



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISILOGIA

FRANCISCO AMORIM DE BARROS

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DÉRMICA E ATIVIDADE CICATRIZANTE DE
EXTRATO AQUOSO DO CAULE DE *Pilosocereus gounellei* EM CAMUNDONGOS**

Recife

2024

FRANCISCO AMORIM DE BARROS

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DÉRMICA E ATIVIDADE CICATRIZANTE DE
EXTRATO AQUOSO DO CAULE *Pilosocereus gounellei* EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia.

Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão

Coorientador: Prof. Dr. Alisson Macário de Oliveira

Recife

2024

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Barros, Francisco Amorim de.

Avaliação da toxicidade dérmica e atividade cicatrizante de extrato aquoso do caule de *Pilosocereus gounellei* em camundongos. / Recife. – 2024.

77f. : il., fig. tab.

Orientador: Thiago Henrique Napoleão.

Coorientador: Alisson Macário de Oliveira.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e fisiologia, 2024.

1. Xique-xique. 2. Cactaceae. 3. Toxicidade dérmica. 4. Cicatrização. I. Napoleão, Thiago Henrique. (Orient.). II. Oliveira, Alisson Macário de (Coorient.). III. Título.

FRANCISCO AMORIM DE BARROS

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DÉRMICA E ATIVIDADE CICATRIZANTE DE
EXTRATO AQUOSO DO CAULE DE *Pilosocereus gounellei* EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia.

Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Aprovado em: 11/06/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão - Orientador
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Samuel Paulo Cibulski
Universidade Estadual da Paraíba

Prof. Dra. Leydianne Leite de S. Patriota
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Wêndeo Kennedy Costa
Universidade Federal de Pernambuco

Sempre à minha mãe, Dona Eurides, meu maior exemplo de força, perseverança e resiliência. Seu exemplo me guia a cada passo. Te dedico mais essa vitória!

AGRADECIMENTOS

Ao criador de todas as coisas, todo o universo e tudo que nele habita. Que um dia possamos saber cuidar melhor deste planeta.

Aos meus guias espirituais, que emanam força, boas vibrações para que tudo seja possível, me dando inspiração e me fazendo acreditar num mundo possível e melhor.

Aos meus irmãos, que me orientaram, me mostraram e proporcionaram o caminho do conhecimento. Especialmente, André Amorim, Carminha e Glorinha. Minha eterna gratidão!

Aos meus amigos, companheiros de jornada, família escolhida que vibra, participa, conhece e entende cada sorriso, cada lágrima e conquista. Sem dúvidas, meu maior presente na vida. Sem citar nomes, cada um sabe o espaço que ocupa no meu coração.

Ao Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão, meu orientador, por aceitar este desafio, pela extrema competência e por toda orientação ao longo deste tempo. Obrigado pela confiança!

Ao querido Prof. Dr. Alisson Macário, meu coorientador, pelo apoio e disponibilidade. Por comprar minha ideia e por dar tanta qualidade a este trabalho. Tenho muito orgulho de pessoas como você!

"A natureza é a fonte de todo verdadeiro conhecimento. Ela tem sua própria lógica, suas próprias leis, ela não tem nenhum efeito sem causa, nem inventa nada."

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

Pilosocereus gounellei (Cactaceae), popularmente conhecida como xique-xique, espécie endêmica do Brasil, é amplamente distribuída nos biomas da Caatinga e Mata Atlântica. Apesar disso, ainda há escassez de relatos de validação de seu potencial medicinal e segurança de uso. A presente tese descreve avaliações da toxicidade dérmica aguda e subcrônica de extrato aquoso de *P. gounellei*, assim como o efeito cicatrizante de um gel contendo o extrato, em camundongos saudáveis e imunocomprometidos. Para a obtenção do extrato, um planejamento fatorial foi conduzido para determinar o método mais eficiente de extração em relação ao teor de polifenóis. Foram consideradas como variáveis independentes o método extrativo (maceração, turbólise e infusão) e a quantidade de droga vegetal (5, 10 ou 15%), utilizando água como solvente. O extrato obtido usando a condição mais eficiente, determinada pela razão entre o teor de polifenóis totais e o resíduo seco, foi analisado por cromatografia de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). O extrato selecionado foi então avaliado quanto à toxicidade dérmica aguda (6 horas de tratamento; 1 g/mL) ou subcrônica (13 semanas de tratamento) em camundongos. Adicionalmente, foi desenvolvido um gel de caborpol contendo o extrato a 1% e avaliada o efeito cicatrizante (21 dias) em feridas cutâneas de camundongos saudáveis e imunocomprometidos por metotrexato. Os resultados revelaram que o extrato obtido com 5 g de droga vegetal por meio da maceração foi o mais eficiente. CLAE-DAD revelou a presença de rutina, bem como de outro flavonoide não identificado e de um ácido hidroxiciâmico no extrato. Nas avaliações de toxicidade dérmica aguda e subcrônica, o extrato causou uma leve irritação na primeira hora, sem ocorrência de efeitos adversos nos demais períodos de avaliação. Não foram observadas alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos e histopatológicas analisados nos camundongos tratados. Camundongos saudáveis tratados com o gel contendo o extrato de *P. gounellei* apresentaram aceleração na cicatrização de feridas, atingindo 98% de contração em 14 dias, enquanto controle negativo e positivo (Fitoscar) apresentaram 80,45% e 82,07%. Para os animais imunocomprometidos, as feridas tratadas com o gel contendo o extrato de xique-xique apresentaram 81,45% de contração com 21 dias de tratamento, enquanto controles negativo e positivo apenas 48,33% e 53,69%, respectivamente. Houve redução de 42–54% nos níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-1 β nos animais tratados com o gel contendo

o extrato. Em suma, o extrato aquoso de *P. gounellei* não apresentou toxicidade dérmica e mostrou-se eficaz na promoção da cicatrização de feridas em camundongos saudáveis e imunocomprometidos.

Palavras-chave: Xique-xique. Cactaceae. Toxicidade dérmica. Cicatrização.

ABSTRACT

Pilosocereus gounellei (Cactaceae), popularly known as xique-xique, a species endemic to Brazil, is widely distributed in the Caatinga and Atlantic Forest biomes. Despite this, there is still a lack of reports validating its medicinal potential and safety of use. The present thesis describes evaluations of the acute and subchronic dermal toxicity of an aqueous extract of *P. gounellei*, as well as the healing effect of a gel containing the extract, in healthy and immunocompromised mice. To obtain the extract, a factorial design was conducted to determine the most efficient extraction method in relation to polyphenol content. The extractive method (maceration, turbolysis and infusion) and the amount of vegetable drug (5, 10 or 15%), using water as solvent, were considered as independent variables. The extract obtained using the most efficient condition, determined by the ratio between the total polyphenol content and the dry residue, was analyzed by high-performance chromatography with a diode array detector (HPLC-DAD). The selected extract was then evaluated for acute (6 hours of treatment; 1 g/mL) or subchronic (13 weeks of treatment) dermal toxicity in mice. Additionally, a caborpol gel containing the extract at 1% was developed and the healing effect (21 days) on skin wounds of healthy mice and mice immunocompromised by methotrexate was evaluated. The results revealed that the extract obtained with 5 g of plant drug through maceration was the most efficient. HPLC-DAD revealed the presence of rutin, as well as another flavonoid and a hydroxycyamic acid in the extract. In acute and subchronic dermal toxicity assessments, the extract caused slight irritation in the first hour, with no adverse effects occurring in the remaining assessment periods. No changes were observed in the hematological, biochemical and histopathological parameters analyzed in the treated mice. Healthy mice treated with the gel containing *P. gounellei* extract showed acceleration in wound healing, reaching 98% contraction in 14 days, while negative and positive controls (Fitoscar) showed 80.45% and 82.07%. For immunocompromised animals, wounds treated with the gel containing xique-xique extract showed 81.45% contraction after 21 days of treatment, while negative and positive controls only 48.33% and 53.69%, respectively. There was a 42–54% reduction in serum levels of the pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β in animals treated with the gel containing the extract. In summary, the aqueous extract of *P. gounellei* showed no dermal toxicity and was effective in promoting wound healing in healthy and immunocompromised mice.

Keywords: Xique-xique. Cactaceae. Dermal toxicity. Healing.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mapa dos biomas brasileiros. 17
- Figura 2:** Exemplo de espécies presentes na Caatinga. 19
- Figura 3:** Características morfológicas do xique-xique. (A e B) Caule, (C) flor, (D) fruto. 23
- Figura 4:** Categorização das feridas de acordo com a origem: (A) ferida traumática; (B) ferida cirúrgica. 24
- Figura 5:** Representação das camadas da pele. 25
- Figura 6:** Imagens representativas de feridas de característica aguda (A) e crônica (B). 25

Artigo 1

- Figure 1:** Pareto charts and surfaces responses of 3^2 factorial design for dry residue (A-B), total polyphenol content (C-D) and extractive efficiency (E-F). 39
- Figure 2:** Representative photomicrograph of histological analysis of skin from mice subjected to subchronic dermal toxicity for 13 weeks. 43

Artigo 2

- Figura 1:** Cromatograma do extrato em 350 nm. 57
- Figura 2:** Espectros de varredura correspondente aos picos 1 a 3 evidenciados no extrato em 350 nm. 57

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Table 1: Matrix of the factorial design 3^2 for extraction of polyphenols from <i>P. gounellei</i> stem.	38
Table 2: Statistical analysis of the models from factorial design.	40
Table 3: Assessment of dermal irritation.	40
Table 4: Evaluation of physiological parameters of water and feed consumption and weight gain of male and female mice treated with <i>Pilosocereus gounellei</i> extract.	41
Table 5: Evaluation of hematological parameters of male and female mice treated with <i>Pilosocereus gounellei</i> extract.	42
Table 6: Evaluation of biochemical parameters of male and female mice treated with <i>Pilosocereus gounellei</i> extract.	42

Artigo 2

Tabela 1: Ingredientes para formulação em gel contendo extrato de <i>P. gounellei</i> .	53
Tabela 2: Ação cicatrizante de gel contendo o extrato do caule de <i>P. gounellei</i> a 1% e do FitoScar® (controle positivo) sobre feridas em camundongos saudáveis e imunocomprometidos.	58
Tabela 3: Níveis e porcentagem de redução de citocinas no sangue de animais saudáveis e imunocomprometidos tratados topicamente com gel ou FitoScar.	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	GERAL	16
2.2	ESPECÍFICOS	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	CAATINGA	17
3.2	IMPORTÂNCIA DAS PLANTAS MEDICINAIS	19
3.3	<i>Pilosocereus Gounnelei</i>	22
3.4	PROCESSO DE REPARO TECIDUAL	23
3.5	ESTUDOS DE TOXICIDADE	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1	ARTIGO 1	31
4.2	ARTIGO 2: Gel contendo extrato aquoso do caule de <i>Pilosocereus gounnellei</i> tem efeito cicatrizante em camundongos saudáveis e imunocomprometidos	49
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
6	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é detentor da maior biodiversidade do planeta, com mais de 45 mil espécies vegetais catalogadas distribuídas em 7 biomas. Dentre esses, temos a Caatinga, um bioma exclusivamente brasileiro e predominante na região Nordeste. Essa região é marcada por clima seco e ausência de chuvas durante muitos meses do ano, de forma que a vegetação presente nessa região desenvolveu adaptações morfológicas e fisiológicas a variações constantes de temperatura e ao déficit hídrico. Assim, as plantas da Caatinga acabam produzindo compostos químicos diferenciados para melhor se adequarem às condições a qual estão expostas (Ceravolo et al., 2018; Santos et al., 2018; Tabarelli, 2018; Lessa et al., 2019).

As moléculas produzidas pelas plantas são de grande relevância por apresentarem características medicinais capazes de agir sobre disfunções em órgãos e sistemas do corpo humano (Silva et al., 2017). Sendo assim, são consideradas como uma excelente fonte para a busca de novos compostos farmacologicamente ativos. De maneira geral, os compostos vegetais aparentemente apresentam uma baixa toxicidade quando comparados com as drogas sintéticas, o que os torna importantes candidatos no desenvolvimento de novos medicamentos (Sagar et al., 2018; Tungmunnithum et al., 2018; Albuquerque et al., 2021).

A espécie *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber ex K. Schum.) Byles & G.D. Rowley, conhecida popularmente como xique-xique, é uma planta cactácea que se desenvolve inclusive nas áreas mais secas da Caatinga. Estudo etnobotânico listou uso trófico (alimentação humana e animal), decorativo e medicinal do xique-xique (Albuquerque, 2002). Do ponto de vista medicinal, é descrita a utilização de uma pomada produzida a partir do miolo do xique-xique macerado para tratamento de processos inflamatórios decorrentes de perfurações nos membros superiores e inferiores (Oliveira, 2011). Preparações das raízes do xique-xique são utilizadas no tratamento de inflamações prostáticas e na uretra (Agra et al., 2008; Roque et al., 2010).

Um estudo prévio revelou resultados promissores sobre o potencial terapêutico do extrato salino do caule de *Pilosocereus gounellei* em diferentes condições. De acordo com Oliveira et al. (2018), esse extrato demonstrou efeito antinociceptivo, sem evidências de toxicidade aguda por via oral. Oliveira et al. (2020a) descreveram um

efeito quimioprotetor significativo contra os efeitos da ciclofosfamida em camundongos. Além disso, investigação de toxicidade subaguda mostrou que a administração oral do extrato na dose de 1000 mg/kg por 28 dias não resultou em efeitos tóxicos (Oliveira et al., 2020b). Esses achados são importantes ao considerar a viabilidade de sua utilização em terapias prolongadas.

Adicionalmente, o extrato salino do caule de *P. gounellei* também demonstrou relevante potencial terapêutico no tratamento da obesidade, conforme evidenciado por Oliveira et al. (2021). Este estudo destacou sua capacidade de reduzir o perfil inflamatório e aumentar a sensibilidade à insulina, sugerindo possíveis aplicações futuras no controle metabólico e no tratamento de distúrbios relacionados à obesidade.

Outro estudo conduzido por Souza et al. (2018) mostrou que um extrato etanólico obtido de cladódios e raízes de *P. gounellei* apresentou efeito gastroprotetor significativo. Este extrato demonstrou a capacidade de inibir lesões gástricas induzidas por etanol, isquemia-reperfusão e estresse por contenção ao frio, sugerindo um potencial promissor no tratamento de distúrbios gastrointestinais e destacando a ampla gama de aplicações terapêuticas potenciais associadas a diferentes partes da planta.

Diante da baixa toxicidade oral aguda e subaguda e do potencial farmacológico demonstrado nos trabalhos citados nos parágrafos anteriores, bem como do uso popular no tratamento de feridas causadas por perfurações, o presente trabalho objetivou avaliar a toxicidade dérmica de extrato aquoso do caule de *P. gounellei*, bem como a atividade cicatrizante de gel contendo o extrato em camundongos saudáveis e imunocomprometidos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o extrato aquoso do caule de *P. gounellei* quanto à toxicidade dérmica e atividade cicatrizante *in vivo*.

