

EULINA TEREZA NERY FARIAS

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICOLÓGICA, CICATRIZANTE E
ANTIMICROBIANA DE FRUTOS E SEMENTES DE *Caesalpinia ferrea* Mart.
(LEGUMINOSAE)**

**Recife/PE
2017**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓREITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

EULINA TEREZA NERY FARIAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá

Co-orientador: Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Recife/PE
2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

EULINA TEREZA NERY FARIAS

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICOLÓGICA, CICATRIZANTE E
ANTIMICROBIANA DE FRUTOS E SEMENTES DE *Caesalpinia ferrea* Mart.
(LEGUMINOSAE)**

TESE DE DOUTORADO

Aprovada em 22/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fabrício Bezerra De Sá
Orientador – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio
Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

Prof. Dr. George Chaves Jimenez
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

“Os fracos nem tentam, os covardes desistem
só os fortes conquistam.”

Autor desconhecido

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo conforto nas horas difíceis e pela força que me concedeu para concluir este trabalho.

Os meus mais sinceros agradecimentos ao meu orientador Professor Dr. Fabrício Bezerra de Sá e ao meu coorientador Professor Dr. Joaquim Evêncio Neto pelo incentivo e conhecimentos a mim transmitidos

A Profa. Dra. Márcia Silva Nascimento, do Laboratório de Química dos Produtos Naturais do Departamento de Antibiótico da Universidade Federal de Pernambuco, pelo incentivo e colaboração na elaboração dos testes fitoquímicos.

A Profa. Dra. Ivone A. Sousa do Departamento de Antibiótico da UFPE pela colaboração nos testes de Toxicidade.

A Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva do Departamento de Antibiótico da UFPE pela colaboração nos testes de citotoxicidade.

Ao taxonomista Marcelo Atayde pela identificação e descrição botânica da espécie.

Ao Prof. Dr. George Chaves Jimenez e o biólogo José Ferreira do Laboratório de Farmacologia da UFRPE pela formulação do creme de uso tópico de *Caesalpinia ferrea*.

Ao prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota, por disponibilizar o Laboratório de Bacteriose dos Animais Domésticos e pelos ensinamentos a mim repassados.

Ao médico veterinário André de Souza Santos do Laboratório de Bacteriose dos Animais Domésticos, pela colaboração na elaboração dos testes microbiológicos e ensinamentos a mim repassados.

Ao proprietário e a supervisora da RPPN Pedra do Cachorro, Raimundo Guaraci Cardoso e Alba Maria Rodrigues pela amizade e por disponibilizar a reserva para nossas pesquisas.

Ao Prof. Dr. Vitor Caiaffo Brito da UFPE, pela amizade e registros fotográficos.

A todos os meus amigos do coração, pela colaboração com nossa pesquisa, amizade sincera, incentivo as nossas pesquisas e por sempre acreditarem no meu ideal.

A CAPES pelo apoio concedido a este trabalho através da concessão da bolsa de pesquisa.

E finalmente deixo aqui um agradecimento sincero a toda minha família pela confiança e carinho dedicados a mim.

SUMÁRIO

RESUMO	08
ABSTRACT	09
1. INTRODUÇÃO	10
1.1 OBJETIVOS.....	13
1.1.1 Objetivo Geral	13
1.1.2 Objetivos Específicos	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 TOXICOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS.....	16
2.2 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS.....	18
2.2.1 Hemostasia	20
2.2.2 Fase Inflamatória	20
2.2.3 Formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular	21
2.2.4 Remodelação	22
2.3 PLANTAS MEDICINAIS, FITOTERÁPICOS E FITOFÁRMACOS.....	23
2.3.1 <i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.....	24
REFERÊNCIAS	26

ARTIGO CIENTÍFICO - AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICOLÓGICA E CICATRIZANTE DE *Caesalpinia ferrea* Mart. (LEGUMINOSAE) EM FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS ALBINOS

RESUMO	34
ABSTRACT	35
3 INTRODUÇÃO	36
4 MATERIAL E MÉTODO	38
4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO.....	38
4.2 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE.....	38
4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO BRUTO.....	38
4.4 TOXICIDADE AGUDA	40
4.5 ELABORAÇÃO DO CREME	40
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE.....	41

4.7 DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTRATO DO FRUTO.....	44
5.2 BIOENSAIO DE CITOTOXICIDADE.....	46
5.3 TOXICIDADE AGUDA.....	47
5.4 AVALIAÇÃO DA MACROSCOPIA DAS LESÕES.....	48
5.5 CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DAS LESÕES.....	53
5.6 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DAS FERIDAS.....	56
6 CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	65

**ARTIGO CIENTÍFICO- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
Caesalpinia ferrea Mart. FRENTE A *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DE MASTITE
BOVINA**

RESUMO.....	76
ABSTRACT.....	77
7. INTRODUÇÃO	78
8 MATERIAL E MÉTODOS.....	79
8.1 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE.....	79
8.2 ELABORAÇÃO DO CREME.....	79
8.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “ <i>IN VITRO</i> ”.....	80
9. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
10. CONCLUSÃO.....	85
REFERÊNCIAS.....	86

Resumo: Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico, toxicológico e potencial cicatrizante de um creme elaborado com frutos e sementes de *Caesalpinia ferrea* em modelo de feridas cutâneas em ratos wistar e avaliar também a sua atividade antimicrobiana pela técnica de difusão em meio sólido frente a bactérias causadoras de mastite bovina. *C. ferrea* conhecida é uma espécie nativa do Brasil, muito empregada na etnomedicina e na etnoveterinária com ação cicatrizante e antimicrobiana. A triagem fitoquímica foi obtida através de reações químicas para determinação de compostos ativos. O estudo da toxicidade aguda e foi avaliado a partir de variáveis comportamentais e orgânica, utilizando 48 camundongos swiss (6 por tratamento) machos com peso de 25 a 35 gramas, com 60 dias de idade, que foram inoculados, com doses decrescentes ($\text{Kg}^{-1}/\text{ml}^{-1}$) de peso da fração hidroalcoólica do extrato, por via intraperitoneal. No processo de cicatrização foram utilizados 52 ratos Wistar divididos aleatoriamente em três grupos: Grupo tratado (G1), Grupo controle (G2) e Grupo controle absoluto (G3). As lesões foram avaliadas macro e microscopicamente entre o 0 e 21º dias do pós-operatório. Como resultados foram verificados na triagem fitoquímica do extrato a presença de taninos hidrolisáveis e flavonoides. Os testes toxicológicos revelaram um baixo nível de citotoxicidade e o ensaio toxicológico demonstrou que a planta apresentou resposta biológica predominantemente excitatória sobre o sistema nervoso central. A evolução cicatricial demonstrou que no 14º dia do pós-operatório, as lesões do grupo tratado estavam totalmente reepitelizadas. Para a análise antimicrobiana da planta foram realizados dois ensaios. O primeiro avaliou a ação antimicrobiana da planta pelas técnicas de difusão em disco, poço e superfície (Spot on) de duas diluições (9,3% e 15%) e do extrato bruto, frente a 13 amostras bacterianas padrão, de vacas com mastite clínica e subclínica, no período de 24,48 e 72 horas. O segundo avaliou a ação de um manipulado sólido (creme) da planta, na concentração de 9,3%, frente a oito dessas amostras, no período de 24 horas. As bactérias foram semeadas em tubos de ensaio de 5 ml contendo caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion), e incubados em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas. Em seguida, quando já se observava turvamento dos tubos, realizaram-se as culturas. Nos dois ensaios o antibiótico padrão utilizado foi a vancomicina. No primeiro ensaio, os melhores resultados foram obtidos com o extrato bruto, seguido do extrato na concentração de 9,3% pela técnica de poço, com halos médios de 30, 32 e 33 mm, e 22, 22, 25 mm respectivamente. No segundo ensaio, os resultados demonstraram que o manipulado apresentou atividade antimicrobiana para todas as amostras testadas com halos mínimo de 13 mm e máximo de 21 mm. Já o antibiótico não apresentou atividade frente às amostras testadas, com halos mínimo de 7 mm e máximo de 8mm. Os resultados favoráveis demonstram que *C. ferrea* tem potencial cicatrizante e antimicrobiano.

Palavras chaves: *Caesalpinia ferrea*, fitoquímica, toxicologia, cicatrização, microbiologia.

Abstract: The objective of this work was to evaluate the phytochemical, toxicological and healing potential of a cream made from fruits and seeds of *Caesalpinia ferrea* in a model of skin wounds in wistar rats and also to evaluate its antimicrobial activity by means of a solid medium diffusion technique against causative of bovine mastitis bacteria. *C.ferrea conhecida* is a species native to Brazil, much used in ethnomedicine and ethnoveterinary with healing and antimicrobial action. Phytochemical screening was obtained through chemical reactions to determine active compounds. The acute toxicity study was evaluated using behavioral and organic variables, using 48 Swiss mice weighing 25-35 grams, at 60 days of age, which were inoculated with decreasing doses (Kg-1 / ml-1) of weight of the hydroalcoholic fraction of the extract, intraperitoneally. In the healing process, 52 Wistar rats were randomly divided into three groups: treated group (G1), control group (G2) and absolute control group (G3). The lesions were evaluated macro- and microscopically between 0 and 21 postoperative days. The results were verified in the phytochemical screening of the extract a presence of hydrolysable tannins and flavonoids. Toxicological tests revealed a low level of cytotoxicity and toxicological testing showed that the plant had a predominantly excitatory biological response to the central nervous system. The cicatricial evolution demonstrated that not 14th day of the postoperative, as the lesions of the treated group fully reepithelialized. For an antimicrobial analysis of the plant two tests were performed. The first one evaluated the antimicrobial action of the plant for two-dilution (9.3% and 15%) disc, well and surface diffusion techniques and crude extract, against 13 standard bacterial samples of cows with clinical mastitis and subclinical, with no period of 24.48 and 72 hours. The second evaluated an action of a solid manipulated (cream), a concentration of 9.3%, against eight samples, no period of 24 hours. As bacteria were seeded in 5 ml test tubes containing BHI (Brain Heart Infusion) broth, and incubated in an oven at 37 ° C for 24 to 48 hours. Then, observing the turbidity of the tubes, they were realized like cultures. In both trials the standard antibiotic used for a vancomycin. In the first test, the best results were obtained with the crude extract, followed by a 9.3% concentration per well technique, with medium halos of 30, 32 and 33 mm, and 22, 22, 25 mm respectively. In the second assay, the results showed that the manipulated showed antimicrobial activity for all samples tested with minimum halos of 13 mm and maximum of 21 mm. The antibiotic did not present the matter in front of the samples tested, with minimum halos of 7 mm and maximum of 8 mm. The favorable results demonstrate that *C. ferrea* healing potential and antimicrobial.

Keywords: *Caesalpinia ferrea*, phytochemistry, toxicology, healing, microbiology

1. INTRODUÇÃO

Existem vários conceitos no que se refere à planta medicinal. A OMS define como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos (OMS, 1998). Muitos autores defendem como planta medicinal, aquelas reconhecidas pela população como uma espécie que tem valor curativo e que possua uma propriedade real ou imaginária usada pela população para fins específicos de cura, quer seja empregada na prevenção, tratamento ou ainda nas disfunções do homem e animais (NOLLA, 2005; DI STASI, 2007).

A fitoterapia consiste no tratamento das doenças utilizando plantas medicinais. Os medicamentos fitoterápicos são reconhecidos oficialmente pela OMS como recurso terapêutico desde 1978, e amplamente consumido no mundo todo (ELISABETSKY, 2002). A ideia central na indicação do uso fitoterápico na medicina, não é substituir medicamentos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção terapêutica dos profissionais de saúde, ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, em menor custo com espectro de ação mais adequado e, quiçá com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes, mas sempre em estrita obediência aos preceitos éticos que regem o emprego de xenobióticos (LAPA et al., 2001).

No Brasil, a utilização de fitoterápicos está, em sua maioria, fundamentada no uso popular, havendo poucas espécies descritas na Farmacopeia Brasileira (YUNES et al., 2001). Muitas espécies vegetais brasileiras têm um longo histórico de uso popular, porém, apesar de avanços científicos na área de validação científica, ocorridos no país nas últimas décadas, é grande o número de plantas com alegação de uso popular que carece de estudos que confirme sua atividade biológica, bem como os princípios ativos relacionados. Atualmente, houve um maior interesse da indústria no desenvolvimento de fitoterápicos, talvez estimulados pela nova lei de regulamentação de medicamentos ou pela nova lei de patentes (YUNES et al., 2001). Novas ações e diretrizes na área foram publicadas por meio do Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, o qual aprovou a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos associado à portaria de 3 de maio de 2006 no Ministério da Saúde, que aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS/ PNPIC-SUS (DI STASI, 2007) e pela Portaria nº 2.960 de 09 de dezembro de 2008, que aprovou o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, criando ainda o Comitê Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (MARTINAZZO et al., 2013).

A utilização de terapias e tratamentos complementares para feridas agudas e crônicas vem aumentando nas últimas décadas por ser uma opção terapêutica possível de ser realizada, e

na maioria das vezes de baixo custo e amplamente testada na prática popular (OLIVEIRA et al., 2010).

A indicação de plantas medicinais na saúde animal também direciona estudos nessa área, já que as perdas de pele são muito frequentes e oriundas de diferentes causas, sendo importante diversificar as opções de tratamento a fim de se obter condições específicas para cada situação (OLIVEIRA, 2010).

A cicatrização é um processo que está presente na rotina clínica dos profissionais da saúde, incluindo o médico veterinário, constitui-se de um processo dinâmico para manutenção da integridade do organismo, envolvendo diferentes etapas como a inflamação, quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação (KUMAR et al., 2007). Por ser um evento sistêmico, esse processo abrange uma gama de fatores que precisam interagir entre si para que haja uma evolução de forma eficiente. Esses mesmos fatores bem como as interações existentes entre eles precisam ser bem elucidado para que os profissionais possam interferir no processo, tendo em vista que a aceleração do mesmo é muitas vezes um dos principais objetivos terapêuticos na rotina clínica (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Outro problema comumente registrado na clínica médica veterinária nas últimas décadas foi o agravamento da resistência a antimicrobiano sem populações bacterianas (OLIVEIRA et al., 2010). Atualmente, registra-se um aumento significativo na frequência de isolamento de bactérias que eram conhecidamente sensíveis às drogas de rotinas utilizadas na clínica, que agora se apresentam resistentes a todos ou quase todos os antibióticos disponíveis no mercado como ocorrem com muitas bactérias multirresistentes. Este problema da resistência tornou-se mais grave devido às dificuldades para a descoberta e o lançamento de novos antimicrobianos no mercado, o que vem tornando esse produto cada vez mais escasso e mais caro. Estima-se que são necessários mais de 10 anos, a custo de 200 milhões de dólares, para que um antimicrobiano esteja à disposição da medicina (FERRONATTO et al., 2007).

Estudos buscam por um antimicrobiano ideal, ou seja, aquele que apresente maior espectro de ação, menor toxicidade, menor custo e menor índice de resistência bacteriana. A atividade antimicrobiana desejada pode ser encontrada em espécies vegetais. As propriedades curativas dos medicamentos fitoterápicos são cada vez mais estudadas na veterinária, profissionais adeptos da terapia natural externam alta frequência de bons resultados em tratamentos de parasitose e doenças infecciosas incluindo a mastite (PEREIRA et al., 2009).

A mastite é um processo infeccioso da glândula mamária, ela possui etiologia ampla e é causada primordialmente por micro-organismos (ANDERSON et al., 2004). Em medicina veterinária o gênero *Staphylococcus* é o prevalente agente causador dessa infecção (COSTA et

al., 1985). O uso indiscriminado de antibióticos no controle desses microrganismos causadores de doenças em raças de aptidão leiteira promove o aumento da resistência dificultando o tratamento (DRESCHERET et al., 2010), aumentando o número de casos provocados por outros micro-organismos não habitualmente ligados a esses processos (COSTA et al., 1985). Além dos altos custos com o tratamento, há uma preocupação crescente com a presença de resíduos de antibióticos no leite, estimulando uma busca de métodos alternativos para a abordagem clássica dos antibióticos (COSTA et al., 1985).

Schuch et al. (2008) relatam que produtores rurais e médicos veterinários ainda utilizam produtos oriundos de plantas, tanto para a prevenção quanto para o tratamento da mastite. As práticas predominam com o uso de soluções ou pomadas medicinais à base de ervas para utilização local ou administração de plantas verdes ou secas via oral.

Na medicina popular, são inúmeras as espécies que tem indicação e uso como cicatrizante e antimicrobiano natural, dentre essas temos *Caesalpinia ferrea* Mart. ex.Tul. var. *ferrea*, conhecida também pela sinonímia de *Libidibia ferrea*, e vulgarmente como “jucá” ou “pau-ferro”, espécie que está inserida na família das Leguminosae, uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas com cerca de 650 gêneros, que reúnem mais de dezoito mil espécies. A subfamília Caesalpinioideae consiste de aproximadamente 150 gêneros e 2200 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (CRONQUIST, 1981). *C. ferrea* ocorre em toda a região Nordeste, estendendo-se até o Espírito Santo e o Rio de Janeiro, na Floresta Pluvial Atlântica (BRAGA, 1976). Em Pernambuco acha-se predominantemente nas áreas pobres da região do São Francisco e nos municípios de Floresta e Buíque (XIMENES, 2009).

Pesquisas comprovam a sua indicação como cicatrizante. Segundo Ximenes (2004), o pó da casca do pau-ferro é frequentemente usado no tratamento de feridas cutâneas na região nordeste do Brasil com bons resultados. Em um estudo etnoveterinário, observou-se que os frutos de *C. ferrea* em infusão no álcool são utilizados na Amazônia para o tratamento de feridas cutâneas de animais de estimação (MONTEIRO et al.,2011) o que despertou grande interesse nos estudos biotecnológicos dessa espécie, sendo a mesma incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde-SUS (RENISUS/2009),editado pelo Ministério da Saúde (MS), no qual consta uma lista com 71 plantas medicinais, que devem ser objeto de pesquisa e implementações dos setores e serviços de saúde pública brasileiro(PIRIZ, et al., 2014).Diante desses fatos, o presente trabalho teve como objetivo, realizar as análises fitoquímica, toxicológica, cicatrizante e antimicrobiana de frutos e sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart.

