., 2008; SHINGEL et al., 2008; HATANAKA et al., 2013).

O processo de repetições sucessivas da lise, re-síntese, redirecionamento e religação formam fibras maiores de colágeno e resultam numa configuração mais regular da cicatriz. Essas repetições, juntamente com as ligações covalentes, aumentam a resistência da cicatriz, devido à organização das fibras acompanharem as forças mecânicas a que o tecido está sujeito durante a atividade normal (MCDUGALL, 2006; CAMPOS et al., 2007).

Ao final desta etapa, os eosinófilos e os linfócitos aparecem nas últimas fases do processo de reparo tecidual, produzindo fatores de crescimento (eosinófilos e linfócitos) e exercendo ações imunes (linfócitos) (BALBINO, 2005; BROLMANN et al., 2012). Os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas sofrem regeneração limitada e a cicatriz permanece pálida por regeneração deficiente de melanócitos e desaparecimento dos capilares

neoformados (SCHULTZ et al., 2003; BOATENG et al., 2008; MARKS e LOOKINGBILL, 2013).

Portanto, foi visto que o processo de cicatrização envolve muitos fatores locais e sistêmicos (Fig. 4), que a depender da regulação podem interferir no seu resultado. Tal desregulação pode resultar em um atraso do processo, com a formação de feridas crônicas as quais apresentam, frequentemente, período inflamatório prolongado, levando a um processo de cicatrização adiado ou incompleto. Ocasionalmente, na fase de remodelamento o desequilíbrio das fases anteriores pode gerar uma cicatriz anormal, denominadas como: cicatriz atrófica, cicatriz hipertrófica ou quelóide (AMINI e PARVARES, 2009; ABBADE, 2014).

Além disso, múltiplos fatores podem levar à deteriorização da cicatrização de feridas. Em termos gerais, os fatores que influenciam o reparo podem ser categorizados em local e sistêmico. Fatores locais são aqueles que influenciam diretamente as características da própria ferida, como: insuficiência circulatória local, hipoxemia, infecção, presença de corpo estranho. Dentre os fatores sistêmicos estão: idade, estresse, doenças (por exemplo, diabetes), uso de medicamentos (por exemplo, anti-inflamatórios), tabagismo, condições imunocomprometidas (por exemplo, AIDS) e nutrição. Muitos desses fatores estão relacionados, e os fatores sistêmicos agem através dos efeitos locais que afetam a cicatrização de feridas (GUO e DIPIETRO, 2010).

No campo terapêutico as feridas podem ser tratadas com os mais diversos produtos. Entretanto, o acesso a esses insumos nem sempre é possível, e a população recorre para as fontes alternativas, como os produtos naturais de origem animal e/ou vegetal. Especificamente no território brasileiro esta prática se expandiu devido aos efeitos colaterais de fármacos sintéticos, fácil acesso a fontes naturais, baixo custo do tratamento e realização de estudos etnomedicinais. Estes estudos norteiam as pesquisas laboratoriais e clínicas e embasam a utilização de produtos fitoterápicos nos tratamentos das lesões (MARTINS et al., 2007; CARNEIRO et al., 2010; LORENZI et. al., 2010; KIM et al., 2015).

### **2.3 Produtos de origem vegetal no tratamento de feridas**

Há séculos, ou até mesmo milênios, as plantas medicinais são utilizadas no processo de cicatrização de feridas. Em alguns países, como a Índia essa prática data a mais de 5000 anos (GARODIA et al., 2007). De maneira geral, as plantas são indicadas e utilizadas após um ferimento cutâneo por serem a elas atribuídas propriedades terapêuticas. Sendo que,

algumas delas promovem o a coagulação do sangue, evita infecções e acelera o processo de cicatrização, promovendo o fechamento de lesão, alcançando a cicatrização funcional e satisfatória (VARGAS et al., 2014; SOUZA et al., 2016).

Mesmo com a diversidade de produtos existentes no mercado para tratamento de feridas, as plantas medicinais, em geral apresentam baixo custo e são facilmente encontradas, sendo assim, ganham espaço no mercado com o intuito de aumentar as opções terapêuticas (WANG et al., 2013). Vale salientar, que apesar dos grandes avanços na oferta de medicamentos, pela indústria farmacêutica no tratamento de lesões cutâneas, menos de 3% destes insumos estão presentes nas farmacopeias ocidentais como como agente cicatrizante. Destes, pelo menos um terço é obtido de plantas (LORDANI et al., 2018).

### 2.3.1 Extratos

O uso de plantas medicinais para o tratamento de injúrias teciduais sempre foi considerado como fonte principal e/ou alternativa para os mais variados tratamentos de afecções cutâneas (ALMEIDA et al. 2014; KANT et al. 2015). Para tanto, a etnomedicina é utilizada em diversos países (ALERICO et al. 2015; AGYARE et al. 2016; JOSHI et al. 2016; ADAMS et al. 2016), para o desenvolvimento de novos fármacos. Para obtenção dos extratos, a matéria-prima (porções desidratadas da planta), podem ou não passar por tratamento prévio (moagem, por exemplo), e são preparados com processos envolvendo o uso de solvente, vapor e fluido supercrítico (TELÓ et al. 2014; GONÇALVES et al. 2014).

Independentemente do método de extração adotado é importante a caracterização dos metabólitos secundários presentes num extrato. A presença destes compostos infere suas possíveis ações, como os flavonoides, outros polifenóis e alcaloides são conhecidos por promover o processo de cicatrização devido à sua propriedade anti-inflamatória, antimicrobiana (KCHAOU et al. 2016; TALEB et al. 2016), antioxidante (TSALA et al. 2014; UDEGBUNAM et al. 2014) e imuno-estimuladora (THI et al. 2002), que parecem ser responsáveis pela contração da ferida e um aumento da taxa de epitelização. Dentre os compostos fenólicos destacam-se os taninos. Estes metabólicos secundários são responsáveis pela adstringência dos vegetais. Esta característica confere as espécies ações anti-inflamatória (RAPHAEL e CUTAN, 2003), anti-ulcerogênica (BERENGUER et al., 2006; HIRUMA-LIMA et al., 2006) e cicatrizante (FERNANDEZ et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2008).

A propriedade cicatrizante dos extratos de plantas vem sendo associada a uma diversidade de espécies pelo mundo como: *Ageratum conyzoides* L., *Anthocleista djalonensis*

A. Chev., *Napoleona imperialis* P. Beauv., *Ocimum Gratissimum* L., *Psidium guajava* L. (CHAN et al., 2006); *Atropha gossypifolia* L. (SERVIN et al., 2006); *Jasminum grandiflorum* Linn (NAYAK e MOHAN, 2007); *Pfaffia glomerata*. (Spreng.) (SILVA et al., 2010); *Sonchus oleraceus* L. (PRICHOA et al., 2011); *Albizia lebbbeck* Benth (CARRINGTON et al., 2012); *Cleome viscosa* (UPADHYAY et al., 2014); *Vitis Vinifera* (NAYAK et al., 2010); e *Punica granatum* (NAYAK et al., 2013), *Calendula officinalis* (PARENTE et al., 2009; PARENTE et al., 2011; WANG et al., 2013). No contexto brasileiro das pesquisas com plantas medicinais com potencial cicatrizante, destaca-se a *Myracrodruon urundeuva* fr. All. (CAVALCANTE et al., 2005); *Anacardium occidentale* L. (SCHIRATO et al., 2006); *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (MINATEL et al., 2010) e *Arrabidaea chica* Verlot. (JORGE et al., 2008; ARO et al., 2013).

Com base no exposto, os extratos de plantas medicinais tornam-se alternativas de grande relevância para o processo de cicatrização de feridas, todavia, as partes utilizadas destas plantas podem variar (raiz, caule, folhas, frutos e sementes), resultando em diferentes extratos (por exemplo, aquoso e etnólico) e/ou óleos vegetais (PIRIZ et al., 2014; RODRIGUES et al., 2016).

### 2.3.2 Óleos

Os óleos de origem vegetal são fontes alternativas para o tratamento de feridas em diversos países, principalmente em países da América Latina (HATANAKA et al., 2013). Devido as condições socioeconômicas destes países, nem sempre a disponibilidade de medicamentos e insumos, desta forma há a procura principalmente por fontes vegetais para tratamentos das mais diversas afecções cutâneas (LORDANI et al., 2016). Nesses óleos, os ácidos graxos formam uma classe de compostos que contêm uma cadeia hidrocarbonada e um grupamento carboxila terminal. Apresentam três funções principais: são componentes estruturais das membranas biológicas; atuam como precursores de mensageiros intracelulares e são oxidados, nesse caso, gerando energia – adenosina trifosfato (ATP) (HATANAKA et al., 2007; FERREIRA, 2012).

A aplicação tópica de óleos vegetais para fins cosméticos e médicos já tem muito tempo, pois os mesmos apresentam muitos benefícios fisiológicos positivos (LIN et al., 2018). Por exemplo, a aplicação de óleo vegetal pode atuar como uma barreira protetora à pele por um efeito oclusivo, permitindo que a pele retenha a umidade, resultando em menor perda transepidérmica de água (ALVES et al., 2019; POLJŠAK et al., 2019). Além disso, muitas

vezes os produtos tópicos têm o benefício de maior biodisponibilidade na pele e ter um efeito localizado, ao invés de efeitos sistêmicos (PATZELT et al., 2012).

Pesquisas anteriores sobre óleos vegetais demonstraram que várias espécies vegetais foram utilizadas no tratamento de lesões cutâneas (Tab. 4). Os ácidos graxos, especificamente os monoinsaturados, como o ácido oleico, podem romper a barreira cutânea e atuar como intensificadores de permeabilidade para outros compostos presentes nos óleos vegetais (PATZELT et al., 2012; MACK et al., 2014).

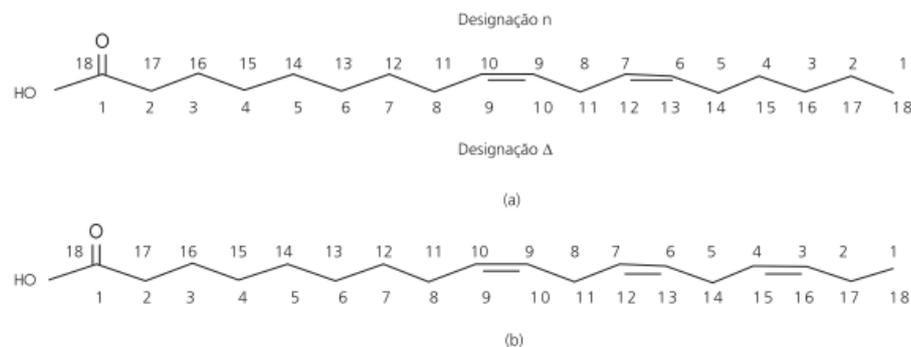
**Tabela 4.** Óleos vegetais utilizados no tratamento de feridas.

Ácidos graxos	Origem vegetal (Espécie, Família)
<b>Saturado</b>	Óleo de Coco ( <i>Cocos nucifera</i> L., Arecaceae)
<b>Monoinsaturados</b>	Azeite de Oliva ( <i>Olea europaea</i> L., Oleaceae)
	Óleo de Andiroba ( <i>Carapa guianensis</i> Aubl., Meliaceae)
	Óleo de Macaúba ( <i>Acocomia aculeate</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart., Arecaceae)
	Óleo de Argan ( <i>Argania spinosa</i> L., Sapotaceae)
	Óleo de Abacate ( <i>Persea americana</i> Mill., Lauraceae)
	Óleo de Colza ( <i>Brassica napus</i> L., Brassicaceae)
	Óleo de Copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf., Fabaceae),
	Óleo de Calophyllum ( <i>Calophyllum inophyllum</i> L., Calophyllaceae)
	Óleo de Lentilha ( <i>Pistacia lentiscus</i> L., Anacardiaceae)
	Óleo do Pericarpo de Espinheiro Marítimo ( <i>Hippophae rhamnoides</i> L., Elaeagnaceae)
	Óleo de Pequi ( <i>Caryocar brasiliense</i> Cambess, Caryocaraceae)
	Óleo de Pracaxi ( <i>Pentaclethra macroloba</i> [Willd] Kuntze, Fabaceae)
<b>Poli-insaturados</b>	Óleo de Café Verde ( <i>Coffea arabica</i> L., Rubiaceae)
	Óleo de Cominho Preto ( <i>Nigella sativa</i> L., Ranunculaceae)
	Óleo de Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton, Ericaceae)
	Óleo de Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L., Asteraceae)
	Óleo de Linhaça ( <i>Linum usitatissimum</i> L., Linaceae)
	Óleo de Lucuma ( <i>Pouteria lucuma</i> Kuntze, Sapotaceae)
	Óleo de Romã ( <i>Punica granatum</i> L., Lythraceae)
	Óleo de Semente de Abóbora ( <i>Cucurbita pepo</i> L., Cucurbitaceae)
	Óleo de Semente de Espinheiro Marítimo ( <i>Hippophae rhamnoides</i> L., Elaeagnaceae)
	Óleo de Uva ( <i>Vitis vinifera</i> L., Vitaceae)

**Fonte:** LIN et al, 2018; ALVES et al., 2019; POLJŠAK et al., 2019.

Estes ésteres metílicos podem variar no número de carbonos na cadeia e a presença de ligações duplas. Os ácidos graxos saturados não possuem ligações duplas, entretanto, os ácidos graxos insaturados com uma ligação insaturada e os ácidos graxos poli-insaturados possuem duas ou mais ligações insaturadas. Baseando-se no número e na posição das ligações insaturadas, os ácidos graxos de cadeia longa são classificados em três grandes famílias:  $\omega$  3,  $\omega$  6 e  $\omega$  9 (ASIF, 2011).

As famílias  $\omega$  3 ( $\alpha$ -linolênico) e  $\omega$  6 (linoleico) são classificados como ácidos graxos essenciais (AGE), pois, não são sintetizados pelos mamíferos por isso, devem ser consumidos através da dieta. Tratando-se de feridas, os dois ácidos supracitados são os mais importantes (MAGALHÃES et al., 2008). O ácido linoleico (Fig. 5A) tem um papel fundamental na quimiotaxia para macrófagos, sendo crucial na expressão de componentes do sistema fibrinolítico (regula a produção de collagenases); favorece o desbridamento autolítico no leito da lesão por contribuir na produção de MMPs, induzindo a granulação e podendo acelerar o processo de cicatrização (MANHEZI et al., 2008).



**Figura 5.** Estruturas dos ácidos graxos essenciais  $\omega$  6 (linoleico) (a) e  $\omega$  3 ( $\alpha$ -linolênico) (b).  
**Fonte:** MARTINS et al., 2006.

O ácido linolênico (Fig. 5B) é o lipídio encontrado em maior quantidade na camada epidérmica. Ele favorece a manutenção da integridade da barreira de permeabilidade epidérmica, é importante no transporte de gorduras e acelera os processos cicatriciais. Essa substância age como modulador da membrana celular protegendo a lesão e agindo como imunógeno local; é um protetor da pele contra agentes químicos e enzimáticos; protege a pele das ações da umidade (suor, diurese e fezes), evitando por exemplo a formação de úlceras por pressão (MARTINS et al., 2017). Por ser um lipídio, forma uma barreira impermeável para a pele, além disso, promove quimiotaxia e angiogênese, pela manutenção do meio úmido e aceleração do processo de granulação tecidual (BAJAY et al., 2003; CALDER et al., 2009).

Produtos à base de AGE podem conter um ou dois AGE, juntamente com outras substâncias, como vitamina A, E e lecitina de soja, ou até mesmo, integrar formulações de triglicerídeos de cadeia média (TCM). Os TCM são compostos predominantemente por ésteres metílicos, a saber: C8:0 (ácido cáprílico), C10:0 (ácido cáprico), C6:0 (ácido capróico) e C12:0 (ácido láurico) (FERREIRA et al., 2012). Os ácidos caprílico e cáprico possuem ações já conhecidas frente ao tratamento e prevenção da dermatite amoniacal e úlceras por pressão, formando uma barreira protetora para a pele, além de ser de importância nos processos de inflamação celular, proporcionando alívio após a primeira aplicação e nutrição celular local, além de ter uma grande capacidade de regeneração dos tecidos (MAGALHÃES et al., 2008; FERREIRA, 2012). Todos estes componentes agem de forma a aumentar a resposta imune, acelerando o processo inflamatório, e conseqüentemente estimulando o processo de cicatrização por meio da angiogênese e da epitelização (ALVES et al., 2019).

Devido as várias propriedades biológicas associadas aos óleos vegetais, tem havido uma tendência crescente para a sua utilização como matérias-primas naturais em produtos farmacêuticos e cosméticos. Isso causou grande interesse nos óleos extraídos de plantas, promovendo uma expansão rápida e significativa dos mercados nacional e internacional para esses óleos (DE NARDI et al., 2004; PATZELT et al., 2012). São exemplos destes produtos: AGE Cremer Óleo – Andiroba (Cremer S.A.—São Paulo, Brasil); Primoderme – Calêndula, girassol, gérmen de trigo, azeitona e manteiga de karité (Greenwood Indústria e Comércio LTDA—São Paulo, Brasil); Repitelin – Gérmen de trigo e girassol (Cosmiatric Biolab Dermocosméticos LTDA—São Paulo, Brasil) (ALVES et al., 2019).

Entretanto, ainda há muitas espécies de plantas medicinais que apresentam relatos de usos etnomedicinais para o tratamento de afecções cutâneas. Dentre essas espécies destaca-se o babaçu *Attalea speciosa* Mart. Spreng (RUFINO et al., 2008; SOUZA et al., 2011; ARAÚJO et al., 2016).

## **2.4 *Attalea speciosa* (Mart.) ex Spreng – Babaçu**

### **2.4.1 Distribuição e características botânicas**

A família Aracaceae é composta por mais de 2400 espécies distribuídas (GOVAERTS e DRANSFIELD, 2005), principalmente em regiões tropicais e, não menos raro, em regiões subtropicais são encontradas algumas espécies. Destaca-se regiões como América do Sul e Malásia, todavia na África há relatos de apenas 65 espécies catalogadas. Muitas palmeiras

podem ser encontradas em áreas florestais, em sua grande maioria, mas também podem ser encontradas em savanas e desertos (BARFOD et al., 2011).

Atualmente, *Attalea* spp. é a principal fonte silvestre de óleo vegetal do mundo, com larga utilização industrial, sendo considerado um dos principais produtos extrativistas do Brasil, contribuindo de maneira significativa para a economia de alguns estados da federação, sendo fonte de renda para cerca de 300 mil famílias (LORENZI et al., 2010; GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2012).

Na América do Sul, a família compreende 50 gêneros e 476 espécies (PINTAUD e ANTHELME, 2008; NOBLICK, 2009; BERNAL et al., 2011). Especificamente no Brasil, dentre as palmeiras destaca-se o babaçu que abrange grandes áreas de pastagens de Minas Gerais, Cerrado (NEVES et al., 2013), Nordeste (Mata dos cocais – MA, PI e CE, Brasil) e de forma crescente no Sudeste (Fig. 8A) (TEIXEIRA, 2008; LORENZI et al., 2010). Além das regiões citadas, o babaçu é encontrado em abundância também em outras regiões mais restritas, como na Chapada do Araripe/CE e no Vale do Catimbau/PE (Fig. 6A) (BRAGA, 1976; RUFINO et al., 2008). É encontrado principalmente em formações conhecidas como babaçuais que cobrem aproximadamente de 200 mil km<sup>2</sup> no território brasileiro (Fig. 6B) (CARRAZA et al., 2012).

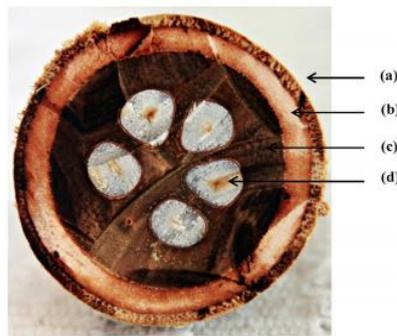
Em regiões tropicais úmidas, assim como na Amazônia, em áreas abertas oriundas do desmatamento, estas palmeiras podem se comportar como invasoras tornando-se muito abundante no local, quando são protegidas por seres humanos devido ao seu potencial econômico (ANDERSON, 1988; MOUSSA & KAHN, 1997). Nestas regiões, o extrativismo do babaçu é um importante recurso econômico, sendo uma atividade predominantemente feminina, realizada pelas “quebradeiras de coco babaçu” (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2012).



**Figura 6.** Distribuição geográfica dos babaçuais (*Attalea* spp.) no Brasil. A – Mapa do Brasil demonstrando as localizações e altitudes (entre parênteses) das regiões com alta abundância

de *Attalea spp*; B – Uma população natural de *A. speciosa*; e C – Cachos dos frutos (cocos).  
**Fonte:** NEVES et al., 2013.

Esta palmeira pode medir entre 10-30 metros de altura, e entre 20-50 cm de diâmetro (caule). Frutifica a partir do oitavo ano e alcança a produção plena após 15 anos. Seus frutos (cocos) são produzidos em cachos, cada safra pode ter entre 3 e 5 cachos, e cada cacho pode produzir de 300 a 500 cocos (Fig. 6C e Fig. 7). Por esta razão, todas as variedades de babaçu são importantes, por seus aspectos ecológicos, sociais, econômicos e ambientais



**Figura 7.** Imagem do coco babaçu – corte transversal. (a) epicarpo; (b) mesocarpo; (c) endocarpo; (d) amêndoas. **Fonte:** VINHAL et al., 2014.

Com pico de florescimento de janeiro a abril e amadurecimento dos frutos entre agosto e dezembro (LORENZI et. al., 2010; CARRAZA et. al., 2012). *Attalea spp.* em geral possui frutos oblongo-elípticos, em corte transversal possui três camadas: epicarpo (10,9%) – mais externa, fibrosa de cor castanho; mesocarpo (8,9%) – intermediária, branco e com aspecto farináceo; endocarpo (72,9%) – castanho, de aspecto lenhoso (Fig. 8) (NEVES et al., 2013; GUEDES et al., 2015).

#### 2.4.2 Etnobotânica

Tratando-se sobre os usos das palmeiras por grupos populacionais, o primeiro registro foi feito por Alfred Russel Wallace após expedição pela América Sul no período de 1848 a 1852, resultando na obra intitulada “*Palm Trees of the Amazon and their uses*”, que abrangeu 48 espécies, no qual desenvolveu um profundo conhecimento sobre a interdependência de pessoas e palmeiras no Vale do Amazonas, publicado originalmente em 1853, citado por

Germano e colaboradores (2014). Com os dados obtidos das pesquisas etnobotânicas, a ciência tem adquirido considerável conhecimento acerca do uso dos recursos vegetais em florestas tropicais (ALBUQUERQUE et al., 2010). No Brasil, estes estudos auxiliam práticas de manejo e conservação dos ecossistemas (DIEGUES, 2001) e podem esclarecer o nível de dependência de uma comunidade em relação aos recursos vegetais locais (RUFINO et al., 2008).

Dependendo do local em que o babaçu é encontrado, ele pode ser denominado como coco-palmeira, coco-de-macaco, coco-pindoba, baguaçu, uauaçu, catolé, andaiá, andajá, indaia, pindoba, pindobassu ou ainda vários outros nomes (CARRAZA et al., 2012). Na literatura científica há diferentes sinônimos para o babaçu principalmente *Orbignya phalerata* e *Attalea speciosa*, mas também *O. speciosa*, *O. martiana*, entre outros, todavia, segundo Cavallari e Toledo (2016), recomenda-se o nome *Attalea speciosa* Mart ex. Spreng como o mais adequado para o babaçu.

A bibliografia etnobotânica do babaçu relata numerosos usos para as diversas partes da planta. Dos frutos, as sementes são utilizadas para produção de óleo de babaçu, o mesocarpo como complemento alimentar para o gado, e as cascas utilizadas na produção de carvão com alto poder calorífico. As folhas são utilizadas na construção de telhados e na confecção de artesanatos diversos, enquanto os estipes (troncos) são utilizados na construção civil (BRAGA, 1976; RUFINO et al., 2008; SOUZA et al. 2011). Na região da floresta amazônica, os índios utilizam esta palmeira como: cosmético natural, em mistura com sementes do urucum - *Bixa orellana* L. (Bixaceae) ou polpa de jenipapo - *Genipa americana* L. (Rubiaceae), para realização de pinturas corporais e rituais; na alimentação, in natura das sementes, palmito cru ou assado, óleo e/ou leite das amêndoas e a farinha do mesocarpo (GONZÁLEZ-PÉREZ et al. 2012; ARAÚJO et al., 2016).

Em relação ao uso medicinal, o óleo, a borra e a farinha do mesocarpo são os principais produtos utilizados. O óleo é empregado na forma tópica para o tratamento de inflamações, pancadas, artrite, otite, conjuntivite, leucorréia e na cicatrização de feridas. A farinha do mesocarpo é utilizada, tanto pela forma tópica quanto oral, para tratamento de gastrite, cicatrização de feridas, leucorréia e inflamação. A borra, resíduo obtido após a extração do óleo pelo método tradicional, é o produto mais utilizado no tratamento de feridas de pele (RUFINO et al., 2008; SOUZA et al., 2011).

Para Rufino e colaboradores (2008) e González-Pérez e colaboradores (2012), o babaçu possui até 25 usos diferentes. Entretanto, para Campos e colaboradores (2015), esta palmeira apresentou 50 usos diferentes. Esta ampla discrepância no conhecimento desta

espécie ressalta a importância de *A. speciosa* no estudo em diferentes comunidades e confirma que a família Arecaceae é uma das mais utilizadas em todo o mundo por populações humanas (ZAMBRANA et al. 2007).

#### 2.4.3 Estudos químicos – óleo e mesocarpo do babaçu

Um óleo vegetal pode ser classificado, segundo sua qualidade, como: óleo bruto, genuíno, extraído artesanalmente (cozimento das amêndoas trituradas), por pressão mecânica ou por meio de solvente; e óleo refinado (PENSA/USP, 2000). Para consumo deve ser submetido ao processo de refino para convertê-lo em produto comestível (BRASIL, 1999), já que é inviável o consumo imediato do óleo bruto pelas suas características químicas (OLIVEIRA, 2001).

O babaçu possui um óleo que quando extraído possui uma coloração branca a levemente amarelada que corresponde a 4% da massa total do fruto (MOTA et al., 2010). É composto principalmente pelos ácidos graxos saturados, ácido láurico [C12:0 (40 - 55%)]; ácido mirístico [C14:0 (5,2 a 17,5%)] dependendo da espécie (Tab. 5) (ALBUQUERQUE et al., 2009; FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2012; OLIVEIRA, et al., 2013), que agem como emolientes, hidratantes, umectantes, reengordurantes, lubrificantes e dispersante de pigmentos (LIMA et al., 2008).

**Tabela 5.** Composição dos ácidos graxos do babaçu.

ÁCIDOS GRAXOS	FÓRMULA QUÍMICA	(%)
Ácido caprílico	$C_8H_{16}O_2$	4,0-10,0
Ácido cáprico	$C_{10}H_{20}O_2$	4,0-12,0
Ácido mirístico	$C_{14}H_{28}O_2$	12,0-28,0
Ácido palmítico	$C_{16}H_{32}O_2$	4,0-12
Ácido láurico	$C_{12}H_{24}O_2$	38,0-54,0
Ácido esteárico	$C_{18}H_{36}O_2$	1,0-7,0
Ácido oleico	$C_{18}H_{34}O_2$	5,0-15,0
Ácido linoleico	$C_{18}H_{32}O_2$	<3,0
Ácido linolênico	$C_{18}H_{30}O_2$	<1,0
Ácido araquídico	$C_{20}H_{32}O_2$	<1,0
Total		100%

**Fonte:** Catálogo Técnico Croda Brasil (2002). **Adaptado:** GUMIERO, 2011.

Aproximadamente 9,5% do total de ácidos graxos do óleo de babaçu é composto por óleos insaturados, com destaque para o ácido oleico [C18:1n9c (9-20%) ]. Além disso, apresentam componentes insaponificáveis e minerais, dentre os componentes se destacam os carotenoides (20 µg/g) e os compostos fenólicos (290 µg/g) (FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2012), já entre os minerais o óleo possui: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Sr e Zn. (SANTOS et al., 2013), com maior concentração de Sr (LOPES et al., 2016).

Segundo Oliveira e colaboradores (2013), ao submeter amostras do óleo de babaçu a determinação de índice de peróxidos o resultado foi igual a zero, ou seja, em um processo de deterioração oxidativa nenhuma das amostras analisadas formou peróxidos nos processos iniciais, valores reduzidos deste índice demonstram a reduzida possibilidade de deterioração oxidativa (COSTA, 2006). Todavia, somente quando expostos a condições de alta temperatura há condição de formação de radical livre em ácidos graxos saturados sendo denominado de rancificação oxidativa (BOBBIO e BOBBIO, 1992). Entretanto, no que confere a estabilidade oxidativa de óleos a composição química é importante, mas outros aspectos devem ser considerados: processamento, estocagem e presença de pigmentos protetores do óleo bruto atuando como antioxidantes (VASCONCELOS et al., 2008).

Ao aquecer o óleo de babaçu observou-se que a pirólise apresentou um total de 76 picos, dois quais 39 puderam ser identificados: CO<sub>2</sub>, 08 alcanos, 14 alcenos, 03 cetonas cíclicas, 04 aldeídos, 04 ésteres e 05 ácidos carboxílicos, que foram mais provavelmente derivados dos ácidos graxos e TCM presentes no óleo (VINHAL et al., 2014). Em estudos semelhantes de pirólise com óleo de babaçu hidrogenado e outros óleos vegetais também foi possível a identificação de alcanos, alcenos, cetonas e aldeídos (ALENCAR et al., 1983; POUTSMA, 2000; LAPPI e ALÉN, 2011).

De forma geral, outra parte do fruto de *Attalea spp.* merece destaque, o mesocarpo. Esta porção do fruto é composta por 68,3% de amido, podendo variar até 71,29%; 1,54% de proteínas; 0,27% de lipídeos; 1,25% de glicídios solúveis e 2,51% de fibras de aminoácidos (BARUQUE FILHO, et al. 2000; MANIGLIA e TÁPIA-BLÁCIDO, 2016). Além disso, apresenta hemicelulose e pentosanas (CINELLI, et al. 2014) e entre outros componentes (Tab. 6). Em outros estudos, amostras da farinha de mesocarpo do babaçu apresentaram taninos, saponinas e esteroides (NONATO et al., 2013), polissacarídeo tipo glicano (SILVA E PARENTE, 2001) e alta concentração de compostos polifenólicos como os flavonoides (FREITAS JUNIOR et al., 2013; SILVA et al., 2017).

**Tabela 6.** Composição média da farinha de babaçu.

Componentes	% (m/m)
Umidade	11.06 ± 0.68
Amido	60.05 ± 1.37
Proteína	2.98 ± 0.08
Hemicelulose	7.94 ± 0.27
Celulose	13.53 ± 0.31
Lignina	15.79 ± 0.32
Total	100%

**Fonte:** CINELLI, et al., 2014.

Em estudo recente, Silva e colaboradores (2017) detectaram proantocianidinas (flavan-3-ols: catequina e/ou epicatequina) detectados como monômeros, dímeros, trímeros e tetrâmeros de (epi)catequina. Além dos metabólitos secundários, o mesocarpo do babaçu é composto por sais minerais (K, Ca, Mg, P, Hg e I), vitaminas (B1 e B2) (ROSENTAL e ESPÍNDOLA, 1975; NAOZUKA et al., 2011; CARRAZA et al., 2012; SUDRE et al., 2014).

Além disso, foi relatado a presença de ácidos graxos no mesocarpo, sendo o ácido eicosanoico (C20:0 – 38,67%) e o ácido oleico (21,71%) as maiores concentrações relatadas no extrato aquoso. E esteroides (32,0%), sesquiterpenos (24,9%) e diterpenos (15,2%) as maiores concentrações relatadas no extrato metanólico (SUDRE et al., 2014; FARIAS et al., 2019).

#### 2.4.4 Atividades biológicas

Na etnomedicina já se utiliza o fruto do babaçu em toda sua totalidade para as mais diversas efemeridades (RUFINO et al., 2008; SOUZA et. al., 2011). Contudo, os resultados de vários estudos pré-clínicos publicados mostram um amplo espectro de atividades biológicas e farmacológicas de *Atalea* spp., que são atribuídas as mais diversas partes da planta ou aos subprodutos extraídos da mesma (Tab. 7).

**Tabela 7.** Estudos pré-clínicos realizados com a *Attalea* spp.

Partes da Planta	Atividades	Extrato/Composto	Referências
<i>Folhas</i>	Antinoceptiva	Extrato etanólico	PINHEIRO et al., 2012.
	Antimicrobiana	Extrato etanólico	OLIVEIRA et al., 2016.

<b>Fruto</b> <i>(Amêndoas)</i>	Anti-inflamatória	Óleo	BARBOSA et al., 2012.
		Óleo (Microemulsão)	REIS et al., 2017.
	Anticoagulante	Óleo Fixo	BARBOSA et al., 2012;
	Antimicrobiano	Óleo (Hidrolizado e Não-hidrolizado)	HOVORKOVÁ et al., 2018;
	Antioxidante	Óleo (Virgem e Extra virgens)	BAUER et al., 2019
<b>Fruto</b> <i>(Mesocarpo)</i>	Imunomodulatória	Óleo	SILVA et al., 2015;
		Óleo (Microemulsão)	PESSOA et al., 2014;
	Cicatrizante	Extrato aquoso	AMORIM et al., 2006; BALDEZ et al., 2006; BRITO FILHO et al., 2006; BATISTA et al., 2006; FERREIRA et al., 2006; MARTINS et al., 2006; SILVA, et al., 2015; SCHEIBE et al., 2016.
	Anti-inflamatória	Extrato Clorofórmico	MAIA, 1989.
		Triterpenos	GARCÍA et al., 1995.
		Polissacarídeos	SILVA e PARENTE, 2001;
	Imunomodulatória	Extrato aquoso	GUERRA et al., 2011b; NASCIMENTO et al., 2006.
		Extrato seco	FREITAS JÚNIOR et al., 2013
	Antitumoral	Extrato etanólico	RENNÓ et al., 2008; BARROQUEIRO et al., 2016.
		Extrato aquoso	GAITAN et al., 1991; NASCIMENTO et al., 2006; PONTES et al., 2016.
		Extrato lipofílico (Nanoestruturado)	SOUZA et al., 2011; PEREIRA, et al., 2012; SHRIVASTAVA e GUPTA, 2012.
Polissacarídeos		SILVA e PARENTE, 2001.	
Antitrombótica	Farinha	AZEVEDO et al., 2007	

	Antimicrobiana	Extrato aquoso	CAETANO, et al., 2002; BEZERRA et al., 2006
	Antioxidante	Extrato alcoólico	GUERRA et al., 2011 <sup>a</sup>
		Extrato hidroalcoólico	SILVA et al., 2017

**Adaptado:** Próprio autor

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Investigar a atividade cicatrizante em feridas cutâneas do óleo fixo das amêndoas e do extrato etanólico do mesocarpo da *Attalea speciosa* Mart. ex. Spreng (babaçu) a partir do seu uso etnomedicinal.

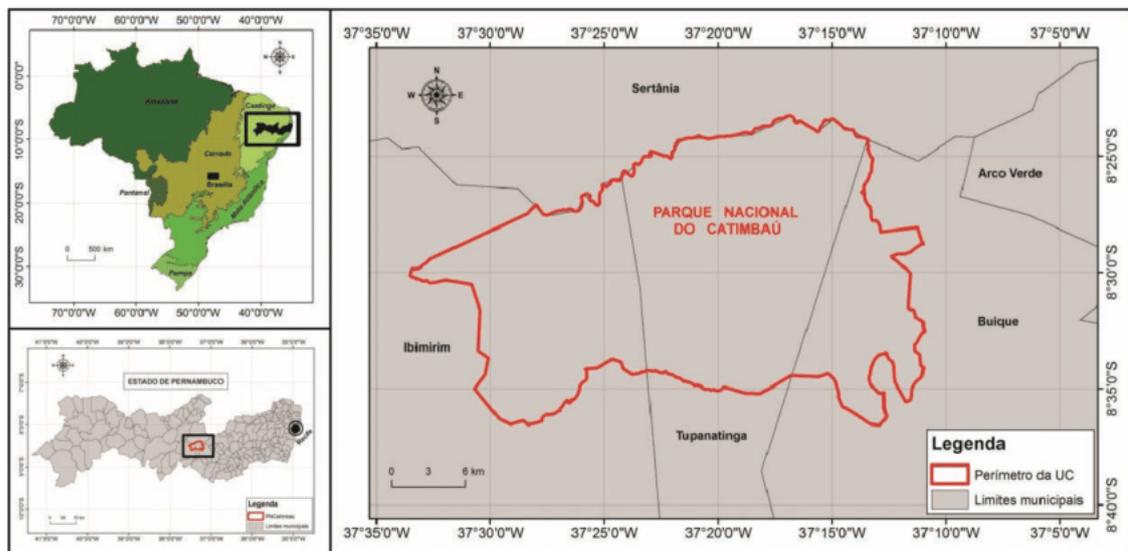
#### 3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar os constituintes químicos presentes no óleo fixo das amêndoas e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu;
- Determinar a atividade antioxidante do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu;
- Avaliar a atividade antimicrobiana contra isolados de feridas (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogens* e *Candida albicans*) do óleo fixo das amêndoas e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu;
- Avaliar a atividade de migração celular e antiinflamatória *in vitro* do óleo fixo das amêndoas e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu;
- Avaliar o reparo tecidual *in vitro* do óleo fixo das amêndoas e extrato etanólico do mesocarpo do babaçu;
- Avaliar o reparo tecidual *in vivo* do óleo fixo das amêndoas e extrato etanólico do mesocarpo do babaçu.

## 4 Materiais e Métodos

### 4.1 Material vegetal

Os frutos do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) foram coletados pelo botânico Alexandre Gomes da Silva no Parque Nacional do Catimbau (Fig. 8), em Buíque/PE (Lat. 08° 37' 23" S e Long. 37° 09' 21" O), em Março/2016 (Autorização SISBIO nº 26,743-3). Para tanto, também se obteve uma autorização governamental para acessar o conhecimento tradicional associado aos usos do babaçu (SISGEN nº A7D7D31). O voucher do espécime foi identificado por Olívia O. Cano e depositado no Herbário Dárdaro de Andrade do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA nº 90,472).