2.2 ESPECÍFICOS

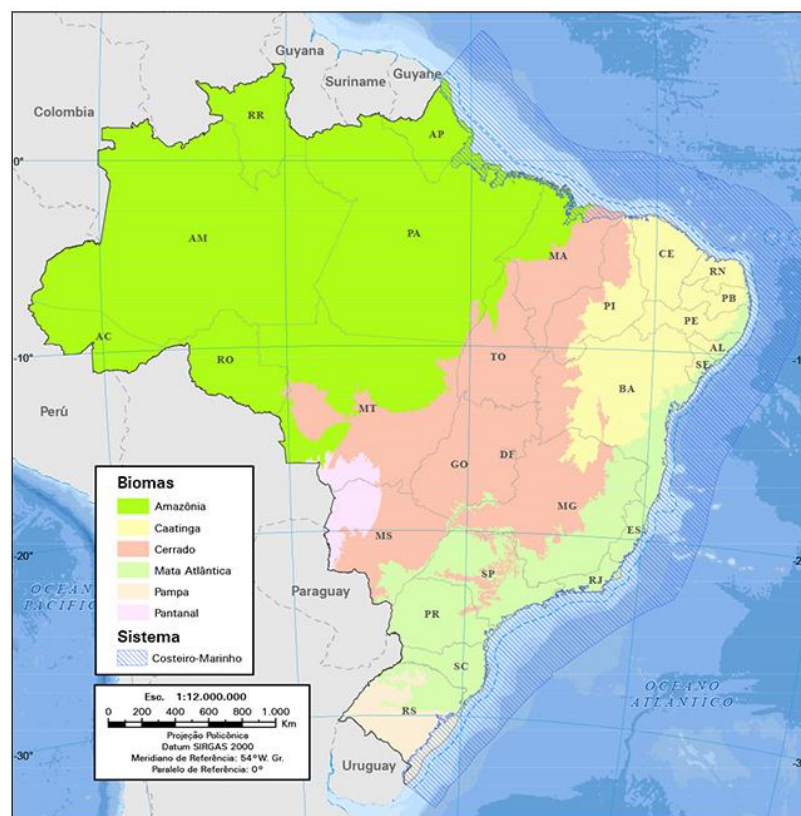
- Determinar melhores condições de método extrativo e concentração de droga para obtenção de polifenóis do caule de *P. gounellei* utilizando água como solvente;
- Caracterizar o perfil fitoquímico do extrato aquoso do caule de *P. gounellei* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;
- Avaliar a irritação dérmica e toxicidade dérmica aguda e subcrônica do extrato aquoso do caule de *P. gounellei* em camundongos Swiss albinos;
- Preparar e caracterizar formulação em gel contendo extrato aquoso de caule de *P. gounellei*;
- Avaliar o potencial cicatrizante da formulação em gel contendo extrato aquoso de *P. gounellei* sobre lesões cutâneas em camundongos saudáveis e imunocomprometidos.
- Determinar os níveis séricos de citocinas em camundongos submetidos tratamento tópico com o gel contendo o extrato de *P. gounellei*;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CAATINGA

A Caatinga é uma importante zona biogeográfica localizada no semiárido brasileiro, que ocupa uma área de aproximadamente 850 mil quilômetros quadrados (Lessa et al., 2019). Essa região representa cerca de 70% do território nordestino e 11% do território nacional (Figura 1) e apresenta distribuição principalmente nos estados do Nordeste brasileiro, onde engloba parte de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe, apresentando também uma pequena distribuição no Sudeste do país na região norte do Estado de Minas Gerais (Silva; Leal; Tabarelli, 2018).

Figura 1. Mapa dos biomas brasileiros



Fonte: <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/territorio/18307-biomas-brasileiros.html>

Segundo dados do Ministério do Meio Ambiente (MMA) (2012), a Caatinga abriga aproximadamente 27 milhões de pessoas, se tornando a região seca mais povoada do mundo. Ao longo da ocupação desse território, ocorreram

modificações que ocasionaram extensas degradações do solo e que levaram ao desequilíbrio ecológico, influenciando nos recursos naturais e perda da biodiversidade (Choubin et al., 2017; Vieira et al., 2021). Mais de 50% do território original da Caatinga já foi modificado, levando à diminuição da cobertura vegetal, tornando esse um dos ecossistemas brasileiros mais alterados pelas atividades humanas e o terceiro bioma mais ameaçado, ficando atrás da Mata Atlântica e Cerrado (Santos et al., 2011; MMA, 2012).

Para evitar que a biodiversidade da Caatinga seja completamente perdida é necessário o desenvolvimento sustentável e controlado dessa região. Diversas espécies vegetais e animais são utilizados pelos nativos para a sua subsistência. Entretanto esses recursos acabam sendo explorados de forma inadequada. A Caatinga apresenta um potencial que, se explorado corretamente, poderá garantir o desenvolvimento dessa região, promovendo a sua conservação e das espécies que nela vivem, garantindo a bioprospecção sustentável (Ramalho, 2013; Leal; Tabarelli, 2018).

Quando se trata da flora da Caatinga, são encontradas espécies altamente adaptadas às condições peculiares da região, como o clima, o solo e o déficit hídrico (Figura 2). Adaptações anatômicas, funcionais e morfológicas garantem a sobrevivência das espécies. Entre as diversas espécies da Caatinga, várias plantas são notoriamente consideradas como medicinais de uso popular, sendo vendidas as folhas, cascas e raízes em calçadas e ruas das principais cidades, bem como mercados e feiras livres. Há uma ampla literatura sobre estudos etnobotânicos que comprovam a ação benéfica de muitas espécies encontradas na Caatinga, possibilitando uma nova visão para esse bioma e promovendo o interesse de novos estudos sobre a região e as plantas da região (Juvik et al., 2017; Ceravolo et al., 2018; Santos et al., 2018).

Figura 2. Exemplo de espécies presentes na Caatinga.



Fonte: <https://www.todamateria.com.br/flora-da-caatinga>

3.2 IMPORTÂNCIA DAS PLANTAS MEDICINAIS

A utilização de plantas medicinais pela população mundial tem crescido significativamente nos últimos tempos. Entretanto, a prática é tão antiga quanto a civilização humana (Jamshidi-Kia; Lorigooini; Amini-Khoei, 2018). Historicamente, a terapia com recursos vegetais é relatada na medicina chinesa, tibetana e indiana-ayurveda, com registros datados de mais de 2000 anos antes de Cristo, como o Pen Ts'ao, e a coleção de formulações depositadas no Museu da Pensilvânia. Já aqui no Brasil esse conhecimento era detido principalmente pelos indígenas, quilombolas e ribeirinhos e foram compartilhados através da transmissão oral entre gerações (Helfand; Cowen, 1990; Badke et al., 2011; Firmo et al., 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) descreve que, para uma espécie vegetal ser considerada planta medicinal, é necessário que ela apresente em um ou mais órgãos, substâncias que possam ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos (WHO, 1998). Essas substâncias podem ser várias dentre aquelas produzidas pelo metabolismo

vegetal, as quais são classificadas em dois grupos: metabólitos primários, que correspondem aos componentes essenciais para desenvolvimento, crescimento e reprodução das plantas, tais como os aminoácidos, os lipídios, carboidratos e clorofila (Shih; Morgan, 2020); e metabólitos secundários, que apresentam importante papel na defesa e proteção, atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microrganismos simbiotes, bem como na comunicação entre as espécies, incluindo a competição entre plantas (Banerjee; Roychoudhury, 2017; Borges et al., 2017).

Algumas plantas representam uma excelente fonte para a busca de novos compostos biologicamente ativos devido à grande diversidade química e estrutural de moléculas com potencial para serem aplicadas farmacologicamente (Hussein; El-Anssary, 2019; Shih; Morgan, 2020). Em relação às partes da planta utilizadas medicinalmente, elas podem variar de acordo com o tipo de uso, mas geralmente as mais relatadas são: folhas, cascas, raízes, leite (látex), frutos e sementes (Silva Pereira; Coelho-Ferreira, 2017).

Compreende-se que, apesar do crescente interesse na utilização de plantas com propósitos terapêuticos, a quantidade de espécies vegetais investigadas e exploradas é notavelmente reduzida em relação à vasta diversidade botânica existente. Segundo estudos de Bubalo et al. (2018), das estimadas 250 mil a 500 mil espécies de plantas existentes no mundo, apenas uma parcela mínima tem sido submetida a análises fitoquímicas e, ainda mais escassas, são as investigações aprofundadas sobre suas propriedades farmacológicas.

No contexto do uso medicinal, estima-se que somente cerca de 5 mil espécies vegetais tenham sido alvo de investigação. No Brasil, país reconhecido por sua biodiversidade com aproximadamente 55 mil espécies de plantas, os relatos de pesquisas abarcam meramente 0,4% da diversidade botânica (Silva et al., 2017; Von Wettberg; Davis; Smýkal, 2020; Moura et al., 2021). Esses números evidenciam uma lacuna considerável no conhecimento e na exploração das potenciais propriedades terapêuticas das plantas, tanto em escala global quanto no contexto específico do Brasil, ressaltando a necessidade premente de mais estudos e investigações para melhor aproveitar e compreender o vasto potencial terapêutico contido na flora ainda não explorada.

No Brasil, aproximadamente 82% da população utiliza de produtos à base

de plantas medicinais como fonte terapêutica (Silva et al., 2020). A Organização Mundial da Saúde (OMS), reconhecendo o papel crucial das plantas medicinais na prestação de assistência farmacêutica, tem reiterado sua posição em várias comunicações e resoluções. Destaca-se a ênfase da OMS na valorização do uso dessas plantas no contexto sanitário, observando que essa prática é realizada por entre 70% e 90% da população em países em desenvolvimento (como utilização na Atenção Primária à Saúde) como também em nações como Canadá, França, Alemanha e Itália (sob rótulos como complementares, alternativos ou não convencionais) (OMS, 2011).

A busca por plantas visando à avaliação de seu potencial farmacológico frequentemente se fundamenta no conhecimento etnobotânico sobre o conteúdo químico, como também em relação às suas aplicações, bem como em considerações sobre toxicidade. Isso pode ocorrer por meio de seleção aleatória das espécies a serem estudadas ou pela aplicação de uma combinação de diversos critérios (Salehi et al., 2019; Chen et al., 2020). Essas estratégias de busca de plantas com potencial medicinal têm sido aplicadas na busca de substâncias bioativas para várias doenças, entre elas o câncer (Abu-Darwish; Efferth, 2018; Taïbi, 2020), artrite (Sadia et al., 2018), infecções (Machaba; Mahlo, 2017; Tariq et al., 2018; Santos et al., 2019), diabetes (Shabab; Gholamnezhad; Mahmoudabady, 2020; Landazuri; Chamorro; Cortes, 2021), hipertensão (SAMAH et al., 2019), entre outras. Através desses estudos, podem ser desenvolvidas formulações que podem ser aplicadas na fitoterapia (Zhou et al., 2018). Estima-se que pelo menos 25% de todos os medicamentos modernos são derivados diretamente ou indiretamente de plantas medicinais (Sousa; Oliveira; Calou, 2018).

A inserção de plantas medicinais na atenção básica à saúde minimiza os custos gerados na fabricação e comercialização de fármacos. Além do mais, as plantas medicinais apresentam boa resposta para os diversos tipos de problemas de saúde e estão acessíveis à boa parte da população. No Brasil, no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), foi criada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares pelo Ministério da Saúde (MS) que tem como objetivo ampliar as opções terapêuticas, e nela está inserido o acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e outros serviços relacionados (MS, 2006a). As ações decorrentes são imprescindíveis para a melhoria da atenção à saúde da

população, ampliação das opções terapêuticas aos usuários do SUS, uso sustentável da biodiversidade brasileira, fortalecimento da agricultura familiar, geração de emprego e renda, desenvolvimento industrial e tecnológico, inclusão social e regional (MS, 2006b; RICARDO et al., 2017).

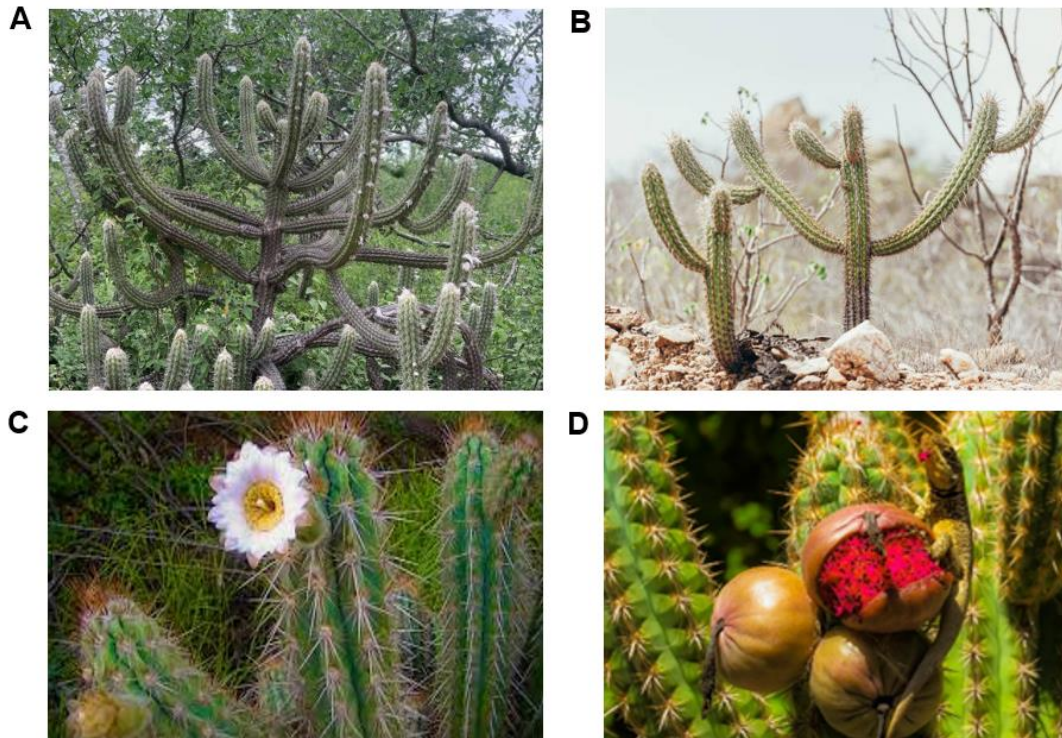
3.3 *Pilosocereus gounellei*

A família Cactaceae abrange 127 gêneros e cerca de 1.450 espécies (Hernández-Hernández et al., 2011). Elas se distribuem por uma vasta extensão geográfica que engloba regiões temperadas e tropicais nas Américas, ocupando uma ampla gama de ambientes, desde áreas áridas até florestas úmidas (Rebman e Pinkava em 2001). Essas plantas conseguem prosperar mesmo em solos pedregosos e apresentam uma notável diversidade de formas (GOMES, 1977). Elas são predominantemente suculentas e desprovidas de folhas, destacando-se por suas aréolas distintas, que ostentam espinhos, cerdas ou pelos (XU e DENG 2017).

Pilosocereus gounellei (F.A.C. Weber ex K. Schum.) Byles & G.D. Rowley, popularmente conhecido como xique-xique, alastrado ou sodoro, é uma cactácea que pode ser encontrada em várias regiões da Caatinga (Figura 3), até mesmo crescendo em terrenos rochosos e solos rasos e pedregosos (Agra et al., 2008). Na medicina tradicional brasileira é relatado que as raízes são efetivas para o tratamento de inflamações da próstata e seus cladódios no tratamento de gastrites (Lucena et al., 2013).

Um estudo anterior mostrou que o extrato salino do caule do *Pilosocereus gounellei* tem potencial terapêutico em diversas condições. Oliveira et al. (2018), encontrou resultados mostrando que ele tem efeitos contra a dor, proteção contra certas substâncias tóxicas e não apresenta toxicidade quando ingerido oralmente. Este extrato também foi eficaz no tratamento da obesidade, reduzindo a inflamação e melhorando a sensibilidade à insulina (Oliveira et al., 2021). Além disso, outro estudo conduzido por Souza et al. (2018) revelou que um extrato alcoólico das partes da planta também protege o estômago contra lesões causadas por várias condições, sugerindo seu potencial no tratamento de problemas gastrointestinais.

Figura 3. Características morfológicas do xique-xique. (A e B) Caule, (C) flor, (D) fruto



Fonte: <https://www.naturezabela.com.br>

3.4 PROCESSO DE REPARO TECIDUAL

As feridas são lesões que afetam não só a pele, mas também os tecidos subjacentes e podem surgir de uma gama diversificada de causas, como traumas, procedimentos cirúrgicos, doenças ou condições patológicas. A compreensão detalhada e precisa dessas lesões é crucial para direcionar um tratamento eficaz e para desvendar os mecanismos fisiopatológicos envolvidos em seu processo de cicatrização (Sussman e Bates-Jensen, 2012).

A classificação das feridas é um pilar fundamental nesse contexto, pois proporciona um arcabouço estruturado para sua análise e abordagem terapêutica. Existem diversos sistemas classificatórios que ajudam a categorizar as feridas, oferecendo uma visão abrangente de suas características. Uma dessas classificações envolve a categorização de acordo com a origem da ferida, distinguindo entre feridas traumáticas (Figura 4A), aquelas resultantes de eventos como acidentes, e feridas cirúrgicas (Figura 4B), decorrentes de

procedimentos médicos (Schultz et al., 2020).