A espécie foi selecionada pelas inúmeras propriedades terapêuticas descritas na etnoveterinária e ação comprovada como antimicrobiano natural (PEREIRA et al., 2009a, 2009b; TOMAZ, 2010; OLIVEIRA et al., 2013; PAIVA et al., 2015) por ser uma das plantas selecionada de acordo com a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde-SUS (RENISUS/2009) editado pelo Ministério da Saúde (MS), no qual consta uma lista com 71 plantas medicinais, que devem ser objeto de pesquisa e implementações dos setores e serviços de saúde pública brasileiro (PIRIZ et al., 2014) por ser uma espécie nativa do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002) e finalmente por constar no Formulário Nacional de Fitoterápico (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2011).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação fitoquímica, toxicológica, cicatrizante e antimicrobiana de frutos e sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart.

1.1.2 Objetivos Específicos

Avaliar morfológicamente e histologicamente as feridas cutâneas nos dias 3º, 7º, 14º e 21º dias do pós-operatório;

Avaliar a ação antimicrobiana dos extratos e da formulação (creme) frente a *Staphylococcus* spp causadoras de mastite bovina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A utilização das plantas medicinais faz parte da história da humanidade, tendo grande importância tanto no que se refere aos aspectos medicinais, como culturais (MARTINAZZO et al., 2013). Foi através do instinto de sobrevivência que o homem e os animais começaram a utilizar plantas para a cura de enfermidades (CORRÊA et al., 2001). Existem provas, devido a descobertas realizadas ao lado de restos mortais dos primeiros hominídeos, de que eram utilizados há 60.000 anos ervas como o maivaisco. No Peru foi encontrados utensílios com vestígios de coca com cerca de 50.000 anos. Os primeiros textos esculpidos conhecidos tratam de ervas medicinais, hieróglifos egípcios com 6.000 anos fazem referências ao uso medicinal das plantas. O papiro de Erbers, com 20 metros de comprimento, descoberto em 1873 pelo egiptólogo alemão Georg Erbers, revelou ser o primeiro documento escrito acerca da fitoterapia. Foi escrito 2.400 anos antes de Cristo, e a suas primeiras palavras são as seguintes: Aqui começa o livro que trata da elaboração de remédios para curar todas as partes do corpo humano. No século XV-XVI, durante o Renascimento, o médico

suíço Paracelço, determina aqueles que mais tarde revelaria serem princípios falsos de analogia: aquela parte das que apresentam uma ligação com outras partes do organismo e que servem para curar estas últimas (FORÈS, 2004).

As expedições ao Novo Mundo permitiram conhecer diversas plantas desconhecidas do Velho Continente. Foi então que apareceram os primeiros herbários americanos, como o Códice Badiano, escrito pelo médico asteca Martin de la Cruz, que descreve plantas que revolucionaram a fitoterapia europeia. Tal proliferação de novas plantas requeria um estudo comparativo que permitissem classificá-las e reclassificar as que já eram conhecidas. Foi o naturalista sueco Carl Von Linné quem, no século XVIII, se dedicou a esta tarefa, e os seus resultados foram tão bem aceitos pela comunidade científica, que a classificação que ele fez dos seres vivos continua em vigor até os nossos dias. No século XIX, os avanços experimentados pelas ciências permitem estudar as plantas a partir de uma perspectiva mais profunda. Os princípios ativos das plantas são extraídos, isolados, identificados, e estabelece-se uma relação causa efeito, isto é, investiga-se qual é o efeito provocado por uma determinada substância extraída de uma planta sobre um animal. A partir dessa altura já não se fala das propriedades de uma determinada planta, mas sim de um determinado composto. A indústria química e farmacêutica sintetiza no laboratório muitas das substâncias extraídas dos vegetais e elaboram medicamentos que substituem os tradicionais tratamentos com ervas (FORÈS, 2004).

Muitos medicamentos disponíveis hoje no mercado tiveram a sua origem em protótipos de substâncias químicas, na maioria dos casos de origem vegetal. De inúmeras espécies de valor medicinal, os pesquisadores das áreas da Farmacologia e Medicina, isolaram compostos identificados como substâncias básicas, para a síntese de centenas de substâncias ativas. A prospecção a partir de produtos naturais encontra nas espécies vegetais, a principal e mais promissora fonte de novas moléculas que fazem parte da história da farmacologia. Estima-se que cerca de 60% dos fármacos com atividades antitumorais e antimicrobianas, já comercializados ou em fase de pesquisa clínica, sejam de origem natural (SHU, 1998). O isolamento da morfina da *Papaver somniferum* em 1803 pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sertürner marcou o início do processo de extração de princípios ativos de plantas. A partir de então, outras substâncias foram isoladas, como por exemplo, a quinina e a quinidina obtidas da *Cinchona ledgeriana*, em 1819, e a atropina da *Atropa belladonna*, em 1831 (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006), a escopolamina a hiosciamina da *Datura stramonium*,(MATOS, 1989) o anti-hipertensivo e agentes tranquilizadores reserpina isolada da *Rauvolfia serpentina*,(TURNER,1996) a digoxina, obtida de espécies de *Digitalis*, os antineoplásicos vincristina e vimblastina, obtidas do *Catharanthus roseus*,

o paditaxel, obtido de espécies de taxus (RATES, 2001), entre outros compostos que passaram a serem utilizadas em substituição aos extratos vegetais(TUROLLA ; NASCIMENTO, 2006).

Um grande marco do nascimento da indústria farmacêutica foi a descoberta, em 1829, do analgésico e antitérmico salicina, a partir das cascas do salgueiro (*Salix alba* L. – Salicaceae). Posteriormente, Felix Hoffman, pesquisador da Bayer, utilizou a salicina como objeto da primeira modificação sintética visando à obtenção de um fármaco, o ácido acetilsalicílico (AAS), considerado o marco zero da química medicinal e a primeira patente de que se tem conhecimento na área de medicamentos (GUILERMINO et al., 2012). Um exemplo mais atual é a planta *Galega officinalis*, que levou ao desenvolvimento da droga hipoglicemiante oral, Metformina (MEDEIROS, 2014). Assim, a procura por novos agentes farmacologicamente ativos, obtidos de plantas, tem levado a descoberta de muitas drogas clinicamente ativas, comprovando a afinidade entre os fármacos e a biodiversidade e justificando a exploração dos produtos naturais como um valioso instrumento no desenvolvimento e na produção de fármacos inovadores (BARREIRO; BOLZANI, 2011).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) vem apoiando a utilização de plantas medicinais, por se tratar de uma prática tradicional em muitos povos e que traz benefícios para a saúde (FIRMO et al.,2014). Existem vários conceitos no que se refere à planta medicinal. A OMS define como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos (OMS, 1998). Muitos autores defendem como planta medicinal, aquelas reconhecidas pela população como uma espécie que tem valor curativo e que possua uma propriedade real ou imaginária usada pela população para fins específico de cura, quer seja empregada na prevenção, tratamento ou ainda nas disfunções do homem e animais (NOLLA, 2005; DI STASI, 2007).

No Brasil, a utilização de fitoterápicos está, em sua maioria, fundamentada no uso popular, havendo poucas espécies descritas na Farmacopeia Brasileira (YUNES et al., 2001).Muitas espécies vegetais brasileiras têm um longo histórico de uso popular, porém, apesar de avanços científicos na área de validação científica, ocorridos no país nas últimas décadas, é grande o número de plantas com alegação de uso popular que carece de estudos que confirme sua atividade biológica, bem como os princípios ativos relacionados. Os estudos das plantas medicinais brasileiras ocorreram de forma assimétrica sobre vários aspectos. O primeiro aspecto foi o regional, isto, plantas de alguns biomas foram mais estudadas em termos químicos e de atividade. Outro aspecto relevante foi a priorização de estudos fitoquímicos e de atividades de espécies arbóreas, sendo negligenciada os arbustos e as plantas aquáticas utilizadas na medicina tradicional (SILVA et al., 2013).

Pesquisas de tal natureza no Brasil são de grande valia, pelo fato do país ser considerado um dos maiores reservatório de biodiversidade do mundo e, além disso, a grande extensão territorial abriga diversos ecossistemas, cada um com suas particularidades, o que torna uma verdadeira fonte quase que inesgotável de moléculas a serem descobertas (FERREIRA et al., 2011), que na maioria, ainda não foram pesquisadas cientificamente para este fim (FERRONATTO et al., 2007).

2.1 TOXICOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS

A Organização Mundial de Saúde (OMS) destaca que boa parte da população mundial, principalmente de países em desenvolvimento, recorre ao uso das plantas como tratamento alternativo, devido ao alto custo de medicamentos industrializados e, também, por acreditarem no mito de que tudo que é “natural” não oferece riscos à saúde (SANTOS 2011). Em estudo realizado em Belo Horizonte, 60% da população relataram que não acredita que plantas medicinais provocam efeitos tóxicos e ainda usam frases como “é natural, não tem química”, “se bem não fizer, mal não faz”, “tudo sem efeito colateral, não é igual ao da Farmácia”, “não tem contraindicação”, “é bom porque posso tomar quantas vezes eu quiser” (OLIVEIRA; GONÇALVES, 2006). As plantas medicinais, mesmo pelos seus conteúdos em princípios ativos, não podem ser usadas indiscriminadamente (MELLO, 2000).

Os estudos de um novo medicamento fitoterápico seguem etapas bastante distintas, que se diferenciam basicamente pelo sujeito da experimentação. A primeira delas, a etapa botânica, está relacionada à identificação do material de estudo. A etapa farmacêutica está relacionada ao preparo da forma farmacêutica para administração, com a garantia da qualidade e uniformidade da amostra, assim como com sua estabilidade durante os testes pré-clínicos e clínicos. A etapa de ensaios biológicos pré-clínicos relaciona-se aos ensaios farmacológicos e toxicológicos em animais de laboratório, a fim de determinar experimentalmente o grau de segurança. O objetivo dos testes pré-clínicos é de mostrar a eficácia de material, pois sem ela não há razão para o estudo. A etapa clínica é a executada na espécie humana, apenas se existirem indicações seguras de que os benefícios do uso medicinal do novo produto superam os riscos de uma possível ação tóxica (SANTOS 2011).

Toxicidade é a propriedade potencial de uma determinada substância química de instalar um estado patológico em consequência de sua introdução ou interação com o organismo. Esta propriedade é verificada através da avaliação toxicológica onde se obtêm dados como dosagem, sinais, efeitos provocados que irão determinar o potencial de toxicidade. Toda substância, do ponto de vista da toxicologia, pode ser considerada como um agente tóxico, dependendo das condições de exposição, como dose administrada ou absorvida, tempo e frequência de exposição e vias de

administração (BARROS; DAVINO, 1996) que podem desencadear reações adversas pelos seus próprios constituintes, devido interações com outros medicamentos ou alimentos, ou ainda relacionados a características do paciente como: idade, sexo, condições fisiológicas, características genéticas, entre outros. Erros de diagnósticos, identificação incorreta da espécie e uso diferente da forma tradicional, podem ser perigosos, levando a superdose, inefetividade terapêutica e reações adversas (WHO, 2002). Além disso, o uso desses produtos pode comprometer a eficácia de tratamentos convencionais, por reduzir ou potencializar seu efeito (CAPASSO et al., 2000). Como exemplos desses efeitos tóxicos de substâncias podem ser citados os efeitos hepatotóxicos do apiol, safrol, lignanas e alcalóides pirrolizidínicos; a ação tóxica renal que pode ser causada por espécies vegetais que contém terpenos, saponinas e alguns tipos de dermatites, causadas por espécies ricas em lactona sesquiterpênicas e produtos naturais do tipo furanocumarinas. Componentes tóxicos ou antinutricionais, como o ácido oxálico, nitrato e ácido erúico estão presentes em muitas plantas de consumo comercial. Diversas substâncias isoladas de vegetais considerados medicinais possuem atividades citotóxicas ou genotóxica e mostram relação com a incidência de tumores (VEIGA JUNIOR et al., 2005).

A toxicidade de medicamentos preparados com plantas pode parecer trivial, quando comparado com os tratamentos convencionais, entretanto é um problema sério de saúde pública. Do ponto de vista científico, pesquisas mostraram que muitas dessas plantas possuem substâncias potencialmente agressivas e, por esta razão, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos. Uma das formas de proceder a avaliação toxicológica é através da administração de quantidade da planta ou doses do extrato em animais, podendo ser realizada a toxicidade aguda, subcrônica ou crônica (LARINI, 1997).

Um desses efeitos tóxico foi ocasionado pelo uso de cápsulas de têucrio (*Teucrium chamaedrys* L. – Labiateae), que causou uma epidemia de hepatite na França. A origem do efeito tóxico foi atribuída a diterpenos do tipo neo-clerodano, transformados pelo citocromo P450 em metabólitos hepatotóxicos, que apresentavam uma subunidade epóxido. Anteriormente, o uso do têucrio era tido como seguro até que a comercialização do vegetal em cápsulas associado à camomila, prescrito para dietas de emagrecimento, desencadeou os casos de hepatite tóxica. Estudos farmacológicos mostraram que os diterpenóides furânicos (muitos estão presentes entre os clerodanos) causam apoptose dentro de 2 h em hepatócitos de ratos. Metabólitos eletrofílicos podem estimular a apoptose pela captura de tióis, aumento da concentração de cálcio e ativação das enzimas transglutaminase e endonuclease dependentes de cálcio. Em países como a Inglaterra, o têucrio era constantemente utilizado, sem aviso aos consumidores, para substituir extratos de escutelária (*Scutellaria lateriflora*) em associações com valeriana. A mistura tóxica levou

erroneamente à crença de que tanto a valeriana quanto a escutelária poderiam ser tóxicas quando em misturas, por efeito sinérgico (VEIGA JR et al., 2005). Segundo Farias et al. (2007) para o uso dessas plantas, é necessário a avaliação da relação custo/benefício. Já que os efeitos adversos dos fitoterápicos, possíveis adulterações e toxicidade, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) ocorrem comumente.

Outro exemplo importante é o do confrei (*Symphytum officinale* L.). Esta planta é utilizada na medicina tradicional como cicatrizante devido à presença da alantoína, mas também possui alcalóides pirrolizidínicos, os quais são comprovadamente hepatotóxicos e carcinogênicos. Após diversos casos de morte ocasionados por cirrose resultante de doença hepática veno-oclusiva, desencadeadas por estes alcalóides, o uso do confrei foi condenado pela OMS (BUCKEL, 1998).

Atualmente, agências reguladoras, como a ANVISA, vêm estabelecendo normas para a utilização de fitoterápicos, estipulando prazos para que a indústria farmacêutica apresente dados da eficácia e segurança destes medicamentos, por meio da Resolução 90 de 16 de março de 2004, regulamentou a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Neste regulamento é colocado que a toxicidade aguda é avaliada após exposição a uma dose única ou dose fracionada administrada no período de 24 horas em animais, preferencialmente mamíferos em idade adulta. Deve-se administrar a dose em um grupo de no mínimo 6 machos e 6 fêmeas. As doses avaliadas devem ser suficientes para observação de possíveis efeitos adversos e estimativos da DL⁵⁰. A via de administração deve ser a mesma proposta para o uso do produto. Após a administração, devem-se observar sinais de toxicidade, tempo de aparecimento, progressão e reversibilidade destes sinais. Algumas variáveis devem ser observadas, tais como alteração da locomoção, frequência respiratória, piloereção, diarreia, sialorréia, alteração do tônus muscular, hipnose, convulsões, hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, contorções abdominais, número de animais mortos com possível causa de morte e respectivos exames histopatológicos (LORA, 2007).

As pesquisas que avaliam a toxicidade desses produtos são escassas demonstrando que estudos multidisciplinares, associando fitoquímicos e farmacológicos, tornam-se cada vez mais importantes para a definição dos potenciais terapêuticos e tóxicos dos extratos vegetais (TUROLA; NASCIMENTO, 2006; MEDEIROS, 2014).

2.2 PROCESSOS DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

A pele exerce funções consideradas vitais para os animais, tais como: proteção mecânica contra a entrada de micro-organismos, a regulação térmica e proteção contra a perda corpórea de água, eletrólitos e macromoléculas. Neste sentido, as dermatopatias assumem papel importante na

clínica médica veterinária e estão inseridas entre as principais patologias que acometem os animais (ARAÚJO, 2010). O tecido epitelial que constitui a pele apresenta uma grande coesão entre suas células, mas é sensível a solução de continuidade, que pode ocorrer devido a algum tipo de acidente tais como: mordeduras de animais, cortes produzidos por objetos, intervenções cirúrgicas, queimaduras, ou ainda aqueles provocados por enfermidades como alergias (picada de pulgas) e endocrinopatias (hipotireoidismo), expondo o tecido conjuntivo subjacente (NITZ et al., 2006).

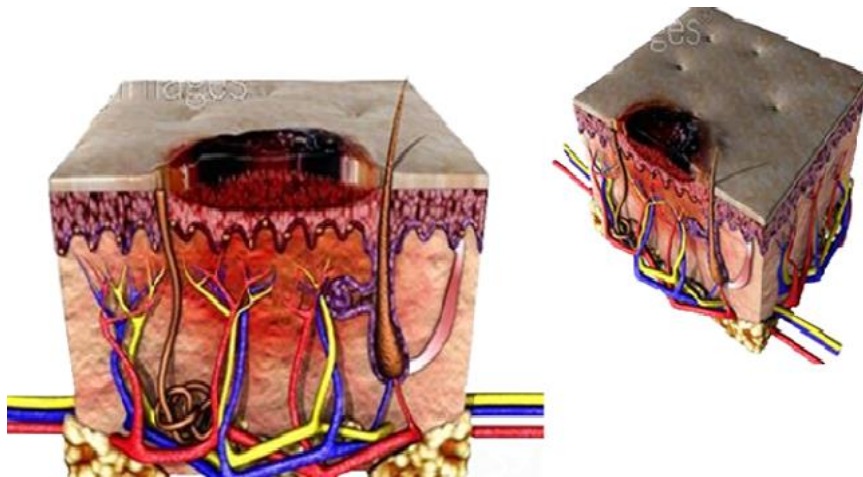


Figura 1. Esquema de uma lesão cutânea
Fonte: Araújo, 2010.