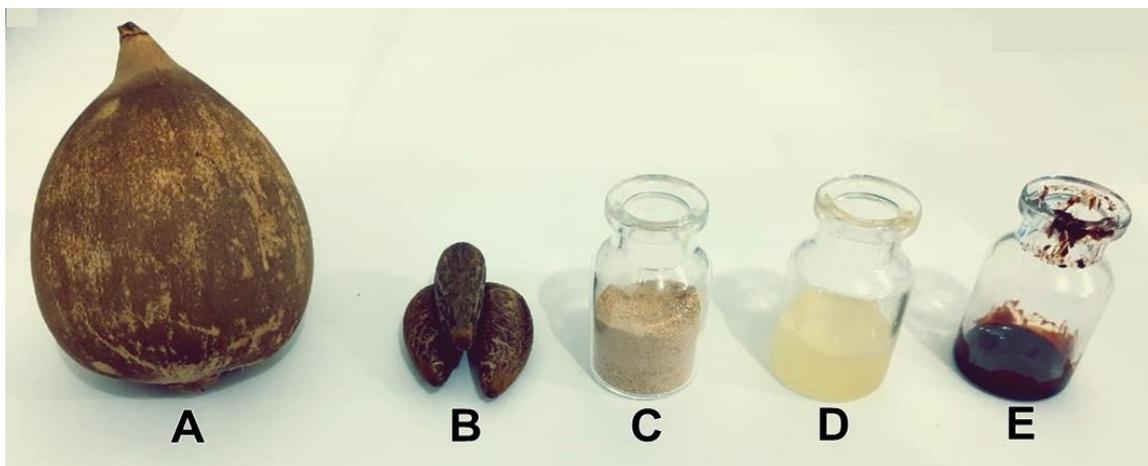
**Figura 8.** Localização da área do estudo. Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil. **Fonte:** MELO, 2012.

Os cocos foram abertos com auxílio de um machado, tipo lenhador, (Tramontina<sup>®</sup>, Brasil). Após sua abertura, foram extraídos as amêndoas e o mesocarpo. As amêndoas foram secas estufa a 40 °C, por um período de 24 h (Fig. 10B). O mesocarpo foi separado manualmente (Fig. 10C).

## 4.2 Obtenção do Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB) e do Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB)

O óleo fixo das amêndoas de *A. speciosa* (250g) foi extraído por prensagem a frio, empregando prensa mecânica de bancada (Piteba<sup>®</sup>, Holanda). Após extração, o material foi centrifugado a 2000 g por 10 min, para remover as impurezas sólidas do óleo. O processo de extração do OFB rendeu 85 mL (34%) (Fig.9D).

O extrato foi obtido conforme a metodologia proposta por Barroqueiro e colaboradores (2016). O pó do mesocarpo (150 g) foi submetido a três extrações consecutivas com 300 mL de álcool P.A. (Merck<sup>®</sup>, Brasil), com agitação magnética, sem aquecimento, por 24 h cada extração. Após este processo, o extrato foi filtrado e concentrado, com rendimento final de 1,74 g (1,16%) (Fig. 9E).



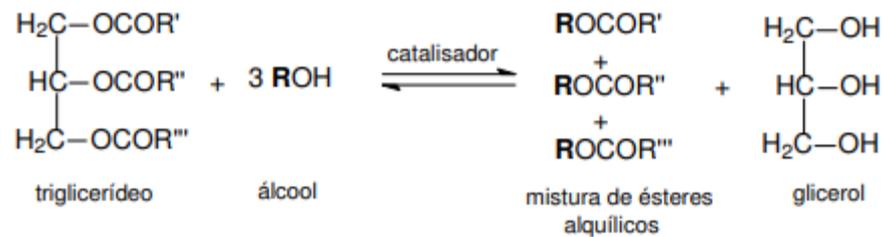
**Figura 9.** Fruto da *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng e amostras das extrações realizadas. A – Fruto (Coco); B – Amêndoas; C – Mesocarpo após turbólise (farinha do mesocarpo); D – Óleo das amêndoas (OFB); E – Extrato do mesocarpo (EEMB). **Fonte:** Próprio autor.

## 4.3 Caracterização do OFB

### 4.3.1 Perfil dos ácidos graxos

Para determinar o perfil de ácidos graxos do OFB, amostras de 25 mg foram transesterificadas (Fig. 10), com 0,5 mL de KOH 0,5 M em metanol. Em seguida, foram adicionados 2 mL de *n*-hexano P.A., para extração dos ésteres metílicos, e o sistema passou por agitação de 2 min. A amostra foi centrifugada por 6 min a 4500 rpm, a 25°C. O

sobrenadante foi filtrado em filtro PTFE (0,22  $\mu\text{m}$ ) e posteriormente analisadas sob as condições cromatográficas descritas abaixo.



**Figura 10.** Transesterificação de um triglicerídeo. **Fonte:** GARCIA, 2006.

As amostras foram analisadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um detector de ionização de chama (GC-FID) (*Agilent Technology 7890*) equipado com uma coluna DB-5ms não polar (30 m de comprimento  $\times$  250  $\mu\text{m}$  de diâmetro  $\times$  0,25 $\mu\text{m}$ ). O forno foi inicialmente mantido a 150  $^{\circ}\text{C}$  por 4 min, aumentado para 280 $^{\circ}\text{C}$  em 4  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . A temperatura final foi mantida por 5 min. O gás carreador foi o hélio, com fluxo constante de 1 mL/min e uma amostra de 1  $\mu\text{L}$  foi injetada automaticamente no modo *splitless* (100:1) com o injetor mantido a 300  $^{\circ}\text{C}$ . Uma mistura padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco<sup>®</sup>, 37 Component FAME Mix, Bellefonte, PA, EUA) foi usada para identificar os compostos.

#### 4.3.2 Níveis de Cálcio e Zinco

O cálcio (Ca) e zinco (Zn) foram quantificados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Thermo<sup>®</sup> 7000 ICP-OES). O método seguiu as recomendações da *United States Environmental Protection Agency – US-EPA* descritas no *Method 200.7 - Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry e do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (22<sup>nd</sup> Edition), 2012, Part 3000-metals (EPA, 1994).

O OFB (0,5 g) foi diluído em uma solução composta por 7 mL de HNO<sub>3</sub>, 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado e 3 mL de água deionizada. Esta solução foi digerida em forno micro-ondas em quatro etapas, a saber: Etapa 1 – 03 min a 700 W; Etapa 2 – 09 min a 500 W; Etapa 3 – 04 min a 1000 W; Etapa 4 – 14 min a 1000 W. Os padrões de estoque utilizados para cada oligoelemento, foram: solução de cálcio – 1000  $\mu\text{g}$  Ca, suspensão 2,49 g CaCO<sub>3</sub> (fração Ca = 0,4005), secagem a 180  $^{\circ}\text{C}$  por uma hora antes da pesagem em água reagente e solução (1 +

1) de HNO<sub>3</sub>; solução de zinco – 1000µg Zn, dissolução em 1000g de metal Zn com HNO (1 + 9) em solução (1 + 1) de HNO. Para tanto, os comprimentos de onda para detecção destes oligoelementos nesta análise foram 316 nm e 214 nm, para Ca e Zn respectivamente, sendo seus resultados dados em mg/kg.

#### 4.4 Caracterização do EEMB

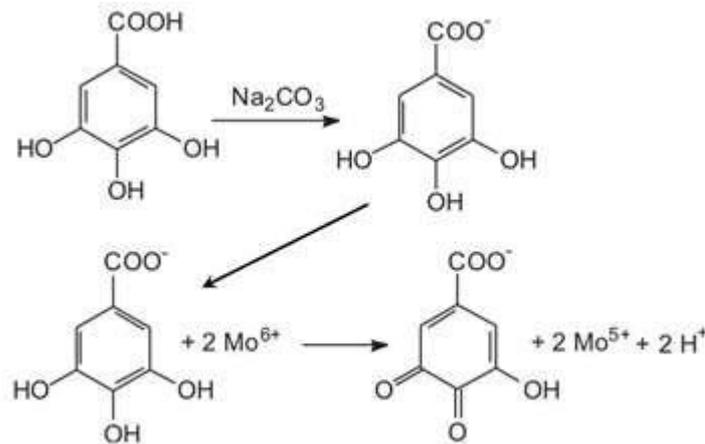
O EEMB foi caracterizado utilizando um espectrômetro de massa XEVO-G2XSQTOF (Waters, Manchester, Reino Unido) foi conectado ao sistema ACQUITY UPLC (Waters, EUA) através de uma interface de ionização por *electrospray* (ESI). O detector analítico foi um detector Waters Acquity PDA, que foi ajustado para uma faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm. A separação cromatográfica dos compostos foi realizada no ACQUITY UPLC com um amostrador automático condicionado a 4 °C usando uma coluna Acquity BEH C18 (50 mm × 2,1 mm i.d., tamanho de partícula de 1,7 µm). A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C. A fase móvel que consiste em água com ácido fórmico a 0,1% em água (solvente A) e acetonitrila (solvente B) foi bombeada a uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min. O programa de eluição com gradiente foi o seguinte: 0–5 min, 5–10% B; 5–9 min, 10–95% B. O volume de injeção foi de 10 µL. O intervalo de varredura para aquisição de dados foi de 50 a 1200 m/z. Também foram realizadas experiências de UPLC-MS<sup>E</sup>, que permitem que os dados de íons precursores e do produto sejam adquiridos em uma injeção. Para o método espectrométrico, empregou-se a ionização por *spraypray*, o que garantiu precisão e reprodutibilidade, com voltagem no capilar e nos cones de amostragem de 3,0 kV, temperatura da fonte de 100 °C, fluxo do gás do cone de 20 L/h e fluxo do gás de dessolvatação de 600 L/h. Leucina-encefalina (10 ng/mL) foi usada como um padrão ou composto de referência para calibrar o espectrômetro de massa durante a análise e introduzida por um spray bloqueável a 10 µL/min para aquisição precisa de massa. Toda a aquisição e análise de dados foram controladas usando o *Waters MassLynx* v 4.1.

#### 4.5 Dosagem dos compostos do EEMB

##### 4.5.1 Quantificação de Compostos fenólicos

Os fenóis totais foram quantificados segundo Hua-Bin Li e colaboradores (2008) com algumas modificações (Fig. 11). Inicialmente, 20 µL das amostras foram adicionados 100 µL

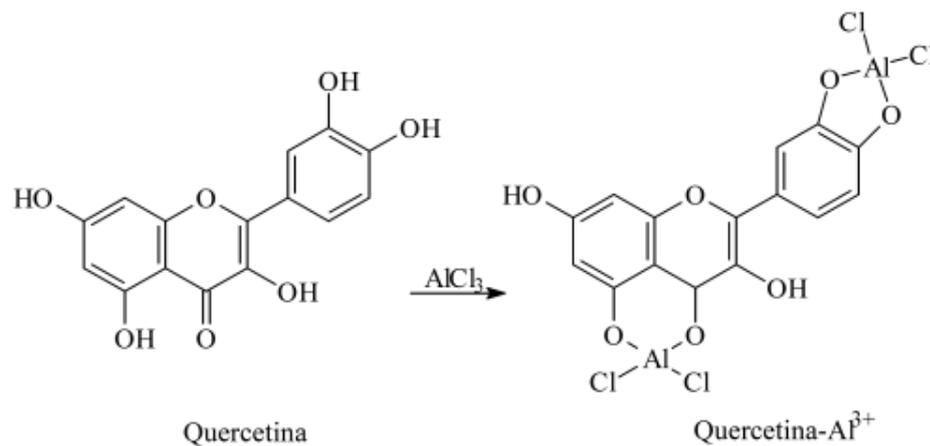
da solução de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v). Após 3 minutos no escuro, adicionou-se 80  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio (7,5%), e as amostras foram incubadas novamente durante 120 minutos no escuro à temperatura ambiente. As absorbâncias foram medidas a 760 nm contra um branco. Uma curva de calibração foi preparada utilizando ácido gálico (0 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ). A concentração de fenóis totais no extrato foi expressa em termos de equivalente de ácido gálico (mg EAG / g de extrato).



**Figura 11.** Reação de redução do molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu, pelo ácido gálico, padrão utilizado na determinação de fenóis totais. **Fonte:** OLIVEIRA et al., 2009.

#### 4.5.2 Quantificação de Flavonóis

A técnica descrita por Pekal e colaboradores (2014) foi utilizada para estimar os flavonóis, com algumas modificações (Fig. 12). 100  $\mu\text{L}$  das amostras foram adicionados a 50  $\mu\text{L}$  do reagente cloreto de alumínio (0,15 M) e 50  $\mu\text{L}$  de acetato de sódio (1 M). Foi feito um branco para todas as amostras (100  $\mu\text{L}$  de amostra + 100  $\mu\text{L}$  de água destilada), a fim de subtrair o valor das absorbâncias das amostras diluídas, para evitar falsos positivos. As amostras foram agitadas no vortex e posteriormente mantidas à temperatura ambiente durante 10 min. A absorbância das amostras foi medida a 425 nm. A curva de calibração foi preparada utilizando quercetina (0 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ). O teor total de flavonols nos extratos foi expresso como equivalente a Quercitina (mg EQ/g de extrato).



**Figura 12.** Esquema ilustrado da complexação do flavonoide quercetina com cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) o qual forma o complexo estável flavonoide-Al<sup>3+</sup>. **Fonte:** PEIXOTO SOBRINHO et al., 2012.

#### 4.5.3 Quantificação de Proantocianidinas

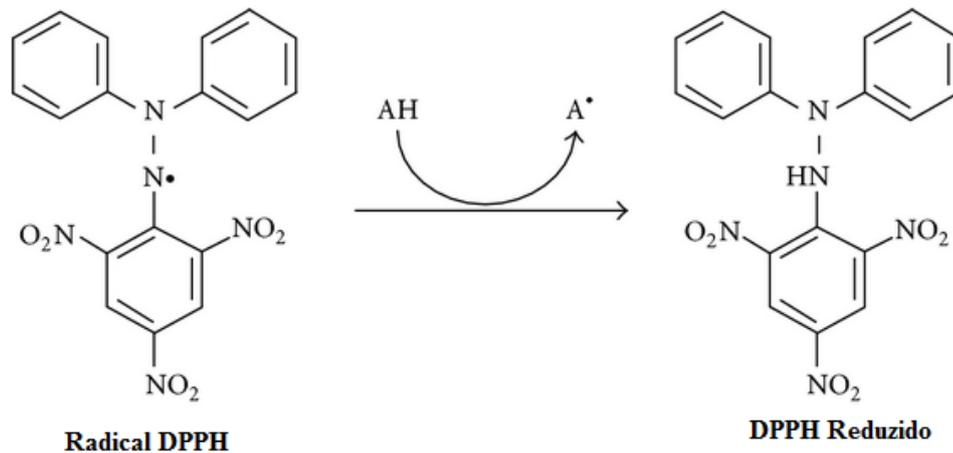
As proantocianidinas na amostra foram quantificadas segundo com Sun e colaboradores (1998) com algumas modificações. 40 µL das amostras foram adicionados a 100µL de vanilina (1%, p/v, diluída em metanol) e 100 µL de ácido sulfúrico (20%, v/v, diluída em metanol). Foi feito um branco para todas as amostras utilizando metanol. As amostras foram incubadas a 30 °C durante 10 min, e então, as absorbâncias foram medidas a 500 nm. Uma curva de calibração foi preparada utilizando Catequina (0 – 100 µg/mL). O teor total de proantocianidina nos extratos foi expresso em termos de equivalente de catequina (mg EC / g de extrato).

#### 4.6 Determinação da atividade antioxidante do EEMB

##### 4.6.1 Ensaio de eliminação de radicais livres pelo DPPH<sup>•</sup>

A atividade sequestradora de radical livre do extrato foi medida de acordo com Blois (1958) (Fig. 13). Foi misturado 250 µL da solução de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) (1 mM e DO<sub>517</sub> = 0,650 ± 0,05) em 40 µL de diferentes concentrações do extrato (31,25; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL). Após 25 minutos foi medida a absorbância em 517 nm. O controle foi o DPPH<sup>•</sup> adicionado a 40 µL de metanol (solvente utilizado para diluir as amostras). A concentração do extrato (mg/mL) necessária para atingir 50% de atividade

sequestrante de radicais DPPH<sup>•</sup> (IC<sub>50</sub>) foi calculada. A catequina (*Sigma-Aldrich*, EUA), foi utilizada como controle positivo. A eliminação de radicais de DPPH<sup>•</sup> foi calculada pela fórmula:  $SRL [DPPH^{\bullet}] (\%) = [(Abs amostra - Abs controle) / Abs controle] \times 100$ . Onde: Abs = Absorbância.



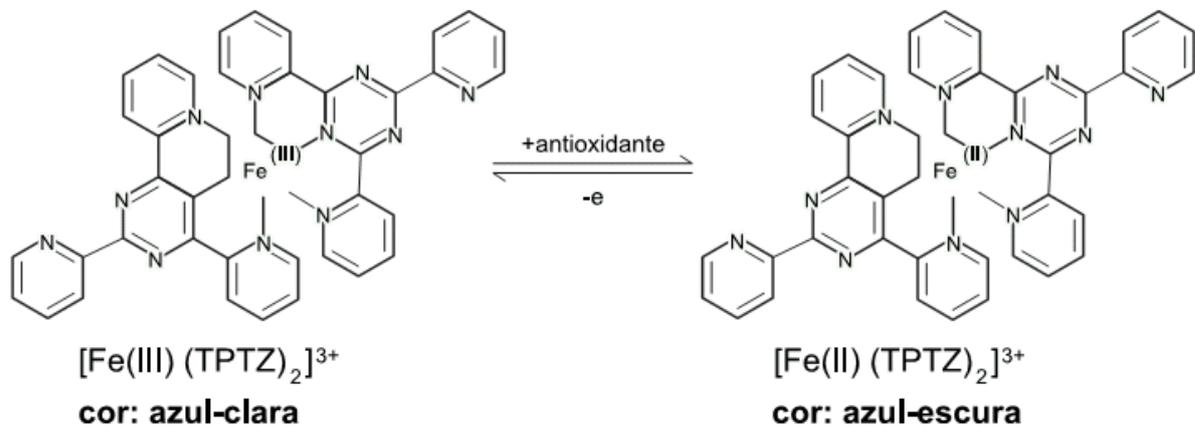
**Figura 13.** Solução de radical de DPPH, de coloração roxa, é reduzida por antioxidantes contidos no extrato vegetal, modificando a coloração de roxo para amarelo. **Fonte:** TEIXEIRA et al., 2013.

#### 4.6.2 Atividade Antioxidante Total

A atividade antioxidante total (ATT) foi medida pelo método do fosfomolibdênio segundo Pietro e colaboradores (1999). Inicialmente, 100  $\mu$ L de cada amostra foram adicionados a 1 mL da solução de fosfomolibdênio (600 mM de ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sódio e 4 mM de molibdato de amônio), e posteriormente incubados em água a 95 °C por 90 min. Após voltarem a temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram medidas a 695nm contra um branco (1 mL de solução e 0,1 mL do metanol). Foi utilizado ácido ascórbico como padrão e a capacidade antioxidante total foi expressa em equivalentes de ácido ascórbico. A atividade antioxidante total calculada pela fórmula  $ATT (\%) = [(Abs amostra - Abs branco) / (Abs ácido ascórbico - Abs branco)] \times 100$ . Onde: Abs = Absorbância.

#### 4.6.3 Atividade redutora do íon férrico (FRAP)

O ensaio de FRAP foi realizado segundo Benzie e colaboradores (1996), com algumas modificações (Fig. 14). A solução de trabalho foi preparada na hora misturando, 25 mL do tampão acetato (3,1 g CH<sub>3</sub>COONa e 16mL CH<sub>3</sub>COOH em pH 3,6), 2,5 mL de TPTZ (10mM de 2,4,6-tripiridyl-s triazina solubilizado em 40 mM de HCl) e 2,5 mL FeCl<sub>3</sub> (20mM) e incubado por 5 min a 37 °C. Inicialmente, 10µL das amostras foram misturadas com 290 µL do reagente de FRAP e deixadas em repouso por 15 min a 37 °C no escuro. Posteriormente as absorbâncias foram medidas à 593 nm. Uma curva padrão com sulfato ferroso (0 – 1000 µg/mL) foi realizada. A catequina (Sigma-Aldrich, EUA), foi utilizada como controle positivo. Os resultados são expressos em mg equivalente de sulfato ferroso (mg EFeSO<sub>4</sub> / g de extrato).



**Figura 14.** Redução do complexo Fe<sup>3+</sup>/tripiridiltriazina - TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) a Fe<sup>2+</sup>. **Fonte:** RUFINO et al., 2006.

#### 4.7 Atividade Antimicrobiana do OFB e do EEMB

A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, técnica descrita pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2018) e realizado em triplicata.

#### 4.7.1 Micro-organismos testados

Os micro-organismos utilizados nos testes foram isolados clínicos de feridas (Tab. 8). Os isolados das bactérias encontram-se armazenados na coleção de cultura do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Já os isolados das leveduras encontram-se depositados na Coleção de Culturas Micoteca (URM-6431) do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco.

**Tabela 8.** Isolados utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana do óleo fixo das amêndoas do babaçu (OFB) e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB).

<b>Espécies</b>	<b>Nº de Registro</b>	<b>Local de Origem</b>
<b>Gram-positivos</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	02	Padrão do Laboratório
	1049	Abcesso Periodontal (Isolado Clínico)
	679	Ferida Infectada (Isolado Clínico)
	700	Secreção de Úlcera (Isolado Clínico)
	719	Secreção de Ferida Cirúrgica (Isolado Clínico)
<b>Gram-negativos</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39	Padrão do Laboratório
	261	Secreção de Ferida Cirúrgica (Isolado Clínico)
	736	Secreção de Ferida (Isolado Clínico)
<i>Enterobacter aerogens</i>	739	Secreção (Isolado Clínico)
<b>Leveduras</b>		
<i>Candida albicans</i>	1007	Padrão do Laboratório
	6431	Sangue (Isolado Clínico)

**Fonte:** Coleção de cultura do Departamento de Antibióticos (Bactérias) e Coleção de Culturas Micoteca (URM-6431) do CB-UFPE (Leveduras).

#### 4.7.2 Preparo do inóculo

As linhagens armazenadas em caldo Mueller Hinton (MHB) para bactérias e ágar Sabouraud Dextrose para leveduras, ambas foram retiradas do freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  e rapidamente descongelados em banho maria a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As suspensões bacterianas foram transferidas para tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) incubadas em estufa a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 h, já as leveduras foram transferidas para caldo Sabouraud e incubadas em estufa a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 h, ambas em atmosfera de aeobiose.

Após este período, as bactérias foram inoculadas em ágar Muller Hinton e armazenadas em estufa durante mais 24 h a 37 °C, já as leveduras foram inoculadas em ágar Sabouraud Dextrose e armazenadas durante mais 48 h a 35 °C. Após o crescimento, as colônias foram transferidas com auxílio de uma alça esterilizada para tubos contendo solução salina 0,9% para o preparo do inócuo, o qual foi ajustado a uma concentração de  $1,5 \times 10^5$  unidades formadoras de colônia (UFC/mL) para bactérias e  $1,5 \times 10^3$  UFC/mL para leveduras padronizadas em espectrofotômetro (*Thermo Scientific/Genesys 10uv*) e comprimento de onda em 625 nm.

#### 4.7.3 Preparo das amostras e do antimicrobiano padrão

Diluições sucessivas de 1024 a 4 µg/mL do OFB e do EEMB foram preparadas em microplacas de 96 poços. Foram utilizadas soluções estoque de 1024 µg/mL em DMSO1%, sendo transferidos 20 µL dessa solução para as microplacas, que já continham 70 µL de meio de cultura. Para completar o volume final de 100µL, foram adicionados 10µL de inóculo ( $1,5 \times 10^5$  UFC/mL, de acordo com a escala turbidimétrica padrão de McFarland). As placas foram incubadas a 35°C por 24h para bactérias e a 35°C por 48 h para fungos. Antibiótico – Ciprofloxacino (124,0 a 0,5 µg/mL) e antifúngico – Fluconazol (124,0 a 0,5 µg/mL), obtidos da *Sigma-Aldrich* (EUA), foram usados como controles positivos.

#### 4.7.4 Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM), Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A CIM foi calculada como a menor diluição que apresentou completa inibição do crescimento do microrganismo testado que é visualizada a partir do revelador resazurina a 0,1% (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3ona-10-óxido).

Para determinação do CBM e do CFC alíquotas dos poços contendo concentrações de amostras (CIM + duas anteriores) foram inoculadas em placas de Petri. O CBM e o CFC corresponderam à menor concentração da amostra, capaz de reduzir o número de UFC em 99,9% em relação ao inóculo inicial. Para este estudo, foram utilizados três experimentos independentes, realizados em triplicata.

## 4.8 Citotoxicidade do OFB e do EEMB

### 4.8.1 Linhagens celulares e culturas

A linhagem celular de fibroblastos de camundongo L929 foi obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), já os macrófagos peritoneais murinos (03 fêmeas de camundongos Swiss – *Mus musculus*) foram obtidos após injeção intraperitoneal de solução estéril de tioglicolato a 3,8% (p/v) nos animais, três dias antes do experimento (MONTROYA et al., 2019). Ambas as linhagens foram mantidas em cultivo no Laboratório de Bioprospecção Farmacotoxicológica de Produtos Bioativos (BIOFARMATOX) do Departamento de Antibióticos – UFPE.

Os fibroblastos L929 foram mantidos congelados em nitrogênio líquido, em solução de Soro Fetal Bovino (SFB, *Gibco, Grand Island, N.Y., EUA*) e 10% de Dimetilsulfóxido (DMSO, *Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA*). Inicialmente para cultivo desta linhagem, foi realizado um rápido descongelamento da amostra em banho-maria a 37 °C e as células foram transferidas para tubos estéreis contendo meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM, *Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA*), suplementado com SFB a 10%, Glutamina 2 mM, penicilina 100 U/mL e estreptomicina 100µg/mL e mantida a 37°C em atmosfera umidificada com 5% de CO<sub>2</sub>. Os macrófagos peritoneais murinos, foram mantidos nas condições de cultivo da L929.

### 4.8.2 Viabilidade celular

A atividade citotóxica *in vitro* do OFB e do EEMB foram avaliados através do ensaio calorimétrico do sal de tetrazolium MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium]. O MTT é um composto hidrofílico de coloração amarela que pode ser convertido pelas enzimas oxirredutases dependentes de NAD(P)H de células viáveis, originando o sal de formazan [(E,Z)-5-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difefenilformazan] (RISS et al., 2016).

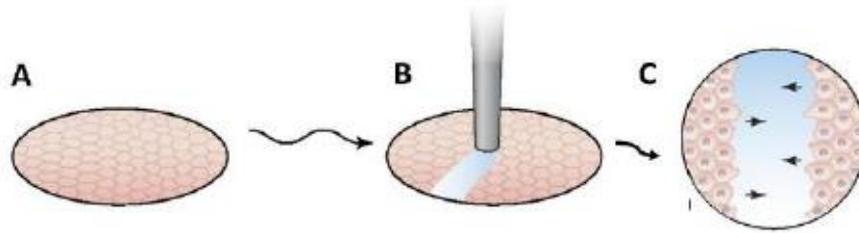
Inicialmente, as células L929 e os macrófagos peritoneais foram plaqueados em placas de 96 poços, em meio DMEM com 10% de SFB e 1% de antibiótico, incubadas sob temperatura de 37°C e atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 24h. Após 24 h (tempo de aderência das células), foram colocados 100µL de meio DMEM e em poços distintos com as concentrações específicas para avaliação do OFB e do EEMB (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12 e 1,56 µg/mL)

foi adicionado aos poços e as células foram incubadas por 24 h, 48 h e 72 h. Após cada intervalo de tempo, 25µL de solução de MTT (5 mg/mL) foram adicionados aos poços e as placas foram incubadas por mais 3h (37 °C com CO<sub>2</sub> a 5%). No final desse período, o sobrenadante foi aspirado e 100 µL de DMSO foram adicionados em cada poço para a dissolução dos cristais de formazan. A absorbância foi medida a 560 nm em um leitor de microplacas. Os resultados de viabilidade celular foram normalizados em relação ao grupo controle. Após o plaqueamento, todos os valores passaram a ser normalizados pelo controle negativo (100% - resultado normalizado) (VAN MEERLOO et al. 2011). Tanto o OFB quanto o EEMB foram testados em triplicata de poços.

#### **4.9 Atividade Farmacológica *in vitro* do OFB e do EEMB**

##### 4.9.1 Ensaio de migração celular – *Scratch assay*

As células L929 (3 x 10<sup>5</sup> células/mL) foram plaqueadas em placas de 24 poços para alcançar a confluência. Logo após, as monocamadas foram “riscadas” com uma ponta de pipeta estéril de 200 µL para produzir uma área ferida entre 1200 e 1500 µm de largura (Fig. 15). Em seguida, os poços foram lavados com meio DMEM incompleto (não interferindo na proliferação celular) para remoção das células não aderidas. Os grupos OFB (3,12, 6,25 e 12,5 µg/mL) e o EEMB (6,25, 3,12 e 1,56 µg/mL) estavam em meio incompleto, apenas o controle positivo estava em meio completo, sendo todos os grupos adicionados em placas de 24 poços em triplicata. . A migração celular foi medida a cada 6h até o fechamento da “ferida” usando um microscópio invertido Novel XD202 sob ampliação de 40x. As imagens foram adquiridas usando a câmera Option e analisadas no programa *TCapture images* da câmera, para realização das medições. O efeito de cicatrização foi calculado como áreas individuais sob a curva (*Areas Under the Curve* – AUC) no *software* Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). (SHI et al., 2018).



**Figura 15.** Técnica de *scratch assay* (ensaio de migração celular). A – Plaqueamento dos fibroblastos em meio de cultura (DMEM incompleto); B – Após aderência o tecido é “riscado” com pipeta de 200  $\mu\text{L}$  para produzir “feridas” entre 1200 e 1500  $\mu\text{m}$  de largura; C – Remoção do sobrenadante, lavagem com PBS, incubação com DMEM e adição do composto a ser testado. **Fonte:** VEDULA et al., 2013.

#### 4.9.2 Dosagem de óxido nítrico em macrófagos peritoneais

Os macrófagos isolados ( $3 \times 10^5$  células/mL) foram plaqueadas em placa de 96 poços por 24 h. Após este período, as células foram estimuladas com 5  $\mu\text{g/mL}$  lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* 055: B5 (*Sigma*, St. Louis, MO, USA) por 1 h e depois tratadas com o OFB (3,12, 6,25 e 12,5  $\mu\text{g/mL}$ ), EEMB (6,25, 3,12 e 1,56  $\mu\text{g/mL}$ ), dexametasona (10  $\mu\text{g/mL}$ ) e L-NAME (25  $\mu\text{g/mL}$ ), por 24 h. Decorridas as 24 horas, recolheu-se 100  $\mu\text{L}$  de sobrenadante celular e foram misturados ao mesmo volume de reagente de Griess (100  $\mu\text{L}$ ) (1% sulfanilamida em ácido fosfórico 5% e 0,1 % de diidrocloreto de naftiletilediamina em água; 1:1, *Sigma*) e incubadas durante 10min ao escuro. A concentração de nitrito foi calculada com referência a uma curva padrão obtida usando  $\text{NaNO}_2$ , utilizando-se uma diluição seriada 100 – 0  $\mu\text{M}$  da solução padrão de nitrito de sódio preparada em DMEM. A absorvância foi medida em 640 nm utilizando um leitor de placas de Elisa *Spectra Softmax*, segundo CAO e colaboradores (2018).

#### 4.9.3 Dosagem de citocinas em macrófagos peritoneais

A dosagem de citocinas de perfil Th1 e Th2 foi determinada através da técnica de *Cytometric Bead Array System* – CBA, do kit para dosagem nos sobrenadantes da cultura das células da BD Bioscience. A CBA foi utilizada para a mensuração quantitativa das citocinas TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-4, IL-10 e IL-17, conforme recomendado pelo fabricante em amostras de sobrenadante de culturas submetidas aos estímulos com OFB, EEMB e

dexametasona. A técnica emprega uma mistura de 5 esferas de poliestireno, com diferentes intensidades de fluorescência, recobertas com anticorpos específicos para as citocinas em camundongos, detectadas no canal FL-2. Desta forma, 50 µL da mistura de esferas de captura (o mixer de citocinas), marcadas com os anticorpos anti-TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-4, IL-10 e IL-17 são adicionadas em cada tubo de ensaio para citômetro. Em seguida, foram adicionados aos tubos 50µl do sobrenadante dos macrófagos peritoneais que estavam armazenadas (-70°C), tratadas com os OFB (3,12, 6,25 e 12,5 µg/mL), EEMB (6,25, 3,12 e 1,56 µg/mL), dexametasona (10 µg/mL), L-NAME (25 µM) e do reagente *Mice Chemokine PE Detection* em todos os tubos. Após essa etapa, as amostras foram incubadas por 3 h à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Em seguida, 1 mL da solução tampão (*Wash Buffer*) foi adicionado a cada tubo e os tubos centrifugados a 200 g por 5 min. Cuidadosamente, o sobrenadante foi descartado, restando aproximadamente 100 µL em cada tubo, onde foram adicionados 300 µL de solução tampão para ressuspender as esferas e realizar as leituras das amostras no Citômetro de fluxo FACSCalibur - E20200030, no *software Cell QuestPro* (BecktonDickson BD<sup>®</sup>) e os dados analisados no programa *Fcap array* 3.0.1.

#### **4.10 Reparo tecidual cutâneo *in vivo* do OFB e do EEMB**

##### 4.10.1 Animais

Foram utilizados 108 ratos de linhagem *Wistar (Rattus norvegicus albinus)*, machos, adultos jovens, com pesos entre 200e 300 g e com 08 semanas de idade e oriundos do Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE. Os animais foram mantidos por um período de 10 dias no biotério de Farmácia/UFPE para adaptação ao novo ambiente. O macro-ambiente deste biotério é semi-controlado, com temperatura média de  $21 \pm 2$  °C, foto-período de 12 h. Durante todo protocolo experimental os animais receberam ração e água *ad libitum*.

O projeto encontra-se em conformidade com as normas éticas elaboradas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório – SBCAL. A pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco – Centro de Biociências (CEUA – UFPE/CB), sendo aprovada sob processo de nº: 23076.003137/2016-11.

#### 4.10.2 Grupos Experimentais

Os grupos foram divididos em 03 (três) períodos de análise (3, 7 e 14 dias), sendo os animais divididos aleatoriamente. No grupo experimental OFB foram utilizados 20 ratos por período de análise, totalizando 60 ratos (Tab. 9), já no grupo experimental EEMB foram utilizados 16 ratos por período de análise, totalizando 48 ratos (Tab. 10).

**Tabela 9.** Grupos experimentais – feridas cutâneas tratadas com óleo fixo das amêndoas *A. speciosa* Mart. ex Spreng.

Nº de Animais – <i>Rattus norvegicus albinus</i>					
Controle Negativo	Controle Positivo	Testes			Período de Análise
Tween 80 (1%)	Dersani <sup>®</sup>	OFB 10%	OFB 30%	OFB 100%	Dias
04	04	04	04	04	3°
04	04	04	04	04	7°
04	04	04	04	04	14°

OFB – Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu. Total = 60 ratos. **Fonte:** Próprio autor.

O óleo Dersani<sup>®</sup> é um produto muito utilizado no Brasil para tratamentos de feridas, dermatites e úlceras por pressão. Esta loção oleosa é composta por triglicerídeos de ácidos cáprico e caprílico, óleo de girassol clarificado, lecitina, palmitato de retinol, acetato de tocoferol e alfa-tocoferol (FERREIRA et al., 2011). Além dos ácidos cáprico e caprílico, o OFB possui outros compostos dentre eles o de maior concentração é o ácido láurico. Devido a semelhança dos compostos químicos presentes no OFB, o Dersani<sup>®</sup> foi utilizado como controle positivo para o modelo experimental de ferida tratada com óleo.

**Tabela 10.** Grupos experimentais – feridas cutâneas tratadas com extrato etanólico do mesocarpo de *A. speciosa* Mart. ex Spreng.

Nº de Animais – <i>Rattus norvegicus albinus</i>				
Controle	Testes			Período de Análise
DMSO (1%)	EEMB 1%	EEMB 3%	EEMB 10%	Dias
04	04	04	04	3°
04	04	04	04	7°
04	04	04	04	14°

EEMB – Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu. Total = 48 ratos. **Fonte:** Próprio autor.

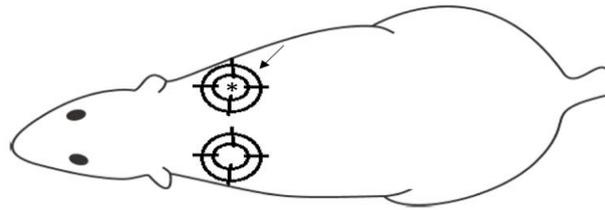
#### 4.10.3 Procedimento Cirúrgico

As feridas cutâneas foram confeccionadas seguindo protocolo estabelecido por Wang e colaboradores (2013). O modelo *in vivo* foi o de feridas excisionais com halos de contenção, pois a pele de rato é móvel e a sua contração é responsável por grande parte do fechamento da lesão, sendo assim, o uso de halos de silicone aderidos à ferida impedem a contração da pele, favorecendo o fechamento da lesão pelo processo de granulação e reepitelização, um processo mais próximo ao que acontece nos humanos (WANG et al., 2013).

A confecção dos discos de silicone procedeu-se a partir de uma folha silicone, com 0,05 mm de espessura, cortada com furadores de couro de 10 mm de diâmetro, os mesmos discos foram cortados novamente com furadores de couro de 8mm para confecção de um orifício central em cada disco confeccionado. Os discos de silicone foram mergulhados em hipoclorito de sódio (20.000 ppm) durante 30 min, lavados com água destilada e mergulhados em etanol a 70% (v/v) durante 30 min. Os ratos foram anestesiados pela aplicação por via intraperitoneal de cloridrato de cetamina na razão de 0,1 mL por 100 g de peso corporal e cloridrato de xilazina na razão de 0,05 mL por 100 g de peso e tiveram o dorso tricotomizado (Fig. 12), com tricotomizador e creme depilatório (Veet<sup>®</sup> - Reckitt Benckiser).

As feridas foram confeccionadas com o uso *punch* de biópsia de 8 mm de diâmetro, na região dorso-medial, sendo duas feridas por animal, aproximadamente 1 cm da borda escapular, sendo uma no antímero direito e a outra no antímero esquerdo. Para manter as feridas abertas os discos de silicone foram aderidos cuidadosamente, com auxílio de cola de secagem rápida, alinhando a perfuração central do disco com as bordas da ferida. Para melhor fixação o disco recebeu quatro pontos de sutura perpendiculares, com fio de Nylon 3.0 (Fig. 16). Os halos permaneceram fixados a epiderme até o 7º dia PO, para melhor avaliação do infiltrado inflamatório e tecido de granulação neoformado.