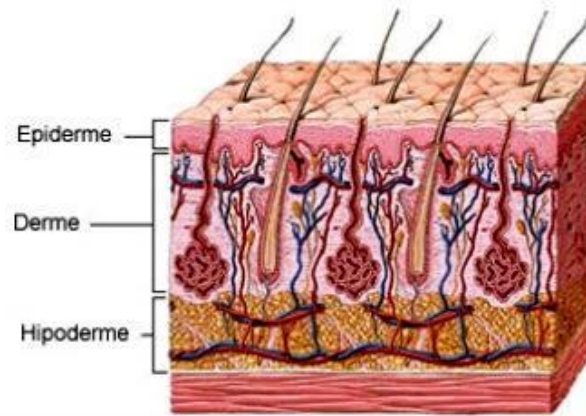
Figura 4. Categorização das feridas de acordo com a origem: (A) ferida traumática; (B) ferida cirúrgica.



Fonte: <https://pt.slideshare.net/jlassala/avaliacao-e-tratamento-de-feridas-cbcenf>

Outro critério de classificação é baseado na profundidade e apresentação clínica das feridas. Nesse caso, as feridas podem ser classificadas como superficiais, afetando apenas as camadas externas da pele, parciais, envolvendo tecidos mais profundos, ou complexas/profundas, atingindo camadas mais internas e complexas do tecido. Além disso, as feridas podem ser identificadas como abertas, aquelas que apresentam uma abertura na pele, ou fechadas, onde a superfície da pele não é rompida (Baranoski e Ayello, 2016). A Figura 5 representa as camadas da pele, mostrando a epiderme como a camada superficial e a derme e hipoderme como as camadas mais profundas.

Figura 5. Representação das camadas da pele



Fonte: <https://www.sbd.org.br/cuidados/conheca-a-pele>

Adicionalmente, as feridas podem ser classificadas considerando o estágio de cicatrização em que se encontram. Nesse contexto, são divididas em feridas agudas, que são lesões recentes e que estão em processo inicial de cicatrização, e feridas crônicas, que persistem por um período prolongado e muitas vezes apresentam dificuldades no processo de cicatrização (Figura 6A e 6B) (Schultz et al., 2020).

Figura 6. Imagens representativas de feridas de característica aguda (A) e crônica (B).



Fonte: <https://sobest.com.br/en/feridas>

Essa diversidade de sistemas classificatórios não apenas oferece uma compreensão mais completa das feridas, mas também é crucial na orientação de estratégias terapêuticas personalizadas para cada tipo de lesão. A escolha do tratamento adequado, portanto, depende não apenas da natureza da ferida, mas também de sua classificação precisa, destacando a importância desses sistemas na prática e pesquisa clínica que buscam aprofundar o conhecimento nesse campo tão crucial da atenção à saúde. (Cardinelli, C. C. et al., 2021)

Um dos fatores cruciais para resolução da cicatrização é a influência da inflamação. A inflamação é caracterizada como um processo complexo e altamente regulado que ocorre em resposta a estímulos prejudiciais, tais como infecções, lesões teciduais, agentes químicos ou agentes estranhos. Este fenômeno fisiológico envolve uma série de eventos interligados, com o objetivo primário de defender o organismo contra agressões, reparar tecidos danificados e restaurar a homeostase (Serhan, 2017).

O reconhecimento do agente nocivo desencadeia uma série de eventos, incluindo a resposta vascular, que se inicia com a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. Esta etapa resulta no extravasamento de fluidos, células sanguíneas e proteínas plasmáticas para o tecido afetado, desencadeando sinais visíveis de inflamação, como edema e hiperemia (Chen et al., 2018). A migração de células imunes, como neutrófilos e macrófagos, para o local inflamado é mediada por sinais químicos específicos, envolvendo processos de quimiotaxia. Essas células desempenham um papel fundamental na fagocitose de patógenos, eliminação de células danificadas e na modulação da resposta inflamatória (Dalli e Serhan, 2017).

A evolução do processo inflamatório culmina na regeneração do tecido, visando reestabelecer a arquitetura e funcionalidade do tecido após a lesão. O reparo do tecido pode ocorrer por dois tipos de reação: regeneração ou cicatrização. A regeneração ocorre quando há estímulo da proliferação das células residuais visando substituir os componentes danificados e retornar essencialmente ao seu estado normal. Para isso participam o tecido lesado remanescente, as células endoteliais vasculares e os fibroblastos. Já quando os tecidos remanescentes não conseguem restituir-se, haverá maturação de células-tronco teciduais e consequente deposição de tecido conjuntivo em um processo que resulta na formação de uma cicatriz, chamado portanto de cicatrização (Shedoeva et al., 2019). Quando a lesão envolve apenas a camada epitelial, o principal mecanismo de reparo é a regeneração epitelial. Quando a perda de células ou tecidos é mais extensa, como ocorre em grandes feridas, abscessos, ulcerações e na necrose isquêmica de órgãos, o processo de reparo envolve uma combinação de regeneração e cicatrização (Kumar; Abbas; Aster, 2019).

O processo inicial no reparo tecidual envolve a proliferação celular, que é

impulsionada pelos fatores de crescimento e regulada por estes e pela matriz extracelular. Esses fatores de crescimento são sintetizados por células próximas à área danificada. Os macrófagos ativados pela lesão tecidual representam as fontes mais significativas desses fatores de crescimento, embora células epiteliais e estromais também contribuam na produção de alguns desses fatores (Ellis; Lin; Tartar, 2018).

Para execução do processo de reparo é necessário fornecimento de nutrientes e oxigênio. Para tanto, são formados novos vasos sanguíneos através da angiogênese. Já a deposição do tecido conjuntivo ocorre através da migração e proliferação de fibroblastos para o local da lesão e deposição das proteínas da matriz extracelular produzidas por essas células. A síntese de colágeno pelos fibroblastos tem início logo no começo do reparo das feridas (dias 3 a 5) e prossegue por várias semanas, resultando, por fim, na formação de uma cicatriz. À medida que o reparo prossegue, o número de fibroblastos e novos vasos proliferativos diminui (Ellis; Lin; Tartar, 2018; Cañedo-Dorantes; Cañedo-Ayala, 2019).

O processo de cicatrização pode sofrer a influência de vários fatores extrínsecos e intrínsecos como diabetes, estado nutricional, aumento de pressão local, corpos estranhos e as características do tecido no qual a lesão ocorreu. A presença de um processo infeccioso é uma das causas que provocam maior demora no processo de reparo, pois a infecção aumenta a destruição tecidual e a necrose. Nestes casos, podem ocorrer úlceras dolorosas com descargas purulentas e com inflamação ao redor, bem como prolongamento do processo cicatricial (Wang et al., 2018). Algumas citocinas tem papel importante para o processo de cicatrização tecidual. IL-1 β , IL-6 e TNF- α são conhecidas por serem liberadas em grandes quantidades em resposta a lesões teciduais, desempenhando um papel crucial na resposta inflamatória. Em processos de cicatrização, é comum observar uma diminuição progressiva dessas citocinas à medida que a cicatrização avança. (Dinarello, 2018).

Um organismo imunocomprometido apresenta uma alteração na imunidade fagocítica, celular ou humoral que aumenta o risco de complicações infecciosas ou processos oportunistas. Além disso, se houver uma violação das barreiras de defesa da pele ou da mucosa e permitir que microorganismos causem infecção local ou sistêmica (Rahier *et. al.*, 2009). Estudos têm utilizado

a imunossupressão para explicar as etapas bioquímicas do processo de reparo e a resposta imunológica do organismo frente à lesão. O metotrexato (MTX) está entre os imunossupressores mais utilizados (Ciesielski, 1998; Koning et al., 2006), em função de seu mecanismo de ação envolver o bloqueio e inativação de citocinas, fatores de crescimento, integrinas e células polimorfonucleares (PMN), o que permite a redução de algumas etapas do processo cicatricial.

Certos medicamentos são empregados no tratamento de inflamações e contribuem para o processo de reparo tecidual. Contudo, frequentemente, os medicamentos de administração sistêmica não conseguem alcançar a eficácia desejada, o que pode dificultar o processo de cicatrização. Diante dessa situação, a aplicação tópica de fármacos é amplamente adotada quando se busca um efeito local. Isso se deve ao fato de que formulações cujo alvo de ação se limita à superfície da pele ou às camadas mais superficiais conseguem manter concentrações terapêuticas do medicamento no tecido específico, ao mesmo tempo que minimizam o risco de efeitos colaterais decorrentes da exposição sistêmica. Dessa forma, a utilização de produtos derivados de plantas medicinais podem ser uma excelente estratégia como fonte de novos componentes ativos para o controle de inflamações cutâneas (Firdous; Sautya, 2018; Shedoeva et al., 2019).

3.5 ESTUDOS DE TOXICIDADE

A avaliação de toxicidade objetiva avaliar os efeitos nocivos causados por uma determinada substância dentro do organismo, tanto relacionados com sua concentração quanto com o tempo de permanência e/ou exposição. Os testes de toxicidade devem ser realizados de forma padronizada e em condições replicáveis (Tonkens et al., 2005; Hartung et al., 2020).

As alterações causadas por substâncias tóxicas podem ser reversíveis ou não, dependendo da extensão dos danos que são causados, podendo ser a níveis molecular, celular, tecidual e, em último caso, levar à morte do organismo. Esses danos podem variar de acordo com características do organismo como gênero, idade, estado nutricional, entre outros (Ugwah-Oguejiofor et al., 2019; Deyno et al., 2020).

Diversas agências reguladoras apresentam protocolos para execução de testes toxicológicos, estando os ensaios preconizados pela *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD) entre os mais aceitos no mundo, bem como aqueles propostas por agências reguladoras como *Food and Drug Administration* (FDA), *European Medical Agency* (EMA), *Medicines and Healthcare products Regulatory Agency* (MHRA) e pelo Ministério da Saúde do Japão. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) segue protocolos estabelecidos pelo OECD (Moura et al., 2012).

Os estudos de toxicidade podem ser divididos em dois grupos: ensaios de dose única, denominado de testes de toxicidade aguda, que permitem classificar o composto de acordo com o grau de toxicidade ou letalidade, sendo capaz de determinar a dose letal mediana (DL50). No teste de toxicidade aguda, são observadas alterações no consumo de água, ração e massa corpórea, e ao final do experimento os principais órgãos são coletados para avaliação macroscópica e histopatológica, para obter informações suficientes para classificar a substância e selecionar doses para estudos de longa duração (Oecd, 2008;Oliveira et al., 2019).

Já os ensaios de exposição a doses repetidas fornecem informações sobre a toxicidade de um produto quando utilizado diariamente. Para a realização do teste é recomendada a utilização de três doses experimentais, além de utilizar animais machos e fêmeas por grupo, sendo observados alterações no consumo de água, ração e massa corpórea. Ao final do experimento os principais órgãos são retirados para avaliação macroscópica e histopatológica e o sangue também é coletado para análises hematológicas e bioquímicas (OECD, 2008; Xiu et al., 2014; Oliveira et al., 2019).

Os testes toxicológicos visam garantir a segurança de uso de determinada substância estabelecendo limites seguros para a aplicabilidade e contribuindo para o desenvolvimento de novos fármacos (Oliveira et al., 2019). A crença de que produtos naturais não fazem mal a saúde faz com que a toxicidade deles seja por muitas vezes subestimada. Experimentos têm demonstrado que a utilização de algumas espécies de plantas causa inúmeros efeitos adversos ao organismo. Diante disso, estudos toxicológicos envolvendo plantas medicinais devem ser realizados visando avaliar a sua segurança de uso (Ndhlala et al., 2013; Tariq et al., 2018; Oliveira et al., 2019; Costa et al., 2020).

É essencial ter cautela ao manusear plantas desconhecidas ou suspeitas de causar reações na pele. Se houver exposição a alguma planta e ocorrer irritação ou reação cutânea, é aconselhável procurar atendimento médico imediatamente (Lowe & Schadler, 2019). O teste de sensibilização cutânea avalia a capacidade de uma substância causar uma reação alérgica na pele, conhecida como dermatite de contato alérgica. Neste processo a substância é aplicada na pele do animal. A presença de uma resposta irritante é avaliada após um período de tempo (Âmbar, 2018).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa tese estão apresentados na forma de artigos.

4.1 ARTIGO 1

Assessment of acute and subchronic dermal toxicity of optimized aqueous extract of *Pilosocereus gounellei* stem in mice

Francisco Amorim de Barros¹, Magda Rhayanny Assunção Ferreira³, Luiz Alberto Lira Soares³, Patrícia Maria Guedes Paiva¹ Alisson Macário de Oliveira^{1,2}, Thiago Henrique Napoleão¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50670-901, Brazil

²Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 58429-500

³Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50670-901, Brazil

Running title: Dermal Toxicity of Aqueous Extract of *Pilosocereus gounellei* in Mice

* Corresponding author: Dr. Alisson Macário de Oliveira

Address: Departamento de Bioquímica Universidade Federal de Pernambuco,

Recife-PE, 50670-901, Brazil. E-mail: alisson.macario@ufpe.br, Phone: +55

(81) 9.9768-3833

Abstract

Pilosocereus gounellei, popularly known as xique-xique, endemic to the Caatinga, an exclusively Brazilian biome, has application in traditional medicine in inflammation and hyperglycemia. This study aimed to prepare an aqueous extract of *P. gounellei* stem rich in polyphenols and evaluate for the first time acute and subchronic (13-weeks) dermal toxicity in mice. A factorial design (3²) of the aqueous extract of *P. gounellei* stem was developed using the variables: drug proportion and extraction method. Toxicity was assessed by applying 1g of extract a single or multiple time (13 weeks) to mice. When evaluating the dry residue and total polyphenol content of the extracts, the extraction efficiency was determined resulting in extraction by maceration with 5g of plant drug as the optimized extract (AEPg). In the assessment of dermal irritation, treatment with AEPg caused mild skin irritation (score 1). In acute dermal toxicity, erythema was observed in the first 24 hours after application and ceased until the end of the experiment. In subchronic dermal toxicity, application for 13 weeks did not promote death or behavioral changes. Biochemical, hematological and histopathological parameters were not changed with AEPg treatment when compared to control. Thus, AEPg presented mild dermal irritation and no long-term toxic effects, and could be an important source for the development of drugs with dermal application.

Keywords: Xique-xique, Dermal toxicity, Caatinga, Toxicity.

Introduction

Species of the Cactaceae family are widely distributed in the Americas and are commonly found in the semi-arid regions of Brazil. They have important socioeconomic value for the rural population, with food (Fidelis et al., 2015), ornamental and medicinal (Ramírez-Rodríguez et al., 2020) applications. Some species of cacti have been studied in topical preparations. Ammar et al. (2015) described that a methanolic extract of *Opuntia ficus-indica* accelerated the healing process of skin wounds. A hexane fraction of *Pereskia aculeata* leaves did not promote dermal irritation and promoted a topical anti-inflammatory effect in mice (Pinto et al., 2015).

The species *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber ex K.Schum.) Byles & G.D. Rowley, popularly known as xique-xique, is still seen as underutilized, despite of its potential applications (Araujo, et al., 2021). *Pilosocereus gounellei* is a cactus that is traditionally used as forage for animals (Araujo et al. 2010), as food by people (Lucena et al., 2013), and in folk medicine with applications against inflammatory processes (Agra et al., 2008), jaundice (Roque et al., 2010) and hyperglycemia (Albuquerque et al., 2007; Marinho et al., 2011). In an ethnobotanical survey by Oliveira et al., (2011) a homemade ointment based on xique-xique was reported for the treatment of skin conditions.

Oral administration of a saline extract from *P. gounellei* stem in high concentrations (2,000 mg/kg b.w) did not promote significant changes in behavioral, physiological, biochemical, hematological or histopathological parameters in mice (De Oliveira, et al. 2018; De Oliveira et al .2019). In addition, this extract showed antinociceptive (De Oliveira et al., 2018), gastroprotective (Souza et al., 2018), and anti-obesity (De Oliveira et al., 2021) activities. The diversity of biological activities is possibly linked to the presence of a rich source of flavonoids and phenolic acids (De Araujo et al., 2021) that can potentially be used in the cosmetics industry or to treat skin diseases.

However, a toxicological survey on topical application of *P. gounellei* stem extract was not conducted yet. Therefore, envisioning future studies on biological activities to be tested topically, we evaluated the dermal toxicity in mice of an aqueous extract of the stem of *P. gounellei*, produced aiming to obtain a better efficiency in extraction of polyphenols.