Uma ferida pode ser definida como qualquer lesão que leve a uma descontinuidade cutânea existindo várias causas, entre as quais as mais frequentes são: o trauma (mecânico, físico ou químico), a isquemia, a pressão no local e devido a procedimentos cirúrgicos (STRODTBECK, 2001). Baseado na natureza do processo de reparação, as feridas podem ser classificadas como agudas ou crônicas. Sua classificação constitui importante forma de sistematização necessária para o processo de avaliação. Feridas agudas são injúrias causadas por corte ou incisão cirúrgica que completam o processo de cicatrização dentro do tempo esperado. Em contraste, estão às feridas crônicas que são injúrias teciduais aonde a cicatrização ocorre de forma lenta (ARAÚJO, 2010)

A cicatrização é o processo pelo qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado, quer a lesão tenha sido traumática ou necrótica (PANOBIANCO et al., 2012). Assim sendo, o processo de cicatrização tem como finalidade restabelecer a homeostasia tecidual (CAVALCANTE et al., 2012). Por isso, se faz necessário o conhecimento a respeito de tal processo, para que se possa intervir no mesmo para auxiliar e acelerar a cicatrização além de promover homeostasia do organismo e o bem-estar do paciente. Após uma lesão, um conjunto de

eventos bioquímicos se estabelece para reparar o dano (PAGANELA et al., 2009) e promover a cicatrização. Os eventos que desencadeiam a cicatrização são intercedidos e sustentados por mediadores bioquímicos, descritos em diferentes fases, que correspondem aos principais episódios observados em determinado período de tempo (LIMA et al., 2012). O processo de reparação tecidual é dividido em fases, de limites não muito distintos, mas sobrepostas no tempo: hemostasia; fase inflamatória; formação do tecido de granulação, com deposição de matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares), e remodelação (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

2.2.1 Hemostasia

Essa fase depende da atividade plaquetária e da cascata de coagulação, tendo início após o surgimento da ferida. Após um dano tecidual, as alterações nas células endoteliais, a ruptura de vasos sanguíneos e o extravasamento de seus constituintes incitam compostos vasoativos a promoverem uma vasoconstrição imediata, visando diminuir a perda sanguínea para o espaço extra vascular (KUMAR et al., 2005). Uma cobertura primária composta por fibrina (coágulo) restabelece a hemostase e fornece um ambiente para que as plaquetas secretem fatores de crescimento (FCs), citocinas e elementos da matriz extracelular (MEC) (DÁRIO, 2008). O coágulo formado atua na coaptação das bordas da ferida, minimizando a perda de sangue e fluidos, protegendo o organismo contra penetração de agentes exógenos e disponibilizando uma matriz provisória para o início da organização da ferida (OLIVEIRA; DIAS, 2012)

Os mediadores do processo inflamatório recrutam macrófagos e neutrófilos, que secretam diversos fatores específicos, que regem as fases seguintes do processo de reparação tecidual (ARAÚJO, 2010).

2.2.2 Fase inflamatória

A fase inflamatória da cicatrização é caracterizada basicamente pela presença de células inflamatórias no tecido cicatricial (PAGANELA et al., 2009). Intimamente ligada à fase anterior, a inflamação depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos (MANDELBAUM et al., 2003). O processo inflamatório caracteriza-se por migração celular intensificada através das vênulas e extravasamento de moléculas séricas, anticorpos, complemento e proteínas pelos capilares. Estes eventos são controlados pelo aumento do suprimento sanguíneo e da permeabilidade capilar além de vasodilatação (CARVALHO, 2002).

Os principais componentes celulares de uma ferida são os leucócitos polimorfonucleares (PMN) e os macrófagos derivados de monócitos, os quais aparecem proporcionalmente à sua quantidade presente na circulação. Inicialmente, o tipo de célula predominante, o PMN, tem vida breve e atua principalmente com função fagocítica (OLIVEIRA; DIAS, 2012), surge durante a injúria tissular e permanece por período que varia de três a cinco dias; sendo responsáveis pela fagocitose de bactérias. Os macrófagos apresentam capacidade fagocítica, além de atuarem como células apresentadoras de antígenos e fonte de fatores de crescimento e mediadores bioquímicos que ditam e sustentam o processo de cicatrização (MANDELBAUM et al., 2003).

O macrófago é predominante do terceiro ao quinto dia após a lesão, fagocita bactérias, debrida corpos estranhos e ativa o desenvolvimento de tecido de granulação. Também atua como removedor fagocítico, que sintetiza e libera proteases, fazendo a remoção de colágeno desvitalizado e coágulos de fibrina da ferida, expressando vários fatores mitogênicos e citocinas (OLIVEIRA; DIAS, 2012). O papel dos linfócitos na cicatrização não está bem definido e permanece controverso. Porém, sabe-se que, com suas linfocinas, tem importante influência sobre os macrófagos (MANDELBAUM et al., 2003). Aproximadamente, entre seis a sete dias após a injúria, a quantidade de linfócitos que aparece na ferida é menor que na circulação. Eles secretam linfocinas importantes, como o fator de inibição da migração (MIF), interleucina-2, fator de ativação de macrófago (MAF) e fatores quimiotáticos, além de aumentar o estágio inicial da cicatrização através da estimulação de macrófagos, células endoteliais e fibroblastos. Entretanto, sugere-se que os linfócitos T podem regular a atividade fibroblástica exuberante a qual poderia, caso esta regulação não existisse, ocorrer tardiamente na reparação cicatricial (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

2.2.3 Formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular

Nesta fase ocorre a reparação do tecido conjuntivo e do epitélio. Na reparação do tecido conjuntivo ocorre a formação do tecido de granulação, com proliferação endotelial e de fibroblastos (SARANDY, 2007). O processo de proliferação de fibroblastos, que são células mesenquimais diferenciadas, que proliferam na região mais superficial da ferida e a atividade sintética de colágeno, é denominado de fibroplasia. Aparentemente a proliferação de fibroblastos é modulada pelos macrófagos, num complexo modelo contrarregulatório, com uma fase de retardamento, que precede a estimulação direta pelo fator de crescimento derivado do macrófago e interleucina-1 (OLIVEIRA; DIAS, 2012)

O fibrinogênio do exsudado inflamatório transforma-se em fibrina, formando uma rede, onde os fibroblastos depositam-se e passam a multiplicar-se e a secretar os componentes protéicos

do tecido cicatricial (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Os fibroblastos iniciam a síntese e secreção de componentes da matriz extracelular, como glicosaminoglicanos e fibras colágenas tipo I e III, associadas à proliferação e ao crescimento interno dos capilares (angiogênese) (KUMAR et al., 2005). Como consequência da angiogênese, o tecido conjuntivo é formado, recebendo a denominação de tecido de granulação, devido a sua aparência granular, pela presença de inúmeros capilares (WERNER; GROSE, 2003).

O tecido de granulação consiste primariamente em vasos sanguíneos invasores, fibroblastos e seus produtos, como colágeno fibrilar, elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas sulfatadas e não sulfatadas e proteases. Esse tecido é produzido de três a quatro dias após a indução da lesão, como um processo intermediário entre o desenvolvimento da malha formada por fibrina e fibronectina e a reestruturação de colágeno. Uma vez restabelecidos o fluxo sanguíneo e a oxigenação, o principal fator desencadeador da angiogênese é reduzido e os vasos neoformados começam a diminuir. (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Ao final dessa fase ocorre a epitelização, etapa que levará ao fechamento das superfícies da lesão e que é iniciada pela migração de células epiteliais (queratinócitos) desde as margens da ferida (CARVALHO, 2002). Esta epitelização faz-se pelo aumento de tamanho, divisão e migração das células da camada basal da epiderme sobre a área de reparação do tecido conjuntivo subjacente. Os diferentes fatores de crescimento são responsáveis pelo aumento de mitoses e consequente hiperplasia do epitélio (MANDELBAUM et al., 2003).

2.2.4 Remodelação

Essa é a última fase de cicatrização, ocorre no colágeno e na matriz; dura meses e é responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema. É o período no qual os elementos reparativos da cicatrização são transformados para tecido maduro de características bem diferenciadas (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Durante a remodelagem ocorre diminuição da atividade celular e do número de vasos sanguíneos, além de perda do núcleo dos fibroblastos, levando à maturação da cicatriz (VIEIRA et al., 2002). O número de células diminui, mas aumenta a síntese e a produção de colágeno do tipo I. As fibras de colágeno, dispostas paralelamente às linhas de tensão, formam feixes de várias unidades, preferencialmente inter cruzadas, enquanto as fibras orientadas aleatoriamente são digeridas pela colagenase. O conteúdo aquoso da matriz diminui, aumentando a agregação das fibras de colágeno (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Gradativamente os feixes de fibras colágenas tornam-se mais espessos, resultando em uma configuração mais regular, que está diretamente relacionada às forças mecânicas as quais o tecido está sujeito durante a atividade normal. Assim, a lesão torna-se mais resistente após o

colágeno ter sofrido maturação (OLIVEIRA, 2010). Com a evolução do processo, acentua-se a deposição de colágeno e a maioria das células desaparece, observando-se a apoptose de fibroblastos e células endoteliais, formando finalmente o tecido cicatricial (BALBINO et al., 2005).

2.3 PLANTAS MEDICINAIS, FITOTERÁPICOS E FITOFÁRMACOS

O desenvolvimento de um fitomedicamento com comprovação científica de segurança, eficácia e qualidade demanda menos recursos e menos riscos do que o desenvolvimento de um medicamento sintético. Isto porque, em geral, já há algum histórico relacionado ao uso popular das plantas pesquisadas o que favorece no momento de desenvolver um fitoterápico, tanto no direcionamento dos ensaios quanto no número de testes que serão necessários para sua validação. Os processos tecnológicos e produtivos mais simples também apresentam um custo menor (CALIXTO, 2000). Nesta perspectiva, as plantas medicinais e os fitomedicamentos podem contribuir para o crescimento da indústria farmacêutica nacional e para a oferta de novas possibilidades terapêutica para o sistema nacional de saúde. As substâncias ativas de plantas e extratos vegetais podem ser utilizadas como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos, como fonte de matéria prima para obtenção de fármacos e adjuvantes, além de medicamentos elaborados exclusivamente à base de extratos vegetais, os medicamentos fitoterápicos (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010).

A diferença entre planta medicinal e fitoterápico reside na elaboração da planta para uma formulação específica, o que caracteriza um fitoterápico. Segundo a Secretaria de Vigilância Sanitária, em sua portaria no. 6 de 31 de janeiro de 1995, fitoterápico é “todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos do seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. É o produto final acabado, embalado e rotulado. Na sua preparação podem ser utilizados adjuvantes farmacêuticos permitidos na legislação vigente. Não podem estar incluídas substâncias ativas de outras origens, não sendo considerado produto fitoterápico quaisquer substâncias ativas, ainda que de origem vegetal, isoladas ou mesmo suas misturas”. Neste último caso encontra-se o fitofármaco, que por definição “é a substância ativa, isolada de matérias-primas vegetais ou mesmo, mistura de substâncias ativas de origem vegetal” (VEIGA JR et al., 2005).

O Brasil é um dos países com maiores perspectivas para exploração econômica da biodiversidade, em função do número expressivo de espécies nativas, das excelentes condições

climáticas e edáficas, e do grande potencial hídrico (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010). Entretanto, o desenvolvimento e a produção nacional associada aos recursos da flora são ainda pouco expressivos; o que é evidenciado pelo número reduzido de produtos registrados e desenvolvidos no país a partir de espécies nativas. As plantas medicinais brasileiras são consideradas como altamente promissoras, mas são pouco conhecidas. Embora a produção científica nessa área seja considerada expressiva (CALIXTO; SIQUEIRA, 2008), os conhecimentos gerados não se refletem na disponibilidade de novas tecnologias e produtos. Até 2008, apenas 10 das 162 espécies de plantas medicinais registradas sob a forma de fitoterápicos na ANVISA/Ministério da Saúde (MS) corresponde a espécies nativas (CARVALHO et al., 2008) fazendo com que o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos publicasse, em janeiro de 2009, a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), onde consta uma lista de 71 plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS (PIRIZ et al., 2014). Dentre estas espécies, temos *Caesalpinia ferrea* Mart. (Fig.2)

2.3.1 *Caesalpinia ferrea* Mart.

Caesalpinia ferrea Mart. conhecida também pela sinonímia *Libidibia ferrea*, é conhecida vulgarmente como “júcá” ou “ pau-ferro”, e pelos nomes indígenas ibira-obi, imira-ita, muira-obi, muire-ita (LORENZI, 1998). Espécie que está inserida na família das Leguminosae, uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas com cerca de 650 gêneros, que reúnem mais de dezoito mil espécies. A subfamília Caesalpinioideae consiste de aproximadamente 150 gêneros e 2200 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (CRONQUIST, 1981). É uma árvore que cresce em todo o Brasil (BRAGANÇA, 1996; LORENZI, 2002), sendo largamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, principalmente em Pernambuco e no Ceará (ALZUGARAY, 1984). Em Pernambuco acha-se predominantemente nas áreas pobres da região do São Francisco e nos municípios de Floresta e Buíque (XIMENES, 2009). A árvore bastante ornamental, podendo ser empregada na arborização de ruas e avenidas e, aproveitada para plantios em áreas degradadas, além de fornecer lenha e madeira para construção civil (PIO CORREA, 1984). Além disso, o pau-ferro é considerado uma forrageira importante no Nordeste, tanto pela sua adaptação natural a região, como também por fornecer forragem durante a seca (OLIVEIRA, 2010).

A espécie possui flores amarelas pequenas e em cachos; frutos de cor marrom escura, do tipo legume, com sementes escuras; folhas compostas; altura de 10-15m, com tronco curto de 40-60 cm de diâmetro (LORENZI, 2002). Segundo Ximenes (2004), o pó da casca do pau-ferro é frequentemente usado no tratamento de feridas cutâneas na região nordeste do Brasil com bons

resultados. Em um estudo etnoveterinário, observou-se que os frutos de *C. ferrea* em infusão no álcool são utilizados na Amazônia para o tratamento de feridas cutâneas de animais de estimação (MONTEIRO et al.,2011) o que desperta grande interesse nos estudos biotecnológicos dessa espécie.



Figura 2. Exemplar de *Caesalpinia ferrea* Mart. em floração, com aproximadamente 2 metros de altura. Fonte: Eulina Farias, 2015.

REFERÊNCIAS

- ALZUGARAY, D. Plantas Que Curam. Hemus Press, São Paulo – SP, Brasil, 1984.
- ANDERSON, D. E.; HULL, B. H.; PUGH D. G. 2004. **Enfermidades da glândula mamária**. In: PUGH, D.G. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, p. 379-399.
- ARAÚJO, A. K. L. Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea* sp. 2010, 177f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza/CE.
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutic Science**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2011,
- BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. Avaliação da Toxicidade. In: OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**, 1º edição, São Paulo: ATHENEU, 1996, p.59-70.
- BRAGA, R. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. Fortaleza, Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 540 p, 1976.
- BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas**. Niteroi: EDUFF, 1996. 300p.
- BUCKEL, P.; Naturwissenschaften,1998, 85, 155
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA, J. R. J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 78, v. 1 p. 98-106, 2008.
- CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytoterapeutic agents) **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.179 -189, 2000.

CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITO BELLO, C.; MASCOLO, N. **Phytotherapy and quality of herbal medicines**. *Fitoterapia* n.71, p.58-65. 2000.

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

CARVALHO, A. A. T. **Estudos microbiológico *in vitro* e toxicológico agudo e sub-agudo, com determinação da DL₅₀ do extrato hidroalcólico de *Psidium guajava* Linn.** 2002. 81 f. Doutorado (Programa Integrado em Odontologia), Universidade Federal da Paraíba/ Universidade Federal da Bahia. João Pessoa.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.

COCKBILL, S. M. E.; TURNER, T. D. Management of veterinary wounds. **Veterinary Record**, v. 136, p. 362- 365, 1995.

CORRÊA, A. D.; SIQUEIRA, B. R.; QUINTAS L. E. M. **Plantas medicinais do cultivo a terapêutica**. Editora Vozes, 4 ed, 2001.

CORREA, P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional IBDF, 1984.

COSTA, E. O.; COUTINHO, S. D.; CASTILHO, W. Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, p. 65-69, 1985.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Ed. Columbia University, New York, 1981.

DÁRIO, G.M. **Avaliação da atividade cicatrizante de formulação contendo argila medicinal sobre feridas cutâneas em ratos**. 2008, 78f. (Mestrado em Ciências Ambientais) Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma/SC.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: verdades e mentiras, o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber**. Editora UNESP, SP, 2007.

DRESCHERET, G.; MATTIELLO, S. P.; PEIXOTO, R. M.; VARGAS, A. C.; MACIEL, M. N.; COSTA, M. M. Caracterização bioquímica e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de agentes bacterianos isolados de mastite subclínica ovina na região do oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**. v. 11, n. 1, p. 188-193, 2010.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas, 2002 In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.M.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina, Editora da UFSC, Rio Grande do Sul, 1999, p. 87-100.

FARIAS, E. M. F. G.; SILVA, A. C. P.; SOUZA, I. A.; ALBUQUERQUE, J. F. C.; CHIAPPETA, A. A.; SENA, K. Y. F. R. Avaliação da Toxicidade Aguda do Extrato Metanólico de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). In: Congresso Brasileiro de Química, 2007, Natal, RN. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Química. 2007.

FERREIRA, F. S.; SANTOS, S. C.; BARROS, T. F.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDES, L. G. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 13, n. 3, p. 205-310, 2011.

FERRONATO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E.; BEDNASSKI, F.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C.(*Asteraceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p.197-203, 2007.

FIRMO, W. C. A. Estudo fotoquímico e avaliação da atividade antibacteriana de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). **Biologia e saúde**, v. 20, n. 1, 2014.

FORÈS, R. **Atlas das plantas medicinais e curativas: a saúde através das plantas**, editora Vergana Brasil, Cotia, SP, 111p. 2004.

GUILHERMINO, J. F.; QUENTAL, C.; BOMTEMPO, J. V. Sistema de inovação em fitomedicamentos: Os desafios para a gestão para o desenvolvimento de fitomedicamentos a partir da biodiversidade brasileira. **Revista Fito**, v. 7, n. 3, p. 169-184, 2012.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N., ROBBINS, COTRAN. **Bases patológicas das doenças**. v. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.49-124. 2005.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3. Ed. Araraquara: Manole. 1997. 301 p.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O. DE LIMA, T. C. M. **Farmacologia e toxicologia de produtos naturais**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVIC, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ª ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade UFRGS; 2001. p. 183-97.

LIMA, R.O.L.; RABELO, E. R.; MOURA, V. M. B. D.; SILVA, L. A. F.; TRESVENZOL, L. M. F. Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Ano XVIII. 56:53-59. 2012.

LORA, J. **Avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)**. 2007. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma/SC.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras, Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora do Instituto Plantarum de Estudo da Flora, 1998.246p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 162p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 512 p

MANDELBAUM, S.H.; SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais da Academia Brasileira de Dermatologia**, v. 78, p. 393-408, 2003.