Após o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sendo suas feridas tratadas durante 3 dias com aplicação tópica uma vez ao dia (SANTOS et al., 2014), de 100 µL do OFB ou EEMB e seus respectivos grupos controle, seguindo as Tab. 6 e 7. Ademais, em cada período de análise (3, 7 e 14 dias), os animais foram eutanasiados, por câmara de CO<sub>2</sub>, tendo suas feridas extirpadas, em toda sua extensão até a fáscia muscular, com auxílio de um bisturi n° 11.



**Figura 16.** Esquema representativo de confecções de feridas cutâneas abertas em ratos, modelo de contenção de feridas com halos de contenção (*wound splinting model*) (WANG et al, 2013). Seta – halo de silicone mais pontos sutura; asterisco – ferida. **Fonte:** LANIA et al. 2019. **Adaptado:** Próprio autor.

#### 4.10.4 Análise Macroscópica

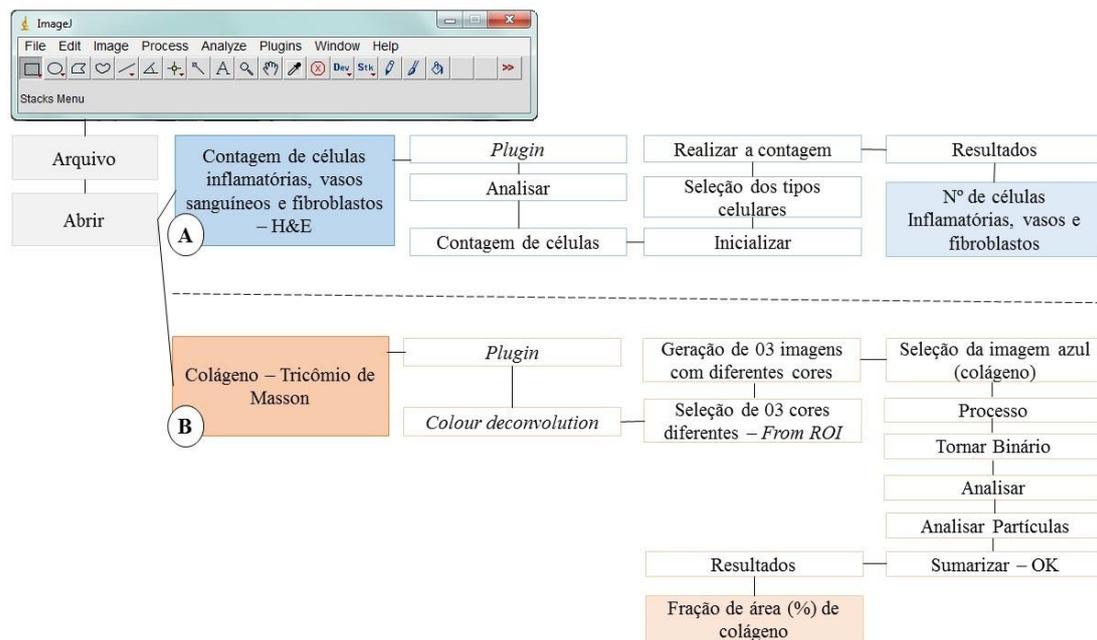
A evolução clínica das feridas foi avaliada diariamente, e seus resultados foram avaliados nos respectivos períodos de análise (3, 7 e 14 dias), de acordo com os seguintes aspectos: edema, eritema, crosta e tecido cicatricial. Adicionalmente foi realizada uma análise qualitativa dos resultados aplicando-se uma escala de classificação que variou (0 – Ausente; 1 – Discreto; 2 – Moderado e 3 – Intenso). Devido a presença dos halos de silicone, as feridas permaneceram tensionadas até o 7º dia PO e por isso, a avaliação da área da ferida não foi realizada.

#### 4.10.5 Análise histomorfométrica

O material coletado foi clivado e mergulhado em uma solução de formol neutro tamponado (NBF 10%), por 48 horas. Após esse procedimento, os fragmentos foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes (80%, 90% e 100%) diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo ajustado para 5 µm e corados com Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricômico de Masson.

Logo após, foram analisados em microscópio de luz, sob foco fixo e clareza de campo, com aumento final de 400X, no microscópio modelo *Axiostar Plus*<sup>®</sup> (Zeiss, Berlin, Alemanha), sendo obtidas 20 fotomicrografias por lâmina. Os locais fotografados nas lâminas seguiram os períodos de análise, a saber: 03 dias – abaixo da crosta fibrinoleucocitária (infiltrado inflamatório), 07 dias – tecido de granulação abaixo da crosta (angiogênese, fibroplasia e início da reepitelização) e 14 dias – tecido cicatricial abaixo da epiderme (remodelamento tecidual). Foram realizadas três análises quantitativas, das quais duas

análises numéricas e uma análise percentual (%). As análises numéricas foram realizadas em HE para quantificação de células inflamatórias, vasos sanguíneos e fibroblastos. Já a análise percentual as lâminas foram coradas por Tricômico de Masson para quantificação do colágeno total (corados em azul). Para realização das análises supracitadas, utilizou-se o *software ImageJ* versão 1.51 (*Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA*) (Fig. 17).



**Figura 17.** Histomorfometria *software ImageJ* versão 1.51. A – Quantificação de células inflamatórias, vasos sanguíneos, fibroblastos (HE); B – % de colágeno (Tricômico de Masson). **Fonte:** Próprio Autor.

#### 4.11 Análise Estatística

Os dados foram representados como média  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M.) e analisados pela ANOVA no pós-teste de Bonferroni ou no teste de Kruskal-Wallis, ambos considerando valores significativos de \*  $p < 0,05$ . Todas as análises estatísticas foram realizadas no *software Prism 7.0* (GraphPad, San Diego, CA, EUA).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Caracterização do OFB

Após análise GC-FID do óleo fixo de babaçu, identificou-se oito ésteres metílicos em *Attalea speciosa* Mart. Spreng. Os ésteres metílicos com maiores concentrações foram o ácido láurico (C12:0), o ácido mirístico (C14:0) e o ácido oleico (C18:1n9c) (Tab. 11). Já o perfil mineral do OFB foi descrito pelo método ICP-OES (Thermo® 7000 ICP-OES), com seguintes resultados: Ca = 18,0 mg/kg; e Zn = <4,85 mg/kg.

**Tabela 11.** Caracterização dos ácidos graxos do óleo fixo de *Attalea speciosa*.

Ésteres metílicos	% ± Erro Padrão Médio
<b>Saturados</b>	
Octanoato de metila (C8:0 – ácido caprílico)	4,59 ± 0,29
Decanoato de metila (C10:0 – ácido cáprico)	5,33 ± 0,14
Dodecanoato de metila (C12:0 – ácido láurico)	46,05 ± 0,61
Tetradecanoato de metila (C14:0 – ácido mirístico)	15,04 ± 0,04
Hexadecanoato de metila (C16:0 – ácido palmítico)	8,26 ± 0,17
Octadecanoato de metila (C18:0 – ácido esteárico)	2,80 ± 0,06
<b>Monoinsaturados</b>	
Cis-9-octadecenoato de metila (C18:1n9c – ácido oleico)	15,22 ± 0,39
<b>Polinsaturados</b>	
Cis-9,12-octadecadienoato de metila (C18:2n6c – ácido linoleico)	2,71 ± 0,48
TOTAL	100%

**Fonte:** Próprio autor.

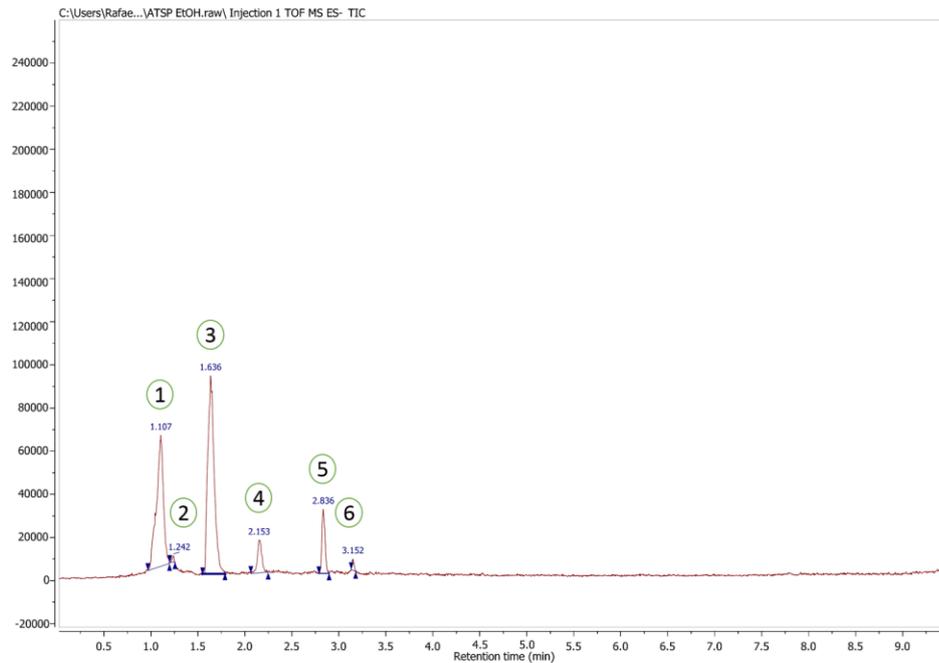
### 5.2 Caracterização do EEMB

A Tabela 12 mostra a identificação de compostos fenólicos com base em seu tempo de retenção (RT), absorção de UV-Vis ( $\lambda$ ), íons moleculares  $[M - H]^-$  e os principais íons dos produtos obtidos por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS para os seis compostos encontrados no EEMB. Todos compostos detectados foram identificados como proantocianidinas, indicando a presença de íons moleculares correspondentes a monômeros, dímeros e trímeros de (epi)catequinas (Fig. 18 e 19).

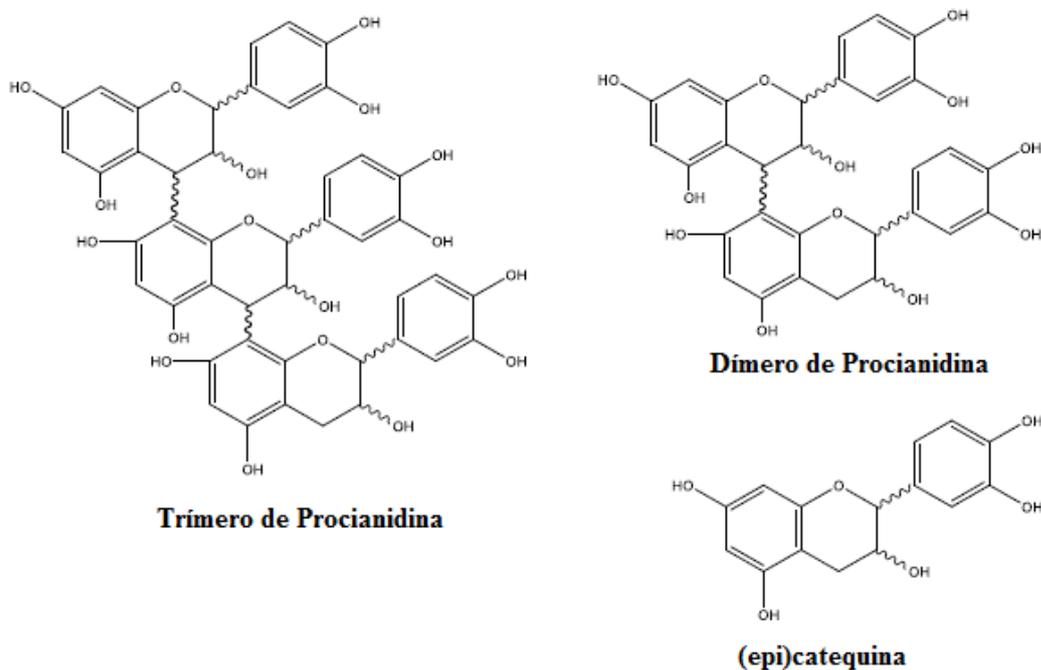
**Tabela 12.** Identificação dos compostos no extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (*Attalea speciosa*).

	RT (min)	$\lambda$ (nm)	Fórmula Molecular	MS	MS/MS	Nome	Referências
<b>1</b>	1,10	280	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	865,1953 [M-H] <sup>-</sup>	577,1336	Trímero I de procianidina [(epi)catequina- (epi)catequina - (epi)catequina]	ENOMOTO et al. (2020)
<b>2</b>	1,24	280	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	865,1904 [M-H] <sup>-</sup>	577,1329 425,0690 407,0778	Trímero II de procianidina [(epi)catequina- (epi)catequina - (epi)catequina]	ENOMOTO et al. (2020)
<b>3</b>	1,63	280	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289,0678 [M-H] <sup>-</sup>	245,0785	(epi)catequina	JAISSWAL et al. (2012)  JIANG et al. (2019)
<b>4</b>	2,15	280	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	577,1349 [M-H] <sup>-</sup>	407,6424	Dímero I de procianidina [(epi)catequina- (epi)catequina]	JAISSWAL et al. (2012) ENOMOTO et al. (2020)
<b>5</b>	2,83	280	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289,0672 [M-H] <sup>-</sup>	245,0714	(epi)catequina	JAISSWAL et al. (2012) JIANG et al. (2019)
<b>6</b>	3,15	280	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	577,1314 [M-H] <sup>-</sup>	425,1052 289,0760 287,0411	Dímero II de procianidina [(epi)catequina- (epi)catequina]	JAISSWAL et al. (2012) ENOMOTO et al. (2020)

RT – Tempo de retenção;  $\lambda$  – Absorção de UV-vis em nm; MS – Massa; [M - H]<sup>-</sup> – íon molecular. **Fonte:** Próprio autor.



**Figura 18.** Cromatograma do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB) – *Attalea speciosa*. 1 – Trímero I de procianidina; 2 – Trímero II de procianidina; 3 – (epi)catequina; 4 – Dímero I de procianidina; 5 – (epi)catequina; 6 – Dímero II de procianidina. **Fonte:** Próprio autor.



**Figura 19.** Principais substâncias isoladas do extrato etanólico do mesocarpo (EEMB), obtidos por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS. **Fonte:** Próprio Autor.

### 5.3 Quantificação dos compostos fitoquímicos e determinação da atividade antioxidante do EEMB

Os resultados dos ensaios para detecção dos constituintes químicos do EEMB demonstraram a presença de compostos fenólicos e proantocianidinas (Tab. 13). A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de captura dos radicais livres (DPPH<sup>•</sup>), habilidade de redução de ferro (FRAP) e habilidade de redução do molibdênio (ATT). O EEMB apresentou um baixo valor de IC<sub>50</sub>, juntamente com valores expressivos de ATT e FRAP o que demonstra um potencial antioxidante (Tab. 12).

**Tabela 13.** Compostos fitoquímicos e atividade antioxidante do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB).

Compostos Fitoquímicos	EEMB	Catequina
Resultados ± Desvio Padrão		
<b>Compostos Fenólicos</b> (mg EAG / g de extrato)	266,27 ± 14,67	-
<b>Flavonóis</b> (mg EQ/g de extrato)	-	-
<b>Proantocianidinas</b> (mg EC / g de extrato)	337,60 ± 28,17	-
<b>Atividade Antioxidante</b>		
<b>ATT</b> (%)	55,91 ± 3,77	-
<b>DPPH<sup>•</sup> IC<sub>50</sub></b> (µg/mL)	44,32 ± 3,72	44,23 ± 0,28
<b>FRAP</b> (mg EFeSO <sub>4</sub> / g de extrato)	521,98 ± 40,88	1465,96 ± 40,29

### 5.4 Atividade Antimicrobiana do OFB e do EEMB

O OFB não apresentou efeito antimicrobiano, mesmo na maior concentração testada (>1024 µg/ml). No entanto, para serem considerados ativos, consideramos o valor >128 µg/ml (SALEEM et al., 2010). O EEMB foi observado atividade antimicrobiana contra os microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e leveduras (Tab. 14). Diante as cepas testadas, o EEMB demonstrou resultados como bactericida contra todas as cepas Gram-positivas e para *P. aeruginosa* 39, sendo inativo para as outras cepas Gram-negativas.

**Tabela 14.** Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB), *Attalea speciosa* testados contra cepas bacterianas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*), Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*) e leveduras (*Candida albicans*).

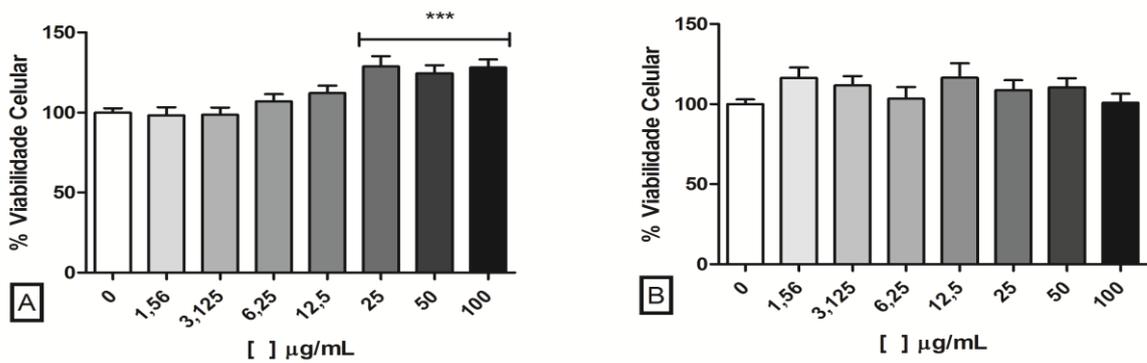
Microorganismos	EEMB	Controles
		Ciprofloxacino
Gram-positivos	CIM (CBM) µg/mL	CIM (CBM) µg/mL
<i>S. aureus</i> 02	64 (64)	1 (8)
<i>S. aureus</i> 1049	128 (128)	8 (16)
<i>S. aureus</i> 679	128 (128)	16 (32)
<i>S. aureus</i> 700	128 (256)	8 (16)
<i>S. aureus</i> 719	64 (128)	4 (16)
Gram-negativos		
<i>P. aeruginosa</i> 39	128 (128)	8 (16)
<i>P. aeruginosa</i> 261	256 (256)	32 (64)
<i>P. aeruginosa</i> 416	256 (256)	16 (32)
<i>P. aeruginosa</i> 736	>512 (>512)	16 (32)
<i>E. aerogenes</i> 739	>512 (>512)	8 (16)
		Fluconazol
Leveduras	CIM (CFM) µg/mL	CIM (CFM) µg/mL
<i>C. albicans</i> 1007	128 (128)	4 (8)
<i>C. albicans</i> 6431	128 (256)	8 (8)

**Fonte:** Próprio autor.

## 5.5 Citotoxicidade do OFB e do EEMB

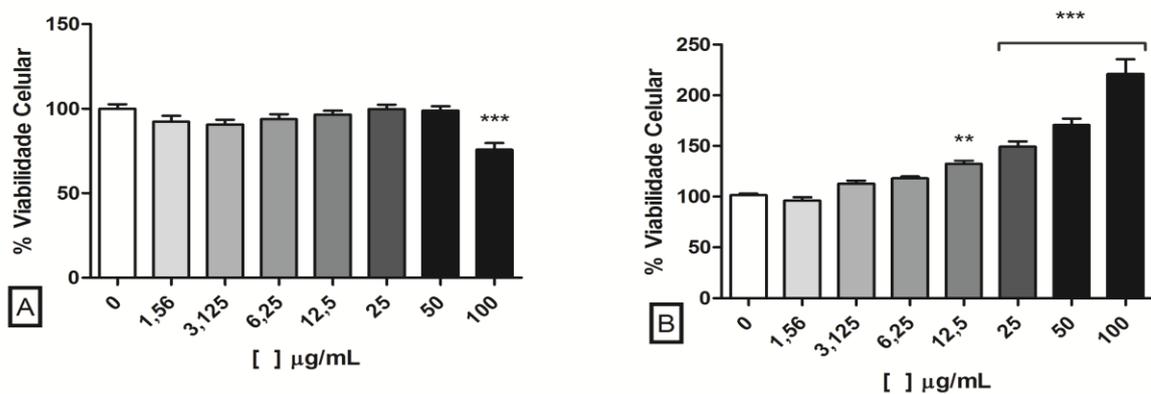
### 5.5.1 Viabilidade Celular

O efeito do OFB na viabilidade celular de fibroblastos L929 e macrófagos peritoneais foi avaliado pelo ensaio com MTT, não sendo tóxicos para os fibroblastos (Fig. 20A) e macrófagos peritoneais (Fig. 20B), em nenhuma concentração. Entretanto houve aumento do metabolismo/viabilidade celular a partir de 25 µg/mL nos fibroblastos L929 (Fig. 20A).



**Figura 20.** Ensaio MTT realizado para avaliar o efeito das doses de OFB. A – Viabilidade de fibroblastos L929; B – Viabilidade de macrófagos peritoneais murinos. Os resultados foram normalizados em relação ao grupo controle. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M.) Significância estatística é denotada por \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao controle. Teste ANOVA, *software* Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). **Fonte:** Próprio autor.

Assim como no OFB, o EEMB também não foi citotóxico aos fibroblastos, entretanto reduziu sua viabilidade na concentração de 100  $\mu\text{g/mL}$  (Fig. 21A). Já nos macrófagos, o EEMB aumentou sua resposta metabólica a partir de 12,5  $\mu\text{g/mL}$  (Fig. 21B).



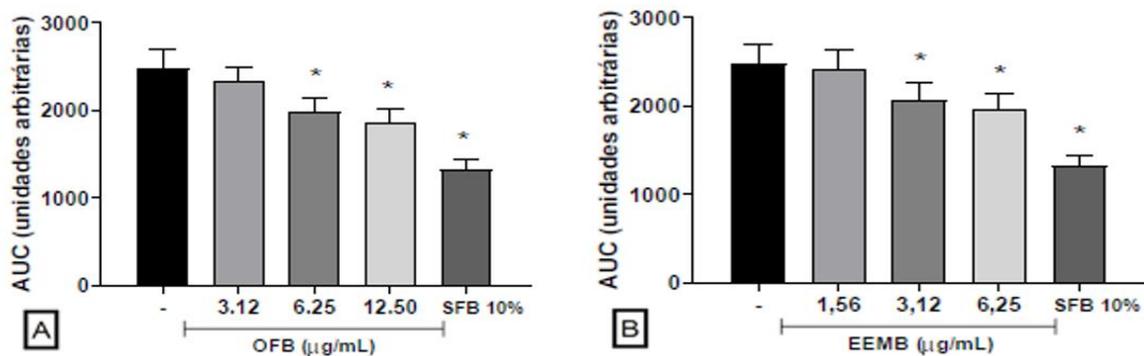
**Figura 21.** Ensaio MTT realizado para avaliar o efeito das doses de EEMB. A – Viabilidade de fibroblastos L929; B – Viabilidade de macrófagos peritoneais murinos. Os resultados foram normalizados em relação ao grupo controle. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M.). Significância estatística é denotada por \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao controle. Teste ANOVA, *software* Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). **Fonte:** Próprio autor.

## 5.6 Reparo tecidual *in vitro* do OFB e do EEMB

### 5.6.1 Ensaio de Migração Celular

Após ensaio com MTT, foram escolhidas as concentrações de OFB (3,12, 6,25 e 12,5  $\mu\text{M}$ ) e de EEMB (1,56, 3,12 e 6,25  $\mu\text{M}$ ) devido às ausências de variações significativas (citotoxicidade) na viabilidade dos fibroblastos.

Após 24 h de análise, foi observado nas que a partir da concentração 6,25  $\mu\text{g/mL}$  do OFB houve uma redução significativa da área “ferida”, ademais, com o aumento da concentração para 12,5  $\mu\text{g/mL}$  este efeito foi intensificado. Da mesma maneira, o EEMB reduziu a área lesionada, porém, a partir da concentração de 3,12  $\mu\text{g/mL}$ . Sendo assim, a utilização dos compostos extraídos do babaçu (*Attalea speciosa*) apresentaram relações dose dependente na redução das áreas “feridas” (Fig. 22).



**Figura 22.** Área sob a curva (AUC) de fibroblastos L929, determinado pela área de fechamento da ferida até 24h de análise. Os controles negativos dos fibroblastos foram tratados com o meio DMEM incompleto e o controle positivo com DMEM contendo 10% de soro fetal bovino (SFB). A – Tratados com OFB. B – Tratados com EEMB. Significância estatística é denotada por \* $p < 0,05$ , comparado ao controle negativo. **Fonte:** Próprio autor.

### 5.6.2 Dosagem de Óxido Nítrico e de Citocinas em Macrófagos Peritoneais

A análise de NO e citocinas foi realizada em macrófagos estimulados com LPS (5  $\mu\text{g/mL}$ ). Na avaliação de produção de nitritos, a utilização do OFB e do EEMB causaram uma redução na produção de nitrito pelos macrófagos. Como esperado, essa redução também foi observada no grupo L-NAME (25  $\mu\text{M}$ ) (Tab. 15).

Na análise das citocinas o OFB e o EEMB obtiveram resultados significativos ( $p < 0,05$ ), na redução e/ou estimulação da produção destas citocinas. O OFB foi capaz de aumentar a produção de INF- $\gamma$  e IL-6 em todas as concentrações testadas, já em TNF- $\alpha$  aumentou sua produção apenas na concentração 3,12 pg/mL, não apresentando diferenças significativas nas demais concentrações comparadas ao grupo LPS.

**Tabela 15.** Influência dos compostos extraídos da *Attalea speciosa* Mart. Spreng na concentração de óxido nítrico e citocinas *in vitro*.

	[ ] (μM)	NO (μM)	INF-γ (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	IL-2 (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
<b>PBS</b>	-	0,03 ± 0,01	< 0,5	< 0,9	496,0 ± 110,4	< 0,03	< 1,4
<b>LPS</b>	-	1,15 ± 0,19	980,4 ± 38,6	< 0,9	516,4 ± 105,7	< 0,03	584,4 ± 18,4
<b>OFB</b>	<b>3,12</b>	0,31 ± 0,12*	2200,1 ± 82,8*	107,7 ± 19,2*	245,0 ± 133,9	< 0,03	1286,1 ± 25,9*
	<b>6,25</b>	0,28 ± 0,10*	2214,2 ± 28,5*	< 0,9	310,5 ± 90,6	< 0,03	1266,3 ± 8,6*
	<b>12,5</b>	0,29 ± 0,09*	1925,6 ± 7,1*	26,3 ± 45,6	578,9 ± 110,9	< 0,03	1197,4 ± 11,8*
<b>EEMB</b>	<b>1,56</b>	0,13 ± 0,05*	< 0,5*	277,6 ± 22,6*	2219,1 ± 118,9*	< 0,03	116,0 ± 4,1*
	<b>3,12</b>	0,17 ± 0,08*	< 0,5*	193,1 ± 20,2*	2870,3 ± 30,5*	133,6 ± 57,3*	93,9 ± 1,5*
	<b>6,25</b>	0,18 ± 0,07*	< 0,5*	164,8 ± 17,15*	3366,5 ± 172,4*	310,9 ± 50,5*	86,3 ± 1,9*
<b>DEXA</b>	<b>10</b>	0,72 ± 0,12	< 0,5*	< 0,9	619,2 ± 157,0	< 0,03	7,3 ± 1,3*
<b>L-NAME</b>	<b>25</b>	0,31 ± 0,05*	-	-	-	-	-

Resultados em μM ± Desvio Padrão (NO) e pg/mL ± Desvio Padrão (demais citocinas). Parâmetro de significância os valores de \*p<0,05, comparados ao grupo Lipopolissacarídeo (LPS). NO – óxido nítrico; INF-γ – interferon gama; TNF-α – fator de necrose tumoral alfa; IL – interleucina. **Fonte:** Próprio autor.

Já o EEMB, ao contrário do OFB, reduziu a produção de IFN- $\gamma$  e IL-6 em todas as concentrações testadas, aumentou a produção de TNF- $\alpha$  e IL-2 em todas as concentrações testadas. Especificamente, em IL-4 houve um aumento a partir da concentração 3,12 pg/mL. Como observado, em todas as citocinas testadas com EEMB apresentaram relação dose-dependência com a concentração testada (Tab. 15).

Tratando-se das citocinas anti-inflamatórias (Th2), a IL-4 apresentou resultado dose-dependente no aumento de sua produção a partir da concentração 3,12  $\mu$ M do EEMB, ficando abaixo do limite de detecção (<0,03 pg/mL) no OFB (Tab. 14). Já a IL-10 (T<sub>REG</sub>), assim como a IL-17 (Th17), ficaram abaixo do limite de detecção do CBA, <0,8 pg/mL e <16,8 pg/mL, respectivamente, em todas as amostras testadas.

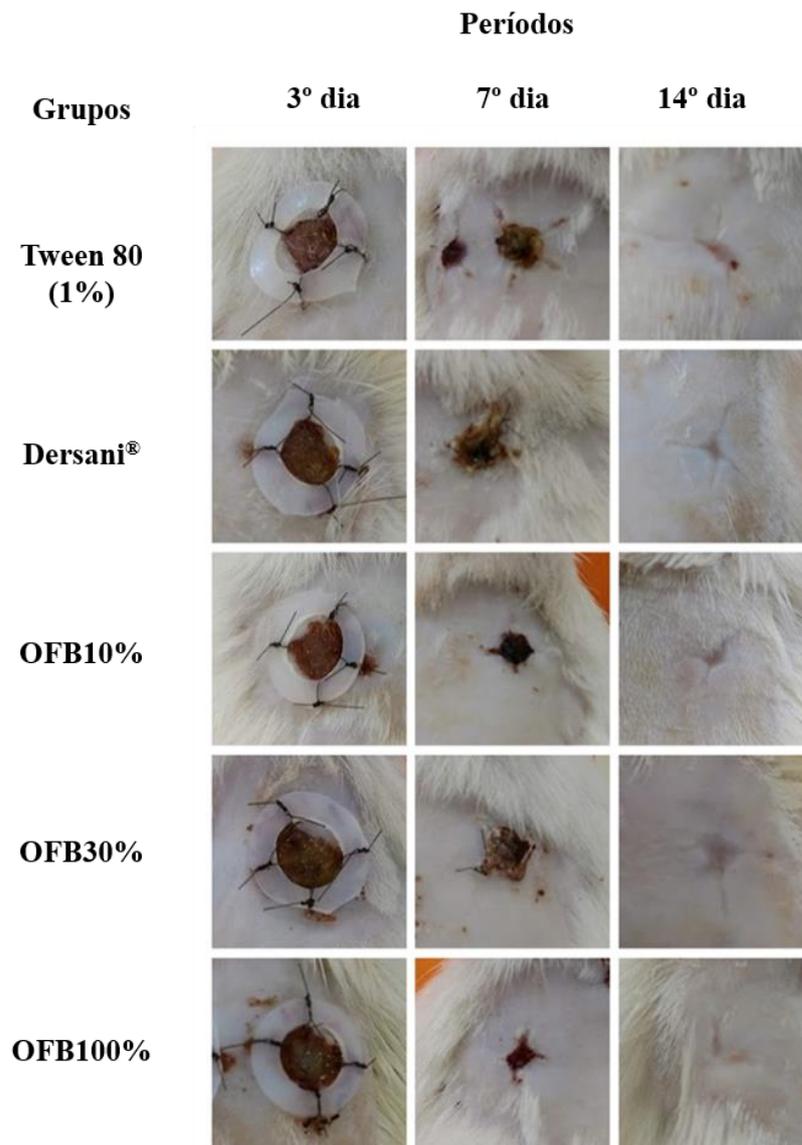
## 5.7 Reparo tecidual cutâneo *in vivo* do OFB e do EEMB

### 5.7.1 Análise Macroscópica de Feridas Cutâneas Tratadas com OFB

Na observação clínica das lesões tratadas com OFB e seu controle, verificou-se que no 3º dia pós-operatório (PO), todos os grupos formaram crosta com flogose característica do tipo de lesão cutânea em relação ao período analisado. Entretanto, tanto o grupo Dersani<sup>®</sup> quanto os grupos OFB10%, OFB30% e OFB100% as crostas foram mais espessas e úmidas comparadas ao grupo controle negativo (Fig. 23).

No 7º dia PO, depois da retirada dos halos de silicone, as feridas ainda apresentaram crostas vermelho escuro, aderidas ao leito da lesão e com volume aumentado. Entretanto, houve redução da hiperemia e do edema local neste período de observação. Já no 14º dia PO, todas as feridas dos grupos Dersani<sup>®</sup>, OFB10%, OFB30% e OFB100% apresentaram um processo de fechamento da lesão acentuado, com exceção do grupo Tween 80, que na área central da ferida ainda apresentou crosta (Fig. 23).

Contudo, o grupo OFB30% foi o que apresentou maior formação de tecido cicatricial comparado aos demais grupos, pois na área central da lesão não apresentou áreas hiperêmicas, o que caracteriza o fechamento completo da ferida e a formação de uma cicatriz fibrótica (Tab. 16).



**Figura 23.** Avaliação macroscópica de lesões cutâneas tratadas com Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB). **Fonte:** Próprio autor.

**Tabela 16.** Análise Macroscópica de feridas tratadas com Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB).

Variáveis	Períodos	Grupos – Mediana (Mín. – Máx.)				
		Tween 80 (1%)	Dersani®	OFB10%	OFB30%	OFB100%
Edema	3º Dia	1 (1 – 2)	2 (1 – 3)**	2 (1 – 2)**	2 (1 – 2)**	2 (1 – 3)**
	7º Dia	1 (0 – 2)	1 (0 – 1)	1 (0 – 2)	1 (0 – 1)	1 (0 – 2)
	14º Dia	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)
Eritema	3º Dia	1 (1 – 2)	2 (1 – 2)*	2 (1 – 2)*	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)

	7° Dia	0 (0 – 1)	1 (0 – 1)	0 (0 – 1)	0 (0 – 1)	1 (0 – 1)
	14° Dia	0 (0 – 1)	0 (0 – 1)	0 (0 – 0)*	0 (0 – 0)*	0 (0 – 1)
<b>Crosta</b>	3° Dia	3 (2 – 3)	3 (2 – 3)	2 (2 – 3)	3 (2 – 3)	3 (2 – 3)
	7° Dia	3 (3 – 3)	3 (3 – 3)	3 (3 – 3)	3 (3 – 3)	3 (3 – 3)
	14° Dia	1 (0 – 1)	0 (0 – 1)***	0 (0 – 0)***	0 (0 – 0)***	0 (0 – 0)***
<b>Tecido Cicatricial</b>	3° Dia	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)
	7° Dia	2 (1 – 2)	2 (1 – 2)	2 (1 – 2)	2 (1 – 2)	2 (1 – 2)
	14° Dia	2 (2 – 3)	3 (2 – 3)*	3 (2 – 3)*	3 (2 – 3)*	3 (2 – 3)*

Dados amostrais submetidos ao teste Teste de Kruskal wallis, software Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). Padrões: 0 – ausente; 1 – Discreto; 2 – Moderado; 3 – Intenso. Resultados em  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M). Referências para os resultados tendo como parâmetro de significância os valores de \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ , comparado ao Tween 80. **Fonte:** Próprio autor.

### 5.7.2 Análise Histomorfométrica de Feridas Cutâneas Tratadas com OFB

No 3° dia PO, na fase inflamatória da cicatrização, os grupos Dersani<sup>®</sup>, OFB10%, OFB30% e OFB100% apresentaram um efeito pró-inflamatório, [Fig. 24 (B1, C1, D1 e E1)]. Ainda neste período de avaliação, os grupos OFB10% e OFB100% apresentaram maior efeito pró-angiogênico, refletindo numa maior proliferação fibroblástica e uma maior produção de colágeno [Tab. 17 e Fig. 24 (B2, C2 e E2)], comparados ao grupo I. O colágeno, por sua vez, se apresentou em finos feixes (fibrilas colágenas) distribuídos ao longo do leito cruento das feridas em todos os grupos avaliados [Fig. 24 (A3, B3, C3, D3 e E3)].

Houve na fase proliferativa do reparo tecidual (7° dia PO) um predomínio de células inflamatórias. Todavia, este infiltrado inflamatório mostrou-se inferior nas feridas tratadas com todas as doses do OFB. Nesta fase ainda, houve um discreto aumento na angiogênese com o fármaco padrão (Dersani<sup>®</sup>) e a maior dose testada do OFB (Tab. 17) Desta forma, a presença do OFB no leito cruento das lesões induziu uma maior fibroplasia em todas as doses testadas (Tab. 17). Sendo este efeito parcialmente suprimido na produção de colágeno, já que em doses intermediárias do OFB (10 e 30%) houve uma redução em sua produção (Tab. 17).