2. Materials and methods

2.1 Plant material

P. gounellei stem was collected at Afogados da Ingazeira, Pernambuco, Brazil, under authorization (number 72024) from the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) of the Brazilian Ministry of the Environment. Access was recorded (ADF1667) in the *Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado* (SisGen). A voucher specimen (number 82,853) was deposited at the herbarium UFP – Geraldo Mariz at the *Universidade Federal de Pernambuco* (UFPE). For preparation of the extract, the thorns were removed and the stem was dried at 28 °C for three days and subsequently pulverized. The powder was stored at 4 °C. Then, the solution was sieved and the liquid was frozen and subjected to the freeze-drying process to obtain the dry extract.

2.2 Extract preparation

Different amounts of plant drug (5, 10 and 15 g) and extraction methods (maceration for 24 h; turbo-extraction during 20 min with 4 cycles of 30 seconds and 4 minutes of interval between each cycle; and infusion, with incubation of the material for 20 min in boiling solvent) were evaluated, using distilled water as solvent. The extracts obtained were evaluated for dry residue and total polyphenol content.

The dry residue (DR) was determined in infrared balance (Series-ID v. 18, Marte®), using 4 mL of extract, at a temperature of 130 ± 2 °C until mass variation does not changing.

The total polyphenol content (TPC) was determined through according to Galvão et al., (2018). 150 µL of the extract were transferred to a 10 mL volumetric flask. Then, 1000 µL of Folin-Ciocalteu were added, and the volume was adjusted with carbonate solution (10.75%, w/v, NaCO₃). UV-Vis absorbance measurements were taken after 20 min in the scanning mode to determine the wavelength of highest absorption, which was subsequently fixed at 780 nm. TPC was calculated and expressed in g% of pyrogallol according to the formula:

$$TPC = \frac{DF * A1 * m2}{A2 * m1}$$

where: DF = dilution factor; A1 = absorbance of sample; m1 = weight of sample; A2 = absorbance of standard; m2 = weight of sample.

The extraction efficiency (EE) was determined by the ratio between the content of the metabolites of interest (TPC) and the solid content (DR) obtained for each extract ($EE = TPC/DR$). The extract with highest EE was chosen for the study of dermal toxicity and named OEPg (optimized extract from *P. gounellei*).

2.3 *In vivo* experimental procedures

2.3.1 *Animals*

All the experiments were conducted in accordance with the National Institute of Health's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and were approved (process no. 0058/2023) by the Ethics Committee on Animal Use of UFPE. Swiss mice (35–45 g) were obtained from the *Instituto Keizo Asami* of UFPE and kept under a light/dark cycle (12:12) at 22 °C. Water and standard food (Labina, Purina, Brazil: 8% fat, 26% protein, 54% carbohydrate) were available *ad libitum*.

For the evaluation of the dermal toxicity, the mice were anesthetized with intramuscular ketamine (50 mg/kg) and xylazine (5 mg/kg) solution. Then, the hair on the dorsal region was shaved and OEPg (1 g/mL) or vehicle was applied. In all groups, occlusion was performed with microporous tape used for dressings.

2.3.2 *Dosage preparation*

Due to the viscous nature of *P. gounellei*, 1 mL of distilled water was added to every 1 g of dry extract (OEPg), providing a semi-solid texture for dermal application.

2.3.3 *Dermal irritation assay*

To evaluate a possible dermal irritating effect of the extracts, 20 male mice were divided into four groups ($n = 5$ per group), which were kept in separate cages. Each animal had two areas shaved in the dorsal region (approximately 1 cm²), one for application of the extract at 1 g/mL and in the other (left side) nothing was applied, thus allowing that the animal was its own control. The skin of all animals was inspected for dermal irritation and the presence of erythema and/or edema at intervals of 1, 12, 24, 48 and 72 h after topical application of the extract.

The evaluation was scored according to Draize (1959): 0 - no swelling or erythema; 1 - erythema or noticeable swelling; 2 - well-defined erythema or mild swelling; 3: moderate to severe erythema or moderate swelling; 4: severe erythema or swelling. The mean score for irritation (MSI) corresponded to the ratio between the total score and the number of animals in each group. The relative mean score for irritation (MSI_R) after 72 h was calculated as: MSI (extract) – MSI (control). Treatment was classified as nonirritant (MSI < 0.5), slightly irritant (0.5–2.99), moderately irritant (3.0–5.99), or severely irritant (>6.0).

2.3.4 Acute dermal toxicity

The animals (male and female) were divided into two groups (n=5): one for treatment with OEPg (1 g/mL) and another treated only with vehicle (distilled water). The animals' skin was observed during the first 6 hours and then wrapped in microporous tape. Skin assessment was performed twice a day for 14 days. On the 15th day, the animals were anesthetized followed by exploratory laparotomy for macroscopic evaluation of the internal organs (OECD n. 404, 2015).

2.3.5 Subchronic dermal toxicity

Groups of 5 male or 5 female mice followed the treatments: Control group, treated with vehicle (distilled water) and another group treated with extract (1 g/mL). Treatments continued daily for 13-week with application of treatments and replacement of the microporous tape. At the end of the test, the animals underwent collection of blood, internal organs and dorsal skin after anesthesia.

2.3.6 Evaluation of toxicity signs

For assessment of acute and subchronic dermal toxicity, all mice were monitored daily for mortality and behavioral changes (agitation, drowsiness, tremors, seizures, stereotyped movements, diarrhea and lethargy), in addition to changes in breathing. Water and food consumption as well as body weight were evaluated daily in acute toxicity assay and weekly in subchronic toxicity test.

2.3.7 Analysis of hematological and biochemical parameters

The blood collected from each animal was divided into two tubes, one

containing anticoagulant (EDTA) for hematological analysis and another tube containing separating gel for biochemical analysis. For hematological analysis, the following parameters were evaluated: erythrocyte count, hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular volume (CMV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and total and differential leukocyte count (segmented, lymphocytes and monocytes) using an optical microscopy and automatic hematological analyzer (Coulter STKS, Beckman Coulter, Miami, FL, USA). For the biochemical analyses, the following serum parameters were determined: albumin, ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), alkaline phosphatase, GGT (gamma-glutamyl transferase), total protein, BUN (blood urea nitrogen), creatinine, bilirubin, total cholesterol and triglycerides using commercial kits (Labtest Diagnostica, Brazil) and COBAS automatic analyzer (Roche Diagnostics, Switzerland).

2.3.8 Histopathological analysis of the skin

The removed skins were fixed in formalin, cut in 0.5 cm thick pieces, and placed in plastic cassettes. Tissues were processed automatically using an automated processor (Leica ASP300, Germany) followed by paraffin embedding, cutting and sectioning at 5 μ m thickness using a rotary microtome (Leica RM 2155, Germany). Then, tissue sections were deparaffinized with xylene and rehydrated with different dilutions of ethanol (100% and 80%). Tissue sections were stained with Hematoxylin and Eosin (H&E) stain.

2.4. Statistical analysis

The results were expressed as mean and relative standard deviation; and were analyzed with the software Statistica®.

3. Results and discussion

In our investigation we studied the best condition for extraction of polyphenols from *P. gounellei* stem using a 3² experimental design and response surface methodology (RSM) to achieve maximum extraction. Table 1 reports the matrix of factorial design together with the results obtained for the responses evaluated.

Table 1. Matrix of the factorial design 3^2 for extraction of polyphenols from *P. gounellei* stem.

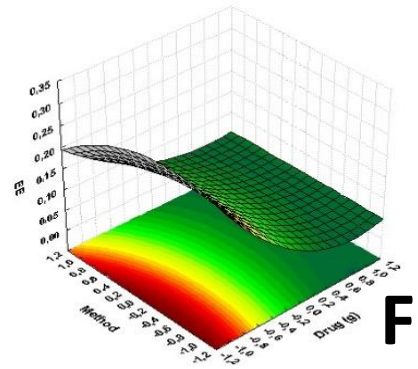
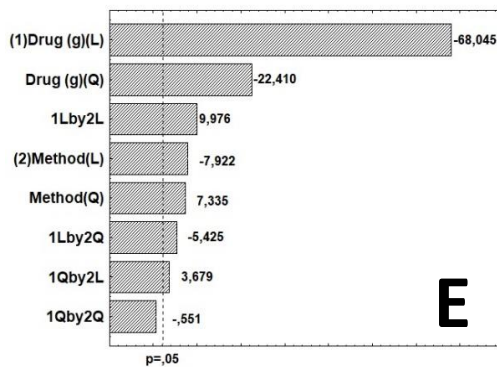
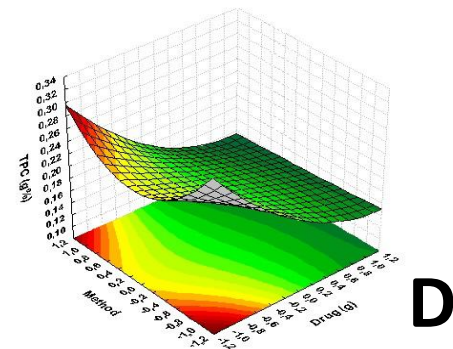
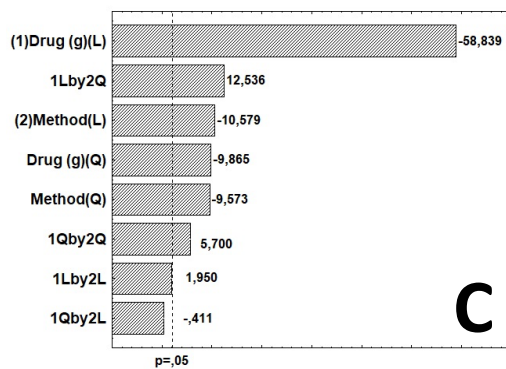
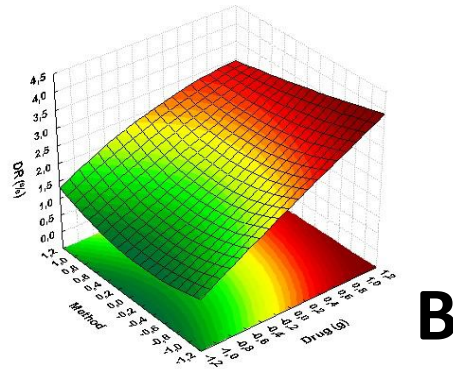
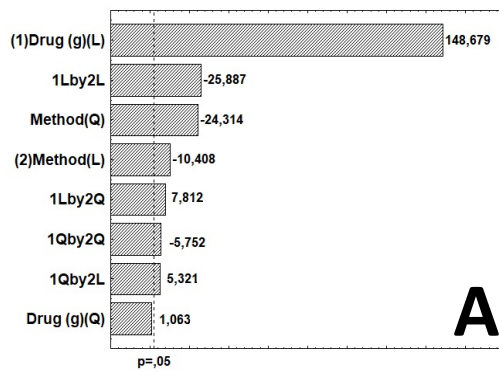
Natural Variables		Responses					
Drug (g)	Method	DR (%)		TPC (g%)		EE	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
5	Maceration	1.12	0.0436	0.276	0.0013	0.247	0.0083
5	Infusion	0.88	0.0231	0.220	0.0078	0.249	0.0138
5	Turbo-extraction	1.36	0.0153	0.253	0.0030	0.186	0.0042
10	Maceration	2.32	0.0416	0.193	0.0031	0.083	0.0014
10	Infusion	1.91	0.0289	0.181	0.0026	0.095	0.0020
10	Turbo-extraction	2.28	0.0153	0.173	0.0039	0.076	0.0013
15	Maceration	3.55	0.0306	0.151	0.0016	0.043	0.0007
15	Infusion	3.10	0.0265	0.147	0.0027	0.047	0.0006
15	Turbo-extraction	2.91	0.0265	0.137	0.0039	0.047	0.0012

Where: DR = Dry residue; TPC = Total polyphenol content; EE: Extraction efficiency. The results were expressed as mean \pm sd (standard deviation).

The Pareto chart and surface response diagrams obtained are shown in Figure 1. Considering the variable dry residue, it is possible to observe a positive influence of the amount of drug (+148.67) and a negative influence of the method (-24.31) (Figure 1A), ie. when the dry residue was higher with the increase of drug amount, while when the method is at the highest level (turbo-extraction) there was a decrease in the value of the dry residue (Figure 1B).

Regarding the total polyphenols content, both variables showed a negative influence (Figures 1C and 1D). This fact may be associated with the extraction and decrease in the particle size of the herbal drug that occur simultaneously during turbo-extraction, increasing the amount of fine material and making filtration difficult and consequently disadvantaging extraction. Similar results were observed in relation to extraction efficiency (Figure 1E). However, the method in the quadratic model had a positive influence on the response. In addition, the interaction between the two factors (amount of drug and method) in the linear model was positive (Figure 1F).

Figure 1. Pareto charts and surfaces responses of 3^2 factorial design for dry residue (A-B), total polyphenol content (C-D) and extractive efficiency (E-F).



The factors studied showed influence for the responses (except for drug amount at the quadratic term for DR), and significant interactions between them at the linear and quadratic terms. The statistical analysis of the models calculated displayed high coefficients of determinations for dry residue ($R^2 = 0.9992$), total polyphenol content ($R^2 = 0.9934$) and extractive efficiency ($R^2 = 0.9951$). The correlation coefficient concluding that the models could explain more than 99% of the experimental variability (Table 2). Considering the results obtained, a better extraction of polyphenols from *P. gounellei* stem using water as solvent can be

achieved maceration technique and a drug amount of 5 g. Thus, the OEPg used in dermal toxicity assay was produced using these conditions.

Table 2. Statistical analysis of the models from factorial design.

Terms	DR			TPC			EE		
	t (18)	Coeff.	F	t (18)	Coeff.	F	t (18)	Coeff.	F
(1) Drug (g)(L)	148.68*	1.03*	22105.44*	-58.84*	-0.052*	3462.08*	-68.05*	-0.09*	4630.12*
Drug (g)(Q)	1.06	0.01	1.13	-9.87*	-0.008*	97.32*	-22.41*	-0.03*	502.23*
(2) Method (L)	-10.41*	-0.07*	108.33*	-10.58*	-0.009*	111.93*	-7.92*	-0.01*	62.76*
Method (Q)	-24.31*	-0.15*	591.19*	-9.57*	-0.007*	91.65*	7.34*	0.01*	53.80*
1L by 2L	-25.89*	-0.22*	670.15*	1.95	0.002	3.80	9.98*	0.02*	99.53*
1L by 2Q	7.81*	0.06*	61.04*	12.54*	0.012*	157.17*	-5.43*	-0.01*	29.44*
1Q by 2L	5.32*	0.04*	28.32*	-0.41	0.000	0.17	3.68*	0.01*	13.54*
1Q by 2Q	-5.75*	-0.04*	33.09*	5.70*	0.005*	32.50*	-0.55	0.00	0.30

*Significant *t*-test for $\alpha = 0.05$.

DR = dry residue; TPC: Total Polyphenol Content; EE: extractive efficiency.

The dermal irritation test of OEPg was initially investigated before toxicity assays. In general, dermal irritation involves an inflammatory process localized by a single or prolonged contact with an etiological agent. In the first hour of application, OEPg caused slight irritation (score 1) in all animals, however, at the following periods, the erythema and edema scores at the other times were all zero (Table 3). The control group did not show changes at all periods evaluated. Therefore, OEPg is a substance that causes little irritation.

Table 3. Assessment of dermal irritation.

Treatment	Mean score for irritation (MSI)					MSI _R
	1 h	12 h	24 h	48 h	72 h	
Control (Distilled water)	0	0	0	0	0	0
OEPg (2,000 mg/kg)	1	0	0	0	0	0

OEPg: optimized extract from *P. gounellei*

In acute dermal toxicity assay, male and female mice were exposed for 24 h to OEPg applied on the trichotomized dorsal region. No deaths or behavioral changes occurred after this period. However, moderate erythema in males and

females exposed to OEPg was observed the following day of topical application, with no signs of edema. After 48 h of topical application, there were no signs of erythema in both sexes. The control animals did not show any changes over the 14 days of evaluation. When evaluating weight gain as well as water and food consumption, animals treated with OEPg did not show significant changes when compared to respective control (Table 4). The data shows that acute topical application of OEPg only caused skin irritation but did not affect systemic physiological parameters.

Table 4. Evaluation of physiological parameters of water and feed consumption and weight gain of male and female mice treated with *Pilosocereus gounellei* extract.