MARTINAZZO, A. P.; CARLOS FILHO, L.; ROSA, D. A.; TEODORO, C. E. S.; TOMAZELLI, K. K. Perfil de utilização de fitoterápicos nos municípios de Volta Redondos e Barra Mansa/RJ. **Revista Fitos**, v. 8. n. 2, p. 103-112, 2013.

MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais: Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 3ª. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 1989

MEDEIROS, B. J. L. **Estudos pré-clínicos do extrato hidroetanólico de *Calophyllum brasiliensis* CAMBESS: atividade hipoglicemiante e toxicidade**. 2014, 102f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde) Fundação Universidade Federal do Amapá/AP.

MELLO, C. C. E. **Plantas medicinais de uso popular no Estado de Sergipe**, Aracaju: UNIT, 2000. 384p.

MONTEIRO, M. V. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; PALHA, M. D. C.; BRAGA, R. R.; SCHWANKE, K.; RODRIGUES, S. T.; LAMEIRA, O. A. Ethnoveterinary knowledge of the inhabitants of Marajó Island, Eastern Amazonia, Brazil. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 2, p. 233-242, 2011.

NITZ, A. C.; ELY, J. B.; D'ACAMPORA, A. J.; TAMES, D. R.; CORREA, B. C. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopu didymus* e *Calendula officinali*. **Arquivos Catarinense de Medicina**, v. 35, n. 4, 2006.

NOLLA, D.; SEVERO, B. M. A.; MIGOTT, A. M. B. M. **Plantas Mediciniais**. 2 ed. Passo Fundo: UPF, 2005.

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

OLIVEIRA, F. Q.; GONÇALVES, L. A. Conhecimento sobre plantas medicinais e fitoterápicos e potencial de toxicidade por usuários de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, 2006.

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

OMS,1998. Bulletin of the World Health Organization. **Regulatory situation of herbal medicines**. A world wide review, Geneva.

PAGANELA, J. C.; RIBAS, L. M.; SANTOS, C. A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C. E. W.; FERNANDES, C. G. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**. v.104, n. 569-572, p. 13-18. 2009.

PAIVA, W. S.; SOUZA NETO, F. E.; BANDEIRA, M. G. L.; ABRANTES, M. R.; BATISTA, A. C. L.; SILVA, J. B. A. Atividade antibacteriana da casca do jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz), frente a *Staphylococcus* spp. isolados do leite de cabra com mastite. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, p. 141-146, 2015.

PANOBIANCO, M. S.; SAMPAIO, B. A. L.; CAETANO, E. A.; INOCENTI, A.; GOZZO, T. O. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não portadoras de diabetes mellitus. **RevistaRene**. v. 11, p. 15-22, 2012.

PEREIRA,A.V.;RODRIGUES,O.G.;AZEVEDO,T.K.B.;BEZERRA,D.A.C.;LIMA,E.Q.;PEREIRA, M.S.V. Perfil de extrato de plantas sobre *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina, **Revista de Biologia e Farmácia**,v.3,N.1,p. 105-111,2009.

PHARMACIA BRASILEIRA. Saúde Elabora Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao Sus- Ano XII, N° 70, p. 77-78, 2009.

PINTO, G. A. S.; COURI, S.; LEITE, S. G. F.; BRITO E. S. **Tanase : conceito, produção e aplicação**. *B.Ceppa*, v. 23, p. 435-462, 2005.

PIO CORREIA, M. 1984. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional IBDF.

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

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, N2, 2001.

SANTOS, J.A. **Avaliação da toxicidade e efeito antiinflamatório do extrato hidroetanólico das raízes de *Jacanda decurrem* em ratos machos**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde) Universidade Federal do Grande Dourados/ MS.

SARANDY, M. M. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var.capitata) em ratos wistar**. 2007. 59 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; TONI, L. D.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 161-169, 2008.

SHU, Y. Z. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 1053-1071, 1998.

SILVA, J.V. ROSÁRIO, D.M. VEIGA, A.S.S. VASCONCELOS, F., PERCÁRIO, S., DOLABELA, M. F. Uma revisão bibliográfica sobre Araceae com foco nos gêneros *Pistia*, *Philodendro* e *Montrichardia*: aspectos botânicos, fitoquímicos e atividades biológicas. **RevistaFito**, v.8.n2, 79-83, 2013.

STRODTBECK, F. Physiology of wound healing. **Newborn and Infant Nursing Reviews**, v. 1, n. 1, p. 43-52, 2001.

TOMAZ, K. L. R. **Atividade antimicrobiana do extrato alcoólico do fruto da *Caesalpinia ferrea* Mart. frente a bactérias causadoras de mastite bovina.** 2010, 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal Rural do Semi-Árido, CE.

TUROLLA, M. S. R; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, 2006.

VEIGA JUNIOR, V.F. PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WERNER, S.; GROSE R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**. v. 83, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, The importance of Pharmacovigilance - Safety Monitoring of Medicinal Products. Geneva. 2002.

XIMENES, N. C. A. **Caracterização e avaliação de atividades biológicas da lectina da vagem de *Caesalpinia ferrea* (CfePL).** 2009. 121f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE.

XIMENES, N. C. A. **Purificação e Caracterização da Lectina da Vagem da *Caesalpinia ferrea* (CfePL): aplicação biológica.** 2004. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

VIEIRA, C. S. C. A.; MAGALHÃES, E. S. B.; BAJAI, H. M. **Manual de condutas para úlceras**, 2002.

ZUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico, **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1421-1428, 2010.

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICOLÓGICA E CICATRIZANTE DE *Caesalpinia ferrea* Mart. (LEGUMINOSAE) EM MODELO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS WISTAR

Resumo: Por ser a primeira barreira de proteção do organismo contra agentes externos, a pele está sujeita a constantes agressões. Assim, a sua reparação tecidual é importante para a sobrevivência do organismo. Contudo, o manejo correto de uma ferida cutânea e o emprego de medicamentos adequados são essenciais para que ocorra uma perfeita cicatrização da área lesada. No que se refere à cicatrização, o uso de plantas medicinais na saúde animal também direciona estudos nessa área, já que as perdas de pele são muito frequentes e oriundas de diferentes causas, sendo importante diversificar as opções de tratamento. *Caesalpinia ferrea* conhecida como jucá ou pau ferro é uma espécie nativa do Brasil, muito empregada na etnomedicina e na etnoveterinária para estes fins, principalmente com ação em processos cicatriciais de feridas cutâneas. Diante desses fatos, o presente trabalho avaliou o perfil fitoquímico, toxicológico e o potencial cicatrizante de um creme, elaborado com frutos e sementes de *C. ferrea* em testes pré-clínicos em ratos Wistar. A triagem fitoquímica foi obtida, através de reações químicas para determinação de compostos ativos. O estudo da toxicidade aguda foi avaliado a partir de variáveis comportamentais e orgânica, onde foram utilizados 48 camundongos swiss (6 por tratamento) machos com peso de 25 a 35 gramas, com 60 dias de idade, que foram inoculados, com doses decrescentes ($\text{Kg}^{-1} / \text{ml}^{-1}$) de peso da fração hidroalcoólica do extrato, por via intraperitoneal. No processo de cicatrização foram utilizados 52 ratos Wistar divididos aleatoriamente em três grupos: Grupo tratado (G1), Grupo controle (G2) e Grupo controle absoluto (G3). As lesões foram avaliadas macro e microscopicamente entre o 0 - 21º dias do pós-operatório. A triagem fitoquímica do extrato revelou a presença de taninos hidrolisáveis e flavonoides. Os testes toxicológicos revelaram um baixo nível de citotoxicidade e o ensaio toxicológico demonstrou que a planta apresentou resposta biológica predominantemente excitatória sobre o sistema nervoso central. A evolução cicatricial demonstrou que no 14º dia do pós-operatório, as lesões do grupo tratado estavam reepitelizadas, o grau de significância de $p < 0,03$ e no 21º dia para $p < 0,001$ embora não tenha havido diferença estatística entre os grupos.

Palavras Chave: *Caesalpinia ferrea*, fitoterapia, cicatrização, Rensis/2009.

Abstract: As the body's first protective barrier against external agents, the skin is subject to constant aggression. Thus, its tissue repair is important for the survival of the body. However, proper handling of a cutaneous wound and the use of appropriate medications are essential for perfect healing of the injured area. Regarding healing, the use of medicinal plants in animal health also directs studies in this area, since skin losses are very frequent and come from different causes, and it is important to diversify the treatment options. *Caesalpinia ferrea* known as *jucá* or *pau ferro* is a species native to Brazil, much used in ethnomedicine and ethnoveterinary for these purposes, mainly with action in cicatricial processes of cutaneous wounds. In view of these facts, the present study evaluated the phytochemical, toxicological profile and healing potential of a cream, elaborated with fruits and seeds of *C. ferrea* in preclinical tests in Wistar rats. Phytochemical screening was obtained through chemical reactions to determine active compounds. The acute toxicity study was evaluated from behavioral and organic variables, using 48 swiss mice (6 per treatment), males weighing 25 to 35 grams, at 60 days of age, which were inoculated with decreasing doses (kg⁻¹ / ml⁻¹) by weight of the hydroalcohol fraction of the extract, intraperitoneally. In the healing process, 52 Wistar rats were randomly divided into three groups: treated group (G1), control group (G2) and absolute control group (G3). The lesions were evaluated macro- and microscopically between 0-21 postoperative days. Phytochemical screening of the extract revealed the presence of hydrolysable tannins and flavonoids. Toxicological tests revealed a low level of cytotoxicity and the toxicological test demonstrated that the plant had a predominantly excitatory biological response to the central nervous system. The cicatricial evolution showed that on the 14th postoperative day the lesions of the treated group were completely reepithelialized, the significance level of $p < 0.03$ and on the 21st day for $p < 0.001$, although there was no statistical difference between the groups.

Keywords: *Caesalpinia ferrea*, phytotherapy, healing, Rénisus/ 2009.

3. INTRODUÇÃO

A fitoterapia consiste no tratamento das doenças utilizando plantas medicinais, atividade esta reconhecida oficialmente pela Organização Mundial de Saúde - OMS como recurso terapêutico desde 1978 (ELISABETSKY, 2002). A ideia central na indicação do uso fitoterápico na medicina, não é substituir medicamentos alopáticos já comercializáveis, mas sim aumentar as opções terapêuticas dos profissionais de saúde, ofertando medicamentos equivalentes, de menor custo, mas com espectro de ação mais adequado às circunstâncias do paciente, respeitando-se o que estabelece os preceitos éticos que regem o emprego de xenobióticos (LAPA et al., 2001).

Atualmente no Brasil, verifica-se um maior interesse na produção industrial de novos fitofármacos, talvez estimulados pela nova lei de regulamentação de medicamentos ou pela nova lei de patentes (YUNES et al., 2001). Novas ações e diretrizes na área foram publicadas por meio do Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, o qual aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos associado à portaria de 3 de maio de 2006 no Ministério da Saúde, que aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS/ PNPIC-SUS (DI STASI, 2007) e pela Portaria nº 2.960 de 09 de dezembro de 2008, que aprovou o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, criando ainda o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (MARTINAZZO et al., 2013).

Dentre os problemas de saúde que são rotineiramente tratados com o uso de terapias e tratamentos complementares destacam-se os tratamentos para feridas agudas e crônicas, tanto em humanos como nos animais domésticos, tendo aumentado de forma significativa nas últimas décadas, talvez devido ao acesso fácil dos produtos naturais, na maioria das vezes envolvendo baixo custo, sendo assim, amplamente empregada, em especial, na prática popular (OLIVEIRA et al., 2010). Entretanto, é importante lembrar que a cicatrização é um processo complexo, que está previsto em grande parte da rotina clínica dos profissionais da saúde, incluindo-se o médico veterinário, constituindo-se numa etapa importante de um processo lesivo, onde a qualidade da sua dinâmica é fundamental para a manutenção da integridade dos tecidos de um organismo. Podem ser identificadas diferentes etapas como a inflamação em suas diferentes formas, revelando ações como a quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação tecidual (KUMAR et al., 2005). Por ser um evento sistêmico, esse processo abrange uma gama de fatores, com mediadores específicos, que interagem de forma característica sinalizando ações concatenadas no espaço e no tempo, orquestrando as novas regras de interação metabólica no tecido recém-modelado. Bem, estes mediadores podem constituir alvos de ação de fármacos objetivando-se aumentar a eficácia de controle dos processos, ajustando-os aos interesses terapêuticos na rotina clínica (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Seja como for, o uso de produtos

naturais tem sido empregado no reparo de feridas cutâneas com o intuito de auxiliar o processo cicatricial (LOPEZ et al., 1989), em especial na medicina veterinária, uma vez que as perdas de pele são muito frequentes, associadas a diferentes causas, sendo importante diversificar as opções de tratamento a fim de se obter condições específicas para cada situação, em especial quando a medicação disponível não proporciona resultados satisfatórios, afetando a qualidade de vida do paciente (OLIVEIRA, 2008).

Caesalpinia ferrea Mart. ex.Tul. var. *ferrea*, conhecida também pela sinonímia *Libidibia ferrea*, ou vulgarmente como “jucá” ou “ pau- ferro”, é uma árvore que pertence à família Leguminosae-Caesalpinioideae, e que cresce em todo o Brasil (BRAGANÇA, 1996; LORENZI, 2002), sendo largamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, principalmente em Pernambuco e no Ceará (ALZUGARAY,1984). Em Pernambuco acha-se predominantemente nas áreas pobres da região do São Francisco e nos municípios de Floresta e Buíque (XIMENES, 2009). Pesquisas comprovam a sua ação antimicrobiana ((PEREIRA et al., 2009a, 2009b; TOMAZ, 2010; OLIVEIRA et al., 2013; PAIVA et al., 2015) Antitérmica (MAIA, 2004), Anti-histamínica (DI STASI et al.,2002), Antineoplásica (NAKAMURA et al.,2002), Anti-inflamatória e Analgésica (THOMAS et al., 1988; CARVALHO et al., 1996; COSTA et al., 2015).

Em estudos de Etnomedicina e Etnoveterinária o emprego de *C. ferrea* é associado também para o tratamento de feridas e contusões (BRAGA, 1976; PIO CORREA, 1984; BACCHI; SERTIÉ, 1991; HASHIMOTO, 1996; CARVALHO et al. 1996; MAIA, 2004; SAMPAIO et al. 2009; OLIVEIRA et al., 2010) por ação comprovada como cicatrizante (OLIVEIRA et al., 2010; SOARES et al.,2013; OLIVEIRA et al.,2014; KOBAYASHI et al., 2015; CARVALHO et al., 2016;).

Segundo Ximenes (2004), o pó da cascado pau-ferro é frequentemente usado no tratamento de feridas cutâneas na região nordeste do Brasil com bons resultados, o que desperta grande interesse nos estudos biotecnológicos relacionados a esta espécie. Em outro estudo etnoveterinário, observou-se que os frutos de *C. ferrea* em infusão no álcool são utilizados na Amazônia para o tratamento de feridas cutâneas de animais de estimação (MONTEIRO et al.,2011).Diante desses fatos, bem como a recomendação para a realização de estudos com plantas nativas citadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde/SUS(LORENZI ; MATOS, 2002; RENISUS/2009), editado pelo Ministério da Saúde (MS), da qual consta a *C. férrea*, visando sua incorporação como instrumento terapêutico dos Serviços de Saúde Pública do Brasil (PIRIZ et al.,2014), com possibilidade de vir a constar do Formulário Nacional de Fitoterápico (2011), o presente trabalho teve como principal objetivo,

avaliar o perfil fitoquímico do extrato hidroalcolólico do fruto e de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., assim como os níveis de citotoxicidade e toxicidade aguda bem como o potencial cicatrizante em modelo de feridas cutâneas em ratos Wistar.

4.MATERIAL E MÉTODO

4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

Na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Pedra do Cachorro, no município de São Caetano/Agreste de Pernambuco (Fig.3). Foram coletados no período dos meses de abril/maio, sete ramos férteis da planta para herborização, e posterior envio à especialista para identificação botânica da espécie. A mesma foi identificada como *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae). A exsicata foi incorporada ao acervo do Herbário UFP- Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE sob o número de registro # 69.656. (Fig. 4)



Figura 3- Área de coleta do material botânico, RPPN Pedra do Cachorro - São Caetano/PE.

Fonte: Cardoso, 2008

4.2 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE

Tomando-se como referência as informações do taxonomista Prof. Marcelo Ataíde temos uma árvore cujo comprimento varia de 20-30m de altura, contendo caule liso, com manchas brancas e cerne duríssimo. Apresentam também ramos peciolo e inflorescências puberulas, com folhas bifornadas com até 17 cm de comprimento; pímelas 5-11; opostas em 2-5 pares; atingindo 3,5-7,0 cm de comprimento; folíolos 8-24, oblongos ou ovalados até abovais; obtusos ou retusos;

nítidos ou pubérculos na parte anterior. A inflorescência panícula compactada na extremidade dos ramos, tormentosa, e botão floral obtusíssimo, globicículo, segmentado do cálice levemente obliquos; flor com corola com 4 pétalas subiguais a 5° ou superior sésil ultrapassando muito o cálice, maior e mais longa que as outras; ovário sésil coberto de pelos minúsculos, com 10 óvulos, e frutos levemente estipitado quase reto ou levemente falcado; com 5-7 cm de comprimento e 1,5 - 2,5 de largura (Fig. 4).

Distribuição geográfica: Matas do Piauí até São Paulo.