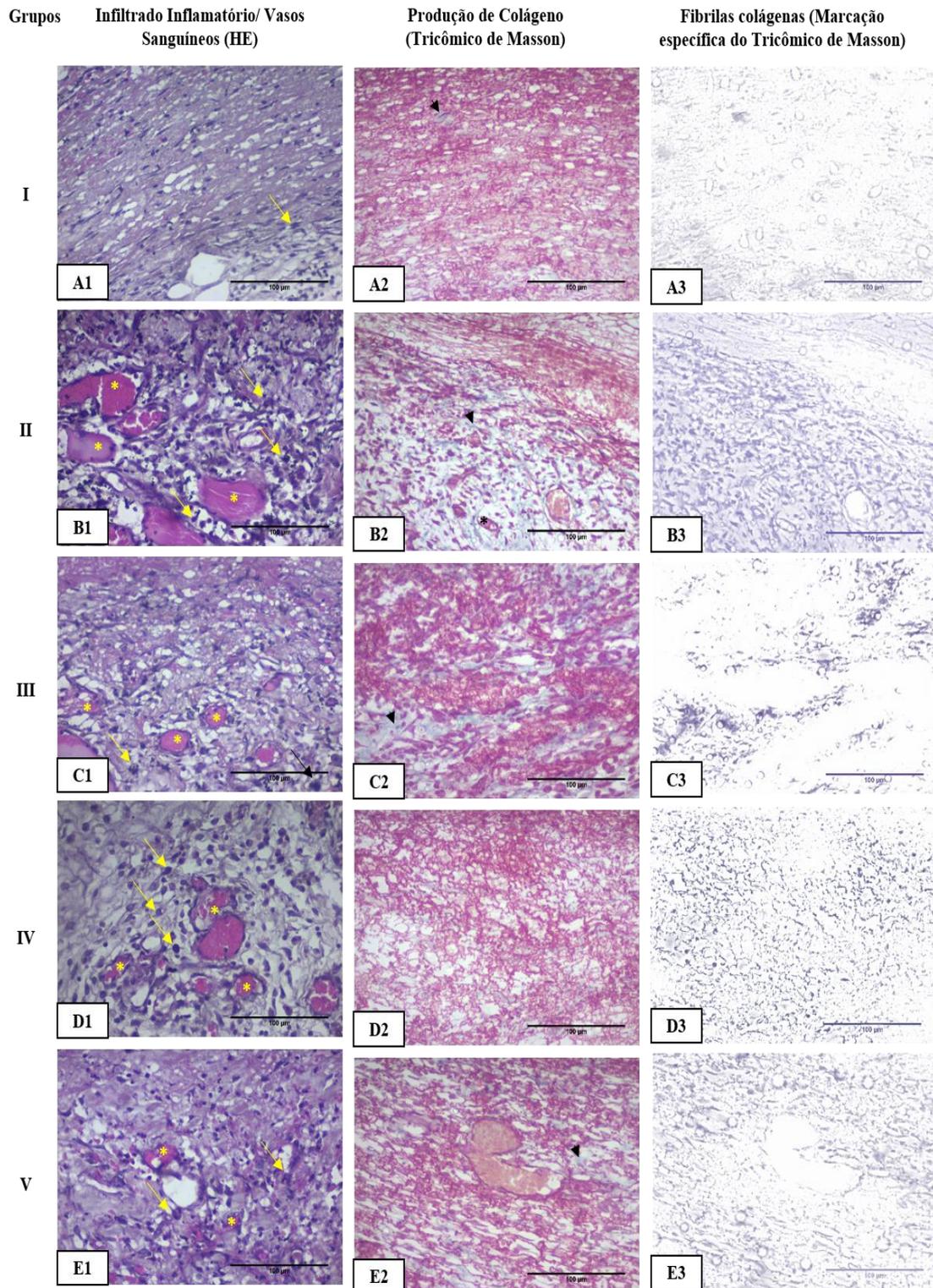
Já no 14° dia PO, na fase de remodelamento do tecido neoformado, o infiltrado inflamatório continuou elevado, nos grupos Dersani<sup>®</sup>, OFB10%, OFB30% e OFB100%. Já no

número de vasos sanguíneos foram maiores nos grupos Dersani<sup>®</sup>, OFB10% e OFB100%. Neste período ainda se notou que tanto a quantificação da fibroplasia quanto a colagenização da lesão apresentaram um aumento proporcional a dose administrada de OFB (Tab. 17).

**Tabela 17.** Análise histomorfométrica de feridas cutâneas tratadas com Óleo Fixo das Amêndoas do Babaçu (OFB).

Parâmetros	Períodos	Grupos – (Média ± E.P.M.)				
		Tween 80 1%	Dersani®	OFB10%	OFB30%	OFB100%
Número de células	3º Dia	121,8 ± 1,2	138,3 ± 2,6***	128,5 ± 1,5*	130,9 ± 1,7***	130,6 ± 1,8**
Infamatórias/ Fotomicrografia	7º Dia	66,7 ± 1,0	65,9 ± 0,6	62,0 ± 0,4***	61,1 ± 0,3***	63,5 ± 0,4**
	14º Dia	29,8 ± 0,1	33,6 ± 0,4***	31,5 ± 0,2**	31,2 ± 0,2**	33,8 ± 0,3***
Número de vasos	3º Dia	11,1 ± 0,3	16,7 ± 0,6***	15,4 ± 0,6***	11,5 ± 0,5	14,0 ± 0,5***
sanguíneos/ Fotomicrografia	7º Dia	21,8 ± 0,4	25,8 ± 0,7**	22,0 ± 0,4	20,6 ± 0,5	26,2 ± 0,6***
	14ºDia	8,7 ± 0,3	13,0 ± 0,4***	10,0 ± 0,3**	6,5 ± 0,2***	10,3 ± 0,3***
Número de	3º Dia	22,5 ± 2,2	39,7 ± 3,0***	41,8 ± 1,9***	32,9 ± 1,8***	38,4 ± 1,7***
Fibroblastos/ Fotomicrografia	7º Dia	97,2 ± 2,0	113,0 ± 1,9***	115,5 ± 2,9***	109,5 ± 1,6***	115,8 ± 1,6***
	14º Dia	66,6 ± 0,6	75,2 ± 0,9***	75,3 ± 0,8***	77,9 ± 0,9***	82,1 ± 1,2***
Média de	3º Dia	17,8 ± 1,1	22,2 ± 1,5*	20,9 ± 1,1*	19,9 ± 1,8	22,5 ± 2,0*
%Colágeno/ Fotomicrografia	7º Dia	38,1 ± 1,1	42,9 ± 1,8*	26,1 ± 1,2***	27,6 ± 1,4***	39,0 ± 1,3
	14º Dia	36,4 ± 1,1	41,9 ± 1,2**	44,6 ± 1,3***	48,1 ± 1,1***	49,0 ± 1,1***

Dados amostrais submetidos ao teste ANOVA. Resultados em ± Erro Padrão Médio (E.P.M). Referências para os resultados tendo como parâmetro de significância os valores de \*p<0,05, \*\*p<0,01 e \*\*\*p<0,001, comparado ao Grupo I. **Fonte:** Próprio autor.



**Figura 24.** Fotomicrografias da cicatrização de lesões cutâneas em ratos (*Rattus norvegicus albinus*), no 3º dia do reparo tecidual, modelo de feridas de contenção com halos de silicone (*wound splinting model*) (WANG et al, 2013). Grupos: I – Controle Controle Negativo – Tween 80 (1%); II – Controle Positivo – Dersani®; III – OFB10%; IV – OFB30%; V –

OFB100%. A1, B1, C1, D1 e E1 – Infiltrado Inflamatório (HE); A2, B2, C2, D2 e E2 – Produção de colágeno (Tricômico de Masson); A3, B3, C3, D3 e E3 – Fibrilas colágenas (*software ImageJ*<sup>®</sup>). Aumento final de 400x. Legenda: seta – células inflamatórias; cabeça de seta – colágeno; asterisco – vasos sanguíneos. **Fonte:** Próprio autor.

### 5.7.3 Análise Macroscópica de Feridas Tratadas com EEMB

Na observação clínica das lesões tratadas com EEMB verificou-se que no 3º dia todos os grupos formaram crosta com flogose característica do tipo de lesão cutânea em relação ao PO. Desta maneira, o edema gerado na fase inflamatória foi inferior em todos os grupos tratados com EEMB (Tab.18 e Fig. 25).

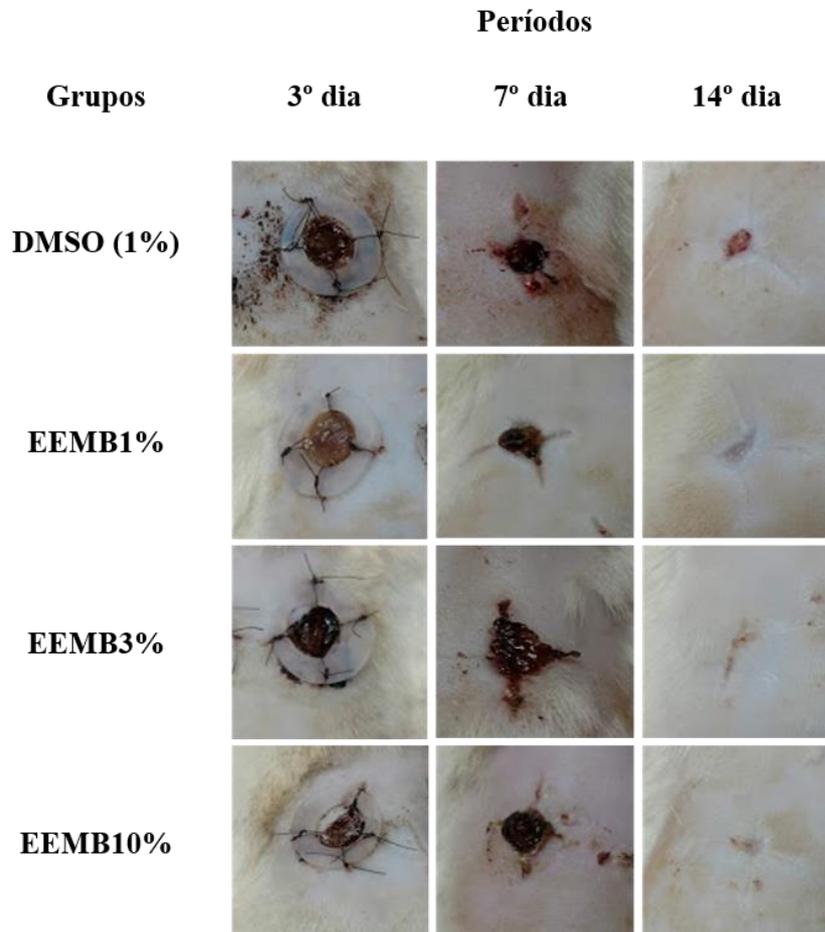
**Tabela 18.** Análise Macroscópica de feridas tratadas com Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB).

Variáveis	Períodos	Grupos – Mediana (Mín. – Máx.)			
		DMSO 1%	EEMB1%	EEMB3%	EEMB10%
Edema	3º Dia	2 (2 – 3)	2 (1 – 2)**	1 (1 – 2)**	1 (1 – 2)**
	7º Dia	2 (1 – 2)	1 (0 – 2)*	1 (0 – 2)*	1 (0 – 2)*
	14º Dia	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)
Eritema	3º Dia	2 (2 – 3)	1 (1 – 2)**	1 (1 – 2)**	1 (1 – 2)**
	7º Dia	2 (1 – 3)	1 (1 – 2)*	1 (1 – 2)*	1 (0 – 2)**
	14º Dia	0 (0 – 1)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)
Crosta	3º Dia	2 (1 – 2)	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)
	7º Dia	2 (2 – 3)	2 (2 – 3)	2 (2 – 3)	2 (2 – 3)
	14º Dia	0 (0 – 1)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)
Tecido Cicatricial	3º Dia	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)
	7º Dia	1 (0 – 2)	1 (0 – 2)	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)
	14º Dia	2 (1 – 3)	2 (2 – 3)	2 (2 – 3)	3 (2 – 3)*

Dados amostrais submetidos ao teste Teste de Kruskal wallis, software Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). Padrões: 0 – ausente; 1 – Discreto; 2 – Moderado; 3 – Intenso. Resultados em  $\pm$  Erro Padrão Médio (E.P.M). Referências para os resultados tendo como parâmetro de significância os valores de \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ , comparado ao Grupo I. **Fonte:** Próprio autor.

No 7º dia PO, após a retirada dos halos de silicone, as feridas ainda apresentaram crostas vermelho escuro, aderidas ao leito da lesão e com volume aumentado (Fig. 25). Nesta fase de observação, houve redução do edema e do eritema nas lesões tratadas com EEMB, caracterizando uma redução do processo inflamatório (Tab. 17). Já no 14º dia PO, todos os

grupos testes apresentaram uma regressão no processo inflamatório e um aumento da formação de tecido cicatricial, com destaque para o grupo IV (EEMB 10%) que visualmente demonstrou uma cicatriz fibrótica hipocrômica e mais oclusa comparada ao grupo I (Controle – DMSO 1%) (Fig. 25).



**Figura 25.** Avaliação macroscópica de lesões cutâneas tratadas com Extrato Etanólico do Mesocarpo do Babaçu (EEMB). **Fonte:** Próprio autor.

#### 5.7.4 Análise Histomorfométrica das Feridas Tratadas com EEMB

No 3º dia PO, na fase inflamatória da cicatrização, os grupos III e IV apresentaram um efeito anti-inflamatório. Ainda neste período de avaliação, os grupos II e III apresentaram um discreto aumento na angiogênese. Entretanto, na fibroplasia e na formação do colágeno ao longo do leito cruento das feridas, o colágeno formado nesta fase não apresentou diferenças significativas entre os grupos (Tab. 19).

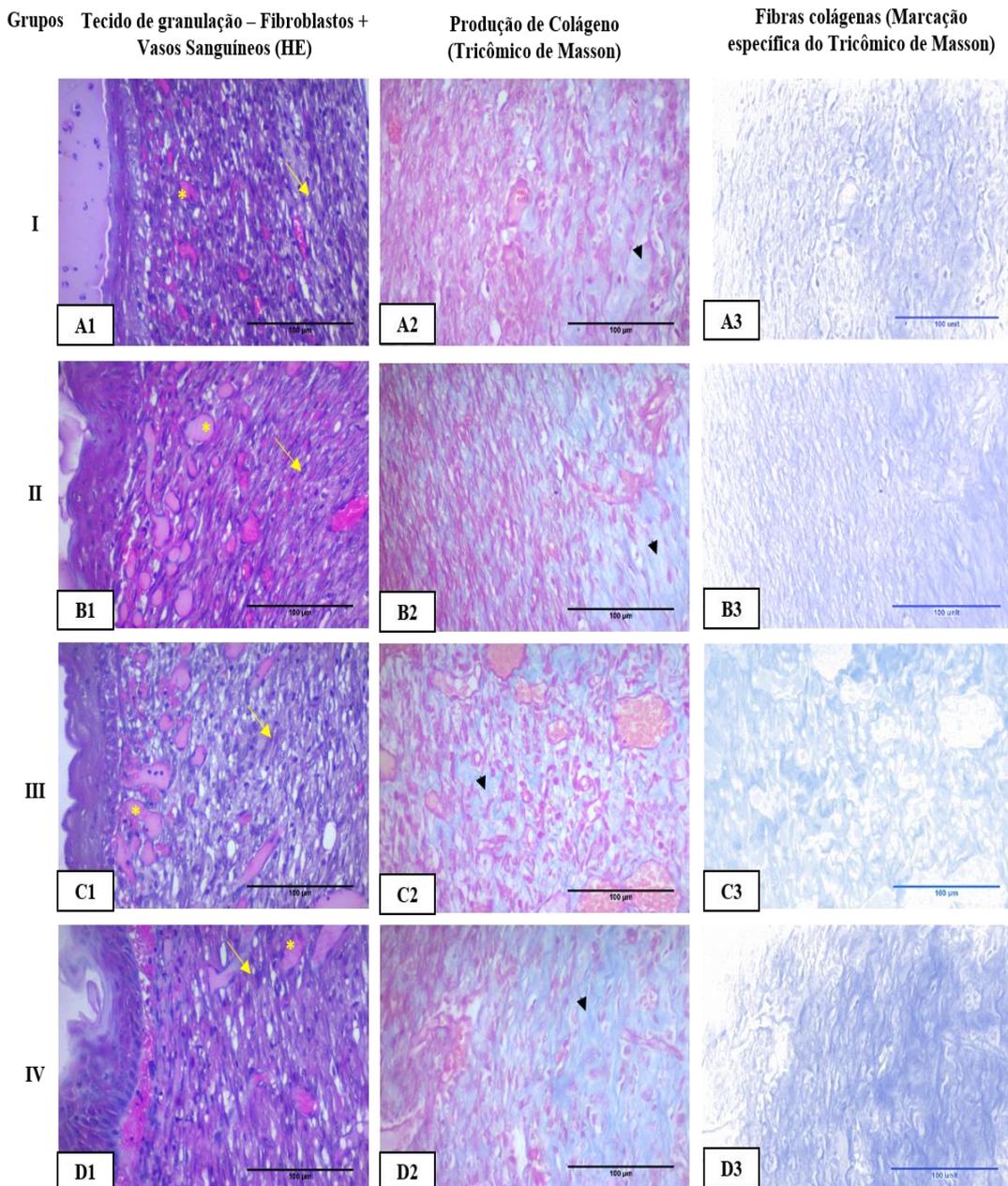
Na fase proliferativa do reparo tecidual (7º dia PO) o infiltrado inflamatório do tecido de granulação, assim como na fase anterior, mostrou-se inferior nas feridas dos grupos teste III e IV [Tab. 19 e Fig. 26 (C1 e D1)]. Nesta fase pôde-se inferir que os mesmos grupos aumentaram o recrutamento de fibroblastos nas lesões cutâneas (Tab. 19). Sendo assim, na área de formação de colágeno a presença do EEMB nas feridas resultou em um aumento proporcional a dose administrada [Tab. 19 e Fig. 26 (B2, C2 e D2)]. O colágeno, por sua vez, se apresentou com uma estrutura densa não modelada nos grupos III e IV [Fig. 26 (C3 e D3)].

Já no 14º dia PO, na fase de remodelamento do tecido neoformado, houve uma regressão da inflamação e da angiogênese em todos os grupos avaliados (Tab. 19). Neste período ainda pôde-se inferir que tanto a quantificação da fibroplasia quanto a colagenização da lesão apresentaram um aumento proporcional a dose administrada do EEMB (Tab. 19).

**Tabela 19.** Análise histomorfométrica de feridas cutâneas tratadas com Extrato Etanólico do mesocarpo do Babaçu (EEMB).

Parâmetros	Períodos	Grupos – (Média ± E.P.M.)			
		DMSO 1%	EEMB 1%	EEMB 3%	EEMB 10%
Número de células infamatórias/ Fotomicrografia	3° Dia	114,4 ± 3,7	108,3 ± 2,5	93,7 ± 3,2***	95,8 ± 3,0***
	7° Dia	61,2 ± 1,0	59,8 ± 1,2	54,9 ± 0,6***	56,7 ± 0,7**
	14° Dia	23,4 ± 0,9	23,9 ± 0,9	21,1 ± 0,8	21,3 ± 0,9
Número de vasos sanguíneos/ Fotomicrografia	3° Dia	12,3 ± 0,3	10,4 ± 0,4**	10,0 ± 0,3***	11,2 ± 0,3
	7° Dia	23,9 ± 0,6	29,5 ± 0,7**	22,0 ± 0,8	24,0 ± 1,0
	14° Dia	8,6 ± 0,6	7,9 ± 0,5	9,0 ± 0,3	9,4 ± 0,5
Número de Fibroblastos/ Fotomicrografia	3° Dia	33,0 ± 1,1	30,0 ± 1,4	32,5 ± 1,0	32,5 ± 1,5
	7° Dia	97,6 ± 2,0	104,0 ± 2,2	113,5 ± 4,2***	135,4 ± 4,3***
	14° Dia	66,0 ± 2,0	82,6 ± 2,2***	99,4 ± 3,5***	105,4 ± 4,8***
Média de % Colágeno/ Fotomicrografia	3° Dia	18,8 ± 1,3	22,1 ± 1,5	21,0 ± 1,0	20,9 ± 0,9
	7° Dia	36,7 ± 1,9	42,1 ± 2,4	44,4 ± 2,4*	46,7 ± 1,7**
	14° Dia	37,3 ± 2,0	42,8 ± 2,6	46,7 ± 1,7**	50,8 ± 2,6**

Dados amostrais submetidos ao teste ANOVA. Resultados em ± Erro Padrão Médio (E.P.M). Referências para os resultados tendo como parâmetro de significância os valores de \*p<0,05, \*\*p<0,01 e \*\*\*p<0,001, comparado ao Grupo I. **Fonte:** Próprio autor.



**Figura 26.** Fotomicrografias da cicatrização de lesões cutâneas em ratos (*Rattus norvegicus albinus*), no 7º dia do reparo tecidual, com modelo de feridas de contenção com halos de silicone (*wound splinting model*) (WANG et al, 2013). Grupos: I – Controle Controle Negativo – DMSO 1%; II – EEMB1%; III – EEMB3%; IV – EEMB10%. A1, B1, C1, D1 e E1 – Tecido de granulação (HE); A2, B2, C2, D2 e E2 – Produção de colágeno (Tricômico de Masson); A3, B3, C3, D3 e E3 – Fibras colágenas (*software ImageJ®*). Aumento final de 400x. Legenda: seta – células inflamatórias; cabeça de seta – colágeno; asterisco – vasos sanguíneos. **Fonte:** Próprio autor.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Obtenção e Caracterização do OFB

Após a extração, o óleo fixo das amêndoas de babaçu (OFB) apresentou uma coloração branca a levemente amarelada, característica deste tipo de óleo (MOTA et al., 2010). Em relação ao seu rendimento pós-extração, o OFB apresentou 34% de rendimento, valor inferior aos encontrados na literatura. Todavia, os estudos relatam outros métodos de extração, com solventes orgânicos, a saber: éter de petróleo 45,7% (GUEDES et al., 2015), hexano 87,8% (GOMES et al., 2013) e com etanol 57,0 – 89,6% (LIMA, et al., 2007; GOMES, et al., 2013; OLIVEIRA, et al., 2013). No processo de prensagem, a borra ainda apresenta cerca de 5-6% de óleo residual. Pela extração de óleo desta borra, por solvente orgânico, se consegue reduzir esta quantidade para menos de 1% (TANDY, 1991). Sendo assim, se justifica o rendimento do OFB, já que o mesmo foi extraído por prensagem mecânica manual.

A análise por GC-FID do OFB foi possível identificar oito ésteres metílicos com predominância do ácido láurico (C12:0), ácido oleico (C18:1n9c) e ácido mirístico (C14:0). Todos os ácidos graxos identificados encontram-se dentro dos padrões encontrados na literatura (HOVORKOVÁ et al., 2018; MARTINI et al., 2018; MOURA et al., 2019).

Dentre os éteres encontrados com importância terapêutica, destaca-se o ácido linoleico (C18:2n6c), pois o mesmo favorece o processo de cicatrização por ter um papel fundamental na quimiotaxia para macrófagos, sendo crucial na expressão de componentes do sistema fibrinolítico (regulando a produção de colagenases); favorecendo o desbridamento autolítico no leito da lesão por contribuir na produção MMPs (MANHEZI et al., 2008; ARAÚJO et al., 2011). Estas proteinases fazem parte de uma família de proteases dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , sendo essenciais em todas as fases da cicatrização como a determinação da arquitetura da matriz extracelular e a angiogênese (ARAÚJO et al., 2011). Para tanto, no presente estudo foram identificados no óleo babaçu à presença do cálcio, já o zinco ficou abaixo do limite de detecção do aparelho (Thermo<sup>®</sup> 7000 ICP-OES).

De acordo com a literatura, íons de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  são essenciais para a produção de enzimas metaldependentes, ou também denominadas de metaloproteinases (MMPs). Todas as MMPs contêm íons  $\text{Zn}^{2+}$  no sítio de ação catalítica e requerem íons  $\text{Ca}^{2+}$  para sua estabilidade e atividade (NAVARRO et al., 2006; EMING et al., 2014). Consequentemente, o excesso de íons de  $\text{Zn}^{2+}$  podem inibir a produção de MMPs. Vale salientar que estas enzimas são

produzidas nos linfócitos, nos queratinócitos, nos monócitos, nos macrófagos, nos fibroblastos e as células mesenquimais. Essas células são capazes de responder a fatores de crescimento e citocinas, incluindo a interleucina 1 (IL-1), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e o fator de crescimento transformador alfa (TGF- $\alpha$ ). Na presença desses fatores de crescimento e citocinas, essas células liberam as MMPs para o meio extracelular, favorecendo a cicatrização tecidual em processos como angiogênese, debridamento autolítico e remodelação do tecido neoformado (OLCZYK et al., 2014; RAM et al., 2015).

Estudos que avaliaram as quantidades de metais presentes no óleo das amêndoas de *A. speciosa* sp. são escassos, para Lopes e colaboradores (2016) ao realizarem espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplada (ICP-MS), puderam mensurar as quantidades de Al, As, Ba, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, V e Zn. Como já citado, este último metal ficou abaixo dos níveis de detecção no OFB (<4,85 mg/kg), corroborando com os baixos níveis da literatura supracitada (<0,11 mg/kg).

Entretanto, para Queiroga e colaboradores (2015) ao avaliarem os níveis de cálcio das amêndoas do coco babaçu, por espectrofotometria de absorção atômica, verificaram que as concentrações dos elementos minerais podem variar acordo com as condições de armazenamento: sem armazenamento (frutos colhidos diretamente do cacho da planta), frutos caídos naturalmente ao chão com 7 dias de armazenamento, frutos com 180 dias de armazenamento a céu aberto e frutos com 180 dias de armazenamento em depósito com cobertura. Seus resultados demonstraram variações de concentração de cálcio entre 1.181,0 mg/kg (180 dias de armazenamento em depósito com cobertura) até 4.575,0 mg/kg (frutos colhidos diretamente do cacho da planta).

O nível de Ca<sup>2+</sup> do OFB (18,0 mg/kg) foi muito inferior ao relatado pela literatura acima, porém, vale salientar que estas discrepâncias dos valores se deram devido ao material analisado, já que as amêndoas íntegras possuem uma maior concentração de minerais (QUEIROGA et al., 2015) e após o processo de extração do OFB, grande parte dos metais presentes nas amêndoas podem ficar retidos na borra. Efetivamente, o cálcio no óleo não é solúvel, somente na forma de sabão (ácido graxo livre + Ca<sup>2+</sup>) (VAVRA et al., 2017). Como o conteúdo de ácido graxo livre é muito baixo, não tem contraíón.

## **6.2 Obtenção e Caracterização do EEMB**

Após a obtenção do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB), observou-se um extrato com coloração marrom avermelhado e com rendimento de 1,16%, este valor foi

muito próximo ao encontrado na literatura com o extrato hidroalcoólico (2,15%) (SILVA et al., 2017). Ademais, foi realizado a caracterização do EEMB, pelo qual se pôde quantificar compostos fenólicos totais ( $266,27 \pm 14,67$  mg EAG/ g de extrato) e proantocianidinas ( $337,60 \pm 28,17$  mg EC/ g de extrato). Estes valores foram inferiores aos encontrados por Silva e colaboradores (2017) (compostos fenólicos totais – 414,4 mg EAG / g de extrato; e proantocianidinas – 421,7 mg EC/ g de extrato), contudo o extrato avaliado foi hidroalcoólico.

Avaliando o processo de extração dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e polifenóis não flavonoides, o tipo de solvente tem sido considerado como um dos fatores mais importantes; pois tais compostos apresentam afinidade por solventes hidrofílicos, sendo mais os utilizados a água ou solventes orgânicos, tais como: etanol, metanol e acetona (CHAN et al., 2009; DORTA et al., 2012). Justificando assim, as variações dos valores encontrados no EEMB e na literatura, já que os solventes utilizados foram distintos.

Na literatura foi possível quantificar compostos fenólicos em mesocarpos de outras palmeiras (família Arecacea), a *Euterpe oleracea* Mart. (12,89 mg EC/ g) (SCHAUSS et al., 2006), *Astrocaryum aculeatum* Meyer (8,24 mg EC / g) (SAGRILLO et al., 2015) e *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (146 mg EC/ g) (RODRIGUES et al., 2011). O que demonstra que esta família pode ser uma rica fonte de compostos fenólicos. Comparativamente, o mesocarpo do babaçu apresenta valores de compostos fenólicos inferiores aos encontrados na literatura, pois já foram quantificados 8,9 mg EC/ g (Silva et al., 2017) e no presente estudo 3,0 mg EC/ g.

Para a identificação destes compostos foi realizado e espectrofotometria por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS, sendo identificados 02 íons precursores de monômero (289 [M-H]<sup>-</sup>), 02 de dímeros (577 [M-H]<sup>-</sup>) e 02 trímeros (865 [M-H]<sup>-</sup>) da (epi) catequina, onde 'epi' se refere ao epímero e os parênteses indicam qualquer epímero.

Com a polimerização das catequinas (flavan-3-ols) há a formação das proantocianidinas ou também denominados de taninos condensados. Estes compostos foram identificados pela primeira vez no mesocarpo da *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng por Silva e colaboradores (2017), sendo identificados 09 íons, dos quais 01 monômero, 04 dímeros, 03 trímeros e 01 tetrâmero de (epi)catequina.

Na literatura, as catequinas apresentam tais atividades biológicas já analisadas: anticâncer (WEN et al., 2008; HUANG et al., 2012<sup>a</sup>; HUANG et al., 2012<sup>b</sup>; KATIYAR et al., 2015), neuroprotetora (WANG et al., 2009; MAULIK et al., 2013; STRATHEAM et al., 2014; LI e XU, 2015; GONG et al., 2016), cardioprotetora (BEARDEN et al., 2000; FITZPATRICK et al., 2002), imunomodulatória (TONG et al., 2011, WOO et al., 2011; LEE

et al., 2012), antidiabetes (RAJAN et al., 2007; OKUDAN et al., 2011; DING e LIU, 2013), antimicrobiana (BISHA et al., 2010; FELDMAN et al., 2012; TAMURA et al., 2016; RAVINDRANATHAN et al., 2018), antioxidante (ZANWAR et al., 2014; ZHAO et al., 2014; JIANG et al., 2017) e cicatrizante (WANG et al., 2013; KIM et al., 2017; BAEK et al., 2019; LIANG et al., 2019).

### **6.3 Determinação da Atividade Antioxidante do EEMB**

Quando o fermento ocorre, é acompanhado em pouco tempo por dor, vermelhidão e edema do tecido circundante. Todos esses são sintomas clássicos de inflamação e são causados pela liberação de eicosanóides, prostaglandinas e leucotrienos e de espécies reativas de oxigênio (EROs) (HOUGHTON et al., 2005). A liberação de EROs favorece a defesa contra microorganismos e auxiliam no desbridamento do tecido morto. Entretanto, um aumento no número de neutrófilos pode causar a liberação de excesso de proteases e EROs que sobrecarregam os inibidores de protease que normalmente protegem as células dos tecidos e a matriz extracelular (YAGER e NWOMEH, 1999)

Estes radicais ( $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) são formados naturalmente no nosso organismo em quantidades moderadas com propriedades antimicrobianas, entretanto, em excesso causam danos em moléculas biológicas como os lipídeos, as proteínas, os carboidratos e as vitaminas, além de estarem relacionados a doenças crônicas não transmissíveis como aterosclerose, esclerose múltipla, doenças do coração e câncer (SIES et al., 2017). Nas feridas as EROs geralmente afetam o reparo, alterando ou degradando as proteínas da MEC, danificando os fibroblastos dérmicos e reduzindo a função dos queratinócitos (MOSELEY et al., 2004). Portanto, controlar os níveis de EROs demonstrou uma maneira eficaz de promover a cicatrização de feridas (DUNNILL et al., 2017).

Além disso, neste processo também atuam as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) que são moléculas reativas com elétrons livres como EROs. Durante suas atividades fisiológicas as ERNs são representadas por  $\text{NO}^\bullet$  e  $\text{ONOO}^-$ . As ERNs são oxidantes muito poderosos e danificam moléculas biológicas (GORECKI et al., 2014). Recentemente, muitos estudos foram conduzidos para regular os fenômenos biológicos através do equilíbrio do equilíbrio de EROs/ERNs. O desequilíbrio de EROs/ERNs pode causar várias doenças biológicas (CHEN et al., 2019; GHUMAN et al., 2019; LIANG et al., 2019).

A atividade antioxidante tem sido relatada e associada aos metabólitos secundários das plantas, em especial os compostos fenólicos. Na natureza estes compostos são gerados para

defesa ou promoção do crescimento da planta em condições desfavoráveis (NAVARRO et al., 2017). Muitas espécies vegetais do Brasil têm sido amplamente estudadas em decorrência de sua potencialidade como antioxidantes naturais (CATUNDA-JÚNIOR et al., 2002). A exemplo, em trabalho anterior, Maniglia e Tapia-Blacido (2016) demonstraram que a farinha de mesocarpo de babaçu apresenta atividade antioxidante devido à presença de compostos fenólicos. Entretanto, para Silva e colaboradores (2005), não encontraram este efeito com extratos etanólicos das folhas, flores e do endocarpo do babaçu.

Na literatura os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: os antioxidantes enzimáticos e os não enzimáticos. Os enzimáticos são compostos capazes de bloquear o início da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as EROs. Já na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais como os compostos fenólicos (MOREIRA et al., 2004) e os ácidos graxos poli-insaturados (PRISACARU, 2016).

A atividade antioxidante do OFB não foi realizada devido a sua composição química, pois em quase sua totalidade é composto por ácidos graxos saturados (82,07%) e insaturados (15,22%), restando apenas o ácido linoleico como poli-insaturado (2,71%). Para Guidoni e colaboradores (2019), o uso de óleos vegetais saturados e monoinsaturados não exibiram atividade antioxidante até 2000 mg/mL. Justificando a não realização destes testes com o OFB.

Como visto, o extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (EEMB) possui compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são compostos de estruturas variadas como os ácidos fenólicos, derivados da cumarina, taninos e flavonoides, que podem atuar como agentes redutores, sequestrantes de radicais livres e quelantes de metais (TAIZ e ZEIGER, 2013). Mais especificamente o EEMB é composto por monômeros, dímeros e trímeros de (epi)catequina. A catequina é um polifenol que oxida com facilidade, ao encontrar algum radical livre no organismo, ela reagirá com o mesmo evitando a oxidação de células sadias (ZANWAR et al., 2014; ZHAO et al., 2014; JIANG et al., 2017; LAI et al., 2018; BERNATONIENE e KOPUSTINSKIENE, 2018; RAUF et al., 2019).

Para tanto, além da quantificação dos compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante pode ser realizada por ensaios químicos comuns, sendo os mais comuns o DPPH<sup>•</sup>, ATT e FRAP. Para Silva e colaboradores (2017), o melhor resultado da atividade antioxidante foi o da fração acetato de etila do extrato do mesocarpo da *Attalea speciosa*, no qual demonstrou um baixo valor de IC<sub>50</sub> – DPPH<sup>•</sup> (3,38 µg/mL) e FRAP (88,06 ± 0.53 mg EFeSO<sub>4</sub> / g). Já para Maniglia e Tapia-Blacido (2016), a farinha do mesocarpo também apresenta

atividade antioxidante, pois apresentam a capacidade de branquear a solução DPPH<sup>\*</sup>, capacidade redução do molibdênio ATT =  $63,4 \pm 1,5\%$ . Da mesma forma, o EEMB conseguiu atingir valores nos ensaios DPPH<sup>\*</sup> ( $IC_{50} = 44,32 \pm 3,72 \mu\text{g/mL}$ ), FRAP ( $521,98 \pm 40,88 \text{ mg EFeSO}_4 / \text{g}$ ) e ATT ( $55,91 \pm 3,77 \%$ ), demonstrando potencial antioxidante.

Para tanto, ao realizar uma correlação de Pearson entre os compostos quantificados (compostos fenólicos e proantocianidinas) e a atividade antioxidante (DPPH<sup>\*</sup> e FRAP), o resultado demonstrou uma correlação positiva ( $r = 0,86$ ), sendo uma variação diretamente proporcional entre as variáveis avaliadas. Em outros termos, o potencial antioxidante do EEMB está associado aos níveis de compostos fenólicos totais e proantocianidinas.

#### **6.4 Atividade Antimicrobiana do OFB e do EEMB**

Durante o processo de cicatrização as lesões cutâneas abertas ficam propensas a infecções, por agentes como bactérias que podem desenvolver infecções locais e/ou sistêmicas (KI e ROTSTEIN, 2008). Conseqüentemente, as feridas infectadas retardam o fechamento da lesão e também resultam na formação de exsudatos e toxinas que serão produzidos com a morte concomitante de células em regeneração (GABR e ALGHADIR, 2019). Para tratamento deste processo infeccioso, frequentemente são utilizados compostos antimicrobianos tanto de origem sintética quanto de usos tradicionais (CHEESEMAN et al., 2017). Para tanto, para investigação dos efeitos antimicrobianos de tais compostos é visto na literatura os ensaios de microdiluição em caldo, para avaliar a concentração inibitória mínima (CIM), e o ensaio de zona de inibição. Entretanto, esta última abordagem é menos confiável, pois depende da capacidade dos componentes do extrato se difundirem através do gel de ágar (BALOUIRI et al., 2016).

A atividade antimicrobiana de óleos vegetais pode ser considerada promissora quando apresentam valores de CIM inferiores a  $100 \mu\text{g/mL}$ , já quando óleos apresentam valores superiores a  $1000 \mu\text{g/mL}$  são considerados inativos (RIOS e RECIO, 2005). Já para Saleem e colaboradores (2010), os óleos vegetais ainda podem ser classificados como moderadamente ativos com valores de CIM entre  $100\text{-}400\mu\text{g/mL}$  e fracamente ativos com valores de CIM entre  $500\text{-}1000 \mu\text{g/mL}$ . Com base nestes critérios, foi possível classificar o OFB como inativo frente a todas as cepas testadas neste estudo.

Em estudo recente, uma mistura de óleos vegetais [óleo de linhaça (15%), óleo de groselha preta (10%), azeite de oliva (20%), óleo de rosa mosqueta (10%), óleo de macadâmia (15%) e óleo de girassol (30%)] não apresentou atividade antimicrobiana contra as bactérias

Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*), pois apresentaram valores de CIM  $\geq$  2.000 mg/kg (GUIDONI et al., 2019). Entretanto, os óleos vegetais com alto teor de ácido láurico (C12:0), exibem atividade antimicrobiana, mais especificamente no caso do óleo do babaçu foi possível detectar esta atividade frente a cepas de *Clostridium Perfringens* (560  $\mu$ g/mL) (HOVORKOVA et al., 2018).

Comparativamente, em estudos anteriores, o ácido láurico (composto em maior concentração no OFB) possui uma atividade antibacteriana maior do que outros ácidos graxos como ácido caprílico (C8:0), ácido cáprico (C10:0) e o ácido mirístico (C14:0) (ENING, 1998; ENING, 1999; LIEBERMAN et al., 2006; LI et al., 2009). Entretanto, estes efeitos citados podem ser maiores quando se utiliza a monolaurina (dodecanoato de 2,3-dihidroxiopropil), um derivado do ácido láurico. Como agente antimicrobiano, este monoéster possui a capacidade de desestabilizar a camada lipídica de algumas bactérias (*Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*) impedindo, assim, uma proliferação bacteriana. Também possui efeitos frente a *Candida albicans* e *Giardia lamblia*, comprovando a sua ação antifúngica e protozoal (ENING, 1998; ENING, 1999; LIEBERMAN et al., 2006).

Outros compostos que também apresentam atividades antimicrobiana são os compostos fenólicos, pelo que já se sabe, estes compostos envolvem muitos locais de ação no nível celular (BOUARAB-CHIBANE et al., 2019). Alguns autores atribuem esta atividade a modificação na permeabilidade das membranas celulares, pelas alterações nas várias funções intracelulares, induzidas pela ligação do hidrogênio dos compostos fenólicos às enzimas, ou pela modificação da rigidez da parede celular com perdas de integridade devido a diferentes interações com a membrana celular (TAGURI et al., 2006; CUSHNIE e LAMB, 2011). Por exemplo, os taninos podem induzir danos na membrana celular e até inativar o metabolismo por ligação a enzimas (CHUNG et al., 1998).