Parameter	Control male	OEPg male	Control female	OEPg female
Water consumed (mL)	61.14±5.72	63.29±4.13	62.50±5.44	64.77±6.11
Food consumed (g)	42.38±4.10	43.03±4.41	42.25±4.59	44.01±3.94
Weight again (g)	3.19±0.14	3.09±0.11	3.15±0.09	3.12±0.13

Values represent the mean ± standard error of mean (n = 3/group). No significant differences ($p > 0.05$) were found between the groups. OEPg: optimized extract from *P. gounellei*.

Pinto et al. (2015) evaluated the irritant potential on the skin of rats of a hexane fraction (HF) of a methanolic extract of *Pereskia aculeata* (Cactaceae) leaves. After 4 hours of contact, 0.5 g of HF did not cause irritation, erythema, edema, or dry skin in rats during the 14 days of observation.

To evaluate possible cumulative effects of the use of OEPg, we carried out subchronic dermal toxicity tests for 13 weeks of application. There were no deaths or behavioral changes in the mice. Furthermore, hair growth in mice treated with OEPg was similar to the control group. Regarding weight gain, water and food consumption, the mice from the control group and those treated with OEPg did not show significant differences.

Hematological and biochemical parameters were determined for animals

from subacute assay (Tables 5 and 6). No changes were observed in the hematological parameters regarding red and white cells from mice treated with OEPg when compared to control mice of both sexes (Table 5). In addition, there were no significant differences in biochemical parameters between the groups treated with the extracts compared to the control for both sexes (Table 6).

Table 5. Evaluation of hematological parameters of male and female mice treated with *Pilosocereus gounellei* extract.

Parameters	Control male	OEPg male	Controle female	OEPg female
Erythrocytes($10^6/\text{mm}^3$)	5.06±0.39	5.29±0.39	5.18±0.43	5.29±0.40
Hematocrit (%)	37.30±2.08	39.04±3.50	39.20±3.65	40.13±4.34
Hemoglobin (g/dL)	12.55±0.41	12.79±0.59	12.91±0.45	13.42±0.63
MCV (fL)	49.67±2.50	50.65±3.53	51.44±3.66	49.50±0.67
MCH (pg)	18.02±0.44	18.75±0.48	18.40±0.42	18.72±0.76
MCHC (%)	35.43±1.57	36.32±3.15	34.97±3.53	36.42±1.34
Leukocytes ($10^3/\text{mm}^3$)	7.20±0.58	7.19±0.57	7.31±0.45	7.52±0.51
Segmented (%)	60.22±3.25	62.60±3.70	61.54±3.23	59.29±2.45
Lymphocytes (%)	29.18±0.25	30.37±0.40	29.86±0.42	28.88±1.12
Monocytes (%)	5.13±0.18	5.27±0.26	5.24±0.20	5.64±0.83
Basophils (%)	0.17±0.03	0.19±0.03	0.18±0.02	0.17±0.29
Eosinophils (%)	3.65±0.22	3.74±0.32	3.53±0.39	3.49±0.02

MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration. Values represent the mean ± SEM (n=5/group). p <0.05 in comparison with control. OEPg: optimized extract from *P. gounellei*.

Table 6. Evaluation of biochemical parameters of male and female mice treated with *Pilosocereus gounellei* extract.

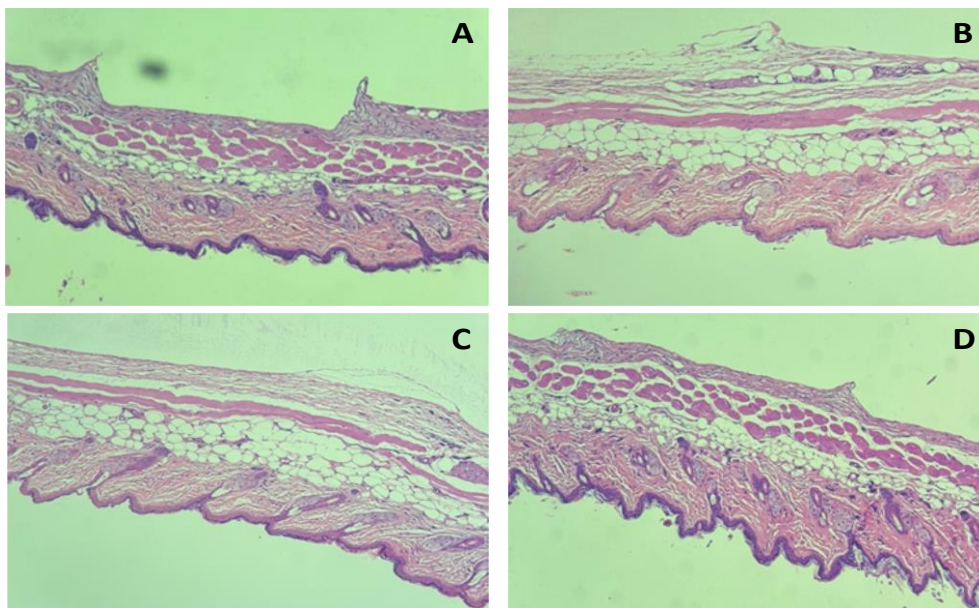
Parameters	Control male	OEPg male	Controle female	OEPg female
Albumin (g/dL)	32.10±2.17	31.54±2.09	33.80±3.13	31.19±3.10
ALT (U/L)	61.43±2.46	60.82±2.91	60.69±5.19	60.40±2.03
AST (U/L)	141.43±5.22	137.43±6.72	136.28±8.56	142.40±3.10
GGT (U/L)	13.11±0.70	13.52±0.62	13.10±0.50	13.02±0.60
Alkaline phosphatase	12.10±0.57	12.47±0.51	12.30±0.65	11.90±0.56

(IU/L)				
Total protein (g/dL)	64.10±2.32	65.24±3.58	63.65±2.65	62.03±2.08
Creatinin (mg/dL)	3.48±0.36	3.61±0.42	3.42±0.09	3.40±0.13
Ureia (mg/dL)	0.39±0.06	0.36±0.08	0.38±0.08	0.40±0.13
Total cholesterol (mg/dL)	90.43±5.35	93.74±6.42	94.39±5.45	87.03±6.04
Triglycerides (mg/dL)	64.14±3.14	62.73±3.51	65.30±5.79	64.37±5.10

Values represent the mean \pm SEM (n=5/group). $p < 0.05$ in comparison with control. OEPg: optimized extract from *P. gounellei*.

The microscopic structures of the skin of mice treated with OEPg are represented in Fig. 2. Microscopic observation revealed that the skin structures of animals of both sexes and for all groups did not show any changes in cellular structures at varying magnifications through the microscope optical.

Figure 2. Representative photomicrograph of histological analysis of skin from mice subjected to subchronic dermal toxicity for 13 weeks.



Legend: Histopathological images of skin from male and female mice, control or treated with gel containing OEPg. A: photomicrograph of male mouse skin from the control group. B: photomicrograph of male mouse skin from the gel-treated group. C: A. photomicrograph of skin from a control group female mouse. D: photomicrograph of female mouse skin from the gel-treated group. Magnification of 100x and stained with hematoxylin and eosin.

Conclusion

A factorial design was developed and an optimized extract from the stem of *Pilosocereus gounellei* was obtained by maceration at 5%. Topical application of the extract (1 g/mL) daily for up to 13 weeks did not promote changes in the skin or in the biochemical, hematological and histopathological parameters of mice. In this way, this study contributed to the development of future pharmaceutical formulations containing *P. gounellei* extract with therapeutic potential.

Disclosure statement

The authors report there are no competing interests to declare.

Data availability statement

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

The authors express their gratitude to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), as well as to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; Finance Code 001) and the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

CrediT authorship contribution statement

Francisco Amorim: Methodology, Software, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft. Magda Ferreira: Software, Formal analysis, Data curation. Luiz Soares and Patrícia Paiva: Methodology, Funding acquisition. Alisson Oliveira and Thiago Napoleão: Methodology, Software, Formal analysis, Data curation, Funding acquisition, Writing – original draft, Writing – review; editing, Supervision.

References

Ammar, I., Bardaa, S., Mzid, M., Sahnoun, Z., Rebaïi, T., Attia, H., & Ennouri, M. (2015). Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 483-490.

Âmbar, B.D. et al. Requisitos regulatórios internacionais para testes de sensibilização cutânea. *Toxicologia e Farmacologia Regulatórias*, 95, pp. (2018).

De Araujo, F. F., de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021). Underutilized plants of the Cactaceae family: Nutritional aspects and technological applications. *Food Chemistry*, 362, 130196.

De Assis, P. O. A., Guerra, G. C. B., de Souza Araújo, D. F., de Araújo, A. A., de Araújo, R. F., de Carvalho, T. G., ... & do Egypto, R. D. C. R. (2019). Intestinal anti-inflammatory activity of xique-xique (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) juice on acetic acid-induced colitis in rats. *Food & function*, 10(11), 7275-7290.

De Oliveira, A. M., da Silva, W. A. V., Ferreira, M. R. A., Paiva, P. M. G., de Medeiros, P. L., Soares, L. A. L., ... & Napoleão, T. H. (2019). Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 234, 96-105.

De Oliveira, A. M., de Freitas, A. F. S., de Souza Costa, M. D., da Silva Torres, M. K., de Araujo Castro, Y. A., Almeida, A. M. R., ... & Napoleao, T. H. (2021). *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem extract decreases insulin resistance, inflammation, oxidative stress, and cardio-metabolic risk in diet-induced obese mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113327.

De Oliveira, A. M., de Luna Freire, M. O., da Silva, W. A. V., Ferreira, M. R. A., Paiva, P. M. G., Soares, L. A. L., ... & Napoleão, T. H. (2018). Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. *Regulatory Toxicology and*

Pharmacology, 95, 289-297.

Ferreira, M. R., Sousa, P. A., Machado, J. C., & Soares, L. A. (2020). Extraction of monomers of hydrolysable tannins from PODS of *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) LP Queiroz: Effects of solvent and amount of drug using response-surface methodology and desirability profile. *Química Nova*, 43, 738-746.

Fidelis, V. R. D. L., Pereira, E. M., da Silva, W. P., Gomes, J. P., & Silva, L. A. (2015). Produção de sorvetes e iogurtes a partir dos frutos figo da índia e mandacaru. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 10(4), 29.

OECD (2015), *Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris

Pinto, N. D. C. C., Machado, D. C., da Silva, J. M., Conegundes, J. L. M., Gualberto, A. C. M., Gameiro, J., ... & Scio, E. (2015). *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 330-337.

Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüeña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, 312, 126073.

SAWANT, P.D.; KUMAR, S.A.; WANKHEDE, S. & RAO, D.D. Creatinine as a normalization factor to estimate the representativeness of urine sample - Intra-subject and inter-subject variability studies. *Applied Radiation and Isotopes*. n.136,p. 121–126, 2018.

Sousa, G. A., Oliveira, I. S., Silva-Freitas, F. V., Viana, A. F. S., Neto, B. P., Cunha, F. V. M., ... & Oliveira, F. A. (2018). Gastroprotective effect of ethanol extracts of cladodes and roots of *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl (Cactaceae) on experimental ulcer models. *Journal of*

ethnopharmacology, 218, 100-108.

4.2 ARTIGO 2

Gel contendo extrato aquoso do caule de *Pilosocereus gounellei* tem efeito cicatrizante em camundongos saudáveis e imunocomprometidos

Francisco Amorim de Barros¹, Magda Rhayanny Assunção Ferreira³, Luiz Alberto Lira Soares³, Patrícia Maria Guedes Paiva¹, Alisson Macário de Oliveira^{1,2}, Thiago Henrique Napoleão¹

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50670-901, Brazil

²Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 58429-500

³Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50670-901, Brazil

*Autor correspondente: Alisson Macário de Oliveira (alisson.macario@ufpe.br)

Resumo

As feridas são lesões na pele ou nas mucosas que resultam de fatores diversos e que requerem um processo natural de cicatrização, dividido em fases inflamatória, de proliferação e de remodelação (Andjić et al., 2022). O *Pilosocereus gounellei*, uma cactácea presente em abundância do nordeste brasileiro, tem uso conhecido tradicional pela medicina para tratar inflamações e processos decorrentes de ferimentos em membros inferiores (Oliveira, 2011) e possui atividades farmacológicas diversas documentadas em estudos prévios para tratar processos inflamatórios (Agra et al., 2008), icterícia (Roque et al., 2010) e para efeitos hipoglicemiantes (Albuquerque et al., 2007; Marinho et al., 2011). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de um gel contendo extrato aquoso do caule de *P. gounellei* em feridas excisionais de camundongos saudáveis e imunocomprometidos. O extrato foi obtido pelo método de maceração a 5% de droga vegetal, e um gel de carbopol foi preparado com glicerina, propilenoglicol e conservantes, resultando em uma formulação verde clara, com pH de 5,16, viscosidade alta e boa espalhabilidade. Camundongos albinos Swiss foram divididos em seis grupos, incluindo controles positivos e negativos, tanto saudáveis quanto imunocomprometidos. As feridas foram induzidas e tratadas diariamente por 21 dias. A contração das feridas foi medida, e os níveis de citocinas TNF- α e IL-1 β foram determinados. Os resultados mostraram que o gel de *P. gounellei* promoveu uma cicatrização mais rápida comparada ao controle negativo e ao tratamento com controle positivo com FitoScar®, especialmente nos camundongos imunocomprometidos, que tiveram uma taxa de contração de ferida de 81,45% versus 53,69%. O tratamento também reduziu significativamente os níveis de TNF- α e IL-1 β , indicando um efeito anti-inflamatório. Esses dados mostram que o extrato de *P. gounellei* incorporado em gel mostrou ser eficaz na cicatrização de feridas em camundongos saudáveis e imunocomprometidos, possivelmente devido à sua ação anti-inflamatória. Concluímos que o extrato de *P. gounellei* é seguro e eficaz na promoção da cicatrização de feridas, possivelmente devido às suas propriedades anti-inflamatórias. Estes resultados apoiam seu uso potencial em tratamentos tópicos para acelerar a cicatrização de feridas.

Palavras-chave: Contração de feridas. Cicatrização. Cactaceae. Redução de citocinas.

Abstract

Wounds are injuries to the skin or mucous membranes resulting from various factors and require a natural healing process, divided into inflammatory, proliferative, and remodeling phases (Andjić et al., 2022). *Pilosocereus gounellei*, a cactus abundantly found in northeastern Brazil, is traditionally used in medicine to treat inflammation and injuries of the lower limbs (Oliveira, 2011). It has documented pharmacological activities in previous studies for treating inflammatory processes (Agra et al., 2008), jaundice (Roque et al., 2010), and hypoglycemic effects (Albuquerque et al., 2007; Marinho et al., 2011). The objective of this study was to evaluate the effect of a gel containing an aqueous extract of *P. gounellei* stem on excisional wounds in healthy and immunocompromised mice. The extract was obtained by maceration at 5% of the plant material, and a carbopol gel was prepared with glycerin, propylene glycol, and preservatives, resulting in a light green formulation with a pH of 5.16, high viscosity, and good spreadability. Swiss albino mice were divided into six groups, including positive and negative controls, both healthy and immunocompromised. Wounds were induced and treated daily for 21 days. Wound contraction was measured, and levels of cytokines TNF- α and IL-1 β were determined. The results showed that the *P. gounellei* gel promoted faster healing compared to the negative control and the positive control treatment with FitoScar®, especially in immunocompromised mice, which had a wound contraction rate of 81.45% versus 53.69%. The treatment also significantly reduced levels of TNF- α and IL-1 β , indicating an anti-inflammatory effect. These data show that *P. gounellei* extract incorporated into a gel was effective in wound healing in both healthy and immunocompromised mice, possibly due to its anti-inflammatory action. We conclude that *P. gounellei* extract is safe and effective in promoting wound healing, possibly due to its anti-inflammatory properties. These results support its potential use in topical treatments to accelerate wound healing.

Keywords: Wound contraction. Healing. Cactaceae. Cytokine reduction.

1. Introdução

Feridas são lesões na pele ou nas mucosas que resultam de diversos fatores, como trauma físico, exposição a substâncias químicas, agentes biológicos e até mesmo procedimentos médicos. A cicatrização de feridas representa uma resposta natural do organismo à lesão e ocorre em três fases sequenciais e interconectadas: a fase inflamatória, a fase de proliferação ou granulação e a fase de remodelação ou maturação (Andjic et al., 2022).