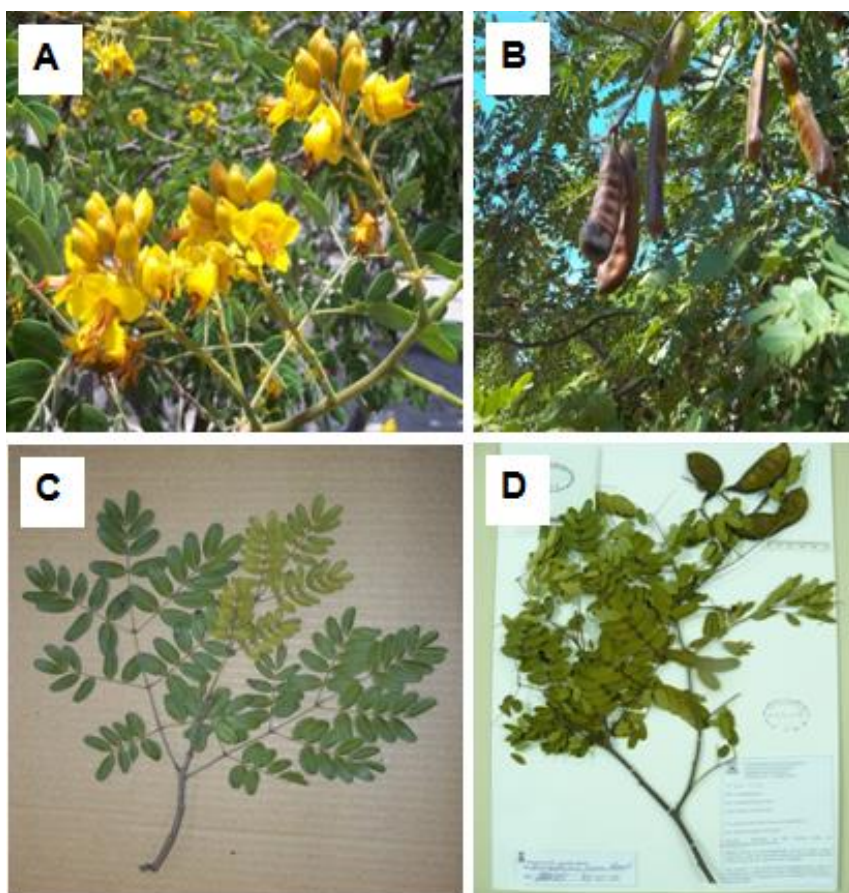


Figura 4- (A) flores; (B) frutos;(C) e folhas de *C. ferrea*; (D) Exsicata #69.656.

Fonte: Eulina Farias/2013

4.3 OBTENÇÕES DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO BRUTO

Os frutos foram coletados nos meses de março/abril, e levados para estufa de ar circulante a 40 °C para serem desidratados e posteriormente triturados em moinho de facas. O extrato foi obtido por percolação a frio por 72 horas. Em seguida, a solução foi filtrada em papel de filtro e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida a temperatura de 45 °C a 120 rotações

por minuto (RPM), resultando em um extrato com consistência resinosa, de com âmbar, bastante aromático e solúvel em água. Após os devidos procedimentos de identificação, o mesmo foi armazenado em freezer a -20 °C.

Os ensaios fitoquímicos foram realizados segundo metodologia descrita em Costa (1982) e Matos (1997), considerando-se como parâmetros, grupos de metabólicos secundários relevantes, tais como: taninos (reação de cloreto férrico), flavonoides (teste de Shinoda), alcaloides (reação de Dragendorff e Mayer), terpenos e esteroides (reação de Liebermann-Buchard) e saponina pelo índice de espuma.

4.4 TOXICIDADE AGUDA

Todas as atividades previstas nesta etapa do trabalho foram desenvolvidas de acordo com as normas vigentes para uso de animais e experimentação, sendo os protocolos experimentais analisados e aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco, licença N° 433/12.

O estudo da toxicidade aguda foi conduzido, utilizando-se 48 camundongos (*Mus musculus*) swiss, albinos, machos, com peso entre 25 a 35 g, que permaneciam nas dependências do biotério do Departamento de Antibiótico da UFPE, onde eram mantidos em temperatura ambiente (media de 27±5) com água potável e ração livre de suplementação antibiótica, à vontade. Após o devido período de adaptação, os animais foram separados em grupos de seis (n = 6) por tratamento, onde eram mantidos em jejum prévio de 12h antes dos ensaios. Em cada grupo os animais recebiam (IP), doses do extrato bruto, seco, ajustadas em solução salina (NaCl 0,9%), , com dose inicial de 3mg Kg⁻¹ / ml⁻¹ de peso, em expansão logarítmica. Após esta etapa, os animais de cada grupo eram colocados em campo aberto onde eram observadas as reações comportamentais e respostas orgânicas conforme a dose administrada, por um período de 30 minutos considerando-se como parâmetro de avaliação clínica os descritores disponíveis em Di Stasi (1996). Em seguida, os animais ainda ficavam sob observação episódica até 48h.

4.5 ELABORAÇÃO DO CREME

Uma vez conhecido o perfil toxicológico da planta, foi providenciada a formulação de um creme para a realização dos bioensaios em modelo de cicatrização com ratos, tomado como referência às sugestões disponíveis na Farmacopeia Brasileira (2011). A partir da obtenção do extrato hidroalcolico bruto na concentração de 170mg/ml, tirou-se uma massa desse extrato, que foi incorporado à lanolina anidra pura (veículo) na concentração final 9,3%. Todos os

ensaios para a obtenção do creme foram realizados no Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE (Fig. 5).

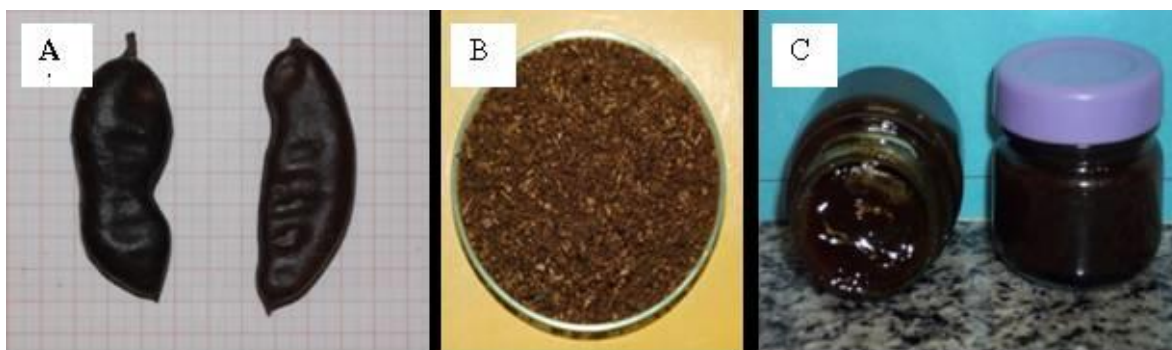


Figura 5- (A) frutos secos; (B) frutos e sementes pulverizados; (C) creme de uso tópico de *C. férrea*.
Fonte: Eulina Farias/2015

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE

Nestes ensaios foram utilizados 52 ratos (*Rattus norvegicus*, albinus) da linhagem Wistar; machos de 90 dias de idade com peso corporal variando de 250 ± 300 g, que foram acondicionados em gaiolas individuais de polietileno, devidamente identificados, em ambiente com temperatura de 23 a 25 °C, umidade relativa do ar acima de 70%, e ciclo de luminosidade claro/escuro de 12 x 12 horas; recebendo ração comercial (Labina - Purina) e água *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em três subgrupos: G1(20) animais tratados com o creme, G2 (20) grupo controle, animais tratados com lanolina e G3 (12) grupo controle absoluto animais sem nenhum tratamento. Para a confecção das feridas, os animais foram submetidos a anestesia dissociativa utilizando cloridrato de quetamina na dose de 75 mg/Kg e xilazina na dose de 5mg/Kg por via intramuscular (i.m.). Após atingirem plano anestésico, os animais foram tricotomizados, sendo a antisepsia do local cirúrgico efetuada com álcool a 70%. Em seguida foram retirados da região dorsolombar quatro fragmentos de pele, com o auxílio de punch metálico (de 8 mm)(Fig.6). Logo após a injúria tecidual, o creme foi aplicado com auxílio de uma seringa de 1 ml, e a lanolina, com espátulas de madeira individuais e estéreis e, posteriormente, uma vez ao dia, até a eutanásia pré-estabelecida para cada grupo.(Fig.7)

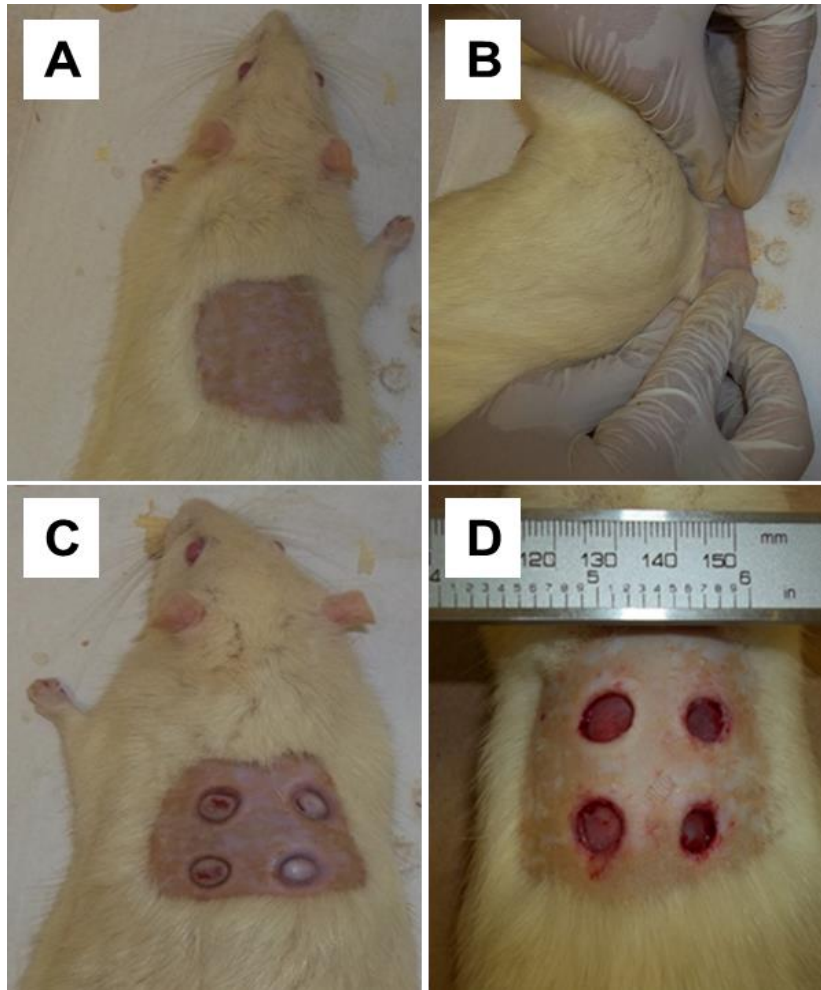


Figura 6: (A) Tricotomia; (B) e (C) Confeção das feridas experimentais; (D) Feridas no dia 0.
 Fonte: Eulina Farias/2015

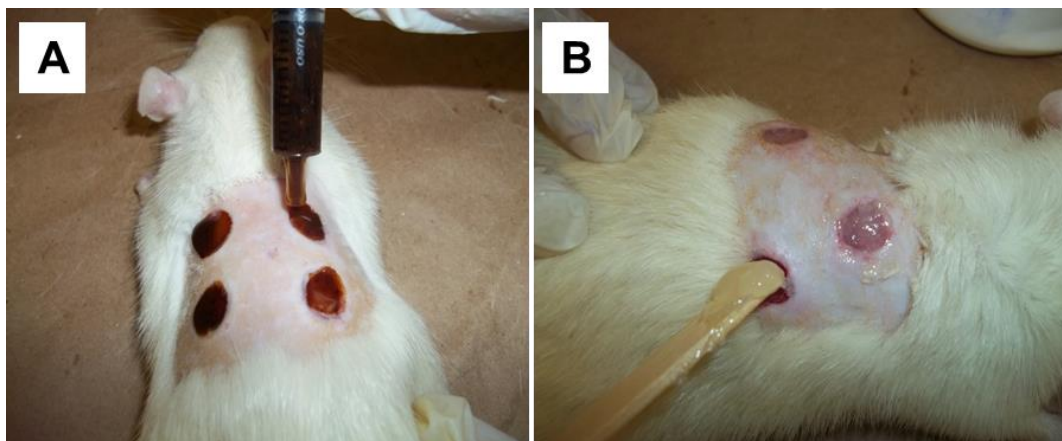


Figura 7: (A) Aplicação tópica do creme dermatológico de *C. ferrea* (B) aplicação tópica do veículo (lanolina anidra pura), tratamento diário até a eutanásia pré-estabelecida para cada grupo.

Fonte: Eulina Farias/2015.

Todas as feridas foram avaliadas clinicamente quanto à coloração do leito da ferida, presença de crostas, exsudação e prurido, diariamente, e nos períodos estabelecidos de pós-operatório. A mensuração do diâmetro maior e menor das feridas era efetuada a cada 72 horas, empregando-se paquímetro digital milimetrado (King Tools). Na avaliação morfométrica, para a obtenção da área das feridas, utilizou-se a equação formulada por Prata et al. (1988): $A = \pi \cdot R \cdot r$, na qual A representa a área (cm²); R, o raio maior e r, o raio menor. O grau de contração expresso em termos percentuais foi mensurado pela equação proposta por Ramsey et al. (1995), $Gc (\%) = 100 \times (W_o - W_i) / W_o$, onde W_o é o valor da área inicial da ferida e W_i o valor da área da ferida no dia da eutanásia.

Decorridos os períodos pré-estabelecidos de 3°, 7°, 14° e 21° dias de pós-operatório, foram realizadas coletas de material para avaliações histopatológica das feridas. Os animais foram anestesiados para retirada dos fragmentos de pele através de incisão abrangendo pele íntegra e área da lesão. As feridas de todos os grupos foram fixadas em solução de formalina a 10% e submetidos à inclusão em parafina, para seguida confecção das lâminas histológicas pela técnica rotineira em parafina e coloração em Hematoxilina/Eosina (H.E). Amostras de sangue foram coletadas por punção venosa hepática, e imediatamente transferido para dois tubos, um contendo anticoagulante EDTA (Ácido etilenodiaminotetrácético) e sem anticoagulante, para posterior análise bioquímica e hematológica. Após a coleta do sangue os ratos foram eutanasiados por aprofundamento anestésico por sobre dose de thiopental de 100mg/Kg - i.p. (DIRECTIVE, 2010).

A cicatrização foi avaliada macroscopicamente através da verificação do grau de reepitelização, hiperemia, presença de exsudado, formação de crostas e tecido de granulação depositado e microscopicamente quanto à densidade de fibras colágenas, presença de fibroblastos e angiogenese. O registro fotográfico da evolução cicatricial das feridas foi realizado, utilizando-se câmera fotográfica digital Kodak Easy Share C143 de 12 megapixels e microscópio digital marca Dino-Lite com câmera de 1,3 megapixels e Zoom de 20-200x. O experimento foi conduzido de acordo com as normas de pesquisa científicas com animais, sendo o protocolo experimental analisado e aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, licença N°126/2016.

4.7 DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram expressos em termos de média e desvio padrão, e a condição de normalidade da distribuição dos valores avaliados pelo método de Shapiro-Wilks, considerando-se como valor descritivo um valor de $p < 0,05$. Os dados com distribuição normal foram analisados por meio da ANOVA e teste de post. Hoc. de Tukey. Aqueles com distribuição não paramétrica foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis e post. hoc. de Dunn considerando-se um nível descritivo de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DE *C. ferrea*

O extrato hidroalcoólico bruto dos frutos de *C. ferrea* caracterizou-se por uma coloração marrom-escura, de consistência resinosa e bastante aromática. Também apresentou boa solubilidade em água. Na triagem fitoquímica, foi possível constatar a presença dos compostos fenólicos, tanino hidrolisáveis e flavonóides. É importante lembrar que os compostos fenólicos são classificados em ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, flavonoides, estilbenos, lignanas, ligninas, taninos hidrolisáveis e condensados (SOUSA et al., 2007). Dentre os polifenóis presentes nos extratos vegetais, pode-se destacar a presença de ácido gálico e ácido elágico, possivelmente, substâncias responsáveis pela atividade biológica e terapêutica dos frutos da referida espécie (UEDA et al., 2001). Seja como for, trabalhos sugerem que o ácido gálico pode inibir a secreção de histamina em modelo experimental (KIM et al., 2006).

Por outro lado os flavonóides compõem um dos grupos de compostos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural (GALLEGOS- OLEA et al., 2008). Compreende uma série de compostos secundários que ocorrem exclusivamente em plantas superiores, sendo responsáveis na planta por diferentes atributos, entre estes a coloração das flores. É uma classe de substâncias que têm mostrado possuir uma ampla variedade de atividades farmacológicas, tais como: antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana, hipotensora, antitumoral, antioxidante, antiviral (SIMÕES et al., 2004). Também pode atuar sobre o metabolismo de formação de hemoglobina, assim como possuir ação antiespasmódica, anti-hepatotóxica (DI STASI et al., 1996), além da capacidade de alguns destes compostos apresentarem atividade inibitória sobre a liberação de histamina nos mastócitos (FERREIRA, 2011).

Pesquisas também sugerem que alguns flavonoides são responsáveis pelos efeitos antitumorais, para uma boa parcela de diferentes tipos de tumores, podendo ainda exercer ações antivirais, atuar como antioxidantes, anti-hemorrágicos, como hormônios, e acima de tudo como antiinflamatórios e antimicrobianos (ROMAGNOLO; SELMIN, 2012).

Já os taninos pertencem a um grupo de substâncias fenólicas provenientes do metabolismo secundário das plantas e são definidos como polímeros fenólicos solúveis em água que precipitam proteínas (HASLAM, 1996). O nome tanino é derivado do francês “*tanin*” (substância de curtimento) e constitui uma das variedades de polifenóis naturais. Podem estar presentes em folhas, frutas, cascas, podendo se acumular em grandes quantidades em tecidos vegetais específicos (PINTO et al., 2005). Os taninos representam o segundo maior grupo entre os compostos fenólicos e o quarto constituinte mais abundante nos vegetais (HASLAM 2007; PINTO et al., 2005). Tais compostos podem ser divididos de acordo com sua estrutura química e propriedades em dois grupos: taninos condensados e hidrolisados. Plantas ricas em taninos sejam eles condensados ou hidrolisáveis, são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (HASLAM, 1996). Do ponto de vista comercial, devido ao seu poder tanante e sua adstringência, atuam sobre o colágeno retirando água dos interstícios das fibras, contraindo os tecidos orgânicos moles transformando a pele dos animais em couro (GONÇALVES; LELIS, 2001). Marinho et al.(2013) afirmaram que essa ação adstringente do tanino age na coagulação da albumina, criando uma camada protetora no leito da ferida estimulando o processo de granulação.