Outro efeito conhecido dos taninos, mais especificamente das catequinas, é o de aumentar o estresse oxidativo em *E. coli* através do aumento endógeno de EROs exercendo efeitos antibacterianos, reduzindo a capacidade antioxidante das bactérias (XIONG et al., 2017; MA et al., 2019). Na natureza, esses metabólicos secundários conferem proteção vegetal frente ao ataque de alguns patógenos (BUELGA e SCALBERT, 2000). Estes compostos são facilmente oxidáveis, tanto por enzimas vegetais específicas quanto por influência de substâncias químicas, como cloreto férrico, resultando no escurecimento de suas soluções (MELLO e SANTOS, 2001). Entretanto, ao reagir com o ferro ou cobre torna-se um agente pró-oxidante (BARBOSA et al., 2010).

Considerando as quantidades desses íons metálicos nas células vivas ou sua presença no ambiente, há uma probabilidade de formação de espécies radicais reativas pela combinação de polifenol e outros intermediários de oxigênio reativos. Esse tipo de reação pode induzir peroxidação de lipídeos e quebras de fita de DNA. Esses resultados indicam que os ácidos fenólicos podem exibir uma atividade pró-oxidante, aumentando o nível de íons férricos e ferrosos celulares livres e, dessa forma, gerando radicais ânion superóxido e radicais hidroxila (LABIENIEC et al., 2003).

A literatura relatou que a atividade antimicrobiana de taninos pode ser explicada por três mecanismos: inibição de enzimas bacterianas e fúngicas e/ou complexação com os substratos dessas enzimas; a ação sobre as membranas celulares dos micro-organismos, modificando seu metabolismo, e a complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (CORRALES et al., 2009).

Neste contexto, os dímeros de proantocianidinas foram encontrados potentes agentes antimicrobianos (KARIOT et al., 2011; ZANG et al., 2013), pois reduziu a contagem viável de células para *Listeria monocytogenes* (BISHA et al., 2010) e também reduziu a capacidade de adesão de *Candida albicans* (FELDMAN et al., 2012). Já os trímeros de proantocianidinas possuem a capacidade de romper a membrana celular e a integridade da parede de *Bacillus cereus* (TAMURA et al., 2016).

Como foi visto, o mesocarpo da *Attalea speciosa* Mart. Spreng contem tais compostos e, conseqüentemente, também apresentou atividade antimicrobiana frente algumas cepas bacterianas, a saber: *S. aureus* AM 189 (cepa hospitalar: secreção de ferida – Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE), *S. aureus* AM 211 (Cepa hospitalar: exsudato nasal – Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE), *S. aureus* AM 221 (Cepa hospitalar: esperma – Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE), *S. aureus* AM 349 (Cepa hospitalar: sangue – Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE) e *S. aureus* AM 355 (Cepa hospitalar: secreção – Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE) (CAETANO et al., 2002), *S. aureus* ATCC 25923 (cepa cepa padrão de controle de testes de laboratório, Manassas, Virgínia, EUA) e *E. faecalis* ATCC 29212 (amostra de urina humana, Manassas, Virgínia, EUA) (BARROQUEIRO et al., 2016). Corroborando com a literatura, o EEMB também apresentou ação bactericida e bacteriostática nas cepas de *S. aureus* 02 e bacteriostática frente as cepas *S. aureus* 719.

## 6.5 Atividade Cicatrizante do OFB e do EEMB

Existem vários agentes tópicos e sistêmicos usados como cicatrizante, todavia, alguns desses agentes podem atrasar o processo de reparo tecidual e ainda podem representar um risco à saúde, principalmente por causa das suas possíveis reações adversas (VEITH et al., 2018; SAGHAZADEH et al., 2018). Por esse motivo, os estudos com compostos extraídos dos vegetais, têm proporcionado uma fonte alternativa para a terapêutica de cicatrização de lesões cutâneas (LIMA et al., 2015).

Na literatura é possível encontrar diversos produtos extraídos das plantas do bioma brasileiro com uso popular direcionado ao tratamento de lesões cutâneas, destacam-se: *Myracrodruon urundeuva* fr. All. (CAVALCANTE et al., 2005); *Anacardium occidentale* L. (SCHIRATO et al, 2006); *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (MINATEL et al, 2010) e *Arrabidaea chica* Verlot. (JORGE et al, 2008; ARO et al, 2013). Dentre eles ainda, se destaca o óleo e a farinha do mesocarpo do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex spreng) (SOUZA et al., 2011; BARBOSA et al., 2012; REIS et al., 2017).

Os óleos são na sua grande maioria de fontes vegetais, seus efeitos cicatriciais dão-se em diversos passos do processo inflamatório como contração vascular, quimiotaxia, adesão, diapedese, ativação e morte celular, sendo que a maioria destes eventos ocorre via derivados do ácido araquidônico como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e lipoxinas (HATANAKA e CURI, 2007; HATANAKA et al., 2013). Devido a este potencial, há várias apresentações comerciais que associam ácidos graxos essenciais (ácido linoleico e  $\alpha$ -linolênico), triglicerídeos de cadeia média (ácido cáprico, ácido caprílico, ácido láurico, ácido palmítico, ácido mirístico e ácido esteárico), acetato de tocoferol (vitamina E) e palmitato de retinol (vitamina A). Mais especificamente no Brasil já são comercializados tais produtos: Dersani<sup>®</sup> (DAUDT), Curatec<sup>®</sup> AGE (LM Farma), Dermosan<sup>®</sup> (Sunny Day) e AGEDerm<sup>®</sup> (Helianto Farmacêutica Ltda) (FERREIRA et al., 2012).

Como pôde ser indenticado tanto na literatura (SILVA et al, 2017) quanto no presente estudo o extrato etanólico do mesocarpo do babaçu é composto por proantocianidinas [flavan-3-ols: catequina e/ou epicatequina]. Estes flavonoides são uma das fontes bioativas importantes de plantas medicinais que possuem diferentes atividades farmacológicas, como antioxidante, prevenção de doenças cardíacas coronárias, atividades hepatoprotetoras, anti-inflamatórias, anticâncer, reguladores de crescimento (KUMAR e PANDEY, 2013). Em conjunto suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias auxiliam no processo cicatricial (HOUGHTON et al., 2005; ASLAM et al., 2018), sendo as catequinas uma das classes de

flavonóides mais amplamente testadas para a modulação da cicatrização de feridas (SCHMIDT et al. 2010; WANG et al., 2013; KIM et al., 2017; BAEK et al., 2019; LIANG et al., 2019).

Devido ao seu potencial de utilização, o óleo e o mesocarpo da *A. speciosa* tem sido citado em estudos pré-clínicos de inflamação e atividade imunomodulatória (SILVA e PARENTE, 2001; GUERRA et al, 2011; BARBOSA et al., 2012; SILVA et al., 2015; REIS et al., 2017). Devido ao potencial cicatrizante associados aos ácidos graxos (PATZELT et al., 2012; MACK et al., 2014) e as catequinas (KIM et al., 2017; BAEK et al., 2019; LIANG et al., 2019), se notou que os compostos extraídos (OFB e EEMB) podem apresentar atividade biológica frente ao processo cicatricial de feridas.

### 6.5.1 Ensaios *In vitro*

#### 6.5.1.1 Viabilidade celular

Após a reunião inicial de neutrófilos no local da ferida, vários outros tipos de células são recrutados para levar adiante os processos de reparo tecidual. Estes incluem monócitos, mas também mais importante, fibroblastos que são atraídos para o local para iniciar a fase proliferativa do reparo (HOUGHTON et al., 2005). Os fibroblastos podem ser cultivados em cultura e sua proliferação avaliada pela determinação da proteína total de células viáveis presentes pela coloração com um corante apropriado como sulforodamina B (SRB) ou vermelho neutro ou pelo metabolismo de uma substância colorida como MTT (GASQUE et al., 2014). Portanto, um extrato que estimula o crescimento de fibroblastos, portanto, pode-se pensar ser útil para auxiliar a cicatrização de feridas (LI et al., 2019).

O teste MTT com a linhagem L929 os ácidos graxos, presentes no OFB, mais especificamente, o ácido láurico (PRADHAN et al, 2007), ácido oleico (LEE e NA, 2020), ácido mirístico e ácido palmítico (GUEDES et al., 2020) não apresentaram citotoxicidade. Além disso, ao utilizar uma mistura de óleos (linhaça, groselha preta, rosa mosqueta, macadâmia, girassol), também não demonstram citotoxicidade tanto na linhagem L929 quanto RAW 264.7 (GUIDONI et al., 2019). Este resultado pode ser justificado, já que os ésteres metílicos fazem parte das estruturas celulares da pele, como por exemplo o ácido palmítico (C16:0), que é produzido pelos queratinócitos pela ação enzimática do ácido graxo sintase, esta enzima por sua vez pode produzir ácidos graxos de até 16 carbonos (KHNYKIN et al., 2011)

Vale salientar que os ácidos graxos sintetizados no estrato granuloso são liberados pelos corpos lamelares na interface estrato granuloso-estrato córneo. As membranas lamelares do estrato córneo são compostas principalmente de ácidos graxos saturados com comprimento de cadeia significativamente mais longo, que varia entre C16 e C26. Os principais são: ácido palmítico (C16:0), ácido beênico (22:0), ácido lignocérico (C24:0 – mais frequente) e ácido hexacosanóico (C26:0) (KANG et al., 2006; LIN et al., 2018).

Em outras linhagens de fibroblastos, como a 3T3, o babaçu já foi testado quanto ao seu potencial citotóxico. Para Rennó e colaboradores (2008), o extrato etanólico do mesocarpo do babaçu demonstrou redução da sua viabilidade em concentrações >100 µg/mL. Corroborando com estes dados, a citotoxicidade do EEMB se deu inicialmente a partir da concentração 100 µg/mL.

Como foi avaliado, a viabilidade dos macrófagos peritoneais só foi alterada com o EEMB. Na literatura este resultado é divergente, pois para Liu e colaboradores (2010), o uso de proantocianidinas aumentam significativamente a proliferação de macrófagos peritoneais em concentrações de 50 a 100 µg/mL. Entretanto, na literatura já demonstrou citotoxicidade a partir da concentração de 100 µg/mL na linhagem RAW264.7 (CHU et al., 2016; SHAO et al., 2020)

Na literatura só é possível encontrar este tipo de ensaio com macrófagos peritoneais no extrato aquoso do babaçu. Pelo qual, houve aumento significativo na sua proliferação em todas as concentrações testadas (3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 µg/mL) (SILVA et al., 2018). Entretanto, a viabilidade do EEMB se tornou dose-dependente, com crescimento diretamente proporcional, a partir da concentração 12,5 µg/mL.

Este aumento proporcional na proliferação de macrófagos *in vitro*, pode ser explicado pelo uso de polifenóis, já que estes compostos influenciam o metabolismo dos macrófagos M1, promovendo vias oxidativas, levando a um aumento significativo no consumo de oxigênio pelos complexos mitocondriais, bem como a uma maior produção de ATP por fosforilação oxidativa (DUGO et al., 2017). Neste contexto, foi observado que *in vitro* o EEMB modulou a produção de citocinas inflamatórias, com efeito anti-inflamatório (aumento de IL-4, reduções de IFN-γ e IL-6). *In vivo*, o efeito anti-inflamatório foi observado nas fases inflamatória e proliferativa do processo cicatricial.

### 6.5.1.2 Ensaio de Migração Celular – *scratch assay*

Para Shrimanker e colaboradores (2013), este modelo tem sido amplamente utilizado para obter informações sobre o reparo cutâneo em potencial de drogas, determinando a porcentagem da área delimitada em “micro-riscos”. O ensaio de migração celular foi utilizado para avaliar os efeitos do OFB e EEMB na migração de fibroblastos L929.

O processo de migração celular faz parte de diversos fenômenos biológicos, sendo fundamental na formação dos órgãos, na embriogênese e sua importância permanece no organismo adulto, tanto na fisiologia normal, quanto nas patologias, como por exemplo, no processo cicatricial com a migração dos fibroblastos e células endoteliais vasculares (LAUFFENBURGER e HORWITZ, 1996). No modelo de migração celular, utilizado no presente estudo, as monocamadas de fibroblastos “feridas” respondem a perda do contato célula-célula, aumentando a concentração de fatores de crescimento e citocinas na ferida, iniciando assim a proliferação e migração de diferentes tipos de células, como queratinócitos e fibroblastos (JANIS e HARISON, 2014).

Os fibroblastos são os tipos celulares mais abundantes encontrados nos tecidos conjuntivos e são essenciais para apoiar a cicatrização de feridas. Na fase inflamatória tardia, os fibroblastos são recrutados para a área da ferida para proliferar e regular uma série de atividades-chave (BAINBRIDGE, 2013). Uma vez no local da lesão, os fibroblastos começam o trabalho degradando os coágulos de fibrina, produzindo matrizes extracelulares e se diferenciando em miofibroblastos que ajudam a contrair a ferida (LI e WANG, 2011).

Os fibroblastos secretam colágenos e subsequentemente afetam a remodelação do tecido de granulação em derme madura (HOUGHTON et al., 2005). Eles também secretam fatores de crescimento, como KGF, PDGF e TGF- $\beta$ , que estimulam a proliferação/diferenciação/migração de outras células envolvidas no processo de cicatrização de feridas. Especialmente queratinócitos podem ser desencadeados na área da ferida, formando a barreira final na superfície do novo tecido conjuntivo formado pelos fibroblastos. Isso significa que uma camada celular de queratinócitos proliferativa alta se espalha das bordas em direção à área da ferida, levando finalmente a uma camada de cobertura fechada. Essa camada de queratinócitos assumirá a funcionalidade do estrato basal e produzirá grandes quantidades de queratinócitos indiferenciados (SCHULTZ et al., 2011)

Para Guidoni e colaboradores (2019), o uso de ácidos graxos (200 mg/mL) em modelos de migração celular com fibroblastos L929 apresentou uma redução de  $57,5 \pm 3,7\%$  após 16h de análise das culturas. Em estudo semelhante, Cho e colaboradores (2017),

concluíram que o ácido palmítico, um dos ésteres metílicos presentes no OFB, aumentou a migração, proliferação e expressão de fibronectina nos fibroblastos L929. Entretanto, ao utilizar o OFB, se observou em 24h, que em concentrações bem inferiores ao encontrado na literatura este efeito se deu a partir de 6,25 µg/mL, demonstrando uma relação dose-dependente na taxa de migração de fibroblastos para a área lesionada.

Ainda neste contexto, Ahmad e colaboradores (2017), o uso do óleo de coco (*Cocos nucifera* L., Arecaceae) também demonstrou uma redução dose-dependente na redução da área lesionada. A presença de ácidos graxos, como o ácido láurico, presente em maior concentração tanto no óleo de coco quanto no OFB, pode contribuir para estimular a migração e a proliferação de fibroblastos. Na literatura já foi comprovado que os ácidos promovem a proliferação celular (ROSE et al., 1994) e as atividades dos fatores de crescimento (JIANG et al., 1995).

De outro modo, a atividade cicatrizante *in vitro* do óleo de coco foi relacionada a presença de compostos fenólicos em sua composição, já que proporcionalmente a concentração foi visualizada uma diminuição na área “ferida” em 24 h de análise (AHMAD et al., 2017). Como quantificado, o EEMB é rico em compostos fenólicos. Em estudos anteriores, o uso de compostos fenólicos, mais especificamente as proantocianidinas, favoreceu a proliferação celular e, conseqüentemente, reduziram o tempo de fechamento da área “ferida” em modelo de migração celular com fibroblastos (PONNUSAMY et al., 2015; PITZ et al., 2016; TALEKAR et al., 2017; SILVA et al., 2018).

O processo de migração e proliferação celular têm fatores limitantes na regeneração tecidual (WALTER et al., 2010). Inicialmente, as células começam a migrar da borda injuriada. Seguindo-se este processo, as células começam a se espalhar na borda da ferida, seguido pela migração celular, ou também denominado de translocação, e proliferação celular (COOMBER e GOTLIEB, 1990). Para tanto, propriedades antioxidantes, antimicrobianas e imunomodulatórias podem auxiliar a proteção da lesão contra infecções, modular o processo inflamatório e a proliferação celular, apoiando a reconstrução do tecido danificado (KULAC et al., 2013).

Corroborando com as literaturas citadas, o EEMB, assim como o OFB, apresentou redução significativa da área “ferida” com relação dose-dependente. Podendo-se inferir que o efeito cicatrizante do OFB e do EEMB se deve aos seus constituintes fitoquímicos e, assim sendo, as suas atividades antimicrobiana, antioxidante e imunomodulatória.

### 6.5.1.3 Produção de Óxido Nítrico e Citocinas por Macrófagos Peritoneais

Para avaliar esta atividade *in vitro*, a cavidade peritoneal de camundongos é comumente usada como fonte de macrófagos. De fato, muito do que se sabe sobre estas células é derivado dessa fonte (GHOSN et al., 2010). Os macrófagos são capazes de liberar diversos mediadores pró-inflamatórios, influenciando o aumento na produção de citocinas como TNF, IFN- $\gamma$  e interleucinas (IL-6 e IL-1). Por sua vez, estas células quando são estimuladas com LPS apresentam um estado ativado pronto para responder a injúria tecidual e também para gerar proteínas, que na fase anti-inflamatória induzem a finalização adequada deste processo (MACHADO, 2010; VITTORAZZI et al., 2016; BENEVIDES et al., 2017).

Quando comparados aos macrófagos estimulados com LPS, o OFB e o EEMB conseguiram reduzir significativamente os níveis de nitrito em todas as doses testadas. Na literatura, já foi observado que a utilização de óleos vegetais [óleo de linhaça (*Linum usitatissimum* L., Linaceae), azeite de oliva (*Olea europaea* L., Oleaceae)], reduz significativamente a produção de NO e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-6), entretanto esses óleos apresentaram maiores teores de ácido oleico (monoinsaturado) (GUIDONI et al., 2019).

O NO é produzido na fase inicial do reparo tecidual por células inflamatórias, principalmente por macrófagos (VIMALRAJ et al., 2018). Entretanto, há outros tipos celulares envolvidos na produção de NO durante o processo de cicatrização (SZABO, 2016). Por esta razão, inferir que o OFB e o EEMB reduzem a produção de NO em macrófagos peritoneais, não significa isoladamente que estes compostos reduzem sua produção no leito cruento de lesões cutâneas. Para Witte e Barbul (2002) o NO promove a deposição de colágeno, a proliferação celular e a contração da ferida durante o reparo da ferida. O papel positivo do NO no reparo de feridas possivelmente é garantido pela regulação da inflamação, proliferação, angiogênese, deposição e remodelação da matriz no processo de cicatrização (VIMALRAJ et al., 2017).

Contudo, para Min e colaboradores (2009), a liberação de NO, em níveis excessivos, podem levar a danos às células e consequente perda de sua função biológica. Além disso, altas concentrações de NO, como resposta inflamatória crônica, são citostático-citotóxicas para vários tipos de células, incluindo células endoteliais, células musculares lisas, hepatócitos e fibroblastos (RIZK et al., 2004). O uso dos ácidos graxos no reparo cutâneo tem sido bastante estudado, devido principalmente às suas propriedades anti-inflamatórias e imunoreguladoras, reduzindo a produção de derivados pró-inflamatórios prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>) NO e citocinas

(TNF- $\alpha$ ) (CASTILHO et al., 2015). Da mesma maneira, o uso de proantocianidinas, em modelo experimental com camundongos, inibiu a superexpressão de iNOS e COX-2 induzida por LPS, conferindo assim um efeito anti-inflamatório (JIANG et al., 2017).

Além do NO, o presente estudo, indicou tais citocinas de perfil Th1 (pró-inflamatórias – INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 e IL-6) e Th2 (anti-inflamatórias – IL-4). Para Guidoni e colaboradores (2019), o uso de óleos vegetais, predominantemente saturados e monoinsaturados em macrófagos estimulados por LPS, induziu significativamente a liberação de marcadores pró-inflamatórios (TNF- $\alpha$  e IL-6), indicando que uma resposta inflamatória foi induzida em macrófagos. Na literatura já foi possível inferir que o óleo do babaçu aumentou a produção de INF- $\gamma$  e reduziu a de IL-6 e IL-10, sugerindo um efeito imunomodulador em camundongos imunizados com antígeno de *Leishmania amazonensis* (VALE et al., 2014).

Neste mesmo modelo, Guerra e colaboradores (2011<sup>b</sup>) utilizaram o extrato aquoso do mesocarpo do babaçu e verificaram um aumento de INF- $\gamma$ . Ademais, o mesocarpo tem um potente efeito ativador sobre os macrófagos (NASCIMENTO et al., 2006). Em modelo experimental de sepse por ligadura cecal houve menor produção de TNF- $\alpha$  e IL-6 em grupos tratados com extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (BARROQUEIRO et al., 2016).

Como resposta pró-inflamatória o OFB, assim como na literatura, foi capaz de aumentar a produção de INF- $\gamma$  enquanto no EEMB reduziu a produção desta citocina. O INF- $\gamma$  tem vários efeitos sistêmicos e locais para regular as funções imunológicas, por exemplo, a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\alpha$  e TNF- $\alpha$  (KANO et al., 2019). Nos macrófagos peritoneais induz interações celulares e formação de agregados estáveis de células de exsudato peritoneal em camundongos, potencializando sua atividade antimicrobiana (CHANDRASEKAR et al., 2015). Já no processo de cicatrização de feridas, o aumento da expressão de INF- $\gamma$  pode ser prejudicial ao tecido, pois causa dano tecidual excessivo, inflamação e necrose (KAK et al., 2018).

Ainda no processo de reparo de injúrias teciduais, citocinas como TNF- $\alpha$  já foram mensurados em tecidos lesionados e verificou-se que seus níveis foram superiores aos níveis basais considerados normais (RITSU et al., 2017). Mais especificamente, esta citocina está associada a um aumento na produção de quimiocinas e moléculas de adesão envolvidas no recrutamento, proliferação e sobrevivência de células nos locais de lesão (DAVIES e HAGES, 1997; BARROQUEIRO et al., 2016).

Ao utilizar compostos extraídos do babaçu, Barbosa e colaboradores (2012) verificaram, em modelos de permeabilidade vascular, que o óleo não afetou os níveis de TNF- $\alpha$ . Neste estudo verificou-se um aumento de TNF- $\alpha$  com o uso do OFB (3,12  $\mu$ M), mas com o

aumento da dose este estímulo foi cessado, corroborando com a literatura. Já para Lima-Salgado e colaboradores (2011), houve inibição da secreção de TNF- $\alpha$ , induzido por LPS pelas células, ao utilizar os ácidos oleico e linoleico. Entretanto, o extrato aquoso do babaçu apresentou maior produção desta citocina (NASCIMENTO et al., 2006; GUERRA et al., 2011<sup>b</sup>). No presente estudo foi possível demonstrar que o EEMB (1,56, 3,12, 6,25  $\mu$ M) aumentou a produção de TNF- $\alpha$  nos macrófagos peritoneais. O aumento proporcionado pelo EEMB pode ser justificado pela presença de proantocianidinas em sua composição, pois este composto pode aumentar a atividade fagocítica dos macrófagos peritoneais (TONG et al., 2011).

O TNF- $\alpha$  ainda é responsável pela ativação de células endoteliais e tissulares, estimulando a angiogênese, incluindo a IL-6. Esta citocina, por sua vez, é produzida por células linfóides ativadas e uma variedade de células não linfóides, como macrófagos ativados, adipócitos e células musculares esqueléticas, estando envolvida na regulação da hematopoiese e respostas imunes (MELO et al., 2010). A IL-6, apesar ser considerada citocina pró-inflamatória, ela coordena um ambiente anti-inflamatório para resolver a inflamação (HUNTER e JONES, 2015), como em processos de queimaduras na pele (EL-NOOR et al., 2017) e cicatrização excisional de feridas (YANG et al., 2017; WAHEDI et al., 2017).

Em ambos os casos, níveis mais altos de IL-6 na cicatrização inicial estágios foram associados a melhores resultados, bem como níveis reduzidos nos estágios posteriores (LANIA et al., 2019). Essas citocinas produzidas pela pele podem ter acesso aos vasos capilares por difusão, mesmo que a taxa de difusão dependa de fatores como nível de degradação, distância entre a produção e os vasos (SLOMINSK et al., 2000; SLOMINSK et al., 2013).

Ainda se tratando da IL-6 os compostos extraídos do coco babaçu apresentaram divergências em seus resultados. Para Barbosa e colaboradores (2012) o uso do óleo do babaçu não apresentou variações significativas comparados ao controle. Já neste estudo, o OFB apresentou aumento de sua produção. O aumento destas citocinas, desencadeada por ácidos graxos saturados apresenta efeito pró-inflamatório, que não suprimida geram inflamação crônica (MAUER et al., 2014). Já o EEMB apresentou redução dose-dependente. O presente estudo corrobora com Sargent e colaboradores (2010), já que houve inibição *in vitro* da IL-6 ao utilizar polifenóis (catequinas).

Em outro estudo, verificou-se que o uso de ácidos graxos (ácido palmítico, ácido linoleico e eicosapentaenoico) em hemoculturas humanas aumentam citocinas pró-

inflamatórias (IL-2 e IL-18) (SIMON et al., 2013). Em contrapartida, no presente estudo o OFB não apresentou variações significativas de IL-2 comparados ao grupo LPS. O papel mais estudado desta citocina está na ativação e no crescimento de células T *in vitro*. No entanto, outros tipos de células, incluindo fibroblastos, as células da pele responsáveis pelo fechamento de feridas, expressam o receptor da IL-2 (MELO et al., 2010; DOERSCH et al., 2016). Em estudo anterior, Lin e colaboradores (2001) indicaram que proantocianidinas reduzem a liberação de IL-2 por células mononucleares sanguíneas. Deste modo, em modelos de dermatite alérgica também houve redução de IL-2 com as proantocianidinas (CHEN et al., 2015). Já o EEMB apresentou aumento dose-dependente de IL-2, demonstrando um efeito pró-inflamatório diferentemente ao encontrado na literatura.

Contudo, as citocinas de perfil Th2 (anti-inflamatórias) fornece proteção contra grandes parasitas extracelulares, aumentando as barreiras de defesa, pelo qual favorecem a homeostase metabólica e promove a remodelação após lesão. As respostas imunes Th2 estão associadas aos linfócitos T ativados, células linfoides inatas, eosinófilos, basófilos, mastócitos, macrófagos ativados por IL-13, subclasses de anticorpos IgE e citocinas (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-25 e IL-33) (WYNN, 2017). Entre as alterações induzidas por IL-4, se destaca a repressão das proteínas fibrosas da matriz, mais especificamente a fibronectina, refletindo em modelos *in vivo*, o retardo na reepitelização da ferida (SEREZANI et al., 2017).

Liu e Lin (2013), tentaram quantificar o IL-4 produzido por extratos fenólicos em cultura de macrófagos peritoneais, todavia pelo limite de detecção do kit ELISA não foi possível mensurá-lo. Contudo, dentre estes compostos fenólicos as procianidinas (membro da classe de proantocianidina de flavonóides), estão relacionadas com o aumento de IL-4 e IL-5, quando apresentam cadeia curta, e diminuição destas citocinas, quando apresentam cadeia longa (MAO et al., 2002; RAMIRO-PUIG e CASTELL, 2008). Dos compostos extraídos do fruto do babaçu, o EEMB modulou a produção de IL-4, apresentando aumento dose-dependente da sua produção.

Para Wallace e colaboradores (2001), a produção de IL-4 pode ser reduzida com a ação de ácidos graxos poli-insaturados ( $\omega$  3 – ácido  $\alpha$ -linolênico) na dieta de camundongos, todavia, os óleos saturados não apresentaram este efeito. Para tanto, apesar de serem modelos experimentais distintos dá-se para justificar os níveis indetectáveis do IL-4 com o uso do OFB, já que ele é rico em ácidos graxos saturados.

## 6.5.2 Ensaios *In vivo*

### 6.5.2.1 Feridas Tratadas com OFB

No modelo *in vivo*, o OFB demonstrou ser biologicamente ativo nas feridas contidas com halo de contenção. A fase inicial do reparo tecidual, o OFB mostrou-se com uma ação pró-inflamatória em todas as doses testadas com discreto aumento do edema e de células inflamatórias comparadas ao controle negativo (veículo). Esse processo pode ser justificado pelos aumentos de INF- $\gamma$  e IL-6 observados nos testes *in vitro*. Em ratos *Wistar*, o tratamento tópico de feridas com ácido graxo apresenta um efeito positivo na resposta migratória de células inflamatórias para o local da lesão, podendo ser observado com o aumento do edema local (PEREIRA, 2008).

Na literatura encontram-se divergências frente ao uso de ácidos graxos em lesões cutâneas. Para Magalhães e colaboradores (2008) e Cavazana e colaboradores (2009), o uso tópico de ácidos graxos, lectina de soja ou uma mistura de vitamina A e E em feridas, sob análise macroscópica e morfométrica, não apresentou efeitos cicatriciais. Entretanto, o problema destes estudos foi a utilização de NaCl 0,9% como controle sem ácidos graxos (SILVA et al., 2018). Já em outros estudos descreveram efeitos positivos dos ácidos graxos, induzindo uma maior angiogênese e menor cronologia de reparo tecidual (ROJO et al., 2010; BARDAA et al., 2016; GUIDONI et al., 2019).

Ainda na fase inflamatória, as lesões tratadas com OFB e Dersani<sup>®</sup> mostram-se mais úmidas. A manutenção da umidade no leito da lesão acelera o processo de granulação tecidual, facilita a quimiotaxia de células inflamatórias e fatores de crescimento, promove proliferação celular, atua sobre a membrana celular, aumentando a sua permeabilidade e auxilia o debridamento autolítico da lesão (MANDELBAUM et al., 2003). Conseqüentemente, as feridas ressecadas tornam a cicatrização mais lenta pela deficiência de vasos sanguíneos e pelo acúmulo de colágeno na crosta (HATANAKA et al., 2013). Curativos oleosos e úmidos, característicos da aplicação tópica de ácidos graxos no leito cruento da lesão, servem como barreiras protetoras contra microorganismos, impedem a desidratação dos tecidos e mantêm a área vascularizada durante a fase proliferativa da cicatrização (PIEPER e CALIRI, 2003; HATANAKA e CURI, 2007; LANIA et al., 2019).

Nesta fase, todas as lesões deste estudo apresentaram crosta fibronolítica com redução da flogose local. Entretanto, o tratamento com OFB neste período proporcionou maior angiogênese e fibroplasia na maior dose utilizada (OFB100%). Para Pereira e colaboradores

(2008), o efeito do ácido oleico e do ácido linoleico sobre neutrófilos resulta na maior liberação de IL-1 $\beta$  e VEGF $\alpha$ , sendo estes efeitos necessários para a angiogênese e, conseqüentemente, na formação do tecido de granulação (LANDÉN et al., 2016).

Ao final desta etapa, o leito da lesão está preenchido em sua totalidade por tecido de granulação e a circulação é restabelecida pela angiogênese (PEREIRA et al., 2008). Ademais, o processo fisiológico da cicatrização se finda com o fechamento total da área lesionada através do processo de reepitelização, com a formação de uma cicatriz fibrótica (HATANAKA et al., 2013). Para tanto, no presente estudo, a última fase do processo cicatricial mostrou que o uso de OFB nas lesões tópicas favoreceu o processo de reepitelização, já que no 14º dia todas as doses testadas do OFB apresentaram áreas totalmente reepitelizadas e sem crostas fibrinolíticas aderidas em seu leito. A presença de crosta dificulta a migração celular, processo dependente de umidade, de células epiteliais para a síntese do processo cicatricial (HATANAKA et al., 2013; CÔRTEZ, 2013).

Comprovando a análise macroscópica da reepitelização no 14º dia, a fibroplasia e a produção de colágeno foram mais acentuadas nos grupos tratados com o OFB no mesmo período avaliado. Segundo Rocha e colaboradores (2004), ao utilizar triglicerídeos de cadeia média (ácido caprílico, ácido cáprico, ácido capróico e ácido láurico), em feridas cutâneas de ratos, as mesmas demonstraram maior fibroplasia comparado ao controle a partir do 7º dia de tratamento.

#### 6.5.2.2 Feridas Tratadas com EEMB

A identificação de metabólitos secundários em extratos de plantas é constantemente pesquisada, pois tais compostos podem se ligar a receptores celulares no local da ferida para iniciar a modulação do processo cicatricial (TSALA et al., 2013). Entre os compostos, foi verificado que os flavonoides, quinonas, ácidos fenólicos e fenilpropanóides possuem considerável efeitos antimicrobiano, bem como antioxidante. Em resumo, os principais efeitos dos constituintes ativos dos extratos vegetais na cicatrização de feridas são: atividade antimicrobiana, antioxidante, atividade mitogênica (contribuindo para proliferação celular aumentada), angiogênese e produção aprimorada de colágeno (GOSH et al., 2013).

Esses efeitos farmacológicos demonstrados podem ser explorados para superar condições agudas ou patológicas de cicatrização de feridas (BRADI e RENU, 2011; KAUR e KAPOOR, 2002; PARENTE et al., 2012; PREETHI et al., 2009). Visto que o EEMB é composto por proantocianidinas e que foi comprovado suas ações antioxidante e

antimicrobiana neste estudo, ele também apresentou atividade cicatrizante. Na literatura é possível encontrar vários estudos que apresentam o potencial cicatrizante do mesocarpo do babaçu, contudo, todos os estudos utilizaram o extrato aquoso (AMORIM et al., 2006; BALDEZ et al., 2006; BRITO FILHO et al., 2006; BATISTA et al., 2006; FERREIRA et al., 2006; MARTINS et al., 2006; SILVA, et al., 2015; SCHEIBE et al., 2016). Já o extrato etanólico são relatados os efeitos antimicrobiano (GUERRA et al., 2011<sup>a</sup>) e antitumoral (RENNÓ et al., 2008; BARROQUEIRO et al., 2016), não sendo relatado na literatura seu efeito cicatrizante.

Inicialmente, no 3º dia do reparo, se observou que as lesões tratadas com EEMB apresentaram efeitos anti-inflamatórios e antiangiogênicos. A redução da inflamação pode estar relacionada ao aumento proporcionado pelo extrato na resposta anti-inflamatória em IL-4. O processo inflamatório na ferida é caracterizado pela liberação de eicosanóides, prostaglandinas, leucotrienos, EROs e citocinas inflamatórias. De maneira controlada, esses fatores aceleram o processo de reparo tecidual. Os efeitos, em conjunto, antioxidante e anti-inflamatório dos flavonoides favorecem a cicatrização de feridas (HOUGHTON et al., 2005; ASLAN et al., 2018).

Na fase proliferativa da cicatrização, há um predomínio de células inflamatórias mononucleares (macrófagos) liberando proteases para degradar os tecidos lesionados (ENOCH e LEAPER, 2008) e secretam uma mistura de moléculas bioativas, incluindo o TGF- $\beta$ , que estimula a migração de fibroblastos e células epiteliais (DELAVARY et al., 2011). Conseqüentemente, nesta fase ocorre tais eventos: angiogênese (pelas células endoteliais), formação de tecido de granulação (pelos fibroblastos) e início da reepitelização (pelos queratinócitos) (KASUYA e TOKURA, 2014). Para Kanna e colaboradores (2001), o uso de taninos condensados aumentam a expressão e a liberação de VEGF induzido por TNF- $\alpha$ , assim, reduzem o edema e estimulam o fluxo sanguíneo (MONTASERI et al., 2008). Já para Jie e colaboradores (2019), a utilização destes compostos regulam a liberação do TGF- $\beta$ . Estes achados justificam a redução do edema, os aumentos na fibroplasia e produção de colágeno pelo EEMB.

Ainda na fase proliferativa, os fibroblastos produzem uma grande quantidade de MEC, principalmente colágeno, para formar o tecido de granulação que substitui o tecido danificado. Concomitantemente, os queratinócitos migram, proliferam, diferenciam e reformam uma epiderme funcional (reepitelização), fechando a lesão e protegendo os tecidos subjacentes de outros traumas (KIOTA et al., 2010). À medida que o processo cicatricial evolui, há um processo de remodelação da MEC desorganizada, característica do tecido de

granulação (SARKAR et al., 2012), cujos números são progressivamente reduzidos por apoptose (AKASAKA et al., 2010). A síntese deste processo é caracterizada por fibroblastos esparsamente distribuídos dentro de um MEC rico em colágeno, resultando em um tecido cicatricial (MCDOUGALL et al., 2006).

O fechamento das feridas tratadas com EEMB deu-se por volta do 14º dia, estes dados corroboram com a literatura, já que ao utilizar produtos ricos em flavonoides as lesões cutâneas estavam cicatrizadas por volta do 15º dia em ratos (VIERA et al., 2008). O uso de compostos fenólicos, mais especificamente os taninos condensados ou proantocianidinas, normalmente atuam como adstringentes. Essa propriedade é responsável pela contração da ferida e aumento da taxa de epitelização nas fases de formação de granulação e remodelação de cicatrizes (TSALA et al., 2013).

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir do óleo fixo das amêndoas e do extrato etanólico do mesocarpo do babaçu (*Attalea speciosa*) permitem concluir que:

- A caracterização do OFB demonstrou a presença de 08 ésteres metílicos em sua grande maioria saturados e com maior concentração de ácido láurico (C12:0).
- Na caracterização do EEMB foi possível identificar proantocianidinas, indicando a presença de íons moleculares correspondentes a monômeros, dímeros e trímeros de (epi)catequinas.
- O OFB não apresentou atividade antimicrobiana. Contudo, o EEMB apresentou atividade bacteriostática contra os isolados *S. aureus* 02 e *S. aureus* 719, tendo ação bactericida nesta última cepa.
- O EEMB apresentou atividade antioxidante pelos métodos de captura dos radicais livres (DPPH<sup>•</sup>), habilidade de redução de ferro (FRAP) e habilidade de redução do molibdênio (ATT).
- Ambos os compostos extraídos do babaçu não foram citotóxicos e reduziram de forma dose dependente as áreas “feridas” das monocamadas de fibroblastos após 24 h de análise. Além disso, modularam a produção de citocinas pró-inflamatórias (aumento de IFN- $\gamma$ , IL-2 e IL-6) com uso do OFB e anti-inflamatórias (aumento de IL-4 e redução de IFN- $\gamma$  e IL-6) com o uso de EEMB.
- Análise Macroscópica: todos os grupos formaram crosta com flogose característica do tipo de lesão cutânea em relação ao período analisado. Entretanto, as feridas tratadas com os óleos tiveram crostas mais úmidas. Em fases subsequentes, os compostos extraídos do babaçu favoreceram a redução da hiperemia e do edema local e aceleraram o processo de formação de tecido cicatricial com a formação de cicatriz fibrótica no 14º dia de análise.
- Análise Histomorfométrica: Corroborando com a produção de citocinas inflamatórias, na fase inflamatória, os compostos extraídos do babaçu também obtiveram resultados ambíguos, o OFB aumentou o infiltrado inflamatório e o EEMB o reduziu. Também corroborando com os ensaios *in vitro*, o OFB e o EEMB favoreceram o fechamento da lesão tecidual, já que aumentaram a formação de tecido de granulação, em fase proliferativa do reparo tecidual, e a

colagenização e reorganização das fibras colágenas na fase de remodelamento da cicatrização.