Durante o tratamento de feridas, a ocorrência de infecções é uma das preocupações principais, uma vez que podem atrasar o processo de cicatrização e causar impactos sistêmicos negativos para o paciente. O aumento da carga microbiana em um local que já está passando por um processo inflamatório pode sobrecarregar o sistema imunológico, o que pode levar à colonização crítica e até mesmo à sepse (Alanazi et al., 2022).

Diante da variedade de plantas da Caatinga, destaca-se a *Pilosocereus gounellei*, comumente chamada por xique-xique, uma espécie de cactácea característica do nordeste semiárido brasileiro que se desenvolve em solos rasos e rochosos. Esta espécie é muito utilizada na alimentação de caprinos, bovinos e na fabricação de bolos, biscoitos e doces pela população rural e já se mostrou ser altamente nutritivo (Furtado et al., 2016).

Em estudos etnofarmacológicos, diferentes preparações do xique-xique são descritas para tratar processos inflamatórios (Agra et al., 2008), icterícia (Roque et al., 2010) e para efeitos hipoglicemiantes (Albuquerque et al., 2007; Marinho et al., 2011). Na medicina tradicional, há relatos sobre o uso de uma pomada feita a partir do miolo do xique-xique, que é macerado e aplicado para o tratamento de processos inflamatórios decorrentes de lesões nos membros superiores e inferiores (Oliveira, 2011).

Estudos anteriores verificaram que a administração oral de um extrato salino do caule de *P. gounellei* de forma aguda e subcrônica (28 dias) se mostrou segura para camundongos (Oliveira, et al. 2018; Oliveira et al. 2019). Além de estudos de segurança de uso, foram relatadas atividades antinociceptiva (Oliveira et al., 2018), gastroprotetora (Souza et a., 2018), anti-colite (De Assis et al., 2019) e antiobesidade (Oliveira et al., 2021) para extratos do caule dessa planta.

Os resultados do estudo de toxicidade cutânea (artigo 1 da presente tese)

evidenciaram que a aplicação tópica do extrato (1 g/mL) diariamente por até 13 semanas não promoveu alterações na pele e nem nos parâmetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos dos camundongos. Isso demonstra a segurança para aplicações tópicas, não causando reações alérgicas cutâneas ou toxicidade local ou sistêmica em camundongos machos e fêmeas.

No presente estudo, objetivamos avaliar o efeito do tratamento tópico com formulação em gel contendo extrato aquoso do caule de *P. gounellei* em feridas excisionais em camundongos saudáveis e imunocomprometidos.

2. Materiais e métodos

2.1 Material vegetal

O material vegetal foi coletado em Afogados da Ingazeira, Pernambuco, Brasil, sob autorização (número 72024) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) do Ministério do Meio Ambiente do Brasil. O acesso foi registrado (ADF1667) no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). Uma exsicata (número 82.853) foi depositada no herbário UFP – Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Para elaboração do extrato, os espinhos foram retirados e o caule foi seco a 28 °C por três dias e posteriormente pulverizado. O pó foi armazenado a 4°C até a preparação dos extratos. O pó do caule de *P. gounellei* foi homogeneizado com água destilada (5% m/v) e submetido ao processo de maceração estática por 24 h. Em seguida, a solução foi filtrada e o líquido congelado e submetido ao processo de liofilização para obtenção do extrato seco (OEPg).

2.2 Perfil fitoquímico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Amostra do extrato (10 mg) foi solubilizada em metanol (grau HPLC, Tedia®) em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, uma alíquota de 2,5 mL foi transferida para balão volumétrico de 5 mL e o volume foi aferido com água ultrapura (Purelab Classic UV, Elga®). A solução obtida foi filtrada para vial com auxílio de filtro PVDF (0,45 µm; Chromafil®). A análise por CLAE foi realizada num sistema de HPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, EUA), acoplado a um detector arranjo de

fotodiodo (DAD; Thermo Fisher Scientific) e equipado com bomba binária (HPG-3x00RS, Thermo Fisher Scientific), degaseificador e amostrador automático equipado com um loop de 20 µL (ACC-3000, Thermo Fisher Scientific). O comprimento de onda de análise foi 350 nm. As separações cromatográficas foram obtidas com uma coluna C₁₈ (250 mm x 4,6 mm d.i., 5 µm) Supelco[®] equipada com pré-coluna (C₁₈ de 4 mm x 3,9 m; Phenomenex[®]), temperatura de 26 ± 1 °C. A fase móvel foi constituída por água ultrapura (A) e metanol (B), ambos acidificados com ácido trifluoroacético a 0,05%, e fluxo ajustado a 0,7 mL/min. Um programa de gradiente foi aplicado como segue: 0-10 min, 10-20% de B; 10-14 min, 20-25% de B; 14-18 min, 25-40% de B; 18-25 min, 40-80 de B; 25-30 min, 80% de B; 30-34 min, 80-10% de B; 34-36 min, 10%B. Os dados foram analisados, após a injeção em triplicata, e processados usando o software Chromeleon (Dionex/Thermo Fisher Scientific, EUA).

O padrão de rotina (≥ 94%, Sigma-Aldrich[®]) foi preparado em metanol (grau HPLC, Tedia[®]). Em seguida foi realizada uma diluição em água ultrapura (Purelab Classic UV, Elga[®]) e a solução obtida foi filtrada para vial com auxílio de filtro PVDF (0,45 µm; Chromafil[®]).

2.3 Preparação do gel contendo extrato de *P. gounellei*

Inicialmente, carbopol foi solubilizado em água durante 30 minutos sob agitação a 500 rpm. Concomitante, a mistura dos conservantes (listados na tabela 1) foi solubilizada em propilenoglicol e após total solubilização, a solução com os conservantes foi vertida sobre a solução do polímero e mantida sob agitação. Em seguida, foi adicionada a solução do OEPg em glicerina e água, e quantidade suficiente de água para 100 g de formulação. Após 60 minutos de agitação, solução de hidróxido de sódio 5% foi gotejada até a formação do gel. Os ingredientes e proporções utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes para formulação em gel contendo extrato de *P. gounellei*.

Ingrediente	Proporção (%)	Função
<i>Carbopol</i>	1,0	Polímero
<i>Extrato (OEPg)</i>	1,0	Ativo
<i>Glicerina</i>	1,0	Emoliente

<i>Propilenoglicol</i>	1,5	Emoliente
<i>Metilparabeno</i>	0,2	Conservante
<i>Propilparabeno</i>	0,2	Conservante
<i>Água</i>	95,1	Solvente
<i>NaOH 5%</i>	q.s.p	Alcalinizante

OEPg: Optimized Extract from *P. gounellei*

2.4 Caracterização da formulação em gel contendo extrato de *P. gounellei*

Após 24 horas de obtenção, a formulação foi caracterizada quanto a cor, aspecto, pH, viscosidade e espalhabilidade. Para determinar o pH, foi utilizado potenciômetro digital (pH21, Hanna®) a 24 °C. Já a viscosidade da formulação foi determinada em viscosímetro rotacional digital (Rotavisc lo-vi, Ika®) a 24°C com auxílio do *spindle* 5 a velocidade de rotação de 5 rpm durante 1 minuto. A espalhabilidade da formulação foi determinada colocando 0,1 g de formulação em uma placa de vidro, disposta sobre papel milimetrado. Em seguida, outra placa, com peso e diâmetro conhecido, foi colocada sobre a formulação e, após 1 minuto, o diâmetro médio do círculo formado pela formulação foi medido e utilizado para calcular a espalhabilidade. Essa ação foi repetida até não haver mais modificação na espalhabilidade após adição da placa de vidro. A espalhabilidade máxima foi considerada como o ponto no qual não houve alterações significativas na espalhabilidade após a adição do peso.

2.5 Procedimentos experimentais *in vivo*

2.5.1 Animais

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com o Guia para Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do Instituto Nacional de Saúde e foram aprovados (processo nº 0058/2023) pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFPE. Camundongos Swiss machos e fêmeas (35–45 g) foram obtidos do *Instituto Keizo Asami* da UFPE e mantidos sob ciclo claro/escuro (12:12) a 22 °C. Água e ração padrão (Labina, Purina, Brasil: 8% de gordura, 26% de proteína, 54% de carboidratos) estavam disponíveis *ad libitum*.

2.5.2 Modelo da ferida

No início do experimento, os animais foram submetidos à anestesia por meio de uma injeção intraperitoneal contendo uma mistura de xilazina (10 mg/kg) e cetamina (5 mg/kg). Em seguida, as regiões dorsais foram devidamente raspadas e higienizadas com álcool etílico a 70%. Feridas de excisão, medindo 1 × 1 cm e com 2 mm de profundidade, foram criadas com o auxílio de um punch dermatológico. Após a indução das feridas, os camundongos foram alocados em gaiola.

2.5.3 Indução da imunossupressão

A imunossupressão nos grupos imunossuprimidos foi induzida utilizando metotrexato (MTX) em solução salina, o qual foi administrado por via intramuscular em cada animal (0,8 mg/kg/semana). MTX foi administrado 7 dias antes da cirurgia, no dia da cirurgia e 7 dias após (Ciesielski, 1998).

2.5.4 Design Experimental

Os camundongos foram aleatoriamente distribuídos em seis grupos, cada um composto por oito animais. Após 24 horas da indução das feridas, os tratamentos foram administrados da seguinte forma: **Grupo I**, considerado como controle negativo saudável, não recebeu nenhum tratamento; **Grupo II**, considerado como controle negativo imunocomprometido, não recebeu nenhum tratamento; **Grupo III**, considerado como controle positivo saudável, foi tratado com a pomada FitoScar®; **Grupo IV**, considerado como controle positivo imunocomprometido, foi tratado com a pomada FitoScar®; **Grupo V**, considerado animais saudáveis tratados com formulação em gel contendo o extrato a 1%; **Grupo VI**, considerado animais imunocomprometidos tratados com formulação em gel contendo o extrato a 1%. Todos os tratamentos foram aplicados topicamente uma vez ao dia, durante um período de 21 dias, utilizando swabs estéreis e uma quantidade de 0,5 g. No 22º dia após o início dos tratamentos, os animais foram novamente anestesiados por meio de uma injeção intraperitoneal contendo uma mistura de cetamina (10 mg/kg) e xilazina (5 mg/kg) para retirada de amostras de sangue (por punção cardíaca).

2.5.5 Contração da Ferida

A área da ferida em cada camundongo foi registrada com fotografias digitais por câmera de celular 12 pixels, imediatamente após sua criação, bem como nos dias 3, 7, 14 e 21 após a indução da lesão. O software *Image J* foi utilizado para medir a área da ferida. A porcentagem de contração da ferida foi calculada conforme o modelo descrito por Boudjelal et al. (2020) para cada animal, por meio da seguinte fórmula: % Contração da Ferida = [(Área Inicial da Ferida - Área da Ferida no Dia)/Área Inicial da Ferida] × 100.

2.5.6 Medição dos níveis de citocinas no soro

Os níveis de TNF- α e IL-1 β no soro dos animais foram determinados por meio de kits de ELISA (Millipore Corp., Billerica, MA, USA), seguindo as instruções do fabricante. Os resultados são apresentados em pg/mL.

2.5.7 Análises estatísticas

A análise estatística foi conduzida utilizando o software Graph Pad Prism versão 8.0. A ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey foram aplicados para a análise dos dados univariados. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (SEM), e um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3. Resultados e discussão

3.1 Perfil fitoquímico do extrato de *P. gounellei*

Ao analisar o perfil cromatográfico em CLAE-DAD, pode-se observar a presença alguns picos (detecção realizada em 350 nm) (Figura 1). A Figura 2 mostra o espectro de varredura UV dos picos indicados como 1, 2 e 3 no cromatograma. O pico 1, observado no tempo de retenção 25.24 min, corresponde a um ácido hidroxiciâmico (com máximos em 243.2/229.5 nm) e o pico 2 em 29.03 min corresponde à rutina (com máximos de absorção em 257.7/355 nm) na amostra. A partir dos espectros (Mabry et al., 1970), foi também possível identificar a presença de outro flavonoide não identificado (pico 3) na amostra, cujos máximos de absorção foram: 255/270/350.1 nm.

Figura 1 – Cromatograma do extrato em 350 nm.

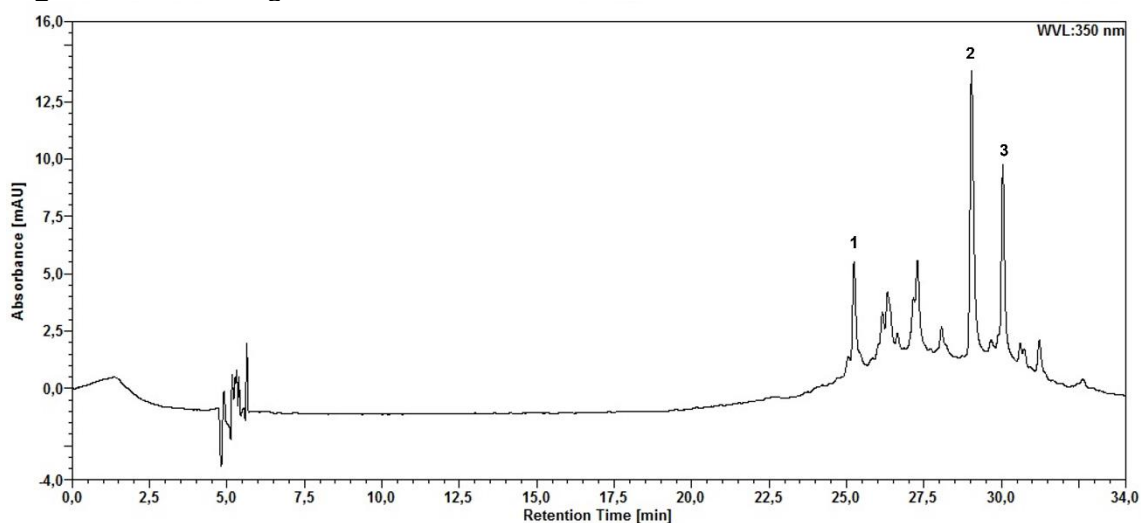
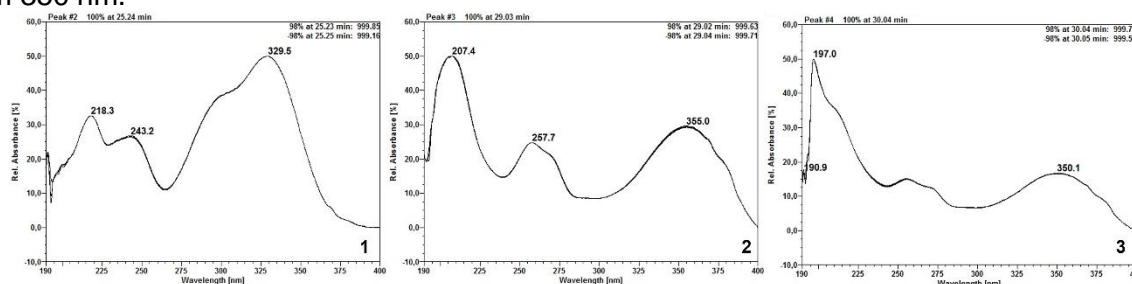


Figura 2 – Espectros de varredura correspondente aos picos 1 a 3 evidenciados no extrato em 350 nm.



Com base em equações obtidas para os padrões ácido cafeico (ácido hidroxicinâmico) e rutina (flavonoides), foram calculados teores de $0,028 \pm 0,0003$, $0,25 \pm 0,0005$ e $0,16 \pm 0,0008$ para os picos 1, 2 e 3, respectivamente.