Os taninos hidrolisáveis são compostos que após hidrólise produzem carboidratos e ácidos fenólicos. São unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas. São divididos de acordo com o produto de hidrólise, em galotaninos, que produzem ácido gálico, e em elagitaninos, que produzem ácido elágico. (UEDA, 2001)

Carvalho (1993) ao avaliar o extrato aquoso dos frutos de *C. ferrea* confirmou a presença de alcaloides, antraquinonas, açúcares, flavonoides, taninos, saponinas, lactonas e triterpenos, fato importante, uma vez que na maioria dos trabalhos, não fica claro que metodologias são empregadas na identificação das substâncias que compõem os extratos de vegetais.

Nakamura et al. (2002; 2002) estudaram dois componentes extraídos de frutos de *C. ferrea*, o ácido gálico e metil galato, que segundo os autores apresentavam atividade antitumoral e antiviral.

Ueda et al. (2001) determinaram que no extrato aquoso dos frutos secos de *C. ferrea* há presença de ácido gálico e ácido elágico, assinalando que são monômeros de taninos hidrolisáveis e são os supostos responsáveis pela capacidade de inibição da enzima aldoreductase, e que essas seriam as prováveis substâncias pela capacidade terapêutica dos frutos da espécie.

Outros autores como Almeida et al. (2005) analisaram o perfil fitoquímico do extrato etanólico de frutos de *C. ferrea* identificando taninos e fenóis. Já Reboredo et al. (2006) determinaram a presença de ácido gálico e galato de metila.

Em Vieira (2006), verifica-se em extrato de benzeno dos frutos de *C. ferrea* a presença de sitosterol, ácido palmítico e octacosanoico, obtendo-se no extrato alcoólico o ácido gálico, galato de acetato e ácido elágico. No extrato bruto do caule, Gonzalez (2005) detectou flavonoides e taninos e nas folhas, identificou flavonoides, taninos, além de antraderivados e cumarinas.

Pickler (2015), em estudo fitoquímico das folhas de *C. ferrea*, isolou um constituinte amarelo que, através de análises por Espectrometria de Massa (EM) e por análises, tanto experimentais, quanto teóricas, de Espectroscopia no Infravermelho (EI) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), permitiu caracterizá-lo como o sesquiterpenoide trans,trans-farnesol.

Nozaki et al. (2007) a partir do caule de *L. ferrea* isolaram o composto paufferol A, um derivado de chalcona, que apresentou inibição da DNA-topoisomerase II e induziu apoptose em células leucêmicas. Gonzáles et al. (2004), ao avaliar o extrato hidroalcoólico da casca e folhas de Jucá, demonstraram a presença de saponinas, taninos, flavonoides, esteroides, cumarinas e substâncias fenólicas.

Coelho (2004) descreveu o perfil químico do extrato metanólico das folhas de *C. ferrea*, onde se encontrou uma mistura de triterpenos, três flavonoides C-glicosilado: isoorientina, orientina e vitexina, e uma mistura de ácido gálico.

Nozaki et al. (2007) isolaram o composto paufferol A, um derivado de chalcona, que apresentou inibição da DNA-topoisomerase II e induziu apoptose em células leucêmicas.

5.2 BIOENSAIOS DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

Nos ensaios de citotoxicidade *in vitro* os seguintes tipos celulares foram avaliados, obtendo-se os respectivos índices percentuais de inibição: HT129 (IC% = 0), NCI-H292 (IC% = 49,3± 2,9), Hep-2 (IC% = 30,9± 5,9), verificando-se que as amostras do extrato de *C. ferrea*, apresentou baixa citotoxicidade nas concentrações testadas, conforme Laudo 00/2011 do Laboratório de Bioensaio para Pesquisa de Fármaco do Departamento de Antibióticos da UFPE.

Estes resultados determinaram a possibilidade de realização dos ensaios de toxicidade aguda.

5.3 TOXICIDADE AGUDA

Apesar de ser um método há muito descrito, ainda é amplamente utilizado como forma de conhecer os limites de segurança de substâncias das quais se queira fazer uso como medicamento ou alimento (CARVALHO, 2002; ZAUPA et al., 2002, VALENTE, 2006).

No que se refere à toxicidade aguda, a realização dos bioensaios de atividade espontânea para avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de *C. ferrea*, em várias dosagens, permitiu a verificação de diferentes respostas comportamentais associadas às manifestações clínicas específicas, tomando-se como base os descritores disponíveis nos trabalhos de Malone (1983) e Almeida (2006). Do total de respostas comportamentais observadas, verificou-se que 40,54% eram do tipo estimulante sobre o sistema nervoso central (SNC), assim como 10,81% eram do tipo depressora. As respostas associadas à atividade do Sistema Nervoso Autônomo foram de 24,32% assim como se obteve um percentual de 24,32% de respostas que não se enquadraram nos descritores utilizados como referência.

De maneira geral pode-se dizer que este extrato apresentou uma característica de resposta biológica predominantemente excitatória sobre o sistema nervoso central, cujos comportamentos podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1. Efeitos estimulantes sobre o SNC mediados pelo extrato de *C. ferrea*

Comportamentos	Escore	R²	C. ang	C. lin	Tipo	D/R
Espasmos	0,57±0,62	0,734	0,375	-1,831	Ln	***
Contorções abdominais	0,96±0,94	0,402	0,388	-1,52	Ln	*
Movimentos em círculos	2,44±1,26	0,021	-0,12	3,214	Ln	
Agitação	0,69±0,41	0,123	0,094	0,091	Ln	
Saltos	1,47±1,27	0,400	0,573	-2,19	Ln	*
Saltos acrobáticos	0,22±0,47	0,242	0,149	-0,731	Ln	
Postura em garra	0,31±0,44	0,373	-0,17	1,42	Ln	
Ação agonística	0,24±0,36	0,157	0,092	-0,355	Ln	
Movimento das vibrissas	0,18±0,17	0,370	0,067	-0,248	Ln	
Movimentos estereotipados	1,42±0,82	0,803	-0,04	1,981	Exp	***
Espasticidade	0,10±0,20	0,380	0,08	-0,414	Ln	
Convulsão focal	0,03±0,07	0,041	0,009	-0,029	Ln	
Agressividade	0,57±0,58	0,804	-0,33	2,736	Ln	***
Vocalizações	0,07±0,08	0,003	0,048	0,003	Ln	
Acrobacias	0,06±0,14	0,16	-0,03	0,281	Ln	

OBS: Escore – é um valor médio definido a partir do número de repetições do comportamento no intervalo temporal de observação experimental. R^2 – é o coeficiente de determinação para a função matemática que melhor descreve a relação entre a Dose e o Efeito. C. Ang. É o coeficiente angular da expressão matemática, assim como C. lin é o coeficiente linear da mesma expressão. Tipo – refere-se ao tipo de função matemática que melhor descreve a relação entre a Dose e o Efeito observado, podendo ser do tipo Ln (logarítmica) ou do tipo Exp (Exponencial). * - representa a condição de haver uma relação aceitável do tipo Dose x Efeito, quanto maior a quantidade de asteriscos melhor é a relação.

Seja como for, estes dados acima revelados sugerem a necessidade de se dar continuidade a estes estudos no sentido de pormenorizar estes efeitos, com modelos experimentais mais específicos.

No ensaio para determinação do grau de toxicidade Reboredo et al. (2007) avaliaram o efeito da administração do extrato aquoso de *L. ferrea* em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozoides de ratos Wistar, submetidos a tratamento subagudo, o resultado indicou a ausência de efeito tóxico no sistema reprodutor dos animais testado. Contudo vale ressaltar que na avaliação do tratamento agudo do nosso extrato, uma das respostas orgânica foi a hipertrofia de testículo.

Carvalho et al. (2009) investigaram a toxicidade aguda do extrato bruto das sementes, pela via intraperitoneal, em camundongos swiss, machos, tendo como resultado a não toxicidade do extrato de *C. ferrea* mesmo quando administrada a dose máxima de 3.000 mg/Kg^{-1} .

Gonzales (2005) analisou a toxicidade aguda do extrato bruto liofilizado do caule de *C. ferrea*, pela via oral em camundongos machos e fêmeas, tendo como resultado uma baixa toxicidade.

Kobayashi et al. (2015) realizaram teste de toxicidade aguda por via oral do extrato etanólico na dose máxima de 5g/Kg de peso em 24 ratos Wistar, sendo os animais observados por 14 dias. Nas doses empregadas o extrato etanólico dos frutos de *L. ferrea* apresentou baixo potencial tóxico para os animais testados.

5.5 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS LESÕES CUTÂNEAS.

Inicialmente, é importante assinalar que a lanolina anidra pura (LAP) foi escolhida como veículo, por ser uma substância serosa purificada e desidratada, obtida da lã de ovelhas (*Ovis aries*), formada principalmente por ésteres de ácidos gordos de colesterol, lanosterol e álcoois gordos. É um produto amplamente utilizado como base de pomadas e agente emulsionante em

preparações farmacêuticas tópicas, oftálmicas, e em cosmética, sendo utilizada como veículo hidrófobo. Tem características semelhantes as do sebo humano e pode restituir a secreção sebácea da pele. Por si mesma não é absorvida, mas quando misturada com óleos vegetais adequados ou vaselina viscosa, obtêm-se cremes emolientes que penetram na pele e facilita a absorção de outros princípios ativos (CLAVIJO; COMES, 2007).

A avaliação macroscópica constou de observações clínicas do processo cicatricial e análise de contração das feridas.

Na análise macroscópica, os animais do grupo tratado (G1) já no 3º dia do pós-operatório, apresentaram, leve hiperemia e estágio inicial da formação da crosta (Fig.8), fato que também foi evidenciado por Soares et al.(2013). Essa formação de crosta possivelmente possa ser explicada pela riqueza de taninos na sua composição (GONZALEZ et al., 2004). E a leve hiperemia segundo Oliveira (2014) pode ser atribuído à conclusão ou diminuição do processo de neovascularização, que acontece para estabelecer um fluxo sanguíneo adequado no local da ferida. Também apresentava depósito de tecido de granulação e uma fina crosta de cor marrom-clara, sem exsudação ou qualquer outro sinal de infecção, o que favoreceu a cicatrização. Oliveira et al. (1992) afirma que a formação de crosta em uma ferida não exsudativa favorece o processo de cicatrização, pois o exsudado promove a desagregação da crosta e desenvolvimento de microrganismos.

O mesmo não foi observado por Oliveira et al. (2014) que na avaliação macroscópica da ação cicatrizante do extrato aquoso, da vagem e casca da referida espécie, numa concentração aproximada de 30% em feridas cutâneas em arsininos, por um período de 63 dias, observou a presença de secreções do tipo seroma, nas quatro primeiras semanas do experimento, em todas as feridas dos grupos tratados e do grupo controle com ambos os extratos. Esse resultado desfavorável poderá está relacionado com o solvente de extração dos compostos, e suas respectivas concentrações nas cascas e na vagem, pois segundo Chanwitheesuket al. (2007) o álcool etílico é considerado o melhor solvente para extração de substâncias bioativas. Jorge Neto et al. (1996) ainda afirma que os taninos precipitam as proteínas dos tecidos lesados, formando um revestimento protetor, proporcionando ambiente favorável ao processo cicatricial, diminuindo a permeabilidade e exsudação da ferida, o que foi observado em nossa avaliação clínica diária.

No 7º dia do pós-operatório, as crostas aparecem evidentes com uma coloração escura, amarronzada a negra, cobrindo todo o leito da ferida, evidenciando a primeira fase da cicatrização que é a coagulação e conseqüentemente formação do tampão hemostático.

No 14º dia as feridas tratadas tinham melhorado notavelmente, a reepitelização havia se completado, podendo visualizar a epiderme intacta e os tecidos subjacentes cicatrizados, como observado na figura 7. Sendo o mesmo evidenciado até o 21º do pós-operatório. A diminuição da área cruenta ocorreu por conta do mecanismo de contração e do movimento centrípeto dos limites da ferida em direção ao centro, com objetivo de diminuir a área a ser recoberta pelo epitélio em proliferação, caracterizando a cicatrização por segunda intenção.

Gonzalez (2005) avaliou macro e microscopicamente a atividade cicatrizante dos extratos etanólico bruto liofilizado, do caule e folhas da planta, diluído em uma solução aquosa na concentração de 15%, aplicada topicamente em dez ratos wistar machos, no período de 2º, 4º, 6º, 8º, 10º, 12º e 14º dia do pós-operatório tendo como controle positivo a água. A solução foi aplicada diariamente nas feridas cutâneas. Já a partir do segundo dia após a incisão, a autora observou que os animais do grupo tratado já apresentavam a formação de crostas mais significativa que aqueles do grupo controle. O mesmo evidenciado por nós na primeira semana do uso do creme. Todavia evidenciou o fechamento das feridas, primeiramente nos animais que receberam água topicamente. Ao término do experimento a autora afirma que não foi confirmada a ação cicatrizante de ambos os extratos no laudo histopatológico.

As feridas dos animais do subgrupo controle (G2) apresentaram uma cicatrização mais lenta, no 3º dia do pós-operatório, apresentavam tecido de granulação, e uma leve hiperemia no leito da ferida, e sem a presença de exsudado. (Fig. 9)

No 7º dia, as feridas apresentavam uma fina crosta de cor vermelha, com depósito de tecido de granulação nas bordas da ferida, a hiperemia permaneceu de moderada a intensa até o 14º dia. A epiderme apresentava-se parcialmente reconstituída, com a presença de crostas ainda aderidas ao leito da ferida, não havendo, portanto resolução da cicatrização, que só ocorreu no 21º dia do pós-operatório.

Já as feridas do subgrupo controle absoluto (G3) no 3º dia pós-operatório, apresentava intensa deposição de tecido de granulação nas bordas e no centro da ferida, que foi tornando-se ausente nos dias seguintes, mas apresentava leve hiperemia, e ausência de exsudado. (Fig.10)

No 7º dia apresentavam bordas irregulares e hiperemia mais intensa, porém sem presença de exsudado, com exceção da ferida 4 do animal 3 que apresentou exsudado tipo sanguinolento.

No 14º dia houve uma diminuição progressiva das áreas das lesões, uma pequena área hiperémica permanecia no leito da ferida, com crostas aderidas ao centro, mas com ausência de exsudado. Como no grupo controle, a epiderme apresentava-se parcialmente reconstituída, e a total resolução cicatricial ocorrendo apenas no 21º do pós-operatório.

A hiperemia foi visualizada em todos os grupos variando apenas em sua intensidade, havendo uma diminuição progressiva da intensidade ao longo do tempo, com exceção do grupo controle onde a hiperemia permaneceu de intensa a moderada até o 14º dia.

Houve diminuição progressiva das áreas das feridas de todos os grupos durante os vinte um dias do experimento, sendo as feridas classificadas como normotróficas, ou seja, quando o tecido regenerado possui textura e consistência semelhante à pele íntegra (FERNANDES et al.,2014).

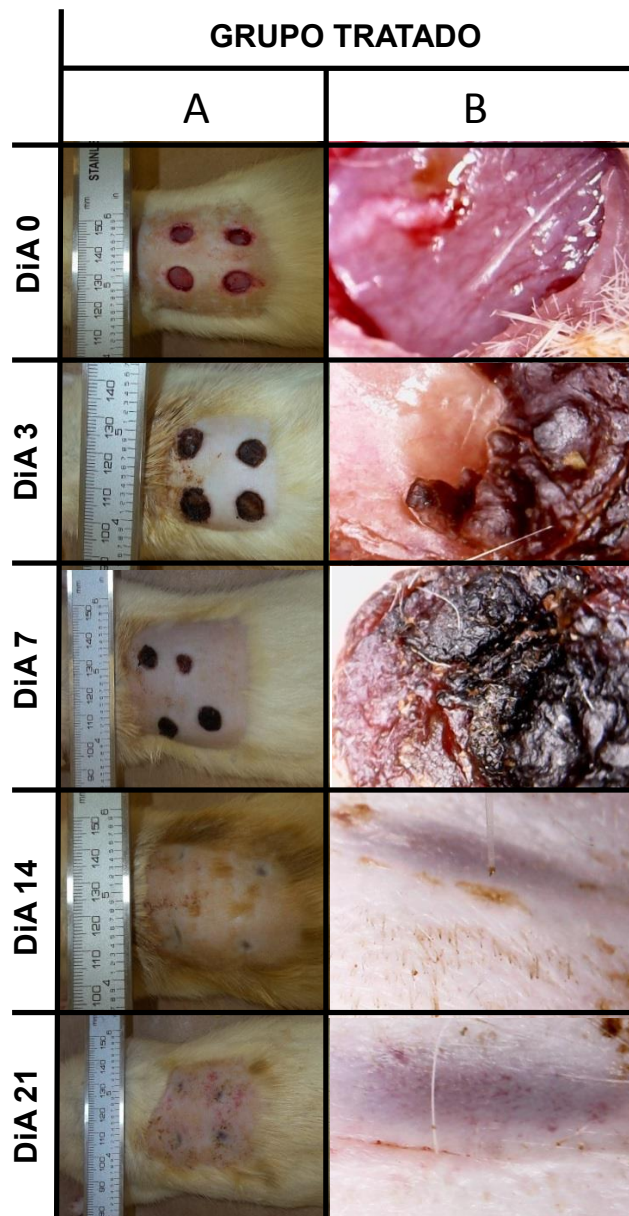


Figura 8 – (A) e (B) Evolução cicatricial do grupo tratado do 0 ao 21º dia do pós operatório.