De modo geral, os resultados encontrados na presente pesquisa evidenciaram atividades antimicrobiana e antioxidante para o EEMB, tais atividades auxiliam o processo de cicatrização de feridas. Além disso, tanto o OFB quanto o EEMB induziram a migração de fibroblastos em cultura, resultando em uma relação de dose-dependência nas áreas “feridas”. *In vivo*, ambos os compostos reduziram o infiltrado inflamatório e aumentaram a formação de tecido de granulação no 7º dia de reparo tecidual, resultando na formação de cicatriz fibrótica no 14º dia de reparo tecidual. Portanto, o óleo e o extrato do mesocarpo do babaçu demonstraram potencial cicatrizante nos protocolos experimentais realizados, devido a modulação do processo inflamatório e indução da proliferação de fibroblastos.

## REFERÊNCIAS

- ABBADE, L.P.F. Afecções ulcerosas. In: BELDA, J.R.W.; DI CHICAGO, N.; CRIADO, P.R. Tratado de dermatologia, 2ed. São Paulo: **Atheneu**, p. 803-830, 2014.
- ABREU, F. R.; LIMA, D. G.; HAMÚ, E. H.; WOLF, C.; SUAREZ, P. A. Z. Utilization of metal complexes as catalysts in the transesterification of brazilian vegetable oils with different alcohols. **J. Mol. Catal. A. Chem.**, v. 209, n° 29, 2004.
- ACHARYA, P. S., MAJUMDAR, S., JACOB, M., HAYDEN, J., MRASS, P., WENINGER, W., ASSOIAN, R. K., PURÉ, E. Fibroblast migration is mediated by CD44-dependent TGF $\beta$  activation. **Journal of Cell Science**, v. 121, p. 1393-1402, 2008.
- ADAMS, D.H.; SHOU, Q.; WOHLMUTH, H.; COWIN, A.J. Native Australian plant extracts differentially induce Collagen I and Collagen III in vitro and could be important targets for the development of new wound healing therapies. **Fitoterapia**. v. 109, p. 45-51, 2016.
- AGYARE, C.; BOAKYE, Y.D.; BEKOE, E.O.; HENSEL, A.; DAPAAH, S.O.; APPIAH T. Review: African medicinal plants with wound healing properties. **J. Ethnopharmacol**, v. 177, p.85-100, 2016.
- AHMAD, Z.; SARMIDI, M.R.; HASHAM, R. Evaluation of Wound Closure Activity of Cocos Nucifera Oil on Scratched Monolayer of Human Dermal Fibroblasts. **Chemical engineering transactions**, v. 56, p. 1657-1662, 2017.
- AKASAKA, Y.; I. ONO, I.; KAMIYA, T. et al. The mechanisms underlying fibroblast apoptosis regulated by growth factors during wound healing, **The Journal of Pathology**, v. 221, n. 3, p. 285–299, 2010.
- ALBUQUERQUE, N.I.; CONTRERAS, C.C.; ALENCAR, S.; MEIRELLES, C.F.; AGUIAR, A.P.; MOREIRA, J.A.; PACKER, I.U. Propriedades da carne e perfil de ácidos graxos do pernil de catetos (*Tayassu tajacu*) alimentados com torta de babaçu (*Orbignya phalerata*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1419-1427, 2009.
- ALBUQUERQUE, U.P.; LUCENA, R.F.; ALENCAR, N.L. Métodos e técnicas para coleta de dados etnobiológicos. In. ALBUQUERQUE, U.P. de, LUCENA, R.F.P. de; CUNHA, L.V.F.C da (Orgs.). Métodos e Técnicas na Pesquisa Etnobiológica e Etnoecológica. Recife, PE: **NUPPEA (Coleção Estudos e Avanços)**. p. 41-64. 2010.
- ALENCAR, J.W; CRAVEIRO, A.A.; Alves, P.B. Pyrolysis of tropical vegetable oils, **J. Agric. Food Chem.** v. 31, p. 1268–1270, 1983.
- ALERICO, G.C.; BECKENKAM, P.A.; VIGNOLI-SILVA, M.; BUFFON, A.; POSER, J.L.V. Proliferative effect of plants used for wound healing in Rio Grande do Sul state, Brazil. **J. Ethnopharmacol** v. 176, p.305-310, 2015.
- ALMEIDA, S.A.; SALOME, G.M.; DUTRA, R.A.A.; FERREIRA, L.M. Feelings of powerlessness in individuals with either venous or diabetic foot ulcers. **J Tissue Viability** v. 23, p. 109-114, 2014.

ALVES, A. Q.; OLIVEIRA, G.G. ; GOMES, I. V. ; NETO, A.G.C ; ALVES, A. J. E ALVES, A ; JUNIOR, V.A.S ; GÓES, A. J. S. . Fatty acids determination in vegetable oils by gas chromatography and its potential use in wound care. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 32, p. 1-8, 2019.

AMINI, M.; PARVARESH, E. Prevalence of macro- and microvascular complications among patients with type 2 diabetes in Iran: a systematic review. **Diabetes research and clinical practice**, v. 83, n. 1, p. 18–25, 2009.

AMORIM, E.; MATIAS, J.E.; COELHO, J.C.U.; CAMPOS, A.C.L.; STAHLKE, H.J.; TIMI, J.R.R.; ROCHA, L.C.A.; MOREIRA, A.T.R.; RISPOLI, D.Z.; FERREIRA, L.M. Efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas - estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21 (Suplemento 2), 2006.

ANDERSON, A. B. Use and management of native forests dominated by açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in the Amazon estuary. **Advances in Economic Botany**, v. 6, p. 144–154, 1988.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.66, n.1, 2007.

ARAÚJO, R.A.; RODRIGUES, R.C.; COSTA, C.S.; SANTOS, F.N.S.; COSTA, F.O.; LIMA, A.J.T.; SILVA, I.R.; RODRIGUES, M.M. Composição químico-bromatológica e degradabilidade in situ de capim- Marandu em sistemas silvipastoris formados por babaçu e em monocultivo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.17, n.3, p.401-412, 2016.

ARAÚJO, F.R.; GONZÁLEZ-PÉREZ, S.E; LOPES, M.A.; VIÉGAS, I.J.M. Ethnobotany of babassu palm (*Attalea speciosa* Mart.) in the Tucuruí Lake Protected Areas Mosaic - eastern Amazon. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 2, p. 193-204, 2016.

ARO, A.A. et al. Effect of the Arrabidaea chica extract on collagen fiber organization during healing of partially transected tendon. **Life Science**, v.92, n.13, p.799-807, 2013.

ASLAM, M.S.; AHMAD, M.S.; RIAZ, H.; RAZA, S.A.; HUSSAIN, S.; QURESHI, O.S. MARIA, P.; HAMZAH, Z.; JAVED, O. Role of Flavonoids as Wound Healing. **Agent. Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention**, p. 95-102, 2018.

AZEVEDO, A.P.S.; FARIAS, J.C; COSTA, G.C.; FERREIRA, S.C.P.; ARAGÃO-FILHO, W.C.; SOUSA, P.R.A.; PINHEIRO, M.T.; MACIEL, M.G.C.; SILVA, L.A.; LOPES, A.S.; BARROQUEIRO, E.S.B.; BORGES, M.O.R.; GUERRA, R.N.M.; NASCIMENTO, F.R.F. Anti-thrombotic effect of chronic oral treatment with *Orbignya phalerata* Mart. **Journal Ethnopharmacology**, v. 111, p. 155-159, 2007.

BAEK, S., PARK, H., KIM, M., LEE, D. Preparation of PCL/ (+)-catechin/gelatin film for wound healing using air-jet spinning. **Applied Surface Science**, 2019.

BAHRAMSOLTANI, R.; FARZAEI, M.H.; RAHIMI, R. Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: an integrative review. **Arch Dermatol Res.** v. 306, p. 601–617, 2014.

BAINBRIDGE, P. Wound healing and the role of fibroblasts. *J. Wound Care*, v. 2, n. 8, p. 407–412, 2013.

BAJAY, H.M.; JORGE, A.S.; DANTAS, SRPE. Curativos e coberturas para o tratamento de feridas. In: Jorge AS, Dantas SER, organizadores. *Abordagem multidisciplinar do tratamento de feridas*. São Paulo: **Atheneu**, p. 85-86, 2003.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURY, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 41, n. 1, 2005.

BALDEZ, R.N.; MALAFAIA, O.; CZECZKO, N.G.; MARTINS, N.L.P.; FERREIRA, L.M.; RIBAS, C.A.P.M.; SALLES JR, G.; DEL-CLARO, R.P.; SANTOS, L.O.M.; GRAÇA-NETO, L.; ARAÚJO, L.R.R. Análise da cicatrização do cólon com uso do extrato aquoso da *Orbignya phalerata* (Babaçu) em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira.** v.2, p. 31-38, 2006.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S.K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **J Pharm Anal.**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BARBOSA, M.C.L.; BOUSKELA, E.; CYRINO, F.Z.G.A. AZEVEDO, A.P.S.; COSTA, M.C.P.; SOUZA, M.G.C. SANTOS, D.S.S.; BARBOSA, F.L.; GUERRA, L.F.A.; NASCIMENTO, M.D.S.B. Effects of babassu nut oil on ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion and macromolecular leakage in the microcirculation: Observation in the hamster cheek pouch. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, n.158, 2012.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R. BRESSAN, J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Rev. Nutr.**, v.23 n.4, 2010.

BARDAA, S.; HALIMA, N. B.; ALOUI, F. et al. Oil from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds: evaluation of its functional properties on wound healing in rats. **Lipids in Health and Disease.** v. 15, n. 1, p. 73, 2016.

BARFOD, A.S.; HAGEN, M.; BORCHSENIUS, F. Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). **Annals of Botany** v. 108, p. 1503–1516, 2011.

BARKER, T.H. The role of ECM proteins and protein fragments in guiding cell behavior in regenerative medicine. **Biomaterials**, v. 32, n. 18, p. 4211-4214, 2011.

BARONI, A.; BUOMMINO, E.; DE GREGORIO, V.; RUOCCO, E.; RUOCCO, V.; WOLF, R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clin Dermatol**, v. 30, p. 257-62, 2012.

BARRIENTOS, S.; STOJADINOVIC, O.; GOLINKO, M.S.; BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 16, n. 5, p. 585-601, 2008.

BARROQUEIRO, E.S.B.; BARROQUEIRO, F.S.B.; PINHEIRO, M.T.; MACIEL, M.C.G.; BARCELLOS, L.A.S.; SILVA, L.A.; LOPES, A.S.; NASCIMENTO, F.R.F.; GUERRA, R.N.M. Evaluation of acute toxicity of babaçu mesocarp in mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** v. 21, n.4, p. 710-714, 2011.

BARROQUEIRO, E.S.B, PRADO, D.S.; BARCELLOS, P.S.; SILVA, T.A.; PEREIRA, W.S.; SILVA, L.A.; MACIEL, M.C.G.; BARROQUEIRO, R.B.; NASCIMENTO, F.R. F.; GONCALVES, A.G. Immunomodulatory and Antimicrobial Activity of Babassu Mesocarp Improves the Survival in Lethal Sepsis. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, 2016.

BARUQUE FILHO, E.A., BARUQUE, M.G.A.; SANT'ANNA JR, G.L. Babassu coconut starch liquefaction: an industrial scale approach to improve conversion yield. **Bioresour Technol.** v. 75, p.49–55, 2000.

BATISTA, C.P.; TORRES, O.J.M.; MATIAS, J.E.F.; MOREIRA, A.T.R.; COLMAN, D.; LIMAS, J.H.F.; MACRIS, M.M.; RAUEN, J.R, R.J.; FERREIRA, L.M.; FREITAS, A.C.T. Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), 2006.

BAUER, L.C.; LACERDA, E.C.Q.; SANTOS, L.S.; FERRÃO, S.P.B.; FONTAN, R.C.I.; VELOSO, C.M.; BONOMO, R.C.F. Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of Babassu (*Orbignya phalerata*) Virgin Oil Obtained by Different Methods of Extraction. **The Open Food Science Journal**, v. 11, 2019.

BEARDEN, M.M.; PEARSON, D.A.; REIN, D.; CHEVAUX, K.A.; CARPENTER, D.R.; KEEN, C.L.; SCHMITZ, H. Potential Cardiovascular Health Benefits of Procyanidins Present in Chocolate and Cocoa, v. 19, p. 177-186, 2000.

BEANES, S.R.; DANG, C.; SOO, C.; TING, K. Skin repair and scar formation: the central role of TGF-[beta]. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 5, n. 08, p. 1-22, 2003.

BEITZ, J. M. Wound debridement: therapeutic options and care considerations. **Crit. care nurs. clin. North Am.**, v. 24, n. 2, p. 239–253, 2012.

BENEVIDES, B.J.; MARQUES, F.M.; FIGUEIRA, M.M.; VARGAS, T.S.; KONDRATYUK, T.P.; ENDRINGER, D.C., et al. Potential antiinflammatory, antioxidant and antimicrobial activities of *Sambucus australis*. **Pharm Biol.**, v. 55, p. 991–997, 2017.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**. v. 239, n.1 70–, p.76, 1996.

BERNATONIENE, J.; KOPUSTINSKIENE, D.M. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. **Molecules**, v. 23, n. 4, 2018.

BERNAL, R.; TORRES, C.; GARCÍA, N.; ISAZA, C.; NAVARRO, J.; VALLEJO, M.I.; GALEANO, G.; BALSLEV, H. Palm Management in South America. **Botanical Review**. v. 77, p. 607–646. 2011.

BELDON, P. Basic science of wound healing. **Surgery**, v. 28, n. 9, p. 409-12, 2010.

BERENGUER, B. et al. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* L. against NSAID-induced gastric ulcers. **Journal of Ethnopharmacology**, v.103, n.2, p.194-200, 2006.

BESERRA, F.P.; GUSHIKEN, L.F.S.; HUSSNI, M.F.; PELLIZZON, C.H. Regulatory Mechanisms and Chemical Signaling of Mediators Involved in the Inflammatory Phase of Cutaneous Wound Healing. **Wound Healing - Current Perspectives**, p. 5-21, 2019.

BEZERRA; J.L.; COSTA, G.C.; LOPES, T.C.; CARVALHO, I.C.D.S.; PATRÍCIO, F.J.; SOUSA, S.M.; AMARAL, F.M.M.; REBELO, J.M.M.; GUERRA, R.N.M.; RIBEIRO, M.N.S.; NASCIMENTO, F.R.F. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 16, p. 631-637, 2006.

BHUSHAN, B. Nanotribological and nanomechanical properties of skin with and without cream treatment using atomic force microscopy and nanoindentation. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 367, p. 1-33, 2012.

BISHA, B.; WEINSETEL, N.; BREHM-STECHER, B.F.; MENDONCA, A. Antilisterial effects of grape seed extract at low levels in aqueous media and its potential application as a produce wash **J. Food Prot.**, v. 73, p. 266-273, 2010.

BLOIS, M.S. (1958). Antioxidant Determinations by the use of a Stable Free Radical. **Nature**. v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BOATENG, J. S.; MATTHEWS, K. H.; STEVENS, H. N. E.; ECCLESTON, G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. **J. pharma. sci**, v. 97, n. 8, p. 2892–2923, 2008.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Química do processamento de alimentos. 2.ed. São Paulo: **Varela**, 1992.

BOLZINGER, M.A.; BRIANÇON, S.; PELLETIER, J.; CHEVALIER, Y. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 17, p. 156-165, 2012.

BOUARAB-CHIBANE, L.; FORQUET, V.; LANTÉRI, P.; CLÉMENT, Y.; LÉONARD-AKKARI, L.; OULAHAL, N.; Degraeve, P.; Bordes, C. Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models. **Front. Microbiol.**, 2019.

BADRI, P.N.; RENU, S. Role of medicinal plants in wound healing. *Research Journal of Medicinal Plants*, v. 5, p. 392-405, 2011.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3ed. Mossoró, **Coleção Morossoense**, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 1999. **Resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999**. Aprova o Regulamento Técnico: “Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais”.

BRITO FILHO, S.B.; MATIAS, J.E.F.; STAHLKE JR, H.J.; TORRES, O.J.M.; TIMI, J.R.R.; TENÓRIO, S.B.; TÂMBARA, E.M.; CARSTENS, A.G. Análise da cicatrização na linha alba com uso de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), 2006.

BROLMANN, F.E. et al. Evidence-based decisions for local and systemic wound care. **British Journal of Surgery**, v. 99, p. 1172-1183, 2012.

BUELGA, C.C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.7, p.1094–1117, 2000.

BUENO F.G.; MOREIRA E.A.; MORAIS G.R.; PACHECO I.A.; BAESSO M.L.; LEITE-MELLO, E.V.; MELLO J.C.P. Enhanced cutaneous wound healing in vivo by standardized crude extract of *Poincianella pluviosa*. **PLoS ONE**, v. 11, 2016.

CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M.C.B.; MAIA MBS. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como anti-inflamatório. **Rev Bras Farmacogn** v. 12, p 132-135, 2002.

CALDER, P.C.; ALBERS, R.; ANTOINE, J.M., BLUM, S.; BOURDET-SICARD, R.; FERNS, G.A.; FOLKERTS, G.; FRIEDMANN, P.S.; FROST, G.S. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. **Br J Nutr**. v. 101, n. 1, p. 1-45. 2009.

CAMPOS, ACL; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51-8, 2007.

CAMPOS, J.L.A.; SILVA, T.L.L.; ALBUQUERQUE, U.P.; PERONI, N.; ARAÚJO, E.L. Knowledge, Use, and Management of the Babassu Palm (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) in the Araripe Region (Northeastern Brazil). **Economic Botany**, v. 69, n. 3, p. 240–250. 2015.

CAO, Q.; WANG, Y.; WANG, C.; WANG, X.M.; LEE, V.W.; ZHENG, G.; ZHAO, Y.; ALEXANDER, S.I.; HARRIS, D.C. Therapeutic potential of regulatory macrophages generated from peritoneal dialysate in adriamycin nephropathy. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 314, p. 561–571, 2018.

CARDOSO, C.R.; SOUZA, M.A.; FERRO, E.A.; FAVORETO, S.J.R.; PENA, J.D. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. **Wound Repair and Regeneration**, v.12, p.235–243, 2004.

CARNEIRO, C.M.; SOUSA, F.B.; GAMA, F.N. Treatment of wounds: Assistance of nursing in the units of primary attention to the health. **Revista Enfermagem Integrada**. v.3, n.2. 2010.

CARRAZA, L.R.; ÁVILA, J.C.C.; SILVA, M.L. Aproveitamento integral do fruto e da folha do babaçu (*Attalea spp.*). 2 ed. p. 1-68. Brasília – DF, 2012.

CARRINGTON, S.; COHALL, D.H.; GOSSELL-WILLIAMS, M.; LINDO, J.F. The antimicrobial screening of a Barbadian medicinal plant with indications for use in the treatment of diabetic wound infections. **West Indian Med J.**, v 61, n 9, p. 861-864, 2012.

CARVALHO, J.H.; ALCOFORADO FILHO, F.G.; MORAIS, J.L.D. Effects of different conditions and duration of storage on the germination of babassu seeds (*Orbignya phalerata*). **Principes**. v. 32, p. 55–58. 1988.

CASTILHO, T.J.C.; CAMPOS A.C.L.; MELO, E.V.S.L. Efeito do ácido graxo ômega-3 na cicatrização de anastomose colônica em ratos. **Arq Bras Cir Dig.**, v. 28, n.4, p. 258-261, 2015.

CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 55, n. 8, 2011.

CATÁLOGO TÉCNICO CRODA BRASIL “CRODAMAZON”. Óleos da Amazônia. **Croda do Brasil Ltda.** Campinas, 2002.

CATUNDA-JÚNIOR, F.E.A. et al. Atividade antioxidante de óleo essenciais de plantas do nordeste do Brasil. **Cienc. Tecnol.**, v. 4, p. 23-29, 2002.

CAVALCANTE, A.R.S.M. et al. Análise tensional e morfológica da anastomose colônica na colite induzida por ácido acético a 10%, em ratos Wistar, tratados com extrato aquoso de aroeira-do-sertão a 10% (*Myracrodruon urundeuva* fr. all.). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.20, n.2, p.180-186, 2005.

CAVALLARI, M.M.; TOLEDO, M.M. What is the name of the babassu? A note on the confusing use of scientific names for this important palm tree. **Rodriguésia**, v. 67,n. 2, p. 533-538. 2016.

CAVAZANA, W.C.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; YOSHII, S.O.; BERSANI-AMADO, C.A.; CUMAN, R.K.N. Açúcar (sacarose) e triglicerídeos de cadeia média com ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas cutâneas: estudo experimental em ratos. **An Bras Dermatol.** 2009;84(3):229-36.

CHEN, F.; YE, X.; YANG, Y., et al. Proanthocyanidins from the bark of metasequoia glyptostroboides ameliorate allergic contact dermatitis through directly inhibiting T cells activation and Th1/Th17 responses. **Phytomedicine**, v. 22, n. 4, p. 510-515, 2015.

CHEN, S.; SHI, J.; XU, X.; DING, J.; ZHONG, W.; ZHANG, L. et al. Study of stiffness effects of poly(amidoamine)–poly(n-isopropylacrylamide) hydrogel on wound healing. **Colloids Surf B Biointerfaces.** v. 140:574–582. 2016.

CHAN, S.W. et al. Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. **International Food Research Journal**, v. 16, n. 2, p. 203-213, 2009.

CHANDRASEKAR, B.S.; YADAV, S.; VICTOR, E.S.V.; MAJUMDAR, S.; DEOBAGKAR-LELE, M.; WADHWA, N.; PODDER, S.; DAS, M.; NANDI, D. Interferon-Gamma and Nitric Oxide Synthase 2 Mediate the Aggregation of Resident Adherent Peritoneal Exudate Cells: Implications for the Host Response to Pathogens. **PLOS ONE**, p. 1-28, 2015.

CHEESMAN, M.J.; LANKO, A.; BLONK, B.; IAN, E. COCK, I.E. Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/Compounds with Conventional Antibiotics the Solution? *Pharmacogn Rev.*, v. 11, n. 22, p. 57–72, 2017.

CHEN, Y.; JIN, H.; YANG, F.; JIN, S.; LIU, C.; ZHANG, L.; HUANG, J.; WANG, S.; YAN, Z.; CAI, X.; R. et al. Physicochemical, antioxidant properties of giant croaker (*Nibea japonica*) swim bladders collagen and wound healing evaluation, **Int J Biol Macromol**, v. 138, p. 483-491, 2019.

CHO, K.; PARK, M.; KIM, Y.; WOO, S.; RYU, K. Conditioned media from human palatine tonsil mesenchymal stem cells regulates the interaction between myotubes and fibroblasts by IL-1Ra activity. **J Cell Mol Med**, v. 21, n. 1, p. 130-141, 2017.

CHU, H.; TANG, Q.; HUANG, H.; HAO, W.; WEI, X. Grape-seed proanthocyanidins inhibit the lipopolysaccharide-induced inflammatory mediator expression in RAW264.7 macrophages by suppressing MAPK and NF- $\kappa$ b signal pathways. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 41, p. 159–166, 2016.

CHUNG, K. T.; LU, Z.; CHOU, M. W. Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. **Food Chem. Toxicol.**, v. 36, p. 1053–1060, 1998.

CINELLI, B.A.; LÓPEZ, J.A.; CASTILHO, L.R.; FREIRE, D.M.G.; CASTRO, A.M. Granular starch hydrolysis of babassu agroindustrial residue: A bioprocess within the context of biorefinery. **Fuel**, v. 124, 41–48, 2014.

COOMBER, B.L.; GOTLIEB, A.I. In vitro endothelial wound repair. **Arteriosclerosis**, v. 10, p. 215-222, 1990.

CORRALES, M.; HAN, J.H.; TAUSCHER, B. Antimicrobial properties of grape seed extracts and their effectiveness after incorporation into pea starch films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 425-433, 2009.

CÔRTEZ, S.M.S. O tratamento de ferida: um artigo de revisão. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**. v. 1, p. 55-64, 2013.

COSTA, T.L. Características físicas e físico-químicas do óleo de duas cultivares de mamona. 113 f. (**Dissertação de Mestrado**) – **Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Brasil**. 2006.

COSTA, G. ; FRANCISCO V. ; LOPES, M.C. ; CRUZ, M.T. ; BATISTA, M.T. Intracellular Signaling Pathways Modulated by Phenolic Compounds: Application for New Anti-Inflammatory Drugs Discovery. **Current Medicinal Chemistry**, v.19, p. 2876-2900. 2012.

COSTA-FILHO, L.O. et al. Foliar cuticular n-alkane of some *Croton* species from Brazilian semiarid vegetation. **Biochem. System. Ecol.**, v. 41, p. 13-5, 2012.

CUSHNIE, T. T.; LAMB, A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **Int. J. Antimicrob.**, v. 38, p. 99–107, 2011.

DANCIK, Y.; BIGLIARDI, P. L.; BIGLIARDI-QI, M. What happens in the skin? Integrating skin permeation kinetics into studies of developmental and reproductive toxicity following topical exposure. **Reproductive Toxicology**, v. 58, p. 252-281, 2015.

DAVIES, M.G.; HAGEN, P.O. Systemic inflammatory response syndrome. **British Journal of Surgery**, v. 84, n. 7, p. 920-935, 1997.

DAVIE, E.W., RATNOFF, O.D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. **Science**. v. 145, p. 1310-1312, 1964.

DEALEY C. Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras. 3ª ed. São Paulo: **Atheneu** Editora; 2008.

DELAVARY, B.M.; VEER, W.M.V.D.M.; NIESSEN, E.F.B.V.; BEELEN, R.H.J. Macrophages in skin injury and repair. **Immunobiology**, v. 216, n. 7, p. 753–762, 2011.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; BAUDI, D.L.K.; CASTRO, J.H.T. Secondary cicatrization in dermoepidermal wounds treated with essential fatty acids, vitamins A and E, soy lecithin and polynylpyrrolidone-iodine in dogs. **Archives of Veterinary Science**. v.9, n.1, p.1-16, 2004.

DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, n. 1, p. 283-289, 2004.

DIEGUES, A.C.S. O mito moderno da natureza intocada. 3º Ed. São Paulo: **HUCITEC**, 2001.

DING, Y.; LIU, X. Semiclassical solutions of Schrödinger equations with magnetic fields and critical nonlinearities. **Manuscripta math.**, v.140, p. 51–82, 2013.

DOERSCH, K.M.; DELLOSTRITTO, D.J.; NEWELL-ROGERS, M.K. The contribution of interleukin-2 to effective wound healing. **Experimental Biology and Medicine**, p. 1–13, 2016.

DORTA, E.; LOBO, M.G. GONZALEZ, M. Reutilization of mango byproducts: study of effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, p. 80-88, 2012.

DUGO, L., BELLUOMO, M. G., FANALI, C., RUSSO, M., CACCIOLA, F., MACCARRONE, M., SARDANELLI, A. M. Effect of Cocoa Polyphenolic Extract on

Macrophage Polarization from Proinflammatory M1 to Anti-Inflammatory M2 State. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1–11, 2017.

DUNNILL, C.; PATTON, T.; BRENNAN, J.; BARRETT, J.; DRYDEN, M.; COOKE, J. et al. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. **Int Wound J.** v. 14, n. 1, p. 89-96, 2017.

DUQUE, G.A.; DESCOTEAUX, A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infections diseases. *Frontiers in Immunology*, v. 7, n. 491, 2014.

DWIVED, D.; DWIVED, 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. 7, n. 1, p. 79-85, 2017.

ECKES, B.; NISCHT, R.; KRIEG, T. Cell-matrix interactions in dermal repair and scarring. **Fibrogenesis & tissue repair**, v. 3, n. 1, p. 4, 2010.

ELHALAFAWY, S. Effect of Different Types of Feeding on Surgical Wound Healing During the First Year of life. Thesis Submitted to the Faculty of Nursing, Tanta University In Partial Fulfillment of the Requirement of Master Degree in Pediatric Nursing. 2017.

EL-NOOR, M.M.A.; ELGAZZAR, F.M.; ALSHENAWY, H.A. Role of inducible nitric oxide synthase and interleukin-6 expression in estimation of skin burn age and vitality. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, v 52, p. 148-153, 2017.

EMING S.A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. **Science Translation Medicine**. v.6, n.265, 2014.

ENIG M. Lauric oils as antimicrobial agents: Theory of effect, scientific rationale, and dietary application as adjunct nutritional support for HIV infected individuals. In: Watson R, ed. *Nutrients and Foods in AIDS*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1998.

ENIG, M. Coconut: In support of good health in the 21st century [presentation]. Presented to the Federated States of Micronesia, Pohnpei, 1999.

ENOCH, S.; LEAPER, D.J. Basic science of wound healing. **Surgery (Oxford)**, v. 26, n. 2, p. 31–37, 2008.

ENOMOTO, H.; TAKAHASHI, S.; TAKEDA, S.; HATTA, H. Distribution of Flavan-3-ol Species in Ripe Strawberry Fruit Revealed by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry Imaging, **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 103, 2020.

EPA, Method 200.7, Revision 4.4: Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, **United States Environmental Protection**, 1994.

FERNANDEZ, O.; CAPDEVILA, J.Z.; DALLA, G.; MELCHOR, G. Efficacy of Rhizophora mangle aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v.73, p.564-568, 2002.

FARIAS, G.B.; RODRIGUES, J.L.S.; MARIA NILCE DE SOUSA RIBEIRO, M.N.S.; MAGALHÃES, L.O.; FERREIRA, A.G.; LIMA, M.P. Chemical constituent analysis of the Babassu (*Orbignya phalerata* Mart.) mesocarp. **Univ. Sci.**, v. 24, n. 2, p. 323-335, 2019.

FELDMAN, M.; TANABE, S.; HOWELL, A.; GRENIER, D. Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of *Candida albicans* and cytokine secretion by oral epithelial cells. **BMC Complement Altern. Med.**, v. 12, p. 6, 2012.

FERRANTE, C.J.; LEIBOVICH, S.J. Regulation of Macrophage Polarization and Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 1, n. 1, p. 10–16, 2012.

FERRARI, R.A.; SOLER, M.P. Obtention and characterization of coconut babassu derivatives. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 291–296, 2015.

FERREIRA, L.M. Topic use of aqueous extract of *Orbignya phalerata* (babassu) in rats: analysis of its healing effect. **Acta cirurgica brasileira**, v. 21, p. 267-76, 2006.

FERREIRA, E.C.; MATIAS, J.E.F.; CAMPOS, A.C.L.; TAMBARA FILHO, R.; ROCHA, L.C.A.; TIMI, J.R.R.; SADO, H.N.; SAKAMOTO, D.G.; TOLAZZI, A.R.D.; SOARES FILHO, M.P. **Acta cirurgica brasileira**. v. 21, p. 333-339, 2006.

FERREIRA, C.N.; SOUSA, M.O.; DUSSE, L.M.S.; CARVALHO, M.G. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Rev Bras Hematol Hemoter**. v.32, n 5, p.416-421, 2010.

FERREIRA, A.M.; SOUZA, B.M.V.; RIGOTTI, M.A.; LOUREIRO, M.R.D. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Rev Esc Enferm USP**. v. 46, n. 3, p.752-760, 2012.

FERREIRA, B.S.; FAZA, L.P.; LE HYARIC, M. A comparison of the physicochemical properties and fatty acid composition of indaiá (*Attalea dubia*) and Babassu (*Orbignya phalerata*) oils. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

FERREIRA, B.S.; ALMEIDA, C.G.; FAZA, L.P.; ALMEIDA, A.; DINIZ, C.G.; SILVA, V.L.; GRAZUL, R.M.; LE HYARIC, M. Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by Different Extraction Methods. **Molecules**, v. 16, p. 5875-5885, 2011.

FITZPATRICK, D.F.; BING, B.; MAGGI, D.A.; FLEMING, R.C.; O'MALLEY, R.M. Vasodilating Procyanidins Derived from Grape Seeds. **Ann New York Acad Sci.**, v. 957, p. 78-89, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION [FAO]. 2017. Codex standard for named vegetable oils. Available in: <http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/>. [Accessed Apr 02, 2019].

FRANCO, F; GONÇALVES, L.F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Rev. Col. B.**v.35, p.3. 2008.

FREITAS JUNIOR, L.M; RIBEIRO, M.N.S.; AMARAL, F.M.N; NASCIMENTO, F.R.F. Processo de obtenção de extrato seco padronizado de mesocarpo fresco de *Orbignya phalerata* Mart. (babaçu) com atividade imunomodulatória. **Br. Patent PI 1020130053414**. 2013.

GABR, S..A.; ALGHADIR, A.H. Evaluation of the Biological Effects of Lyophilized Hydrophilic Extract of *Rhus coriaria* on Myeloperoxidase (MPO) Activity, Wound Healing, and Microbial Infections of Skin Wound Tissues. **Evid Based Complement Alternat Med.**, 2019.

GAITAN, E.; COOKSEY, R.C.; LEGAN, J.; LINDSAY, R.H.; MEDEIROS-NETO, G.E.B; GORDON, A.; GROSS, J.; HENNEMANN, G. Prog. Thyroid Res., Proc. Int. Thyroid Conf., 10th, p. 647-50, 1991.

GARCÍA, S.; HEINZEN, H.; HUBBUCH, C.; MARTINEZ, R.; X. DE VRIES, X.; MOYNA, P. Triterpene methyl ethers from palmae epicuticular waxes. **Phytochemistry**, v. 39, n. 6, p. 1381-1382, 1995.

GARCIA, C.M. Transesterificação de óleos vegetais. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Química Inorgânica da Universidade Estadual de Campinas, p. 136, 2006.

GARODIA, P.; ICHIKAWA, H.; MALANI, N.; SETHI, G.; AGGARWAL, B.B. From ancient medicine to modern medicine: Ayurvedic concepts of health and their role in inflammation and cancer. **Journal of the Society for Integrative Oncology**, v. 05, n. 1, p. 25, 2007

GARROS-ROSA, I. Estudo químico qualitativo e quantitativo do resíduo amiláceo do coco babaçu. Ver. Quim. Ind., v. 647, p. 15-18, 1986.

GARTNER, L.P; HIATT, J.L. Tratado de Histologia em cores. 4.<sup>a</sup> Ed. Rio de Janeiro. **Elsevier**. 2017.

GASQUE, K.C.S.; AL-AHJ, L.P.; OLIVEIRA, R.C.; MAGALHÃES, A.C. Cell Density and Solvent Are Critical Parameters Affecting Formazan Evaluation in MTT Assay. **Braz. Arch. Biol. Technol.** v.57, n.3, p. 381-385, 2014.

GENOVESE, M.C.; VAN DEN BOSCH, F.; ROBERSON, S.A.; BOJIN, S.; BIAGINI, I.M.; RYAN, P. et al. LY2439821, a humanized anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: A phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept study. **Arthritis Rheum**, v. 62, p. 929-939, 2010.

GERMANO, C.M. Etnobotânica de palmeiras em comunidades ribeirinhas do município de Abaetetuba – PA. Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade do Estado do Pará, p. 81, 2014.

GERTSCH, J.; VIVEROS-PAREDES, J.M.; TAYLOR, P.J. Plant immunostimulants-Scientific paradigm or myth. **J. Etnopharmacology**, 2010.

GHOSH, V.; SARANYA, S.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Antibacterial microemulsion prevents sepsis and triggers healing of wound in wistar rats. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 1, n. 105, 152-157.

GHOSH, E.E.; CASSADO, A.A.; GOVONI, G.R.; FUKUHARA, T.; YANG, Y.; MONACK DM, et al. Two physically, functionally, and developmentally distinct peritoneal macrophage subsets. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 107, p. 2568–73, 2010.

GHUMAN, S.; NCUBE, B.; FINNIE, J.F.; MCGAW, L.J.; NJOYA, E.R.M. Antioxidant, anti-inflammatory and wound healing properties of medicinal plant extracts used to treat wounds and dermatological disorders, **South African Journal of Botany**, v. 126, p. 232-240, 2019.

GIRELLO, A.L.; KÜHN, T.I.B.B. Fundamentos da Imuno-Hematologia Eritrocitária. 4 ed. São Paulo: Senac. 2016.

GOMES, A.C.G; FLEURY, C.S.; DAMIAN, A.; ZUNIGA, G.; PINEDO, A.A.; CARDOSO, I.R.M. cinética de extração do óleo de babaçu visando a produção de biodiesel. **Enciclopédia biosfera**, v.9, n.17; 2013.

GONG, Y.; GUO, J.; HU, K.; GAO, Y.; XIE, B.; SUN, Z.; YANG, E.; HOU, F. Ameliorative effect of lotus seedpod proanthocyanidins on cognitive impairment and brain aging induced by d-galactose. **Experimental Gerontology**, v. 74, p. 21-28, 2016.

GONZALEZ-PEREZ, S.E.; COELHO-FERREIRA, M.; ROBERT, P.; GARCES, C.L.L. Conhecimento e usos do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. E *Attalea eichleri* (Drude) A. J. Hend.) entre os Mebêngôkre-Kayapó da Terra Indígena Las Casas, estado do Pará, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 26, p. 295-308, 2012.

GORECKI, G.; E. RUSU, H. MOLDOVAN, I.S. Tudorache, Reactive nitrogen species and cardiovascular diseases, **Rom. J. Milit. Med.**, v. 121, p. 11-15, 2018.

GOVAERTS, R.; DRANSFIELD, J. World Checklist of Palms. Richmond, **Royal Botanic Gardens Kew**, 2005.

GRAGNANI, A.; MÜLLER, B.R.; DA SILVA, I.D.C.G.; DE NORONHA, S.M.R.; FERREIRA, L.M. Keratinocyte growth factor, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta gene expression in cultured fibroblasts and keratinocytes from burned patients. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 28, p. 551-558, 2013.

GUEDES, M.L.; FERREIRA, P.H.G.; SANTANA, K.N.O.; PIMENTA, N.A.S.; RIBEIRO, L.M. Fruit morphology and productivity of babassu palms in northern Minas Gerais state, Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.39, n.5, p.883-892, 2015.

GUEDES, J.A.C.; ALVES FILHO, E.G.A.; SILVA, M.F.S.; RODRIGUES, T.H.S.; RAMIRES, C.M.C.; LIMA, M.A.C et al. GC-MS-Based Metabolomic Profiles Combined with Chemometric Tools and Cytotoxic Activities of Non-Polar Leaf Extracts of *Spondias*

*mombin* L. and *Spondias tuberosa* Arr. Cam. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 31, No. 2, 331-340, 2020.