3.1 Caracterização da formulação em gel

O gel apresentou cor verde clara devido à coloração dos caules e aspecto translúcido e pouco aerado. Já em relação as características físico-químicas, apresentou pH de $5,16 \pm 0,01$, uma viscosidade de $144809 \pm 802,83$ (Pa.s) e uma espalhabilidade de $6,60$ (mm²). Este pH, levemente ácido, é bom para a pele, considerando que o pH da pele varia entre 4,5 e 5,5, então um pH de 5,16 é ideal para evitar irritações e manter a barreira cutânea intacta. Além disso, um pH adequado pode ajudar na estabilidade do gel e na eficácia dos ingredientes ativos. A Viscosidade de $144809 \pm 802,83$ (Pa.s) é uma medida de resistência ao fluxo. Uma viscosidade alta, como a descrita, indica que o gel é bastante espesso, fator desejável para aplicações tópicas, pois um gel mais espesso tende a permanecer no local de

aplicação por mais tempo, permitindo uma liberação prolongada dos ingredientes ativos. Esta espalhabilidade de 6,60 (mm²) é crucial para a facilidade de aplicação do gel. Uma espalhabilidade de 6,60 mm² sugere que o gel se espalha bem sobre a pele, cobrindo uma área relativamente grande com uma pequena quantidade de produto. Isso é positivo, pois melhora a eficácia do tratamento e o experimento como um todo

3.2 Avaliação da cicatrização

O gel contendo *P. gounellei* aumentou efetivamente a cicatrização de feridas de excisão sem causar qualquer irritação perceptível na pele. Os resultados apresentados na Tabela 2 evidenciam que os camundongos saudáveis apresentaram 100% de contração no 21^o dia de análise para todos os grupos. Ainda para esses grupos saudáveis descata-se que o tratamento com gel contendo o extrato de *P. gounellei* apresentou retração das feridas maior que os grupo controle negativo e positivo (FitoScar®). Já para os camundongos imunocomprometidos, a aplicação tópica do gel levou a uma taxa de contração de feridas de 81,45±6,12%, enquanto no tratamento com FitoScar® o valor foi de 53,69±4,09% e no controle negativo de 48,33±3,28% após 21 dias de tratamento.

Tabela 2. Ação cicatrizante de gel contendo o extrato do caule de *P. gounellei* a 1% e do FitoScar® (controle positivo) sobre feridas em camundongos saudáveis e imunocomprometidos.

Tratamentos	Contração da ferida (%)			
	Dia 3 (%)	Dia 7 (%)	Dia 14 (%)	Dia 21 (%)
Saudáveis				
Controle negativo	15,89±1,12%	34,92±2,65%	80,45±5,78%	100,00%
Controle positivo	16,22±1,25%	44,14±3,33%	82,07±6,44%	100,00%
Gel 1%	22,65±2,03%	57,41±3,89%	98,40±7,25%	100,00%
Imunocomprometidos				
Controle negativo	5,65±0,62%	18,90±1,13%	30,77±2,04%	48,33±3,28%
Controle positivo	6,23±0,50%	21,72±1,88%	35,54±2,81%	53,69±4,09%
Gel 1%	12,86±1,01%	31,41±2,65%	68,43±4,37%	81,45±6,12%

Um organismo em estado de imunocomprometimento apresenta modificações na sua imunidade, seja no que diz respeito à resposta fagocítica, celular ou humoral,

o que eleva a suscetibilidade a complicações infecciosas ou a processos oportunistas. Além disso, a condição de imunocomprometimento pode ocorrer quando as barreiras protetoras da pele ou das mucosas são comprometidas, permitindo que microrganismos causem infecções, seja a nível local ou sistêmico (Rahier et al., 2009). Estudos têm empregado a imunossupressão como ferramenta para entender as etapas bioquímicas envolvidas no processo de reparo e a resposta imunológica do organismo diante de uma lesão. Entre os imunossupressores mais amplamente utilizados encontra-se o metotrexato (MTX) (Ciesielski, 1998). Isso se deve ao fato de que o MTX atua bloqueando e inibindo a atividade de citocinas, fatores de crescimento, integrinas e células polimorfonucleares (PMN), o que, por sua vez, resulta na redução de várias etapas do processo de cicatrização (Peters et al., 2006).

Citocinas como IL-1, IL-6 e TNF- α são liberadas em quantidades substanciais em resposta a lesões teciduais, desempenhando um papel significativo na resposta inflamatória. Essas quantidades tendem a diminuir progressivamente à medida que o processo de cicatrização avança (Arabska et al, 2020). A Tabela 3 mostra que o tratamento com o gel contendo *P. gounellei* resultou uma diminuição de 53,39% e 49,13% nos níveis de TNF- α e 48,66% e 42,51% nos níveis de IL-1 β , nos grupos saudáveis e imunocomprometidos respectivamente em relação ao controle negativo que não utilizou nenhum tipo de medicamento. O FitoScar® reduziu os níveis de TNF- α em 42,56% e 39,90% em camundongos saudáveis e os de e IL-1 β em 36,65% e 31,77% nos imunocomprometidos.

Tabela 3. Níveis e porcentagem de redução de citocinas no sangue de animais saudáveis e imunocomprometidos tratados topicamente com gel ou FitoScar®.

Tratamentos	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)
Saudáveis		
Controle negativo	912,76 \pm 43.10	298,00 \pm 21.35
Controle positivo	524,29 (42,56%)	188,78 (36,65%)
Gel 1%	487,32 (53,39%)	152,99 (48,66%)
Imunocomprometidos		
Controle negativo	1835,04 \pm 95.05	596,44 \pm 27.62
Controle positivo	1102,86 (39,90%)	406.95 (31,77%)
Gel 1%	933.48 (49,13%)	342.89 (42,51%)

4 Conclusão

O perfil fitoquímico do extrato de *Pilosocereus gounellei* foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (CLAE-DAD), identificando-se a presença de ácido cafeico (ácido hidroxicinâmico) e rutina, além de outro flavonoide não identificado.

O extrato de *P. gounellei* apresentou efeito indutor da cicatrização in vivo quando incorporado em uma formulação de gel, tanto em camundongos saudáveis quanto imunocomprometidos. Além disso, o gel contendo o extrato induziu a redução dos níveis de IL-1 β e TNF- α , citocinas inflamatórias, sugerindo que o processo de cicatrização promovido pelo extrato está possivelmente relacionado a uma ação anti-inflamatória.

5 Referências

Alanazi, A. K., Alqasmi, M. H., Alrouji, M., Kuriri, F. A., Almuhanha, Y., Joseph, B., & Asad, M. (2022). Antibacterial Activity of *Syzygium aromaticum* (Clove) Bud Oil and Its Interaction with Imipenem in Controlling Wound Infections in Rats Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 27(23), 8551.

Andjić, M., Draginić, N., Kočović, A., Jeremić, J., Vučićević, K., Jeremić, N., ... & Bradić, J. (2022). Immortelle essential oil-based ointment improves wound healing in a diabetic rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 150, 112941.

Arabska, J., Strzelecki, D., Kozłowska, E., Brzezińska-Błaszczak, E., & Wysokiński, A. (2020). The association between serum levels of TNF- α and IL-6 in schizophrenic patients and their metabolic status—A case control study. *Journal of Neuroimmunology*, 347, 577344.

Ciesielski, C. J., Mei, J., & Piccinini, L. A. (1998). Effects of cyclosporine A and methotrexate on CD18 expression in recipients of rat cardiac allografts. *Transplant Immunology*, 6(2), 122-133.

Costa, W. K., Guimarães, V. B., da Fonsêca, B. M. B., Ferreira, M. R. A., Soares, L. A.

L., Napoleão, T. H., ... & da Silva, M. V. (2023). Development of gel containing Psidium glaziovianum essential oil has in vitro antimicrobial activity and improves healing of excisional wounds in mice. *Inflammopharmacology*, 1-8.

Rahier, J. F., Ben-Horin, S., Chowers, Y., Conlon, C., De Munter, P., D'Haens, G., ... & European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO). (2009). European evidence-based Consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 3(2), 47-91.

Wang, H., Liu, Y., Cai, K., Zhang, B., Tang, S., Zhang, W., & Liu, W. (2021). Antibacterial polysaccharide-based hydrogel dressing containing plant essential oil for burn wound healing. *Burns & trauma*, 9.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso do caule de *P. gounellei* foi avaliado quanto à irritação dérmica e toxicidade dérmica aguda e subcrônica e a atividade cicatrizante *in vivo* em camundongos Swiss albinos.

Foi desenvolvido um extrato otimizado do caule de *P. gounellei* baseado no método de extração e teor de polifenóis, resultando que o método mais eficiente foi a maceração usando 5% de droga vegetal utilizando água como solvente.

Foi caracterizado o perfil fitoquímico do extrato aquoso do caule de *P. gounellei* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Arranjos Diíodo (CLAE-DAD).

O extrato otimizado não promoveu efeitos tóxicos quando aplicado topicamente por 13 semanas em camundongos.

Um gel contendo extrato otimizado de *P. gounellei* apresentou efeito cicatrizante de feridas em camundongos saudáveis e imunocomprometidos reduzindo o tempo de regressão da ferida e níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias.

REFERÊNCIAS

ABU-DARWISH, Mohammad S.; EFFERTH, Thomas. Medicinal plants from near east for cancer therapy. *Frontiers in pharmacology*, v. 9, p. 56, 2018.

AGUIAR, G. P. et al. Antifungal activity of the essential oils of *Plectranthus neochilus* (Lamiaceae) and *Tagetes erecta* (Asteraceae) cultivated in Brazil. *Int J Complement Alt Med*, v. 11, n. 1, p. 00343, 2018.

ALBUQUERQUE, Bianca R. et al. Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function*, v. 12, n. 1, p. 14-29, 2021.

AL-SNAFI, Ali Esmail. Arabian medicinal plants with anti-inflammatory effects-plant based review (part 1). *Journal of Pharmacy*, v. 8, n. 7, p. 55-100, 2018.

ATEBA, Sylvin Benjamin; NJAMEN, Dieudonné; KRENN, Liselotte. The genus *Eriosema* (Fabaceae): From the ethnopharmacology to an evidence-based Phyto therapeutic perspective. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, 2021.

BADKE, M. R. et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. 2011. 2017.

BANERJEE, Aditya; ROYCHOUDHURY, Aryadeep. Effect of salinity stress on growth and physiology of medicinal plants. In: *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Springer, Cham, 2017. p. 177-188.

BARANOSKI, S.; AYELLO, E. A. Fundamentos do Cuidado com Feridas: Princípios da Prática. Wolters Kluwer Saúde, 2016.

BINDU, Samik; MAZUMDER, Somnath; BANDYOPADHYAY, Uday. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*, p. 114147, 2020.

BJARNASON, Ingvar et al. Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from

nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology*, v. 154, n. 3, p. 500-514, 2018.

BLANCO, Lilian; THIAGARAJAN, Thippi. Ethno-botanical study of medicinal plants used by the Yucatec maya in the northern district of Belize. *International Journal of Herbal Medicine*, v. 5, p. 33-42, 2017.

BONDANCIA, Thalita J. et al. A new approach to obtain cellulose nanocrystals and ethanol from eucalyptus cellulose pulp via the biochemical pathway. *Biotechnology progress*, v. 33, n. 4, p. 1085-1095, 2017.

BORGES, Cristine Vanz et al. Medicinal plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites. In: *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Springer, Cham, 2017. p. 259-277.

BOSTAN, Hasan Badie; MEHRI, Soghra; HOSSEINZADEH, Hossein. Toxicology effects of saffron and its constituents: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, v. 20, n. 2, p. 110, 2017.

BUBALO, Marina Cvjetko et al. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*, v. 109, p. 52-73, 2018.

CAÑEDO-DORANTES, Luis; CAÑEDO-AYALA, Mara. Skin acute wound healing: a comprehensive review. *International journal of inflammation*, v. 2019, 2019.

CARDINELLI, C. C.; LOPES, L. P. N.; DI PIERO, K. C.; FREITAS, Z. M. F. de. Instrumentos para avaliação de feridas: scoping review. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, [S. l.], v. 11, p. e144101119246, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i11.19246. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/19246>. Acesso em: 25 mai. 2024

CARVALHO JÚNIOR, Alexsander R. et al. Use of some asteraceae plants for the treatment of wounds: from ethnopharmacological studies to scientific evidences. *Frontiers in pharmacology*, v. 9, p. 784, 2018.

CASTANHEIRA, Fernanda VS; KUBES, Paul. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, v. 133, n. 20, p. 2178-2185, 2019.

CERAVOLO, I. P. et al. *Aspidosperma pyrifolium*, a medicinal plant from the Brazilian caatinga, displays a high antiplasmodial activity and low cytotoxicity. *Malaria Journal*, [s.l.], v. 17, n. 1, p.1-11, 26 nov. 2018.

CHANDEL, Nisha et al. Guava nectar as a refreshing beverage an overall. *Plant Archives*, v. 18, n. 1, p. 1163-1169, 2018.

Chen L, Deng H, Cui H, et al. Respostas inflamatórias e doenças associadas à inflamação em órgãos. *Oncotarget*. 2018; 9(6):7204-7218.

CHEN, Linlin et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, v. 9, n. 6, p. 7204, 2018.

CHEN, Shujuan et al. A review of the ethnobotanical value, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of *Tussilago farfara* L.(coltsfoot). *Journal of Ethnopharmacology*, p. 113478, 2020.

CHOUBIN, B. et al. An ensemble forecast of semi-arid rainfall using large-scale climate predictors. *Meteorological Applications*, v. 24, n. 3, p. 376-386, 2017.

CHRISTENHUSZ, Maarten JM; BYNG, James W. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, v. 261, n. 3, p. 201-217, 2016.

CIESIELSKI, Cathleen J.; MEI, Jia; PICCININI, Linda A. Effects of cyclosporine A and methotrexate on CD18 expression in recipients of rat cardiac allografts. **Transplant Immunology**, v. 6, n. 2, p. 122-133, 1998.

COOKE, John P. Inflammation and its role in regeneration and repair: A caution for novel anti-inflammatory therapies. *Circulation research*, v. 124, n. 8, p. 1166-1168,

2019.

COSTA, G. et al. Intracellular Signaling Pathways Modulated by Phenolic Compounds: Application for New Anti-Inflammatory Drugs Discovery. *Curr. Med. Chem.*, v.19, p. 2876-2900. 2012.

COSTA, Wendeo Kennedy et al. Essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. *Industrial Crops and Products*, v. 144, p. 112059, 2020.

Dalli J, Serhan CN. Mediadores pró-resolutivos na regulação e atribuição da função de macrófagos. *Fronteiras em Imunologia*. 2017;8:1400.

DAVID, Bruna A.; KUBES, Paul. Exploring the complex role of chemokines and chemoattractants in vivo on leukocyte dynamics. *Immunological reviews*, v. 289, n. 1, p. 9-30, 2019

DEYNO, Serawit et al. Acute and sub-acute toxicity of *Echinops kebericho* decoction in rats. *BMC complementary medicine and therapies*, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2020.

Dinarello, C. A., 2018: Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*, 281, 8-27.

DUTTA, Trishala et al. Pharmacological evidence for the use of *Cissus assamica* as a medicinal plant in the management of pain and pyrexia. *Biochemistry and biophysics reports*, v. 21, p. 100715, 2020.

ELLIS, Samantha; LIN, Elaine J.; TARTAR, Danielle. Immunology of wound healing. *Current dermatology reports*, v. 7, n. 4, p. 350-358, 2018.

FIRDOUS, Sayeed Mohammed; SAUTYA, Dippayan. Medicinal plants with wound healing potential. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, v. 13, n. 1, p. 41-52, 2018.

FIRMO, W. C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Cad. Pesq.*, v. 18, n. especial, 2011.

FOROUZANFAR, Fatemeh; HOSSEINZADEH, Hossein. Medicinal herbs in the treatment of neuropathic pain: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, v. 21, n. 4, p. 347, 2018.

FREZZA, Claudio et al. Phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and nutraceuticals of Lamiaceae. In: *Studies in natural products chemistry*. Elsevier, 2019. p. 125-178.

G1. (2023, 25 abril). IF Sertão-PE oferece programação gratuita voltada à preservação e conhecimento da Caatinga. Recuperado de <https://g1.globo.com/pe/petrolina-regiao/noticia/2023/04/25/ifsertaope-oferece-programacao-gratuita-voltada-a-preservacao-e-conhecimento-da-caatinga.ghtml>

HAKAMADA, Rodrigo et al. Biomass production and potential water stress increase with planting density in four highly productive clonal Eucalyptus genotypes. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, v. 79, n. 3, p. 251-257, 2017.

HAMIDZADEH, Kajal et al. Macrophages and the recovery from acute and chronic inflammation. *Annual review of physiology*, v. 79, p. 567-592, 2017.