Figura(B) aumento de 200x em microscópio digital com câmera de 1,3 megapixels e Zoom de 20-200X

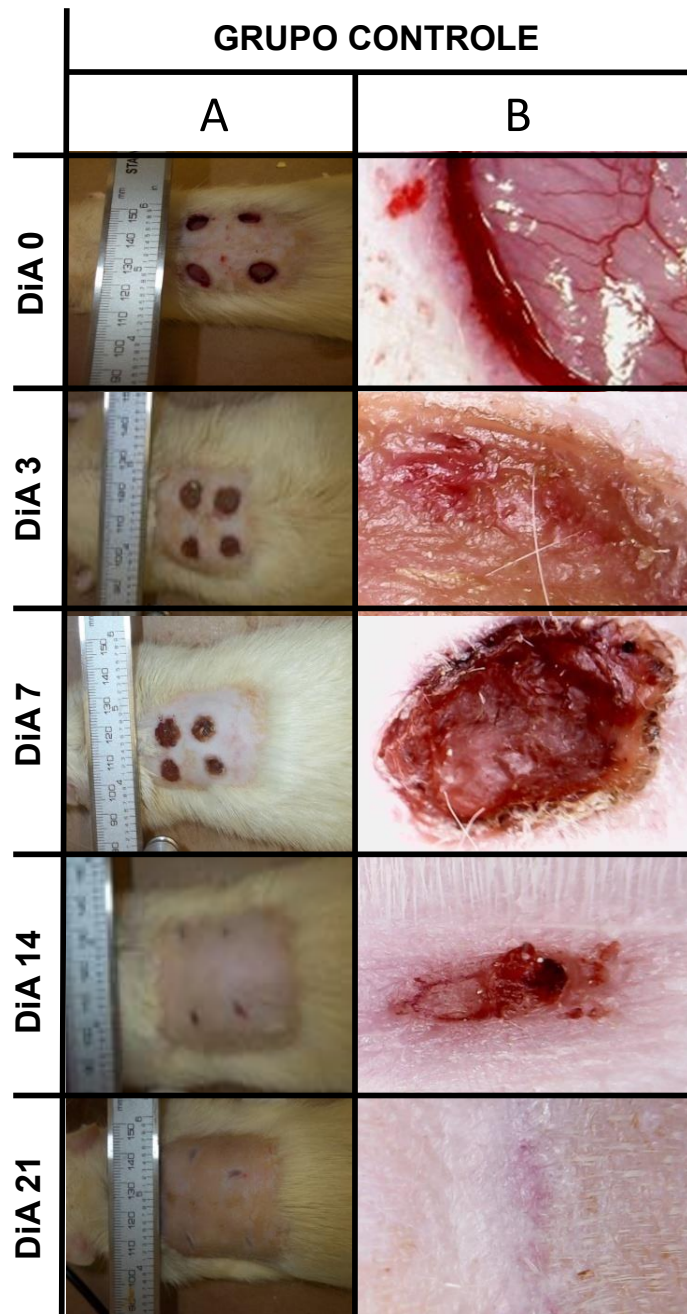


Figura: 9 – (A) e (B) Evolução cicatricial do grupo controle do 0 ao 21º dia do pós operatório.
 Figura (B) aumento de 200x em microscópio digital com câmera de 1,3 megapixels e Zoom de 20-200X

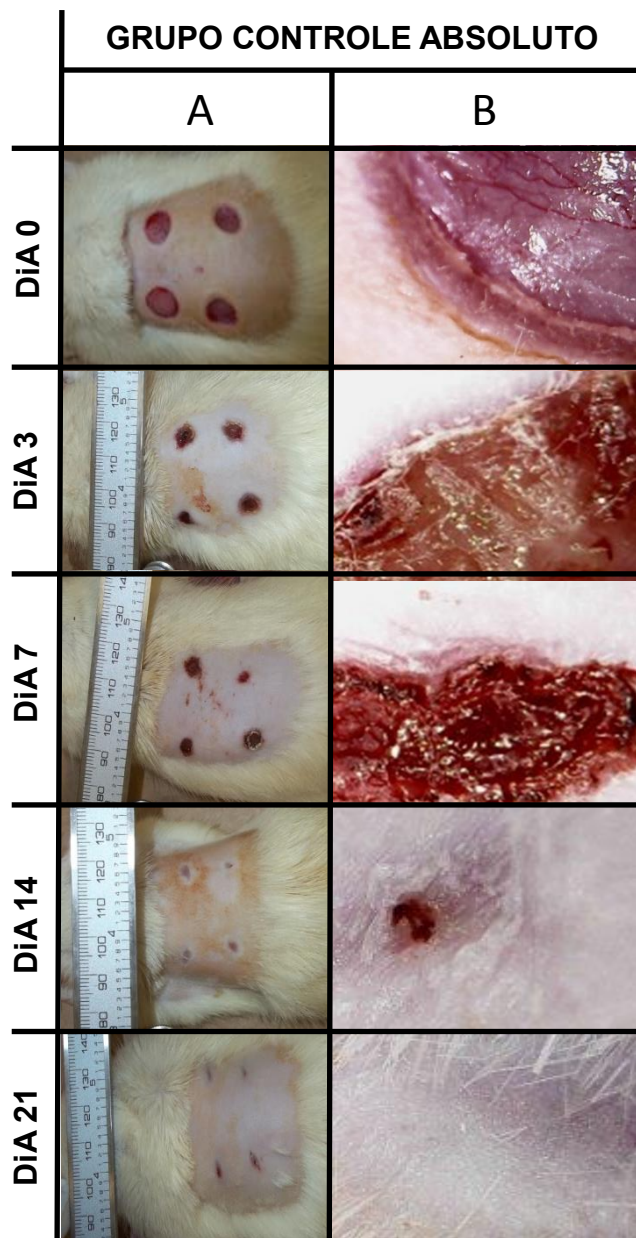


Figura: 10– (A) e (B) Evolução cicatricial do grupo controle absoluto do 0 ao 21º dia do pós operatório. Figura(B) aumento de 200x em microscópio digital com câmera de 1,3 megapixels e Zoom de 20-200X

5.6 CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DAS LESÕES.

A análise estatística da comparação da área das feridas nos diferentes dias de avaliação foi efetuada através de análise de variância de dois fatores: grupo x tempo. O nível mínimo de significância foi de $p < 0,05$ e valores expressos como média e desvio padrão. Os dados estatísticos de acordo com o método utilizado, baseado em escores médios para os 3 tratamentos não foram todos iguais. No 14º dia o valor de $p = 0,03$, sendo que o maior grau de significância ocorreu no 21º dia para $p = 0,001$ como observados na tabela abaixo.

Tabela 2 - Valores para o teste de normalidade Shapiro-Wilks relativos ao parâmetro de contração da ferida em diferentes grupos experimentais.

Período (dias)	Grupo	n	Normalidade (SW)	Distribuição Gaussiana
0 - 3	Tratado	20	0,42585	Sim
	Veiculo	20	0,8561	Sim
	Controle	12	0,11098	Sim
0 - 7	Tratado	20	0,43695	Sim
	Veiculo	20	0,99608	Sim
	Controle	12	0,15186	Sim
0-14	Tratado	20	0,0595	Sim
	Veiculo	20	0,00136	Não
	Controle	12	0,62951	Sim
0-21	Tratado	20	0,0001	Sim
	Veiculo	20	0,17146	Sim
	Controle	12	0,93744	Sim

Tabela 3- Percentual de contração da ferida (média ± desvio-padrão) em diferentes grupos experimentais.

Período (dias)	Grupo	n	Contração da ferida (%) (M ± DP)	ANOVA	P
0 - 3	Tratado	20	-6,13 ± 4,63 A	4,97227 ⁽¹⁾	0,01081
	Veiculo	20	2,93 ± 7,22 AB		
	Controle	12	22,28 ± 3,91B		
0 - 7	Tratado	20	17,18 ± 8,38 A	4,58525 ⁽¹⁾	0,01495
	Veiculo	20	36,59 ± 5,53 AB		
	Controle	12	47,04 ± 3,74 B		
0-14	Tratado	20	85,31 ± 1,77 A	6,97504 ⁽²⁾	0,03058
	Veiculo	20	89,53 ± 1,45 AB		
	Controle	12	91,63 ± 0,98 B		
0-21	Tratado	20	77,47 ± 3,64 A	13,20 ⁽¹⁾	0,00136
	Veiculo	20	88,26 ± 0,91 B		
	Controle	12	86,25 ± 1,26 AB		

Letras diferentes entre linhas para um mesmo período indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). 1. ANOVA análise de variância e teste *post-hoc* de Tukey – Avaliação paramétrica. 2. Teste de KRUSKAL-WALLIS e *post-hoc* de Dunn; Avaliação não paramétrica.

Contração da ferida

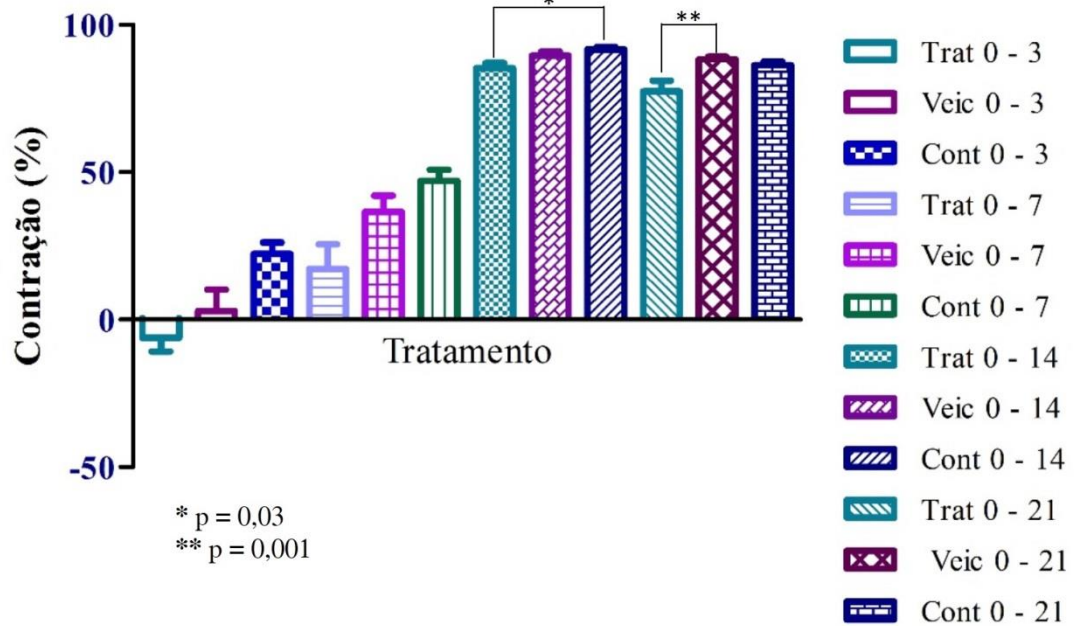


Gráfico 1- Contração de feridas experimentais confeccionadas em ratos (expressa em porcentagem), tratadas com creme tópico à base de *C. ferrea*, segundo as mensurações procedidas nos 3º, 7º, 14º e 21º dias após início do tratamento. Os valores estão apresentados como média e p<0,05.

Na análise de contração das feridas, verificou-se que em todos os grupos houve uma diminuição progressiva das áreas das lesões ao longo dos dias, com exceção das feridas do grupo tratado no período de 0 a 3º dia pós-operatório, que apresentou área final maior que a inicial nos dias pós-operatório.

Área da ferida

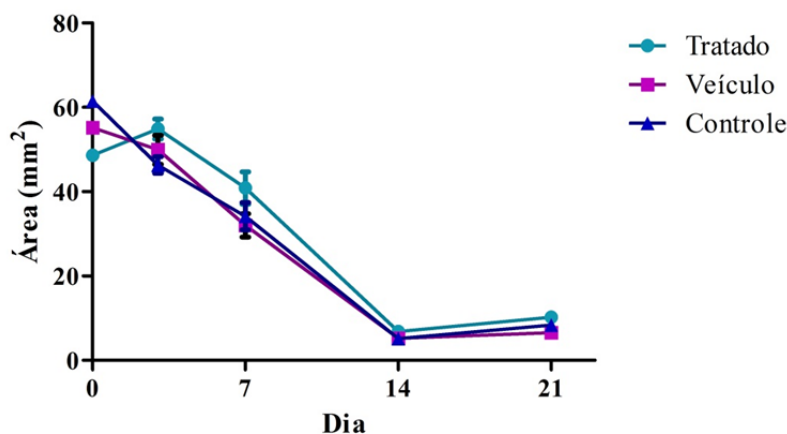


Gráfico 2- Efeito do tratamento com o creme de *C. ferrea* 9,3% lanolina (controle) e ausência de tratamento (controle negativo), sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos entre o dia 0 e o 3º, 7º, 14º e 21º dia do pós-operatório. Os valores estão apresentados como média e desvio padrão p<0.05

5.7 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DAS FERIDAS

As principais alterações encontradas na avaliação histopatológica das feridas cutâneas experimentalmente induzidas no dorso dos ratos, tanto dos grupos controle quanto do grupo experimental, submetido ao tratamento com creme de *C. ferrea*, estão ilustradas nas figuras abaixo.

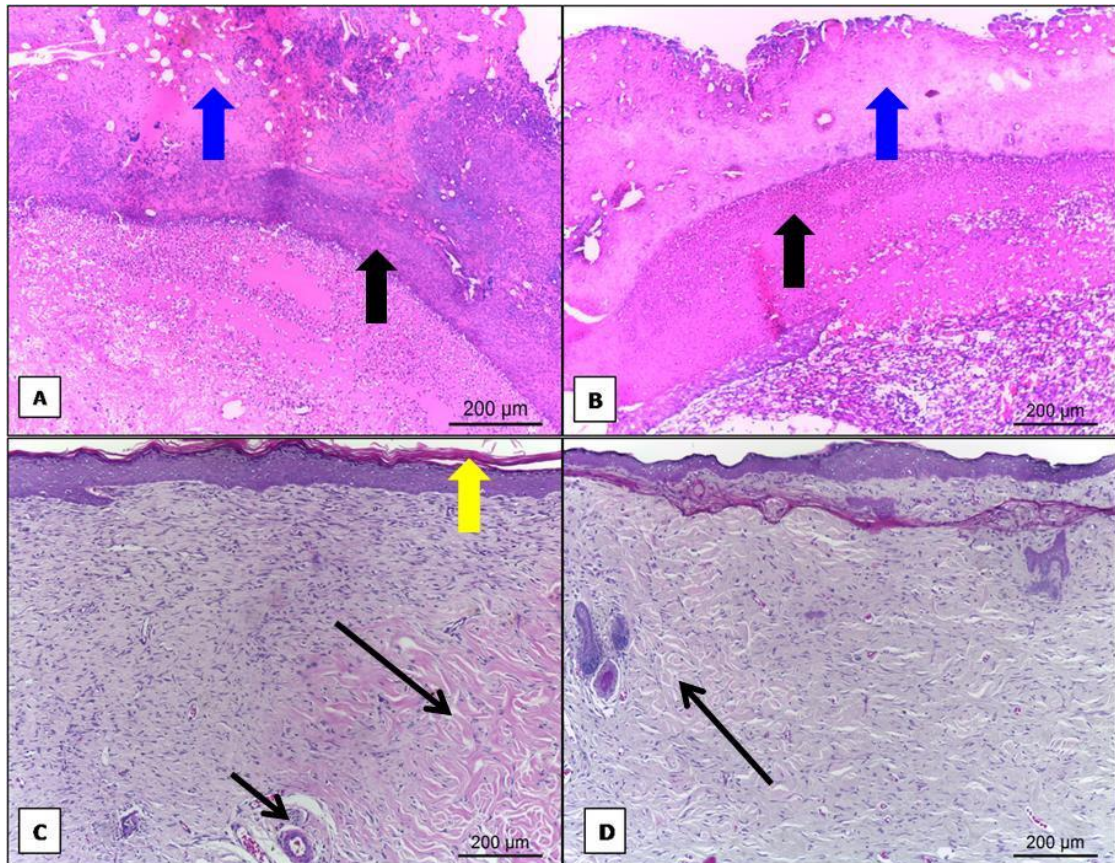


Figura 11 - Fotomicrografias da evolução cicatricial das feridas cutâneas dos ratos do grupo tratado com o creme de *C. ferrea*, no período de 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório: A- 3º dia. Observar presença intensa de vasos sanguíneos (seta azul) e grande quantidade de tecido de granulação (seta preta). B- 7º dia, observar a presença de tecido de granulação com poucos vasos de sanguíneos (seta). C- 14º dia. Observar a presença de queratina no tecido em processo de cicatrização (seta). D- 21º dia. Observar queratina da ferida (seta preta), contração da ferida (estrela), presença de colágeno antigo (seta azul). Coloração H/E.

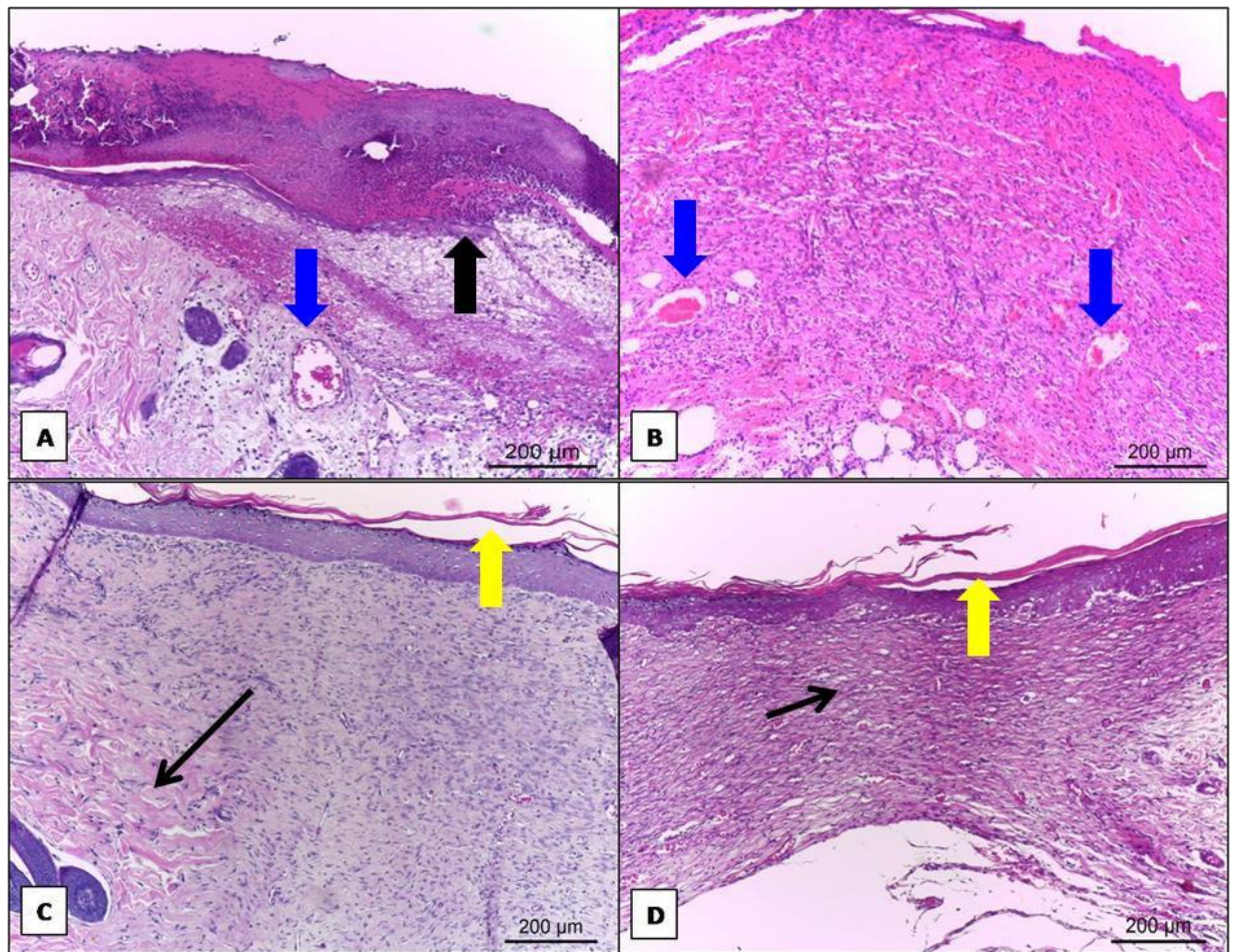


Figura 12 - Fotomicrografias da evolução cicatricial das feridas cutâneas dos ratos do grupo controle no período de 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório. A e B- 3º e 7º dias respectivamente. Observar presença do tecido de granulação (seta preta) bem como uma camada espessa da crosta da ferida (seta azul). C- 14º dia, presença de queratina (seta amarela); tecido conjuntivo imaturo (seta longa) e folículo piloso (seta curta). D- 21º dia; presença de colágeno maduro (seta longa). Coloração H/E.