GUERRA, R.N.M.; BARROQUEIRO, E.S.B. Composições farmacêuticas, processo de obtenção de composições farmacêuticas e uso de composição farmacêutica à base do mesocarpo do fruto de *Orbignya phalerata* Mart. **Br. Patent PI 0904836-7 A2**. 2011a.

GUERRA, R. N. M.; SILVA, V. M. G.; FRANÇA, L. S. A. Babassu aqueous extract (BAE) as an adjuvant for T helper (Th)1-dependent immune responses in mice of a Th2 immune response-prone strain. **BMC Immunology**, v. 12, n. 13, 2011b.

GUIDONI, M.; SCHERER, M.M.C.; FIGUEIRA, M.M.; SCHMITT, E.F.P.; ALMEIDA, F.C.; SCHERER, R.; BOGUSZ, S.; FRONZA, M. Fatty acid composition of vegetable oil blend and in vitro effects of pharmacotherapeutical skin care applications. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, n. 2, 2019.

GUIDUGLI-NETO, J. The effect of Roentgen radiation on the capillary sprouts and superficial loops of granulation tissue I. Quantitative study of the vascular volume. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v.1, p.6-8,1987.

GUMIERO, V.C. Desenvolvimento de avaliação de nanoemulsões à base de óleo babaçu (*Orbignya oleífera*) e extratos vegetais (*Areca catechu*, *Glycyrrhiza glabra* e *Portulaca oleracea*) para uso pós-sol. 73f. **Tese (Doutorado) apresentada ao programa de pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2011.

GUO, S. A.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of dental research**, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.

HAMÚ, Z.C.; PINTO, M.M.; CHAGAS, L.A.F. Ácidos Graxos Essenciais, Vitaminas A e E e Lecitina de Soja: uma nova opção no tratamento de lesões graves com perda de substância com ou sem presença de infecção. **Rev Bras Med**. v.56, n.1,p: 5-12, 1999.

HAN, Y.J.; LOO, S.C.J.; LEE, J.; MA, J. Investigation of the bioactivity and biocompatibility of different glass interfaces with hydroxyapatite, fluorohydroxyapatite and 58S bioactive glass. **BioFactors**, v.30, n.4, p.205-216, 2007.

HARRIS, M. I. Pele - Estrutura, Propriedades e Envelhecimento. 3ª ed. São Paulo: **SENAC**, 2009.

HATANAKA, E.; DERMARGOS, A.; HIRATA, A.E. Oleic, linoleic and linolenic acids increase ros production by fibroblasts via NADPH oxidase activation. **PLoS One**. v. 8, 2013.

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**. v.88, n.2, p.53-58, 2007

HINZ, B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 526-537, 2007.

HIRUMA-LIMA, C. A.; SANTOS, L. C.; KUSHIMA, H.; PELLIZZON, C. H.; SILVEIRA, G. G.; VASCONCELOS, P. C. P.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M. *Qualea grandiflora*, a Brazilian “Cerrado” medicinal plant presents an important antiulcer activity. **Journal of Ethnopharmacol**, Lausanne, v. 104, p. 207-214, 2006.

HOVORKOVÁ, P.; LALOUČKOVÁ, K.; SKŘIVANOVÁ, E. Determination of In Vitro Antibacterial Activity of Plant Oils Containing Medium-Chain Fatty Acids against Gram-Positive Pathogenic and Gut Commensal Bacteria. **Czech J. Anim. Sci.**, v. 63, n. 3, p. 119–125, 2018.

HOU, Q.H.E.W.J.; CHEN, L.; HAO, H.J.; LIU, J.J.; DONG, L. Effects of the four-herb compound anbp on wound healing promotion in diabetic mice. **Int J Low Extrem Wounds**. v. 14, p.335–342, 2015.

HOUGHTON, P.J.; HYLANDS, P.J.; MENSAH, A.Y.; HENSEL, A.; DETERS, A.M. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: Wound healing as an example. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 100-107, 2005.

HSU, A.; MUSTOE, T. The principles of wound healing. **Plastic Surgery Secrets**, p. 3–7, 2010.

HU, X.; GE, X.; LIANG, W.; SHAO, Y.; JING, J.; WANG, C.; ZENG, R.; YAO, B. Effects of saturated palmitic acid and omega-3 polyunsaturated fatty acids on Sertoli cell apoptosis. **Systems biology in reproductive medicine**, v. 64, n. 5, p. 368-380, 2018.

HUA-BIN, Li., et al. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. **LWT**. v. 41, p.385–390, 2008.

HUANG, S.; YANG, N.; LIU, Y.; GAO, J.; HUANG, T.; HU, L.; ZHAO, J.; LI, Y.; LI, C.; ZHANG, X. Grape seed proanthocyanidins inhibit colon cancer-induced angiogenesis through suppressing the expression of VEGF and Ang1. **J. Mol. Med.**, v. 30, p. 1410-1416, 2012<sup>a</sup>.

HUANG, S.; YANG, N.; LIU, Y.; GAO, J.; HUANG, T.; HU, L.; ZHAO, J.; LI, Y.; LI, C.; ZHANG, X. Grape seed proanthocyanidins inhibit angiogenesis via the downregulation of both vascular endothelial growth factor and angiopoietin signaling. **Nutrition Research**, v. 32, p. 530-536, 2012<sup>b</sup>.

HUANG, W.C.; TSAI, T.H.; CHUANG, L.T.; LI, Y.Y.; ZOUBOULIS, C.C.; TSAI, P.J. Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: A comparative study with lauric acid. **Journal of Dermatological Science**, v. 73, p. 232–240, 2014.

HUNTER, C.A.; JONES, S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. **Nat Immunol.**, 16, n. 5, p 448-457, 2015.

IRON, G.L. Avaliação de Feridas. In: IRON, G.L., ed. Feridas: novas abordagens, manejo clínico e atlas em cores, 2ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 143-156, 2010.

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

JAISWAL, R., JAYASINGHE, L. e KUHNERT, N. Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the Rhododendron genus (Ericaceae) by tandem LC-MS. **J. Mass. Spectrom.**, v. 47, p. 502-515, 2012.

JAMAMATO, M.S. Utilização de ácidos graxos essenciais em deiscência de feridas cirúrgicas em pediatria. **Rev. Esc.Enf.USP.** v.3,n. p.214-222, 1999.

JANIS, J.; HARRISON, B. Wound Healing: Part II. Clinical Applications. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 2014.

JIANG, X.; LIU, J.; LIN, Q.; MAO, K.; TIAN, F.; JING, C.; WANG, C.; DING, L.; PANG, C. Proanthocyanidin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice via neuroinflammatory pathway. **Brain Res. Bull.**, v. 135, p. 40-46, 2017.

JIANG, Y.; LIU, R.; CHEN, J.; LIU, M.; LIU, M.; LIU, B.; YI, L.; LIU, S. Application of multifold characteristic ion filtering combined with statistical analysis for comprehensive profiling of chemical constituents in anti-renal interstitial fibrosis I decoction by ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry, **Journal of Chromatography A**, v.1600, p.197-208, 2019.

JIANG, W.G.; HISCOX, S.; HALLETT, M.B.; SCOT C.; HORROBIN, D.F.; PUNTIS, M.C. Inhibition of hepatocytes growth factor-induced motility and in vitro invasion of human colon cancer cells by gamma-linolenic acid, **British Journal of Cancer**, v. 71, p. 744-752, 1995.

JIE, L.; LI, J.; LI, S. et al., Ameliorative effect of grape seed proanthocyanidin extract on thioacetamide-induced mouse hepatic fibrosis. **Toxicology Letters**, v. 213, n. 3, p.353-60.

JOHNSON, K.E.; WILGUS, T.A. Multiple roles for VEGF in non-melanoma skin cancer: angiogenesis and beyond. **J. Skin Cancer**, p. 1-6. 2012.

JORGE, M.P. et al. Evaluation of wound healing properties of Arrabidaea chica Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.118, n.3, p.361-363, 2008.

JOSHI, A.; JOSHI, V.K.; PANDEY, D.; HEMALATHA, S. Systematic investigation of ethanolic extract from *Leea macrophylla*: Implications in wound healing. **J. Ethnopharmacol**, v.191, p.95-106, 2016.

JUNEJA, K.; MISHRA, R.; CHAUHAN, S. GUPTA, S.; ROY, P.; SIRCAR, D. Metabolite profiling and wound-healing activity of *Boerhavia diffusa* leaf extracts using in vitro and in vivo models. **J of Trad and Compl Med**. 2019.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 13ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**: 2017.

KAK, G.; RAZA, M.; TIWARI, B.K. Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ): Exploring its implications in infectious diseases. **BioMol Concepts**, v. 9, p. 64-79, 2018.

KHANNA, S.; ROY, S.; BAGCHI, D. et al. Upregulation of oxidant-induced VEGF expression in cultured keratinocytes by a grape seed proanthocyanidin extract. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n 1, p. 38-42, 2001.

KANG, L.; HO, P.C.; CHAN, S.Y. Interactions between a skin penetration enhancer and the main components of human stratum corneum lipids. **J. Therm. Anal. Calorim.** v. 83, p. 27–30, 2006.

KANO, H.; ISHITSUKA, A.; FUJINE, E.; MATSUHABA, S.; NAKAMURA, M.; ITO, H.; INAGAKI, N.; BANNO, Y.; SEISHIMA, M. IFN- $\gamma$  Reduces Epidermal Barrier Function by Affecting Fatty Acid Composition of Ceramide in a Mouse Atopic Dermatitis Model. **Journal of Immunology Research**, p. 1-10, 2019.

KANT, V.; GOPAL, A.; KUMAR, D.; PATHAK, N.N.; RAM, M., JANGIR, B.L. Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats. **J Surg Res.** v. 193:978-988, 2015.

KAPPELLOS, T.S.; IQBAL, A.J. Epigenetic control of macrophage polarisation and soluble mediator gene expression during inflammation. **Mediators Inflamm**, p. 1-15, 2016.

KARIOTI, A.; SOKOVIC, M.; CIRIC, A.; KOUKOULITSA, C.; BILIA, A.R.; H. SKALITSA. Antimicrobial properties of Quercus ilex L. proanthocyanidin dimers and simple phenolics: evaluation of their synergistic activity with conventional antimicrobials and prediction of their pharmacokinetic profile. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 6412-6422, 2011.

KARKI, R. et al. Chungtaejeon, a Korean Fermented Tea, Scavenges Oxidation and Inhibits Cytokine Induced Proliferation and Migration of Human Aortic Smooth Muscle Cells. **Plant Foods for Human Nutrition**, p. 27-33, v. 66, n. 1, 2011.

KASUYA, A.; TOKURA, Y. Attempts to accelerate wound healing, **Journal of Dermatological Science**, v. 76, n. 3, p. 169–172, 2014.

KATIYAR, S.K. Proanthocyanidins from Grape Seeds Inhibit UV–Radiation-Induced Immune Suppression in Mice: Detection and Analysis of Molecular and Cellular Targets. **Photochem. Photob.**, v. 91, p. 156-162, 2015.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 153-161, 2002.

KCHAOU, W.; ABBES, F.; MANSOUR, R.B.; BLECKER, C.; ATTIA, H.; BESBES, S. Phenolic profile, antibacterial and cytotoxic properties of second grade date extract from Tunisian cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). **Food Chem**, v. 194, p.1048–1055, 2016.

KENDALL, A. C.; NICOLAOU, A. Bioactive lipid mediators in skin inflammation and immunity. **Progress in Lipid Research**, v. 52, p. 141–164, 2013.

KHNYKIN, D.; MINER, J.H.; JAHNSEN, F. Role of fatty acid transporters in epidermis Implications for health and disease. **Dermatoendocrinol**, v. 3, n.2, p. 53-61, 2011.

KI, M.D.V.; ROTSTEIN, M.D.F.R.C.P.C. Bacterial skin and soft tissue infections in adults: A review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care. **Can J Infect Dis Med Microbiol.**, v. 19, n. 2, p. 173–184, 2008.

KIM, S.; REQUEJO, K. I.; NAKAMATSU, J.; GONZALES, K. N.; TORRES, F. G.; CAVACO-PAULO, A. Modulating antioxidant activity and the controlled release capability of laccase mediated catechin grafting of chitosan. **Process Biochemistry**, v. 59, p. 65–76, 2017.

KIM, D.J.; MUSTOE, T.; CLARK, R.A.F.; Cutaneous wound healing in aging small mammals: a systematic review. **Wound Repair. Regen.**, v. 33, n. 3, p. 318-339, 2015.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. *Imunologia de Kuby*. 6. ed. Trad.: Ana Cristina Arámburu da Silva [et al]. Porto Alegre: **Artmed**, 2008.

KIOKA, N.; ITO, T.; YAMASHITA, H. et al. Crucial role of vinexin for keratinocyte migration in vitro and epidermal wound healing in vivo. **Experimental Cell Research**, v. 316, n. 10, p. 1728–1738, 2010.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews. Immunology**, v, 13, p. 159-175, 2013.

KOVÁČ, I., ĎURKÁČ, J., HOLLÝ, M., JAKUBČOVÁ, K., PERŽELOVÁ, V., MUČAJI, P.; GÁL, P. *Plantago lanceolata* L. water extract induces transition of fibroblasts into myofibroblasts and increases tensile strength of healing skin wounds. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 1, p. 117–125, 2015.

KUMAR, S.; PANDEY, A.K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, v. 16, 2013.

KUJATH, P.; MICHELSEN, A. Wounds - from physiology to wound dressing. **Dtsch Arztebl Int.**, v. 105, n. 13, p. 239–48, 2008.

KULAC, M.; AKTAS, C.; TULUBAS, F.; UYGUR, R.; KANTER, M.; ERBOGA, M.; CEBER, M.; TOPCU, B.; OZEN O.A. The effects of topical treatment with curcumin on burn wound healing in rats, **Journal of Molecular Histology**, v. 44, v 1, p. 83–90, 2013.

LABIENIEC, M.; GABRYELAK, T. FALCIONI, G. Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel *Unio tumidus*. **Mutation Research**, v. 539, p. 19–28, 2003.

LAI, R.; XIAN, D.; XIONG, I.; YANG, L.; SONG, J.; ZHONG, J. Proanthocyanidins: novel treatment for psoriasis that reduces oxidative stress and modulates Th17 and Treg cells. *Redox Rep.*, v. 23, p. 130-135, 2018.

LAMEL, S.; KIRSNER, R.S. New approaches to enhanced wound healing: Future modalities for chronic venous ulcers. **Drug Discov Today**, v.10, p.71–77, 2013.

LANIA, B. G.; MORARI, J.; SOUZA, A. L.; SILVA, M. N.; ALMEIDA, A. R., VEIRA-DAMIANI, G.; VELHO, P. E. N. F. Topical use and systemic action of green and

roasted coffee oils and ground oils in a cutaneous incision model in rats (*Rattus norvegicus albinus*). **PLoS ONE**, v.12, n.12, 2017.

LANDÉN, N.X.; LI, D.; STÁHLE, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 73, p.3861–3885, 2016.

LAPPI, H.; ALÉN, R. Pyrolysis of vegetable oil soaps – Palm, olive, rapessed and castor oils, **Journal of Analytical Applied Pyrolysis** v.91, p.154–158, 2011.

LAU, K.; PAUS, R.; TIEDE, S.; DAY, P.; BAYAT, A. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. **Experimental dermatology**, v. 18, n. 11, p. 921-933, 2009.

LAUFFENBURGER, D.A.; HORWITZ, A.F. Cell migration: a physically integrated molecular process. **Cell**. v. 9, n. 84, p. 359-69, 1996.

LEE, L.; KWON, H.; BANG, B.; LEE, Y.; PARK, M.; KIM, T.; LEE, K.; MOON, H.; CHO, Y. Grape Seed Proanthocyanidin Extract Attenuates Allergic Inflammation in Murine Models of Asthma. **Journal of Clinical Immunology**, v. 32, p. 1292–1304, 2012.

LEE, K.; LEE, B.; LEE, M.H.; KIM, B.; CHINANNAI, K.S.; HAM, I.; CHOI, H.Y. Effect of *Ampelopsis Radix* on wound healing in scalded rats. **BMC Complement Altern Med**. v. 15, p.1-9. 2015.

LEE, S.; NA, K. Oleic acid conjugated polymeric photosensitizer for metastatic cancer targeting in photodynamic therapy. **Biomaterials Research**, v. 24, n. 1, 2020.

LI, B.; WANG, J.H. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: Force generation and measurement. **Journal of Tissue Viability**, v. 20, n. 4, p. 108-120, 2011.

LI, H.-B.; WONGA, C.-C.; CHENGA, K.-W.; CHEN, F. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. **LWT**, v.41, p. 385–390, 2008.

LI, H.; DEINZER, M.L. The mass spectral analysis of isolated hops A-type proanthocyanidins by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **J. Mass Spectrom.**, v. 43, p. 1353-1363, 2008.

LI, Q.; ESTES, J. D.; SCHLIEVERT, P. M.; DUAN, L.; BROSNAHAN, A. J.; SOUTHERN, P. J.; REILLY, C. S.; PETERSON, M. L.; SCHULTZ-DARKEN, N.; BRUNNER, K. G.; NEPHEW, K. R.; PAMBUCCIAN, S.; LIFSON, J. D.; CARLIS, J. V.; HAASE, A. T. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission. **Nature**, v. 458, n. 7241, p. 1034–1038, 2009.

LI, W.G. XU, T.L. Acid-sensing ion channels: a novel therapeutic target for pain and anxiety. **Curr. Pharm. Des.**, v. 21, p. 885-894, 2015.

LI, L.; WANG, M.; YUAN, T.; XU, X. et al. The crude ethanol extract of *Periplaneta americana* L. stimulates wound healing in vitro & in vivo. **Chin Med.**, v. 14, n. 33, 2019.

LIANG, Y.; ZHAO, X.; HU, T.; HAN, Y.; GUO, B. Mussel-inspired, antibacterial, conductive, antioxidant, injectable composite hydrogel wound dressing to promote the regeneration of infected skin, **J Colloid Interface Sci**, v. 556, p. 514-528, 2019.

LIEBERMAN, SHARI; ENIG, MARY G.; PREUSS, HARRY G. A Review of Monolaurin and Lauric Acid: Natural Virucidal and Bactericidal Agents. **Alternative and Complementary Therapies**, v. 12, n. 6, p. 310–314, 2006.

LIMA, J. R.O.; SILVA, R. B.; SILVA, C. C. M.; SANTOS, L. S. S.; SANTOS JR., MOURA, E. M.; MOURA, C. V. R. Biodiesel de babaçu (*Orbignya sp.*) obtido por via etanólica. **Quim. Nova**, v. 30, n.3, p.600-603, 2007.

LIMA, C.G. VILELA, A.F.G.; SILVA, A.A.S.; PAINNOVSKI, A.R.; SILVA, K.K.; CARVALHO, V.F.M.; MUSIS, C.R.; MACHADO, S.R.P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões o/a contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleífera*). *Rev. Bras. Farmácia*, v. 89, p. 240-245, 2008.

LIMA, G.S. et al. Antileishmanial Activity and Trypanothione Reductase Effects of Terpenes from the Amazonian Species *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae). **Phytomedicine**, v. 22, p. 1133-1137, 2015.

LIMA-SALGADO, T.M.; ALBA-LOUREIRO, T.C.; NASCIMENTO, C.S.; NUNES, M.T.; CURI, R. Molecular mechanisms by which saturated fatty acids modulate TNF- $\alpha$  expression in mouse macrophage lineage. **Cell Biochem Biophys**, v. 59, n. 2, p.89-97, 2011.

LIN, T.; ZHONG, L.; SANTIAGO, J.L. Anti-Inflammatory, and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, n. 70, 2018.

LIU, C.J.; LIN, J.Y. Anti-inflammatory effects of phenolic extracts from strawberry and mulberry fruits on cytokine secretion profiles using mouse primary splenocytes and peritoneal macrophages. **Int Immunopharmacol.**, v. 16, n. 2, p. 165-170, 2013.

LIU, Y. Z.; CAO, Y. G.; YE, J. Q.; WANG, W. G.; SONG, K. J.; WANG, X. L.; DENG, X. M. Immunomodulatory effects of proanthocyanidin A-1 derived in vitro from *Rhododendron spiciferum*. *Fitoterapia*, v. 81, n 2, p. 108–114, 2010.

LOPES, G.S.; SILVA, F.L.F.; GRINBERGB, P.; STURGEONB, R.E. An Evaluation of the Use of Formic Acid for Extraction of Trace Elements from Brazil Nut and Babassu Coconut and Its Suitability for Multi-Element Determination by ICP-MS.

LORDANI, T.V.A.; LARA, C.E.L.; FERREIRA, F.B.P. et al. Therapeutic Effects of Medicinal Plants on Cutaneous Wound Healing in Humans: A Systematic Review, **Mediators of Inflammation**, v. 2018, 2018.

LORENZI, H.; NOBLICK, L.; KAHN, F. Flora Brasileira - Arecaceae (Palmeiras). **Nova Odessa**, SP: Instituto Plantarum, 2010.

LUCEY, P.; GOLDBERG, D. J. Complications of collagen fillers. **Facial Plast Surg**, v. 30, p. 615-22, 2014.

MA, Y.; DING, S.; FEI, Y.; LIU, G.; JANG, H.; FANG, J. Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Food Control*, v. 106, 2019.

MACFARLANE, R.G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biological amplifier. *Nature*. v. 202, p.498-499, 1964.

MACHADO, G.C., CHAVES, J.B.P., ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. *Revista Ceres*, v.53, n.308; p.463-470. 2006.

MACHADO, S.S.C. Lipopolissacarídeo (LPS): ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NFκB. *Revista da biologia*, v. 4, 2010.

MACK, M.C.C.; MAO, G.; S.A.A.D., P.; FLACH, C.R.; MENDELSON, R.; WALTERS, R.M. Molecular interactions of plant oil components with stratum corneum lipids correlate with clinical measures of skin barrier function. *Exp. Dermatol.* v. 23, p. 39–44, 2014.

MACLEOD, A.S.; RUDOLPH, R.; CORRIDEN, R.; YE, I.; GARIJO, O.; HAVRAN, W.L. Skin-resident T cells sense ultraviolet radiation-induced injury and contribute to DNA repair. *Journal of Immunology*, v. 192, p.5695-5702, 2014.

MAIA, M.B.S.; RAO, V.S. Anti-inflammatory activity of *Orbignya phalerata* in rats. *Phytotherapy Research* v.3, p. 170–174. 1989.

MAIA, M.B.S. Estudo de atividade antiinflamatória e outros efeitos farmacológicos relacionados de *Orbignya phalerata* Mart. [Dissertação–Mestrado]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fisiologia e Farmacologia; 1987

MAGALHÃES, M.S.F.; FECHINE, F.V.; MACEDO, R.N.; MONTEIRO, D.L.S.; OLIVEIRA, C.C.; BRITO, G.A.C.; MORAES, M.E.A.; MORAES, M.O. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. *Acta Cir Bras*. v. 23, n. 3, 2008.

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

MANHEZI, A.C.M.; MÁR, M., MARIA MÁRCIA BACHION, M.M.; PEREIRA, A.L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. *Rev Bras Enferm*, v. 61, n. 5, p. 620-9, 2008.

MANIGLIA, B.C.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R. Isolation and characterization of starch from babassu mesocarp. *Food Hydrocolloids*, v. 55, p. 47-55, 2016.

MANSSON, P., ZHANG, X.W., JPPSSON, B., THORLACIUS H. Anastomotic healing in the rat: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *International Journal Colorectal Disease*. v.17, p.420-425, 2002.

- MANUEL, J.A.; KOZAK, B.G. Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) is upregulated during scarless wound healing in athymic nude mice. **Matrix Biol.** v. 25, n. 8, p.505-514. 2006
- MARKS, J.G.; LOOKINGBILL, M. Principles of Dermatology. Elsevier Inc., 2013.
- MARQUES, L.R.C.; ETO, A.Y.; PIISCHE, V.A.A. Curativo de Mediastinite. **Revista Nursing.** v.5, n.55, p. 23-27, 2002.
- MARTINI, W.S.; PORTO, B.L.S.; OLIVEIRA, M.A.L.; SANT'ANA, A.C. Comparative study of the lipid profiles of oils from kernels of peanut, babassu, coconut, castor, and grape by GC-FID and raman spectroscopy. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 29, n. 2, 2018.
- MARTINS, E.S.R.; CERATTI, J.C.; MARTINS, F.S.; PEREIRA, A.D.A.; SILVA, A.P.T.; BOECK, C.R.; SILVA, S.C. Efeitos da ação dos ácidos graxos na pele sadia por biometria cutânea. *Revista enfermagem atual*, 2017.
- MARTINS, N.L.P.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J.M.; HEIBEL, M; BALDEZ, R.N.; VASCONCELOS, P.R.L.; MOREIRA, H.; MAZZA, M.; MASSIF, P.A.N.; WALLBACH, T.Z. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), 2006.
- MARTINS, J.D.G.R.; MELO, J.G.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U. P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculushippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasileira**. v. 21, n. 1, p. 27-36. 2007.
- MAUER, J.; CHAURASIA, B.; GOLDAU, J.; VOGT, M.C.; RUUD, J.; NGUYEN, K.D. et al.. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin. **Nat. Immunol.**, 15 (2014), pp. 423-430
- MAULIK, N.; MCFADDEN, D.; OTANI, H.; THIRUNAVUKKARASU, M.; PARINANDI, N.L. Antioxidants in Longevity and Medicine. **Oxid Med Cell Longev.**, v. 2013, 2013.
- MCDougall, S.; DALLON J.; SHERRATT, J.; MAINI, P. Fibroblast migration and collagen deposition during dermal wound healing: mathematical modelling and clinical implications. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 364, p. 1385-405, 2006.
- MEDEIROS, A.C; FILHO, A.M.D. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical Research**, v.7, n.2, p. 87-102, 2016.
- MELLO, J.C.P.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ª ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2001.1104p
- MELO, C.M.L.; CASTRO, M.C.A.B.; OLIVEIRA, A.P.; GOMES, F.O.S.; PEREIRA, V.R.A.; CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy research phytother**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.

MELO, J.I.M. Flora do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil: Boraginaceae sensu lato. **Biotemas**, v. 25, n.4, p. 109-120, 2012.

MIN, W., LI, T., MA, X., LI, Z., YU, T., GAO, D., ZHANG, B., YUN, Y., SUN, X. Monoamine transporter gene polymorphisms affect susceptibility to depression and predict antidepressant response. **Psychopharmacology**. v. 205, p. 409–417, 2009.

MINATEL, D.G. et al. Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. **Revista Brasileira de Medicina**, v.67, n.7, p.250-256, 2010.

MOALLA REKIK, D., BEN KHEDIR, S., KSOUDA MOALLA, K., KAMMOUN, N. G., REBAI, T.; SAHNOUN, Z. Evaluation of wound healing properties of grape seed, sesame, and fenugreek oils. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2016.

MOCH, D.; SHEVA, T.; HEIHN, H.; SCHIMIDT, D.; BUNTROC, P. The linoleic acid metabolite 2 Ds-hidroxi-10 (E-Z): octadecadienoic acid is a strong, proinflammatory mediator in a experimental wound healing model of the rat. *Biom Biochem Acta*. v. 49, p. 201-207, 1990.

MOHD, J.; YUSSOF, S.; OMAR, E.; PAI, D.R.; SOOD, S. Cellular events and biomarkers of wound healing. **Indian Journal of Plastic Surgery**, v. 45, n. 2, p. 220, 2012.

MONTASERI, M.; EZADI, Z.; EZADI, M.; SOHRABI M. Examine some quality characteristics of grape seed oil and its effects on human health. **The second national Conference on Functional Food (Amalgar)**. 2008.

MONTESANO, R.; ORCI, L. Transforming growth factor b stimulates collagen-matrix contraction by fibroblasts: implications for wound healing. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 85, p. 4894-4897, 1988.

MONTOYA T, CASTEJÓN ML, SÁNCHEZ-HIDALGO M, GONZÁLEZ-BENJUMEA A1, FERNÁNDEZ-BOLAÑOS JG, ALARCÓN DE-LA-LASTRA C. Oleocanthal Modulates LPS-Induced Murine Peritoneal Macrophages Activation via Regulation of Inflammasome, Nrf-2/HO-1, and MAPKs Signaling Pathways. **J Agric Food Chem**. v. 15, n. 67, p.5552-5559, 2019.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 4, 2004.

MOREIRA, N.X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutrire: Rev Soc Bras Aliment**. v. 24, p. 105-23, 2002.

MORETTI-NETO, R.T.; MELLO, I.; MORETTI, A.B.; ROBAZZA, C.R.; PEREIRA, A.A. In vivo qualitative analysis of the biocompatibility of different cyanoacrylate-based adhesives. **Brazilian Oral Research**, v.22, n.1, p.43-47, 2008.

MOTA, M.M. DE P., ZUNIGA, A.D.G., PINEDO, A.A., CARREIRO, S.C. Desacidificação do óleo de babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.) pelo processo de extração líquido-líquido visando seu uso na produção de biodiesel. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 11, 2010.

MOSELEY, R.; STEWART, J.E.; STEPHENS, P.; WADDINGTON, R.J.; THOMAS, D.W. Extracellular matrix metabolites as potential biomarkers of disease activity in wound fluid: lessons learned from other inflammatory diseases? **Brit J. Dermatol.**, v. 150, n. 3, p. 401–413, 2004.

MOURA, C.V.R.; SILVA, B.C.; CASTRO, A.G.; MOURA, E.M.; VELOSO, M.E.C.; SITTOLIN, I.M.; ARAUJO, E.C.E. Caracterização Físico-Química de Óleos Vegetais de Oleaginosas Adaptáveis ao Nordeste Brasileiro com Potenciais para Produção de Biodiesel. **Rev. Virtual Quim**, v. 11, n. 3, 2019.

MOUSSA, F.; KAHN, F. Trois palmiers pour trois capitales amazoniennes. **Bulletin de l'Institut Français d'Etudes Andines**, v. 26, p. 1–9, 1997.

MRUE, F.; NETTO, J.C.; CENEVIVA, R.; LACHAT, J.J.; THOMAZINI, J.A.; TAMBELINI, H. Evaluation of The Biocompatibility of a New Biomembrane. **Materials Research**, v.7, n.2, p.277-283, 2004.

MUHAMMAD, A.A.; PAUZI, N.A.S.; ARULSELVAN, P.; ABAS, F.; FAKURAZI, S. In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from *Moringa oleifera* Lam. **BioMed Res Int**. 2013.

NAOZUKA, J.; VIEIRA, E. C.; NASCIMENTO, A. N.; OLIVEIRA, P. V. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chemical**, v.124, p. 1667, 2011.

NASCIMENTO, W.M.; MAIA FILHO, A.L.M.; COSTA, C.L.S.; MARTINS, M.; ARAÚJO, K.S.A. Estudo da resistência cicatricial cutânea de ratos tratados com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). **ConScientiae Saúde**, v.14, n.3, p.449-455. 2015.

NASCIMENTO, F.R.F.; BARROQUEIRO, E.S.B.; AZEVEDO, A.P.S.; LOPES, A.S.; FERREIRA, S.C.P.; SILVA, L.A.; MACIEL, M.C.G.; ROGRIGUEZ, D.; GUERRA, R.N.M. Macrophage activation induced by *Orbignya phalerata* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 53-58, 2006.

NASOPOULOU, C.; KARANTONIS, H. C.; DETOPOULOU, M.; DEMOPOULOS, C. A.; ZABETAKIS, I. Exploiting the anti-inflammatory properties of olive (*Olea europaea*) in the sustainable production of functional food and nutraceuticals. **Phytochemistry Reviews**, v.13, n.2, p.45–458, 2014.

NAUTA, A.; GURTNER, G. C.; LONGAKER, M. T. Wound healing and regenerative strategies. **Oral diseases**, v. 17, n. 6, p. 541-549, 2011.

NAVARRO, M.; MOREIRA, I.; ARNAEZ, E.; QUESADA, S.; AZOFEIFA, G.; ALVARADO, D.; MONAGAS, M.J. Proanthocyanidin Characterization, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Three Plants Commonly Used in Traditional Medicine in Costa Rica: *Petiveria alliacea* L., *Phyllanthus niruri* L. and *Senna reticulata* Willd. **Plants (Basel)**, v. 6., n.4, 2017.

NAVARRO, V.P.; NELSON-FILHO, P.; SILVA, L.A.; FREITAS, A.C. A participação das metaloproteinases da matriz nos processos fisiopatológicos da cavidade bucal. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 35, n. 4, p. 233-38, 2006.

NAYAK, S. B.; ISIK, K.; MARSHALL, J. R. Wound-healing potential of oil of *Hypericum perforatum* in excision wounds of male Sprague Dawley rats. **Advances in Wound Care**, v.6, n.2, p.401–406, 2017.

NAYAK, B.S.; MOHAN, K. Influence of ethanolic extract of *Jasminum grandiflorum* linn flower on wound healing activity in rats. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.51, n.2, p.189-194, 2007.

NEEL, H.B. Implants of Gore-Tex. **Archives Otolaryngology**, v.109, p.427-33, 1983.

NERY, R.A.; KAHLOW, B.S.; SKARE, T.L.; TABUSHI, F.I.; CASTRO, A.A. Ácido úrico e reparação tecidual. **Arq Bras Cir Dig**. v. 28, p.290-292, 2015.

NEVES, S.C; RIBEIRO, L.M.; CUNHA, I.R.G.; PIMENTA, M.A.S.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; LOPES, P.S.N. Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Attalea vitrivir*). **Flora**, v.208, n.1, p.68-78, 2013.

NEWMAN, R.G.; KITCHELL, B.E.; WALLIG, M.A.; PARIA, B. The cloning and expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 2 in normal canine lymph nodes and in canine lymphoma. **Res Vet Sci**. v. 84, n. 2, p. 206-214, 2008.

NOBLICK, L. R. *Syagrus evansiana*, a new palm from Minas Gerais. Brazil. **Palms**, v. 53, n. 113–118, 2009.

NONATO, R.C.; FERREIRA, P.R.B.; SÁ, L.L.F.; OLIVEIRA, F.A.; NUNES, L.C.C.; ALBUQUERQUE, W.F. Composição centesimal e fitoquímica do mesocarpo de babaçu (*Orbignya* sp) de regiões do Piauí e Maranhão. Biofar, **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 9, n. 2, p. 130-138, 2013.

NORRIS, P.C.; GOSELIN, D.; REICHART, D.; GLASS, C.K.; DENNIS, E.A. Phospholipase A2 regulates eicosanoid class switching during inflammasome activation. **PNAS**, v. 111, p. 12746–12751, 2014.

NOVELLO, C.R. et al. Morphoanatomy and pharmacognostic study of the wood of *Croton echinoides*, the Northeastern Marapuama. **Rev. Bras. Farmacognos.**, v. 22, n. 5, p. 946-956, 2012.

OKUDAN, N.; BARIŞKANER, H.; GÖKBEL, H.; ŞAHİN, A.S.; BELVIRANLI, M.; BAYSAL, H. The effect of supplementation of grape seed proanthocyanidin extract on vascular dysfunction in experimental diabetes. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 11, 2011.

OLCZYK, P.; MENCNER, L.; KOMOSINSKA-VASSEV, K. The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

OLIVEIRA, A.I.T.; DA SILVA, J.F.M.; PIMENTA, R.S.; DE MORAIS, P.B.; MAHMOUD, T.S.; DO NASCIMENTO, G.N.L. Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Palm Leaf Extracts from Babacu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), and Macauba (*Acrocomia aculeata*) **The Scientific World Journal**. 2016.

OLIVEIRA, I.V.P.M.; DIAS, R.V.C.; CALADO, E.B.; Rivaldo Bruno Medeiros de LUCENA, R.B.M.; COSTA, A.L.F.; SAKAMOTO, S.M.; PIMENTEL, M.M.L. Avaliação cicatricial macroscópica da vagem e da casca do jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. Var. *Ferrea*) em lesões cutâneas em asininos (*Equus asinus*). **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.2, p.129-135, 2014.

OLIVEIRA, L.R.; NEVES, J.A.; SILVA, M.J.M. Avaliação da qualidade físico-química do óleo bruto da amêndoa de babaçu (*Orbignya* spp). **Comunicata Scientiae**, v. 4, n.2, p. 161-167, 2013.

OLIVEIRA, C.M.B.; TSA, R.K.S.; ISSY, A.M.; GEROLA, L.R.; SALOMÃO, R. Citocinas e Dor. **Rev Bras Anestesiol.**, v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIN, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BACHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais de antioxidantes. **Química Nova**. v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, C.G. Proposta de modelagem transiente para a clarificação de óleos vegetais: Experimentos cinéticos e simulação do processo industrial. 144f. (**Dissertação de Mestrado**) - **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, Brasil. 2001.

OVALLC, W.K.; NAHIRNCY, P.C. Netter's essential histology. **Elsevier Health Sciences**, 2013.

PARENTE, L.M.L.; JÚNIOR, L.; DE SOUZA, R.; TRESVENZOL, L.M.F. et al. Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of pot marigold growing in Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012.

PARENTE, L.M.L. et al. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.383-391, 2009.

PARENTE, L.M.L. et al. Angiogenic activity of *Calendula officinalis* flowers L. in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.26, n.1, p.19-24, 2011.

PARK, S.A.; RAGHUNATHAN, V.K.; SHAH, N.M.; TEIXEIRA, L.; MOTTA, M.J.; COVERT, J. et al. PDGF-BB does not accelerate healing in diabetic mice with splinted skin wounds. **PLoS ONE**, v. 9, 2014.

PATZELT, A.; LADEMANN, J.; RICHTER, H.; DARVIN, M.E.; SCHANZER, S.; THIEDE, G.; STERRY, W.; VERGOU, T.; HAUSER, M. *In vivo* investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier. **Skin Res. Technol**. v. 18, p. 364–369, 2012.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; GOMES, T.L.B.; CARDOSO, K.C.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia* L.) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.4, p.586-591, 2012.

PENSA/USP. Programa de Estudos dos Negócios Agroindustrial. Reorganização do agronegócio do babaçu no Estado do Maranhão - Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da USP- **Grupo PENSA**. 2000.

PEREIRA, V.S.; CREAN, J.; BORGES, V.R.A.; RODRIGUES, C. R.; TAJBER, L.; BOYLAN, F.; CABRAL, L. M. **International Journal of Nanomedicine**. v. 8, p. 3129-3139, 2012.