HARTUNG, Thomas. Evolution of toxicological science: the need for change. *International Journal of Risk Assessment and Management*, v. 20, n. 1-3, p. 21-45, 2017.

HELFAND W.H. COWEN D.L. *Pharmacy – an illustrated history*, Harry N. Abrams, New York, 1990.

HUSSEIN, Rehab A.; EL-ANSSARY, Amira A. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*, v. 1, p. 13, 2019.

IBGE. *Biomass brasileiros*. Disponível em: <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/territorio/18307-biomass-brasileiros.html>. Acesso em: 15/11/2023.

JAMSHIDI-KIA, Fatemeh; LORIGOOINI, Zahra; AMINI-KHOEI, Hossein. Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of herbmed pharmacology*, v. 7, n. 1, 2018.

JOHNSON III, Bobby L. et al. Neutrophil derived microparticles increase mortality and the counter-inflammatory response in a murine model of sepsis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, v. 1863, n. 10, p. 2554-2563, 2017.

JUVIK, O. et al. Non-Polar Natural Products from *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata* and *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae). **Molecules**, [s.l.], v. 22, n. 9, p.1-13, 6 set. 2017. MDPI AG.

KONING, B. A. E et al. Contributions of mucosal immune cells to methotrexate-induced mucositis. **International immunology**, v. 18, n. 6, p. 941-949, 2006.

KUETE, Victor. Toxicological survey of African medicinal plants. 2014.

KULINSKY, V. I. Biochemical aspects of inflammation. *Biochemistry (Moscow)*, v. 72, n. 6, p. 595-607, 2007.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Robbins basic pathology e-book. Elsevier Health Sciences, 2017.

LANDAZURI, Patricia; CHAMORRO, Nelsy Loango; CORTES, Beatriz Restrepo. Ethnopharmacology of Wild Plants Used in Diabetes. In: *Ethnopharmacology of Wild Plants*. CRC Press, 2021. p. 65-78.

LAVAND'HOMME, Patricia. The progression from acute to chronic pain. *Current Opinion in Anesthesiology*, v. 24, n. 5, p. 545-550, 2011.

LESSA, Thainá et al. Known unknowns: Filling the gaps in scientific knowledge production in the Caatinga. *Plos one*, v. 14, n. 7, p. e0219359, 2019.

LIN, Li et al. Medicinal plants of the genus *Macleaya* (*Macleaya cordata*, *Macleaya microcarpa*): A review of their phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Phytotherapy Research*, v. 32, n. 1, p. 19-48, 2018.

LINDSAY, Sharon; OATES, Angela; BOURDILLON, Katie. The detrimental impact of extracellular bacterial proteases on wound healing. *International wound journal*, v. 14, n. 6, p. 1237-1247, 2017.

LOWE, M. L., & SCHADLER, A. (2019). Toxicodendron Dermatitis: Poison Ivy, Oak, and Sumac. *Wilderness & Environmental Medicine*, 30(1S), S15-S27. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2018.10.007>.

MACHABA, T. C.; MAHLO, S. M. Antifungal activity of medicinal plants used traditionally for the treatment of fungal infections and related ailments in South Africa. *International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, v. 11, n. 6, p. 395-400, 2017.

MARTÍNEZ, Cesar A.; MOSQUERA, Oscar M.; NIÑO, Jaime. Medicinal plants from the genus *Alchornea* (Euphorbiaceae): A review of their ethnopharmacology uses and phytochemistry. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas*, v. 16, n. 3, p. 162-205, 2017.

MAXFIELD, Frederick R.; BARBOSA-LORENZI, Valeria C.; SINGH, Rajesh K. Digestive exophagy: phagocyte digestion of objects too large for phagocytosis. *Traffic*, v. 21, n. 1, p. 6-12, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Constituição (2006). Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (pnpic) no Sistema Único de Saúde. *Diário Oficial*, 03 maio 2006a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Constituição (2006). Aprova A Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e Dá Outras Providências. Brasil, 22 jun. 2006b.

Ministério do Meio Ambiente - MMA. Caatinga. 2012. Disponível em: Acesso em: 12

de julho de 2021.

MOURA, Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves et al. Ethnobotanic, phytochemical uses and ethnopharmacological profile of genus *Cnidoscolus* spp. (Euphorbiaceae): A comprehensive overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 109, p. 1670-1679, 2019.

MOURA, Naiara et al. Ensaaios toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. *Enciclopédia biosfera*, v. 8, n. 15, 2012.

MOURA, Osvanda Silva et al. Herbário COOE: Importância como ferramenta de estudo e conservação da biodiversidade vegetal de Rondônia. *EDUCamazônia*, v. 26, n. 1, p. 183-199, 2021.

MUÑOZ, Luis E. et al. Missing in action—the meaning of cell death in tissue damage and inflammation. *Immunological reviews*, v. 280, n. 1, p. 26-40, 2017.

NA, Yi Rang et al. Macrophages in intestinal inflammation and resolution: a potential therapeutic target in IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 16, n. 9, p. 531-543, 2019.

NDHLALA, Ashwell R. et al. Toxicology of some important medicinal plants in southern Africa. *Food and chemical toxicology*, v. 62, p. 609-621, 2013.

O ESTADO CE. Mapeamento da Caatinga indica metade do bioma desmatado e centenas de espécies em risco. Disponível em: <https://oestadoce.com.br/nacional/mapeamento-da-caatinga-indica-metade-do-bioma-desmatado-e-centenas-de-especies-em-risco/>. Acesso em: 15/11/2023.

OLIVEIRA, Alisson Macário et al. Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. *Journal of ethnopharmacology*, v. 234, p. 96-105, 2019.

Organization for Economic Cooperation and Development, 2001. OECD Guideline for

Testing of Chemicals. Guideline: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.

Organization for Economic Cooperation and Development, 2008. OECD. Guideline 407: Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. 2008.

PAHWA, Roma et al. Chronic inflammation. 2018.

PARKER, George A. Cells of the Immune System. In: Immunopathology in Toxicology and Drug Development. Humana Press, Cham, 2017. p. 95-201.

PATHAK, Manish et al. Medicinal Plants Used in Treatment of Bronchitis. In: Medicinal Plants for Lung Diseases. Springer, Singapore, 2021. p. 369-389.

PIKOULIS, Emmanouil A. et al. Trauma management in ancient Greece: value of surgical principles through the years. World journal of surgery, v. 28, n. 4, p. 425-430, 2004.

QUEIROZ, Luciano Paganucci; RAPINI, Alessandro; GIULIETTI, Ana Maria. Towards greater knowledge of the Brazilian Semi-arid Biodiversity. Brasilia: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006.

RAHIER, J.F. et al. European evidence-based Consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 3, n. 2, p. 47-91, 2009.

RAMALHO, M. F. de J. L. A fragilidade ambiental do Nordeste brasileiro: o clima semiárido e as imprevisões das grandes estiagens. Sociedade e Território, Natal, v. 25, n. 2, p.104-115, jul/dez. 2013.

RANG, et al. Rang & Dale Farmacologia. 8^o edição. Elsevier Brasil, 2016.

RICARDO, Letícia M. et al. Plants from the Brazilian traditional medicine: species from the books of the Polish physician Piotr Czerniewicz (Pedro Luiz Napoleão Chernoviz,

1812–1881). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 27, p. 388-400, 2017.

RODRIGUES, Rodney Alexandre Ferreira et al. Chemical diversity and ethnopharmacological survey of South American medicinal and aromatic plant species. In: *Medicinal and Aromatic Plants of South America*. Springer, Dordrecht, 2018. p. 17-44.

SADIA, Sehrish et al. Ethnopharmacological profile of anti-arthritic plants of Asia-a systematic review. *Journal of herbal medicine*, v. 13, p. 8-25, 2018.

SAGAR, Narashans Alok et al. Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 17, n. 3, p. 512-531, 2018.

SALEHI, Bahare et al. Cucurbits plants: A key emphasis to its pharmacological potential. *Molecules*, v. 24, n. 10, p. 1854, 2019.

SAMAHA, Ali A. et al. Antihypertensive indigenous lebanese plants: ethnopharmacology and a clinical trial. *Biomolecules*, v. 9, n. 7, p. 292, 2019.

SANTOS, Beatriz Mendes et al. Ethnopharmacology study of plants from Atlantic forest with leishmanicidal activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2019, 2019.

SANTOS, Izabelly Bianca da Silva et al. Antioxidant Action and In Vivo Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of *Myrciaria floribunda* Fruit Peels: Possible Involvement of Opioidergic System. *Advances in pharmacological and pharmaceutical sciences*, v. 2020b.

SANTOS, Jean Carlos et al. Caatinga: the scientific negligence experienced by a dry tropical forest. *Tropical Conservation Science*, v. 4, n. 3, p. 276-286, 2011.

SANTOS, Lucinéia et al. Medicinal plants of the Brazilian cerrado: Knowing to preserve. *Bioscience Journal*, v. 36, n. 2, 2020a.

SANTOS, M. O. et al. Medicinal Plants: versatility and concordance of use in the Caatinga area, Northeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, [s.l.], p.2766-2779, 19 jul. 2018. FapUNIFESP (SciELO).

Schultz, G. S., et al (2020). Preparo do Leito de Feridas: Uma Abordagem Sistemática para o Tratamento de Feridas. *Reparação e Regeneração de Feridas*, 28(2), 164-174. Serhan CN. Tratamento de inflamação e infecção no século 21: novas pistas a partir da decodificação de mediadores e mecanismos de resolução. *Revista FASEB*. 2017; 31(4):1273-1288.

SERRA, Mariana Barreto et al. From inflammation to current and alternative therapies involved in wound healing. *International Journal of Inflammation*, v. 2017, 2017.

SHABAB, Sadegh; GHOLAMNEZHAD, Zahra; MAHMOUDABADY, Maryam. Protective effects of medicinal plant against diabetes induced cardiac disorder: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, p. 113328, 2020.

SHEDOEVA, Aleksandra et al. Wound healing and the use of medicinal plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2019, 2019.

SHENKIN, Alexander et al. The world's tallest tropical tree in three dimensions. *Frontiers in Forests and Global Change*, v. 2, p. 32, 2019.

SHIH, Meng-Ling; MORGAN, John A. Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants. *Metabolic engineering communications*, v. 10, p. e00123, 2020.

SILVA IGNACIO, Luís Henrique; DE ALMEIDA SANTOS, Pedro Eduardo; DUARTE, Carlos Antonio Ribeiro. An experimental assessment of *Eucalyptus urosemite* energy potential for biomass production in Brazil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 103, p. 361-369, 2019.

SILVA PEREIRA, Maria das Graças; COELHO-FERREIRA, Márlia. Uso e diversidade de plantas medicinais em uma comunidade quilombola na Amazônia Oriental,

Abaetetuba, Pará. *Biota Amazônia* (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), v. 7, n. 3, p. 57-68, 2017.

SILVA, Adalro José Araújo. POTENCIALIDADES MEDICINAIS DE *Jatropha gossypifolia* E *Cnidocolus phyllacanthus*. *Cadernos Macambira*, v. 5, n. 1, p. 17-18, 2020.

SILVA, José Maria Cardoso; LEAL, Inara R.; TABARELLI, Marcelo (Ed.). *Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America*. Springer, 2018.

SILVA, M. Rocha. A brief survey of the history of inflammation. *Agents and actions*, v. 8, n. 1, p. 45-49, 1978.

SILVA, Natália Cristina Sousa et al. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em prol da saúde. *Únicas cadernos acadêmicos*, v. 3, n. 1, 2017.

SINGH, Shailendra; YOUNG, Alistair; MCNAUGHT, Clare-Ellen. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*, v. 35, n. 9, p. 473-477, 2017.

SOEHNLEIN, Oliver et al. Neutrophils as protagonists and targets in chronic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, v. 17, n. 4, p. 248-261, 2017.

SOMMER, Claudia; LEINDERS, Mathias; ÜÇEYLER, Nurcan. Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain. *Pain*, v. 159, n. 3, p. 595-602, 2018.

SOUSA, Rodrigo Francisco; OLIVEIRA, Ykaro Richard; CALOU, Iana Bantim Felício. *Ansiedade: aspectos gerais e tratamento com enfoque nas plantas com potencial ansiolítico*. 2018.

STEWART, Darryl; NICHOL, Alistair. Inflammation, immunity and allergy. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, v. 19, n. 10, p. 534-539, 2018.

SUGIMOTO, Michelle A. et al. Mediators of the resolution of the inflammatory response. *Trends in Immunology*, v. 40, n. 3, p. 212-227, 2019.

SUNDARAM, S. Sarguna; SURESH, K. Medicinal plants used for the treatment of respiratory diseases in Alagar Hills of Madurai district, Tamil Nadu, India. *The Pharma Innovation Journal*, v. 8, n. 3, p. 35-37, 2019.

Sussman C., Bates-Jensen B. (2012). *Cuidados com feridas: um manual de práticas colaborativas para profissionais de saúde*. Lippincott Williams e Wilkins.

SYARIF, LELIMISKA IRMADANI et al. A mini review: Medicinal plants for typhoid fever in Indonesia. *Syst. Rev. Pharm*, v. 11, n. 6, p. 1171-80, 2020.

TAÏBI, Khaled et al. Ethnopharmacological study of natural products used for traditional cancer therapy in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 28, n. 11, p. 1451-1465, 2020.

TARIQ, A. et al. Ethnopharmacology and toxicology of Pakistani medicinal plants used to treat gynecological complaints and sexually transmitted infections. *South African Journal of Botany*, v. 114, p. 132-149, 2018.

TAUBEN, David. Nonopioid medications for pain. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics*, v. 26, n. 2, p. 219-248, 2015.

TONKENS, Ross. An overview of the drug development process. *Physician executive*, v. 31, n. 3, p. 48, 2005.

TROUVIN, Anne-Priscille; PERROT, Serge. Novos conceitos de dor. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, v. 33, n. 3, p. 1014-15, 2019.

TUNGMUNNITHUM, Duangjai et al. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, v. 5, n. 3, p. 93, 2018.

UGWAH-OGUEJIOFOR, Chinenye Jane et al. Acute and sub-acute toxicity of aqueous extract of aerial parts of *Caralluma dalzielii* NE Brown in mice and rats. *Heliyon*, v. 5,

n. 1, p. e01179, 2019.

URITU, Cristina M. et al. Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. *Pain Research and Management*, v. 2018, 2018.

VALKO, Marian et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VANDERAH, Todd W. Pathophysiology of pain. *Medical Clinics*, v. 91, n. 1, p. 1-12, 2007.

VIEIRA, Rita Marcia DSP et al. Desertification risk assessment in Northeast Brazil: Current trends and future scenarios. *Land Degradation & Development*, v. 32, n. 1, p. 224-240, 2021.

VINHOLES, Juliana et al. In vitro assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. *Food bioscience*, v. 19, p. 92-100, 2017.

VON WETTBERG, Eric; DAVIS, Thomas M.; SMÝKAL, Petr. Wild Plants as Source of New Crops. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, p. 1426, 2020.

WALFORD, G.; LOSCALZO, J. Nitric oxide in vascular biology. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, v. 1, n. 10, p. 2112-2118, 2003.

WANG, Yiwei et al. Burn injury: challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring. *Advanced drug delivery reviews*, v. 123, p. 3-17, 2018.

WATSON, L.; DALLWITZ, Michael J. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. New Orleans, LA: University of New Orleans, 1999.

WERTLI, Maria Monika; STEURER, J. Pain medications for acute and chronic low back pain. *Der Internist*, v. 59, n. 11, p. 1214-1223, 2018.

WIART, Christophe. Medicinal Plants in Asia and Pacific for Parasitic Infections: Botany, Ethnopharmacology, Molecular Basis, and Future Prospect. Academic Press, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Quality control methods for medicinal plant materials. World Health Organization, Geneva, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva, 2011. 12p.

XU, Jiao et al. Acute and subacute toxicity study of 1, 8-cineole in mice. International journal of clinical and experimental pathology, v. 7, n. 4, p. 1495, 2014.

YATOO, Mohd et al. Anti-inflammatory drugs and herbs with special emphasis on herbal medicines for countering inflammatory diseases and disorders-a review. Recent patents on inflammation & allergy drug discovery, v. 12, n. 1, p. 39-58, 2018.

ZHOU, Xingli et al. Nano-formulations for transdermal drug delivery: a review. Chinese Chemical Letters, v. 29, n. 12, p. 1713-1724, 2018.