PEREIRA, L.M.; HATANAKA, E.; MARTINS, E.F. Effect of oleic and linoleic acids on the inflammatory phase of wound healing in rats. **Cell Biochem Funct**, v.26, p.197-204. 2008.

PEREIRA, A.L.; BACHION, M.M. Tratamento de feridas: análise da produção científica publicada na Revista Brasileira de Enfermagem de 1970-2003. **Rev Bras Enferm** v. 58, n. 2, p. 208-13, 2005.

PEKAL, A.; PYRZYNSKA, K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. **Food Anal. Methods**, v. 7, p. 1776–1782, 2014.

PESSOA, R.; FRANÇA, E.; RIBEIRO, E.; LANES, P.; CHAUD, N.; MORAES, L.; HONORIO-FRANÇA, A. Microemulsion of babassu oil as a natural product to improve human immune system function. **Drug Des. Devel Ther**. v. 2015, p. 21-31, 2014.

PETTINE, M.; CASENTINI, B.; MASTROIANNI, D.; CAPRI, S.; **Anal. Chim. Acta**, v. 599, p. 191, 2007.

PIEPER B, CALIRI MH. Nontraditional wound care: A review of the evidence for the use of sugar, papaya/papain, and fatty acids. **J Wound Ostomy Continence Nurs.**, v. 30, p.175–183, 2003.

PIETRO, P., PINEDA, M., AGUILAR, M. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**. v. 69, n.2, p. 337–341, 1999.

PINHEIRO, M.M.G.; BOYLAN, F.; FERNANDES, P.D. Antinociceptive effect of the *Orbignya speciosa* Mart. (Babassu) leaves: Evidence for the involvement of apigenin. **Life Sciences** v. 91, p. 293–300, 2012.

PINTAUD, J. C.; ANTHELME, F. Ceroxylon echinulatum in an agroforestry system of northern Peru. **Palms**, v. 52, p. 96–102, 2008.

PIRIZ, M.A.; LIMA, C.A.B.; JARDIM, V.M.R.; MESQUITA, M.K.; SOUZA, A.D.Z.; HECK, R.M. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, n.3, p.628-636, 2014

PONTES, L.P.P.; GODINHO, J.M.F.; MORAES, E.; ARRUDA, D.S.; ALMEIDA, C.S.C.; PINTO, M.C.; COSTA, G.C.; GUERRA, R.N.M.; TORRES, L.M.B.; OLIVEIRA, V. F. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 34, p. 585-594, 2016.

POUTSMA, M.L. Fundamental reactions of free radicals relevant to pyrolysis reactions, **Journal Analytical Applied Pyrolysis** v.54, p.5–35, 2000.

POLJŠAK, N.; KREFT, S.; GLAVAC, N. K. Vegetable butters and oils in skin wound healing: Scientific evidence for new opportunities in dermatology. **Phytotherapy Research**, p. 1–16, 2019.

PRADHAN, P.; GIRI, J.; BANERJEE, R. BELLARE, J.; BAHADUR, D. Cellular interactions of lauric acid and dextran-coated magnetite nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 311, n. 1, p. 282-287, 2007.

PREETHI, K.C.; KUTTAN, R. Wound healing activity of flower extract of calendula *Officinalis*. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v.20, n. 1, p. 73-80, 2009.

PRISACARU, A.E. Effect of antioxidants on polyunsaturated fatty acids - review. **Acta Sci Pol Technol Aliment.**, v. 15, n. 2, p. 121-129, 2016.

QUEIROGA, V. P.; GIRÃO, E.G.; ARAÚJO, I.M.S.; GONDIM, T.M.S.; FREIRE, R.M.M.; VERAS, L.G.C. Composição centesimal de amêndoas de coco babaçu em quatro tempos de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.17, n.2, p.207-213, 2015.

QUEGE, G.E.; BACHION, M.M.; SOUZA, R.; JUNIOR, L.; LIMA, A.B.M.; FERREIRA, P.S; SANTOS, Q.R.; PIMENTA, F.C. Comparação da atividade de ácidos graxos essenciais e biomembrana na microbiota de feridas. **Rev. Enf UFRJ**. v.10, n.4,p. 890-905, 2008.

RAJAN, S.S.; SRINIVASAN, M.; TATU, B.U. Endoplasmic reticulum (ER) stress & diabetes, *Ind. J. Med. Res.*, v. 125, p.411-424, 2007.

RAM, M.; SINGH, V.; KUMAWAT, S.; KUMAR, D.; LINGARAJU, M.C.; SINGH, T.U. et al. Deferoxamine modulates cytokines and growth factors to accelerate cutaneous wound healing in diabetic rats. **Eur J Pharmacol**. v. 764, p. 9-21, 2015.

RAMIRO-PUIG, E.; CASTELL, M. Cocoa: antioxidant and immunomodulatory. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 714, p. 931-940, 2009.

RAPHAEL, K. R.; KUTTAN, R. Inhibition of experimental gastric lesion in inflammation by *Phyllanthus amarus* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 193-197, 2003.

RAUF, A.; IMRAN, M.; IZNEID, T.A.; HAQ, I.U.; NAZ, S.; SILVA, A.S.; SAEED, F. ANSAR, H.; SULERIA, R. Proanthocyanidins: A comprehensive review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 116, 2019.

RAVINDRANATHAN, P.; PASHAM, D.; BALAJI, U.; CARDENAS, J.; GU, J.; TODEN, S.; GOEL, A. Mechanistic insights into anticancer properties of oligomeric proanthocyanidins from grape seeds in colorectal cancer. **Carcinogenesis**, v. 39, n. 6, p. 767-777, 2018.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*, v. 49, n. 1, p. 35-43, 2012.

REIS, M.Y.F.A.; DOS SANTOS, S.M.; SILVA, D.R.; SILVA, M.V.; CORREIA, M.T.; NAVARRO, D.M.A.F.; SANTOS, G.K.N.; HALLWASS, F.; BIANCHI, O.; SILVA, A.G.; MELO, J.V.; MATTOS, A.B.; XIMENES, R.M.; MACHADO, G.M.; SARAIVA, K.L.A. Anti-Inflammatory Activity of Babassu Oil and Development of a Microemulsion System for Topical Delivery. **Evidence-Based Compl. and Altern. Med.**, p. 1 – 14, 2017.

RENISUS – Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS Espécies vegetais. DAF/SCTIE/MS. 2009. Acesso em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/07/renisus.pdf>>.

RENNÓ, M.N.; BARBOSA, G.M.; ZANCAN, P. Crude ethanol extract from babassu (*Orbignya speciosa*): cytotoxicity on tumoral and non-tumoral cell lines. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 80, no. 3, pp. 467–476, 2008.

RIBEIRO, L.M., SOUZA, P.P., RODRIGUES JR., A.G., OLIVEIRA, T.G.S., GARCIA, Q.S. Overcoming dormancy in macaw palm diaspores, a tropical species with potential for use as biofuel. **Seed Science and Technology**. 39, 303–317. 2011.

RIDDEL, J.R.; AOUIZERAT, B.E.J.P.; MIASKOWSKI, C.; LILICRAP, D.P. Theories of blood coagulation. **J Pediatr Oncol Nurs**. v. 24, n. 3), p. 123-31, 2007.

RIOS, J.L.; RECIO, M.C. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 80-84, 2005.

RISS, T.L.; BS, M.R.A.; MS, A.L.N.; DUELLMAN, S.; BENINK, H.A.; MS, T.J.W.; MINOR, L. Cell Viability Assays. **Assay Guidance Manual**. 2016.

RITTIÉ, L. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. **Journal of cell communication and signaling**, v. 10, n. 2, p. 103-120, 2016.

RIZK, M., WITTE, M.B., BARBUL, A. Nitric oxide and wound healing. **World J. Surg.**, v. 28, p. 301–306, 2004.

ROBERT, L.; ROBERT, A. M.; RENARD, G. Biological effects of hyaluronan in connective tissues, eye, skin, venous wall. **Role in aging. Pathologie-Biologie**. v. 58, p. 187-198. 2010.

ROCHA, D.Q.; BARROS, D.K.; COSTA, E.J.C.; SOUZA, K.S.; PASSOS, R.R.; VEIGA JÚNIOR, V.F.; CHAAR, J.S. Determinação da matéria-prima utilizada na produção do biodiesel adicionado ao diesel mineral através de monitoramento seletivo de íons. **Quim. Nova**, v. 31, n. 5, p. 1062-1066, 2008.

RODERO, M.P.; HODGSON, S.S.; HOLLIER, B.; COMBADIÈRE, C.; KHOSROTEHRANI K. Reduced IL-17a expression distinguishes a Ly6c lo

MHCIIhimacrophage population promoting wound healing. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, p. 783-792, 2013.

RODRIGUES, F.A.; PIMENTA, V.S.C.; BRAGA, K.M.S.; ARAÚJO, E.G. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia conhecer**, v.13 n.23, 2016

RODRIGUES, I.A.; ALVIANO, D.S.; GOMES, M.T.; SILVA, D.O.; ANTONIASSI, R.; SILVA, A.J.R.; BIZZO, H.R.; ALVIANO, C.S.; VERMELHO, A.B.; ROSA, M.S.S. In vitro anti-Leishmania amazonensis activity of the polymeric procyanidin-rich aqueous extract from *Syagrus coronata*. **J. Med. Plants Res.**, v. 5, p. 3781-3790, 2011.

ROJO, L.E.; VILLANO, C. M.; JOSEPH, G. et al. Wound-healing properties of nut oil from *Pouteria lucuma*. **J. of Cosmetic Derm.**, v. 9, n. 3, p. 185–195, 2010.

ROSA, A.S.; BANDEIRA, L.G.; MONTE-ALTO-COSTA, A.; SOUZA, B.R. Supplementation with olive oil, but not fish oil, improves cutaneous wound healing in stressed mice. **Wound Repair Regen**, v. 22, p. 537–547, 2014.

ROSE, D.P.; CONNOLLY, M.; LIY, X.H. Effects of linoleic acid on the growth and metastasis of two human breast cancer cell lines in nude mice and the invasive capacity of these cell lines in vitro, **Cancer Research**, v. 54, p. 6557– 6562, 1994.

ROSENTAL, F.R.T., ESPÍNDOLA, A.M.C. O amido do coco de Babaçu, algumas propriedades das grânulas e das pastas. **Revista Brasileira Tecnologia**. 1975: 6-29, 1975.

ROUBELAKIS, M.G.; TROHATOU, O.; ROUBELAKIS, A.; MILI, E.; KALAITZOPOULOS, I.; PAPAZOGLU, G.; PAPPA, K.I.; ANAGNOU, N.P. Platelet-rich plasma (PRP) promotes fetal mesenchymal stem/stromal cell migration and wound healing process. **Stem Cell Review and Reports**, v. 10, p. 417-28, 2014.

RUFINO, M.U.L.; COSTA, J.T.M.; SILVA, V.A.; ANDRADE, L.H.C. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 22, p. 1141-1149, 2008.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZJIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.G. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP) **Comunicado técnico on line EMBRAPA Agroindústria Tropical**, nº 125, 2006.

RUIVO, A. P. Envelhecimento Cutâneo: fatores influentes, ingredientes ativos e estratégias de veiculação. **Dissertação apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas**. p. 112. 2014.

SAAR, S. R. C. Considerações sobre infecções de feridas. In: BORGES, E.L.; SAAR S. R. C.; MAGALHÃES, M. B. B.; GOMES, F. S. L.; LIMA, V.L.A.N. Feridas: como tratar, 2ª ed. Belo Horizonte - MG: **Editara Coopmed Ltda**, p. 79-94, 2008.

SAGHAZADEH, S.; RINOLDI, C.; SCHOT, M.; KASHAF, S.S.; SHARIFI, F.; JALILIAN, E.; NUUTILA, K.; GIATSIDIS, G.; MOSTAFALU, P.; DERAKHSHANDEH, H.; YUE, K.;

SWIESZKOWSKI, W.; MEMIC, A.; TAMAYOL, A.; KHADEMHOSEINI, A. Drug delivery systems and materials for wound healing applications. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 127, p. 138-166, 2018.

SAGRILLO, M.R.; GARCIA, L.F.M.; SOUZA FILHO, O.C.; DUARTE, M.M.M.F. Tucumã fruit extracts (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) decrease cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human lymphocytes. **Food Chem.**, v. 173, p.741–748, 2015.

SALEEM, M.; NAZIR, M.; ALI, M.S.; HUSSAIN, H.; LEE, Y.S.; RIAZ, N.; JABBAR, A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. **Natural Product Reports**, v. 27, p. 238-254, 2010.

SAMUELSON, P. Tratado de histologia veterinária. **Elsevier Health Sciences**, 2011.

SANTOS, J.S. Estudo morfológico e morfométrico do processo de cicatrização em ratos Wistar adultos tratados com creme de óleo de rosa mosqueta. **Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Enfermagem pelo Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade de Brasília**. p. 78, 2016.

SANTOS, J.A.A.; SOUSA, M.F.A.M.; SILVA, E.L.V.; AGUIAR JÚNIOR, F.C.A. Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, n.3, supl. I, p.637-643, 2014.

SANTOS, R.R.M; CAVALLARI, M.M.; PIMENTA, M.A.S.; ABREU, A.G.; COSTA, M.R.; GUEDES, M.L. Population genetic structure of *Attalea vitrivir* Zona (Arecaceae) in fragmented areas of southeast Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.14, n.2, p.6472-6481, 2014.

SANTOS, D.S.; SILVA, I.G.; ARAÚJO, B.Q.; LOPES JÚNIOR, C.A.; MONÇÃO, N.B.N.; CITÓ, A.M.G.L.; SOUZA, M.H.S.L. Extraction and Evaluation of Fatty Acid Composition of *Orbignya phalerata* Martius Oils (Arecaceae) from Maranhão State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 24, n. 2, p. 355-362, 2013.

SARANDY, M.M.; NOVAES, RD, MATTA, S.L.P.; MEZENCIO, J.M.S.; SILVA, M.B.; ZANUNCIO, J.C.; GONÇALVES, R.V. Ointment of *Brassica oleracea* var. capitata matures the extracellular matrix in skin wounds of Wistar Rats. **Evid Based Complement Alternat Med**, p. 1-9, 2015.

SARKAR, S. K.; MARMER, B.; GOLDBERG, G.; NEUMAN, K. C. Single-molecule tracking of collagenase on native type I collagen fibrils reveals degradation mechanism. **Current Biology**, v. 22, n. 12, p. 1047–1056, 2012.

SCEMONS, D.; ELSTON, D. Nurse to nurse: cuidados com feridas em enfermagem. Porto Alegre: **AMGH**; 2011.

SCHAUSS, A.G.; WU, X.; PRIOR, R.L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D., KABABICK, J.P. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (acai). **J. Agric. Food Chem**, v. 54, p. 8598-8603, 2006.

SCHEIBE, C.L.; BARBOZA, L.E.D.; RIBAS-FILHO, J.M.; CZECZKO, N.G.; MALAFAIA, O.; RIBAS, F.M.; WENDLER, E.; TORRES, O.; LOVATO, F.C.; SCAPINI, J.G.S. *Schinus terebinthifolius raddi* (Aroeira) and *Orbignya phalerata* mart. (Babassu) effect in cecorrhaphy healing in rats. **Acta cirurgica brasileira**. v. 31, n. 6, p. 402-10, 2016.

SCHIRATO, G.V. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.149-154, 2006.

SCHMIDT, C.A. et al. Catechin derivatives from *Parapiptadenia rigida* with in vitro wound-healing properties. **Journal of Natural Products**, v. 73, n.12, p. 2035-2041, 2010.

SCHULTZ, G.S. et al. Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. **Wound Repair and Regeneration**, v. 19, n. 2, p. 134-148, 2011.

SCHULTZ, G. S.; WYSOCKI, A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. **Wound repair and regeneration**, v. 17, n. 2, p. 153-162, 2009.

SCHULTZ, G. S.; SIBBALD, R. G.; FALANGA, V.; et al. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. **Wound repair and regeneration**, v. 11, n. s1, p. S1–S28, 2003.

SEREZANI, A.P.M.; BOZDOGAN, G.; SEHRA, S.; WALSH, D.; KRISHNAMURTHY, P.; SIERRA POTCHANANT, E.A.; NALEPA, G.; GOENKA, S.; TURNER, M.J.; SPANDAU, D.F.; KAPLAN, M.H. IL-4 impairs wound healing potential in the skin by repressing fibronectin expression. **J Allergy Clin Immunol.**, v. 139, n. 1, p. 142-151, 2017.

SERGEANT, T.; PIRONT, N.; MEURICE, J.; TOUSSAINT, O.; SCHNEIDER, Y.J. Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. **Chemico-Biological Interactions**, 188: 659-667, 2010.

SERVIN, S.C.N. et al. Ação do extrato de *Jatropha gossypifolia* L. (pião roxo) na cicatrização de anastomose colônica: estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, supl.3, p.89-96, 2006.

SEUNG-HYUN, E.A.L.; PATAPOUTIAN, A. Merkel cells and neurons keep in touch, 2014.

SHAO, D.; DI, Y.; LIAN, Z.; ZHU, B.; XIAOGUANG XU, X.; GUO, D.; HUANG, Q.; JIANG, C.; KONG, J.; JUNLING SHI, J. Grape seed proanthocyanidins suppressed macrophage foam cell formation by miRNA-9 via targeting ACAT1 in THP-1 cells. **Food & Function**, 2020.

SHI, S.; STACHON, T.; SEITZ, B.; WAGENPFEIL, S.; LANGENBUCHER, A.; SZENTMÁRY, N. The Effect of Antiamoebic Agents on Viability, Proliferation and Migration of Human Epithelial Cells, Keratocytes and Endothelial Cells, In Vitro. **Current Eye Research**, p.1-9, 2018.

SHINGEL, K.I.; FAURE, M.P.; AZOULA, Y.L. Solid emulsion gel as a vehicle for delivery of polyunsaturated fatty acids: implications for tissue repair, dermal angiogenesis and wound healing. **J Tissue Eng Regen Med**. v. 2, p. 383-393, 2008.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V.B. Various treatment options for benign prostatic hyperplasia: a current update. **Saudi Journal for Health Sciences**, v. 1, n. 2, p. 1-8, 2012.

SIEBERT, N.; XU, W.; GRAMBOW, E.; ZECHNER, D.; VOLLMAR, B. Erythropoietin improves skin wound healing and activates the TGF- $\beta$  signaling pathway. **Lab Invest**, v. 91, p. 1753-1765, 2011.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D.P. Oxidative Stress, in: R.D. Kornberg (Ed.) **Annual Review of Biochemistry**, v. 86, p. 715-74, 2017.

SILVA, J.R.; BURGER, B.; KÜHL, C.M.C.; CANDREVA, T.; ANJOS, M.B.P.; RODRIGUES, H.G. Wound Healing and Omega-6 Fatty Acids: From Inflammation to Repair. P. 1-17, 2018.

SILVA, P.S.; LOPES, R.F.; SILVA, J.C.; SANTOS, W.B.; VERÍSSIMO, R.C.S.S.; BASTOS, M.L.A. Atividade citotóxica, antimicrobiana e cicatrizante do extrato da *Jatropha gossypifolia* L. **Revista de Enfermagem UFPE on-line**, v. 12, n. 2, p. 465-74, 2018.

SILVA, V.C.; BARBOZA, J.R.; DUTRA, R.P.; BATISTA, M.C.A.; VERAS, K.S.; GODINHO, J.W.L.S.; MESQUITA, J.W.C.; LUDMILLA SANTOS SILVA DE MESQUITA, L.S.S.; AMARAL, F.M.M.; RIBEIRO, M.N.S. Identification of Phenolic Compounds by LC/MS-MS and Antioxidant and Anti Tyrosinase Activities of the *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng. Mesocarp. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 1, p.268-276, 2017.

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

SILVA, A. O.; ALVES, A. D.; ALMEIDA, D. A. T.; BALOGUN, O. S.; OLIVEIRA, R. G.; AGUIAR, A. A.; SOARES, I. M.; MARSON-ASCÊNCIO, P. G.; ASCÊNCIO, S. D.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of anti-inflammatory and mechanism of action of extract of *Macrosiphonia ongiflora* (Desf.) Müll.Arg. **Journal of Ethnopharmacology**, v.154, p.319–329. 2014.

SILVA, A.P.S.; CERQUEIRA, G.S.; NUNES, L.C.C.; FREITAS, R.M. Effects of an aqueous extract of *Orbignya phalerata* Mart on locomotor activity and motor coordination in mice and as antioxidant in vitro. **Pharmazie**, v. 67, p. 260–263, 2012.

SILVA, C.G.; HERDEIRO, R.S.; MATHIAS, C.J.; PANEK, A.D.; SILVEIRA, C.S.; RODRIGUES, V.P.; RENNO, M.N.; FALCAO, D.Q.; CERQUEIRA, D.M.; MINTO, A.B.M.; NOGUEIRA, F.L.P.; QUARESMA, C.H.; SILVA, J.F.M.; MENEZES, F.S.; ELEUTHERIO, E.C.A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological research**, v. 52, n.3, p. 229-33, 2005.

SILVA, B.P.; PARENTE, J.P. An anti-inflammatory and immunomodulatory polysaccharide from *Orbignya phalerata*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 887-893, 2001.

SIMON, M.C.; BILAN, S.; NOWOTNY, B.; DICKHAUS, T.; BURKART, V.; SCHLOOT, N.C. Fatty acids modulate cytokine and chemokine secretion of stimulated human whole blood cultures in diabetes. **Clin Exp Immunol.**, v. 172, n. 3, p. 383-393, 2013.

SINNO, H.; PRAKASH, S. Complements and the wound healing cascade: an updated review. **Plastic surgery international**, v. 2013, 2013.

SLOMIANKA, L. Blue histology – Integumentary System. **Scholl of Anatomy and Human Biology – The University of Western Australia**, 2009.

SORRELL, J. M.; CAPLAN, A. I. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. **Journal of cell science**, v. 117, n.5, p. 667-675, 2004.

SOUZA, D. et al. Plantas medicinais: indicação de raizeiros para o tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Promoção à Saúde**, v. 29, n. 2, p. 197- 203, 2016.

SOUZA, M.V.; PINTO, J.O.; COSTA, M.B.M.; ALVES, A.S.; SILVA, M.O.; MARTINHO, K.O.; FIETTO, L.G. Expressão gênica do colágeno em ferida cutânea de equinos tratada com plasma rico em plaquetas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.34, n.3, p.233-240, 2014.

SOUZA, HSL; MONTEIRO, CAM; FIGUEREDO, PMS; NASCIMENTO, FRF; GUERRA, RNM. Ethnopharmacological use of babassu (*Orbignya phalerata* Mart) in communities of babassu nut breakers in Maranhão, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology** v. 133, p. 1-5, 2011.

STAPLETON, P. D., SHAH, S., AND HAMILTON-MILLER, J. M. T. Anti-Staphylococcus aureus activity and oxacillin resistance modulating capacity of 3- O-acylcatechins. **Int. J. Antimicrob.**, v. 24, p. 374–380, 2004.

STRATHEARN, K.E.; YOUSEF, G.G.; GRACE, M.H.; ROY, S.L.; TAMBE, M.A.; FERRUZZI, M.G.; QING-LI WU, Q.; SIMON, J.E.; LILA, M.A.M.; ROCHET, J.C. Neuroprotective effects of anthocyanin- and proanthocyanidin-rich extracts in cellular models of Parkinson's disease. **Brain Research**, v. 1555, p. 60-67, 2014.

SUDRE, K.J.F.; SANTOS, A.M.C.M.; MOREIRA, L.R.M.O. Avaliar a composição química do mesocarpo de babaçu (*Orbignya oleifera*) *in natura* no município Raposa – MA. **Eclética Química**, v. 39, p. 216-226, 2014.

SUN, B.; RICARDO-DA-SILVA, J.M.; SPRANGER, I. Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. **J. Agric. Food Chem.** v. 46, p. 4267–4274, 1998.

SZABO, C. Gasotransmitters in cancer: from pathophysiology to experimental therapy, **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 15, n. 3, p. 185–203, 2016.

TAGURI, T., TANAKA, T., KOUNO, I. Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, p. 2226–2235, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: **Artmed**. 820p. 2013.

TALEB, H.; MADDOCKS, S.E.; MORRIS, R.K.; KANEKANIAN, A.D. The antibacterial activity of date syrup polyphenols against *S. aureus* and *E. coli*. **Front Microbiol**, v. 7, p.1-9, 2016.

TALEKAR, Y.P.; TALEKAR, P.; KISHORI G. APTE, K.G. et al. Studies on wound healing potential of polyherbal formulation using in vitro and in vivo assays. **Journal of Ayurveda and integrative medicine**, v. 8, p. 73-81, 2017.

TAMURA, T.; OZAWA, M.; TANAKA, N.; ARAI, S.; MURA, K. *Bacillus cereus* response to a proanthocyanidin trimer, a transcriptional and functional analysis. **Curr. Microbiol.**, v. 73, p. 115-123, 2016.

TANAKA T, NARAZAKI M, KISHIMOTO T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, 2014.

TANAKA, K.A.; KEY, N.S.; LEVY, J.H. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. **Anesth. Analg.** v. 108, n 5, p. 1433-1446, 2009.

TANDY, D. C. Oilseed extraction. In: WAN, P. J. Introduction to fats and oils technology. Champaign, Illinois: **American il Chemists' Society**, 1991.

TEIXEIRA, J.; GASPAR, A.; GARRIDO, E.M.; GARRIDO, J.; BORGES, F. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. **BioMed Research International**, p. 11, 2013.

TEIXEIRA, M.A. Babassu – a new approach for an ancient Brazilian biomass. **Biomass Bioenergy**, v. 32, p. 857–864. 2008.

TELÓ, G.H.; SOUZA, M.S.; SCHAAN, B.D. Cross-cultural adaptation and validation to Brazilian Portuguese of two measuring adherence instruments for patients with type 1 diabetes. **Diabetol Metab Syndr**. v. 6, p.1-6, 2014.

THI, N.G.O.C.; TRAM, N.; TITORENKOVA, T.V.; BANKOVA, V.; HANDJIEVA N.V.; POPOV, S.S. *Crinum L.* (Amaryllidaceae). **Fitoterapia**, v. 73, p.183-208, 2002.

TIAN, Y.; YANG, C.; YAO, Q.; QIAN, L.; LIU, J.; XIE, X.; WANG, N. Procyanidin B2 Activates PPAR $\gamma$  to Induce M2 Polarization in Mouse Macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1-12, 2019.

TODOLI, J. S. In Liquid Sample Introduction in ICP Spectrometry – A Practical Guide; Todoli, J. S.; Mermet, J. M., eds.; Elsevier: New York, p. 147-190. 2008.

TONG, H.; SONG, X.; SUN, X.; SUN, G.; DU, F. Immunomodulatory and Antitumor Activities of Grape Seed Proanthocyanidins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, n. 21, p. 11543-11547, 2011.

TOWNSEND, J.R, C. et al. Sabiston textbook of surgery. **Elsevier Health Sciences**, 2012.

TSALA, D.E.; AMADOU, D.; HABTEMARIAM, S. Natural wound healing and bioactive natural products. *Phytopharmacology*, v. 4, n. 3, p. 532-560, 2013.

TSALA, D.E.; NGA, N.; THIERY, B.N.; BIENVENUE, T.; THEOPHILE, D. Evaluation of the antioxidant activity and the healing action of the ethanol extract of *Calotropis procera* bark against surgical wounds. **J Intercult Ethnopharmacol**, v. 4, p.64-69, 2014.

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 Complement Altern Med**, v. 14, p.1-8, 2014.

UPADHYAY, A.; CHATTOPADHYAY, P.; GOYARY, D.; MAZUMDER, P.M.; VEER, V. Topical application of *Cleome viscosa* increases the expression of basic fibroblast growth factor and type III collagen in rat cutaneous wound. **BioMed Research International**, p. 1-7, 2014.

VALE, A.; SILVA, M.C.P.; FORTES, T.F.; GUERRA, R.N. babassu oil: potential adjuvant in leishmaniasis. *Frontiers in Immunology*, v. 6, 2014.

VAN MEERLOO, J.; KASPERS, G. J. L.; CLOOS, J. Ian A. Cree (ed.), *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols*, Second Edition, **Methods in Molecular Biology**, v. 731, 2011.

VARGAS, N. R. C. et al. Plantas medicinais utilizadas na cicatrização de feridas por agricultores da região sul do RS. **Journal of Research: Fundamental Care Online**, v. 6, n. 2, 2014.

VASCONCELOS P.C.P.; KUSHIMA, H.; ANDREO, M.; HIRUMA-LIMA, C.A.; VILEGAS, W.; TAKAHIRA, R.K.; PELLIZZON, C.H. Studies of gastric mucosa regeneration and safety promoted by *Mouriri pusa* treatment in acetic acid ulcer model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, n°2, p. 293–301, 2008.

VAVRA, A.; HÁJEK, M.; SKOPAL, F. The removal of free fatty acids from methyl ester. **Renewable Energy**, v. 103, p. 695-700, 2017.

VAZ, J.S.; DEBONI, F.; AVEZEDO, M.J.; GROSS, J.L.; ELMANOVITZ, T. Importância da assistência de enfermagem no manejo de complicação relacionada ao cateter totalmente implantável. **Rev.Esc.Enf.USP**. v.45, n.2,p. 522-6, 2012.

VEDULA, S.R.; RAVASIO, A.; LIM, C.T.; LAUDOX B. Collective cell migration: a mechanistic perspective. **Physiology**, v. 28, n. 6, p. 370-379, 2013.

VEITH, A.P.; HENDERSON, K.; SPENCER, A.; SLIGAR, A.D.; BAKER, A.B. Therapeutic strategies for enhancing angiogenesis in wound healing. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, p. 1-138, 2018.

VÉROLLET, C.; CHARRIÈRE, G.M.; LABROUSSE, A.; COUGOULE, C.; CABEC, V.L.; MARIDONNEAU-PARINI, I. Extracellular proteolysis in macrophage migration: losing grip for a breakthrough. **European journal of immunology**, v. 41, n. 10, p. 2805-2813, 2011.

VERSTEEG, H.H.; HEEMSKERK, J.W.M.; LEVI, M.; REITSMA, P.H. New fundamentals in hemostasis. **Physiol Rev**. v. 93, p. 327–358, 2013.

VESTWEBER, D. How leukocytes cross the vascular endothelium. **Nature Reviews Immunology**, v.15, n. 11, p. 692-70, 2015.

VIEIRA, A. P.; SANTOS; N.R.; BORGES, J.H.S.; VINCENZI, M.P.A.; SCHMITZ, W.O. Ação dos flavonóides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina**, v. 29, n. 1, p. 65-74, 2008.

VIMALRAJ, S.; SUMANTRAN, V.N. Chatterjee, MicroRNAs: impaired vasculogenesis in metal induced teratogenicity, **Reprod. Toxicol.**, v. 70, p. 30–48, 2017.

VIMALRAJ, S.; BHUVANESWARI, S.; LAKSHMIKIRUPA, S.; JYOTHSNA, G.; CHATTERJEE, S. Nitric oxide signaling regulates tumor-induced intussusceptive-like angiogenesis, **Microvasc. Res.**, v. 119, p. 47–59, 2018.

VINHAL, J.O.; LIMA, C.F.; BARBOSA, L.C.A. Analytical pyrolysis of the kernel and oil of babassu palm (*Orbignya phalerata*). **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v.107, p.73-81, 2014.

VITORINO FILHO, R.N.L.; Uso de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas. **Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências Animal) – Universidade Federal do Piauí**, p. 66, 2011.

VITTORAZZI, C., ENDRINGER, D.C., ANDRADE, T.U., SCHERER, R., FRONZA, M. Antioxidant, antimicrobial and wound healing properties of *Struthanthus vulgaris*. **Pharm Biol.**, v. 54, p. 331–337, 2016.

WALLACE, F.A.; MILES, E.; EVANS, C.; STOK, T.E.; IAQOOB, P.; CALDER, P.C. Dietary fatty acids influence the production of Th1-but not Th2-type cytokines. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 69, n. 3, 2001.

WALLACE, A.R. Palm trees of the Amazon and their uses. **John van Voorst**: Londres. 1853.

WALTER, M.; WRIGHT, K.T.; FULLER, H.; MACNEIL, S.; JOHNSON, W.E.B. Mesenchymal stem cell-conditioned medium accelerates skin wound healing: An in vitro study of fibroblast and keratinocyte scratch assays. **Experimental cell research**, v. 316, n. 7, p. 1271-1281, 2010.

WANG, X.; GE, J.; TREDGET, E. E.; WU, Y. The mouse excisional wound splinting model, including applications for stem cell transplantation. **Nature protocols**, v.8, n.2, 2013.

WANG, R.; LECHTENBERG, M.; SENDKER, J.; PETEREIT, F.; DETERS, A.; HENSEL A. Wound-healing plants from TCM: in vitro investigations on selected TCM plants and their influence on human dermal fibroblasts and keratinocytes. **Fitoterapia**, v.84, p.308-317, 2013.

WANG, Y.; THOMAS, P.; ZHONG, J.; BI, F.; KOSARAJU, S.; POLLARD, A.; FENECH, M.; ZHOU, X. Consumption of Grape Seed Extract Prevents Amyloid- $\beta$  Deposition and Attenuates Inflammation in Brain of an Alzheimer's Disease Mouse. **Neurotoxicity Research**, v. 15, p. 3–14, 2009.

WAHEDI, H.M.; JEONG, M.; CHAE, J.K.; DO, S.G.; YOON, H.; KIM, S.Y. Aloesin from Aloe vera accelerates skin wound healing by modulating MAPK/Rho and Smad signaling pathways *in vitro* and *in vivo*. **Phytomedicine**, v. 28, p- 19-26, 2017.

WEN, W.; LU, J.; ZHANG, K.; CHEN, S. Grape Seed Extract Inhibits Angiogenesis via Suppression of the Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Signaling Pathway. **Cancer Prevention Research**, v. 1, p. 554-561, 2008.

WILGUS, T. A.; ROY, S.; MCDANIEL, J. C. Neutrophils and wound repair: positive actions and negative reactions. **Advances in wound care**, v. 2, n. 7, p. 379-388, 2013.

WITTE, M.B.; BARBUL, A. Role of nitric oxide in wound repair, **Am. J. Surg.**, v. 183, n. 4, p. 406–412, 2002.

WOO, Y.J.; JOO, Y.B.; JUNG, Y.O.; JU, J.H.; CHO, M.L.; OH, H.J.; JHUN, J.Y.; MI KYUNG PARK, M.K.; PARK, J.S.; KANG, C.M.; SUNG, M.S.; PARK, S.H.; KIM, H.Y.; MIN, J.K. Grape seed proanthocyanidin extract ameliorates monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 43, p. 561–570, 2011.

WU, Y. S; CHEN, S. N. Apoptotic cell: linkage of inflammation and wound healing. **Frontiers in pharmacology**, v. 5, p. 1, 2014.

WULFF, B. C.; WILGUS, T. A. Mast cell activity in the healing wound: more than meets the eye? **Experimental dermatology**, v. 22, n. 8, p. 507-510, 2013.

WYNN, T.A.; CHAWLA, A.; POLLARD, J.W. Macrophage biology in development, homeostasis, and disease. **Nature**, v. 496, p. 445-455, 2013.

YAGER, D.R., NWOMEH, B.C. The proteolytic environment of chronic wounds. **Wound Repair and Regeneration**, v. 7, p. 433–441, 1999.

YANG, L.; ZHENG, Z.; ZHOU, Q.; BAI, X.; FAN, L.; YANG, C.; SU, L.; HU, D. miR-155 promotes cutaneous wound healing through enhanced keratinocytes migration by MMP-2. **Journal of Molecular Histology**, v. 48, p. 147–155, 2017.

XIE, Z.; PARAS, C.B.; WEN, H.; PUNNAKITIKASHEM, P.; SUB, L.C.VUB, K.; et al. Dual growth factor releasing multi-functional nanofibers for wound healing. **Acta Biomater.** v. 9, p. 9351–9359, 2013.

XIONG, L.; CHEN, Y.; TONG, J.; HUANG, J.; LIA, J.;GONG, Y.; LIU, Z.H. Tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits *Escherichia coli* by increasing endogenous oxidative stress. **Food Chemistry**, v. 217, p. 196-204, 2017.

ZABCZYK, M.; BUTENAS, S.; PALKA, I.; NESSLER, J.; UNDAS, A. Active tissue factor and activated factor XI in circulation blood of patients with systolic heart failure due to ischemic cardiomyopathy. **Pol. Arch. Med. Wewn.** v. 120, n 9, p. 334-340, 2010.

ZAMBRANA, N.Y P.A.; BYG, J.C.; SVENNING, M.; MORAES, C.; GRANDEZ, H. Diversity of palm uses in the western Amazon. **Biodiversity and Conservation** v.16. p. 2771–2787, 2007.

ZANG, X.; SHANG, M.; XU, F.; LIANG, J.; WANG, X.; MIKAGE, M.; CAI, S. A-type proanthocyanidins from the stems of *Ephedra sinica* (Ephedraceae) and their antimicrobial activities. **Molecules**, v. 18, p. 5172-5189, 2013.

ZANWAR, A.A.; BADOLE, S.L.; SHENDE, P.S.; Hegde, M.V.; Bodhankar, S. Antioxidant Role of Catechin in Health and Disease. *Polyphenols in Human Health and Disease*, cap. 21, p.267-271, 2014.

ZHANG, Z.; WANG, F.; WANG, X.; LIU, X.; HOU, Y.; ZHANG, Q. Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity *in vitro*. **Carbohydrate Polymers**, 85: 118-121, 2010.

ZHAO, R.; LIANG, H.; CLARKE, E.; JACKSON, C.; XUE M. Inflammation in chronic wounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1-14, 2016.

ZHAO, Y.; GAO, L.; ZHANG, J.; GUO, J.; GUO, P. Grape seed proanthocyanidin extract prevents DDP-induced testicular toxicity in rats. **Food Funct.**, v. 5, p. 605-611, 2014.

## ANEXO A – APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UFPE



**Universidade Federal de Pernambuco**  
**Centro de Biociências**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 8350  
www.ccb.ufpe.br

Recife, 11 de agosto de 2016.

Ofício nº 79/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Rafael Matos Ximenes**

Departamento de Antibióticos

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.003137/2016-11

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação da atividade cicatrizante dos óleos fixos das sementes de *Attalea speciosa* Mart. (babaçu) a partir do seu uso etnomedicinal**”, registrada com o nº **23076.003137/2016-11**, sob a responsabilidade de Prof. **Rafael Matos Ximenes** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 31/05/2016.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Até 31/12/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos Wistar
Nº de animais	116
Peso/Idade	200-300g/50-60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição/CCS/UFPE

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carelli  
Presidente da CEUA / CCB - UFPE  
SIAPE 1801584