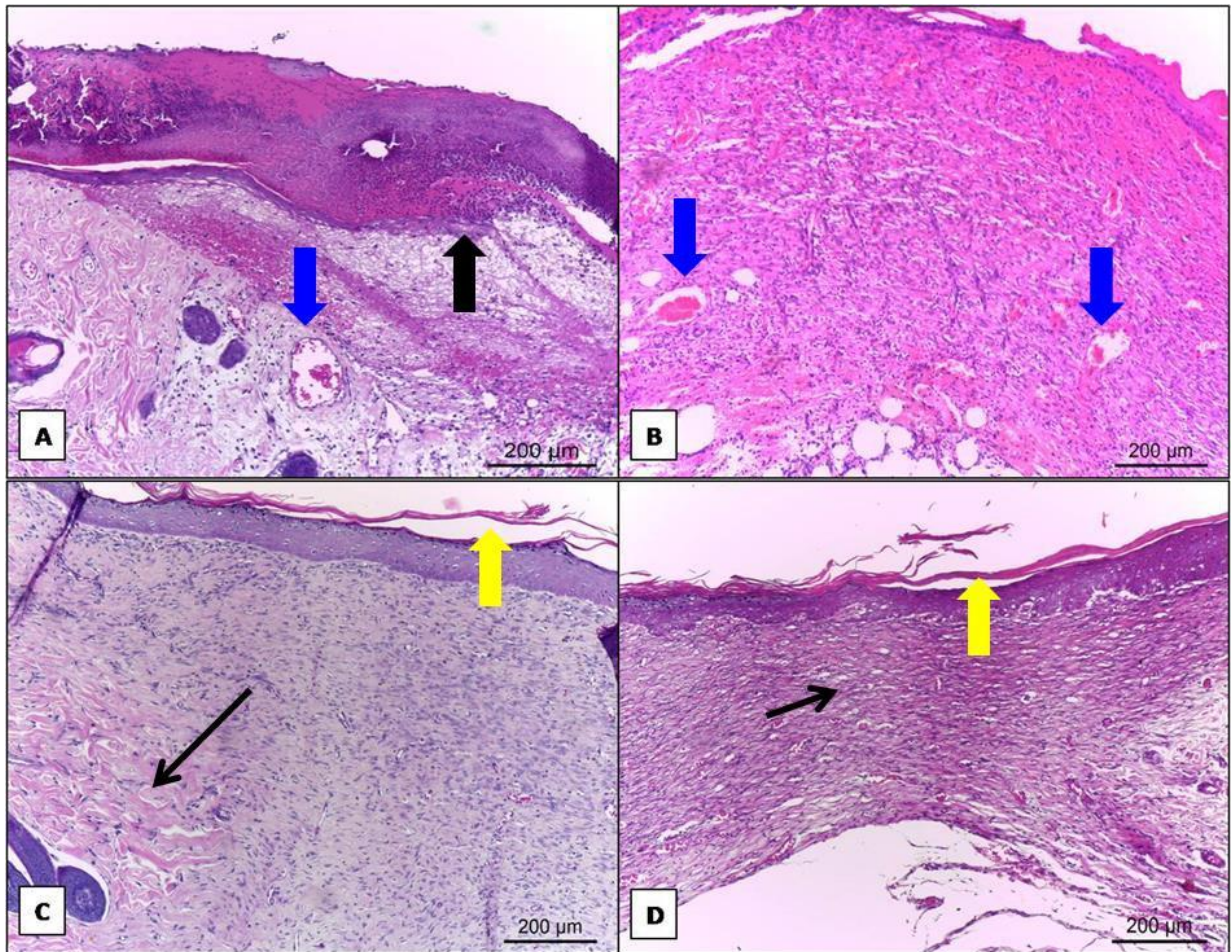


Figura 13 - Fotomicrografias da evolução cicatricial das feridas cutâneas dos ratos do grupo controle absoluto no período de 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório. A- 3º dia. Observar presença de poucos vasos sanguíneos (seta azul), tecido de granulação (seta preta). B- 7º dia, presença de vasos de sanguíneos (seta azul). C- 14º dia, presença de queratina (seta amarela); tecido conjuntivo imaturo (seta longa). D- 21º dia, presença de colágeno organizado (seta curta), queratina da ferida (seta amarela) Coloração H/E.

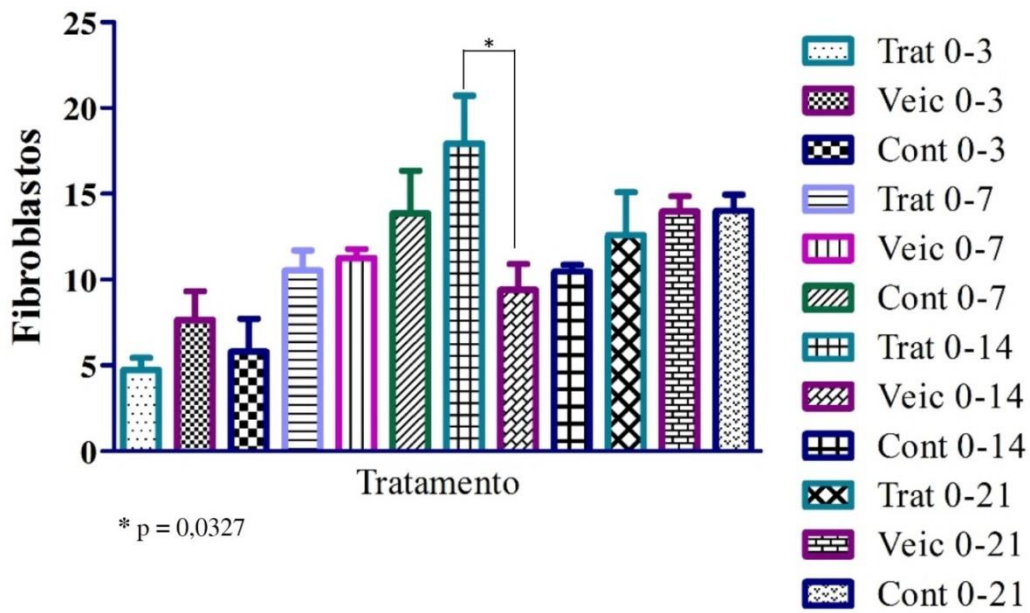


Gráfico 3 - Dados estatísticos da contagem de fibroblastos dos grupos no período de 3°, 7°, 14° e 21° dia de pós-operatório.

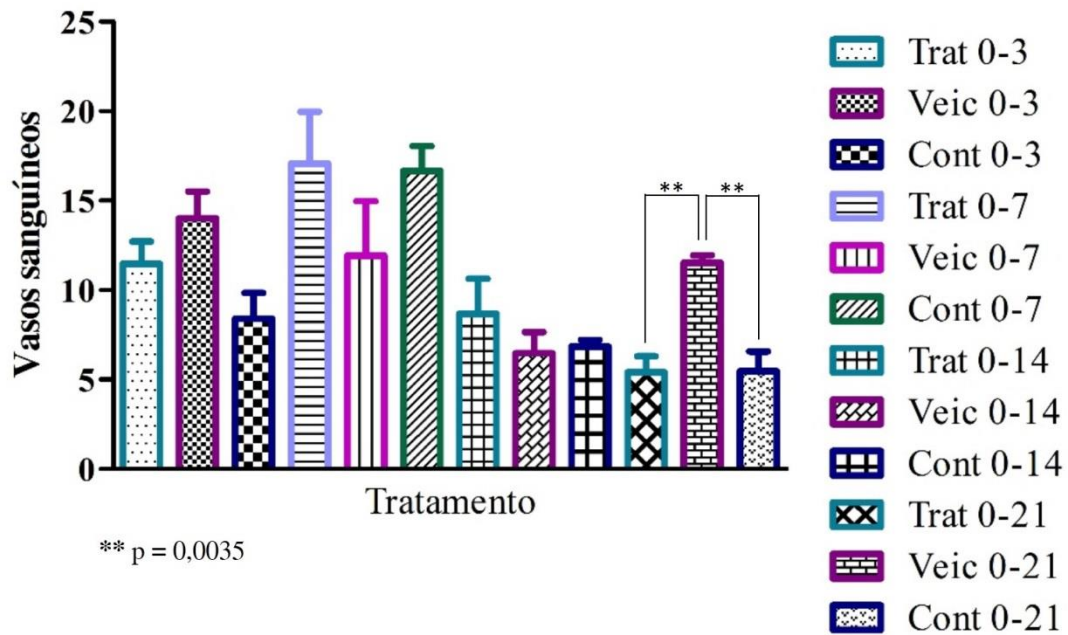


Gráfico 4. Dados estatísticos da contagem de vasos sanguíneos dos grupos no período de 3°, 7°, 14° e 21° dia de pós-operatório.

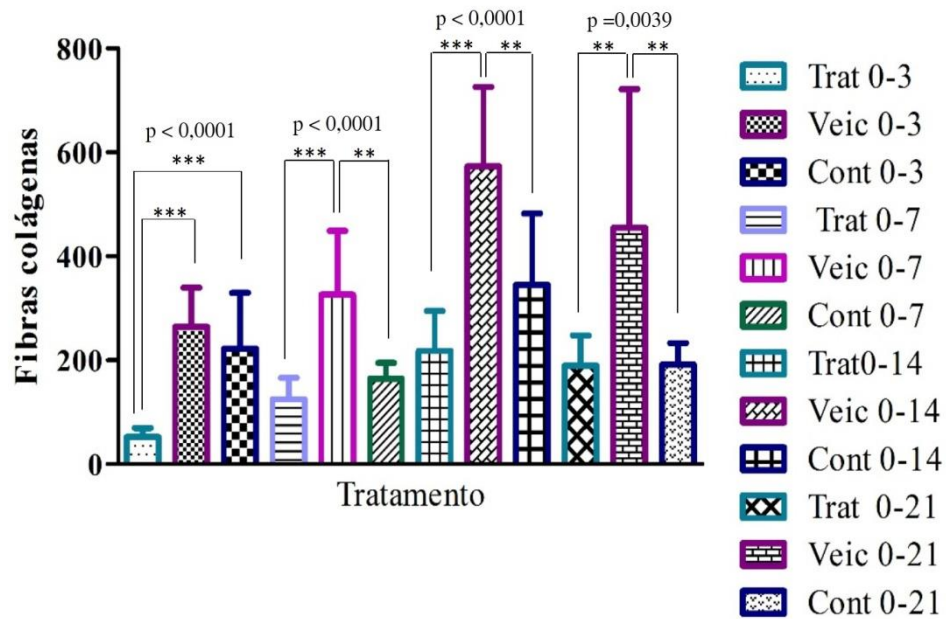


Gráfico 5- Dados estatísticos da densidade das fibras colágenas dos grupos no período de 3º, 7º, 14º e 21º dias de pós-operatório.

Os resultados obtidos mostraram que o uso do extrato do fruto do pau-ferro (*C. ferrea*) acelerou a reparação das feridas quando comparado ao grupo controle e grupo controle negativo. Esse resultado foi devido ao efeito conjunto das atividades antimicrobianas e antiinflamatória dos taninos e flavonoides presentes na composição da planta. Jorge Neto et al. (1996) afirma que os taninos precipitam as proteínas dos tecidos lesados, formando um revestimento protetor proporcionando ambiente favorável ao processo cicatricial, diminuindo a permeabilidade e exsudação da ferida.

Bertolami e Messadi (1997) enfatizam que as infecções bacterianas, são a maior causa de comprometimento na cicatrização tecidual após procedimento cirúrgico. Que a colonização de tecidos ainda comprometidos pela inflamação leva a mais danos teciduais, e clinicamente a infecção se manifesta como hiperemia, calor, edema, leucocitose, febre e dor. As toxinas bacterianas causam inativação das proteases neutrofílicas e dos radicais de oxigênio causando lise celular; e ainda provocam destruição da matriz extracelular, impedindo o processo de cicatrização normal. De acordo com Loguercio et al.(2005) o mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos explica-se por três hipóteses; a primeira pressupõe que os taninos inibem enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexão com os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu

metabolismo; e a terceira fundamenta-se na complexão dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano.

Mandelbaum et al. (2003) afirmaram que a inflamação é necessária para a boa resposta da reparação tecidual, pois o processo inflamatório promove a exsudação de células leucocitárias que fagocitam e destroem agentes lesivos, restos tissulares e tecido necrótico. Segundo Geetha et al., (2001) essas atividades anti-inflamatórias da planta é devido à presença das substâncias lupeol e da alfa e beta amirina.

A atividade antioxidante, antisséptica e adstringente atribuída ao pau ferro, também pode ter favorecido o processo cicatricial. A propriedade antisséptica pode ser explicada pela ação do tanino, e a capacidade que eles possuem em precipitar as proteínas das células, formando uma barreira protetora composta pelo complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo sobre a pele ou mucosa danificada, evitando, assim, a proliferação de microrganismos (HASLAM, 1996). Já a atividade antioxidante é devido à capacidade dos taninos em formar complexos com íons metálicos como o ferro, manganês, cobre, alumínio e também pela atividade sequestradora de radicais livres (OKUDA, 2005).

Kobayashi et al. (2015) avaliaram o potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar onde foram utilizados 24 animais com 120 dias de idade, divididos em 4 grupos de seis animais cada. Foi retirado um fragmento de pele da região interescapular dorsal por animal, com punch para biópsia de pele de 6 mm, cada grupo recebeu o seguinte tratamento: solução de NaCl 0,9%, digliconato de clorexidina 1%, extrato etanólico de *Libidibia ferrea* 12,5% e 50%, sendo o processo de cicatrização avaliado macroscopicamente nos 3º, 6º e 9º dias, quanto à coloração do leito da ferida, presença de crostas, exsudação e prurido, diariamente. No presente trabalho, a análise macroscópica dos ferimentos revelou a presença das crostas nas feridas tratadas com *L. ferrea*, sendo que os ratos do G4 (*L. ferrea* 50%) formaram crostas exuberantes e tiveram menor grau de epitelização quando comparado aos demais. Entretanto, o grupo com *L. ferrea* 12,5% apresentou boa reepitelização, que segundo o autor, indica que a concentração do extrato pode influenciar o resultado do tratamento. E o extrato nessa concentração foi estatisticamente semelhante ao NaCl 0,9%.

Oliveira et al. (2010) estudaram os efeitos do tratamento tópico do pau ferro em feridas cutâneas em quinze caprinos machos sem raça definida que foram divididos em 3 grupos de acordo com o pós-cirúrgico 7º, 14º e 21º dias. As feridas experimentais foram tratadas com a pomada composta pela casca da *C. ferrea* em pó misturada com a vaselina estéril e as do grupo controle apenas com a vaselina esterilizada. A aplicação diária da pomada e da vaselina estéril foi realizada sobre ferida circular padronizada de 16 cm² de área na região torácica de cada

animal. As avaliações das feridas foram feitas do ponto de vista clínico, bacteriológico, morfométrico e histopatológico nos períodos pré-determinados. As feridas do grupo controle apresentaram áreas cirúrgicas menores e grau de contração maior que as do grupo tratado, contudo, histologicamente, houve completa epitelização das feridas tratadas no 21º dia do pós-operatório, enquanto que as feridas do grupo controle necessitavam de mais tempo para resolução do processo cicatricial. O autor concluiu que a utilização tópica da pomada de *Caesalpinia ferrea* apresentou eficiência significativa no auxílio da reparação cicatricial de feridas cutâneas de caprinos.

Oliveira et al. (2014) compararam a atividade cicatricial do extrato aquoso da vagem e da casca da *C. ferrea* em lesões cutâneas de oito asininos (*Equus asinus*). Em cada um dos oito animais experimentais foram feitas quatro feridas, onde nas feridas do lado direito aplicou-se os extratos e nas do lado esquerdo, apenas soro fisiológico. Os animais marcados de I a IV foram tratados com extrato da casca e aqueles de V ao VIII com extrato da vagem, a aplicação dos extratos da vagem e da casca do jucá era realizada duas vezes por período de 63 dias. Os resultados apontaram que na primeira semana foi observada presença de secreções na maioria das feridas (100% das tratadas com extrato da casca, 62,5% das tratadas com extrato da vagem e 87,5% das feridas controles). Dessas, a secreção era tipo seroma em 100% das tratadas com extrato da casca, em 50% das tratadas com extrato da vagem e em 75% dos controles. Na segunda semana, a presença de secreção foi observada em 37,5% das feridas tratadas com extrato da casca do jucá sendo a maioria dessa secreção (25%) do tipo seroma, em 75% das feridas tratadas com extrato da vagem e em 56,25% das feridas controles, também sendo a secreção tipo seroma. Na terceira semana 12,5% das tratadas com extrato da casca, 12,5% das tratadas com extrato da vagem e 6,25% das feridas do grupo controle continuaram apresentando secreção tipo seroma, sendo que a partir da quarta semana nenhuma das feridas do grupo tratado com extrato da casca apresentaram secreção. No entanto, nessa mesma semana, 12,5% das feridas tratadas com extrato da vagem apresentaram secreção sanguinolenta e 6,25% das feridas controle apresentaram secreção dos dois tipos (serosa e sanguinolenta). Da quinta semana em diante não foram mais observadas presenças de secreções em nenhuma das feridas, independente do grupo.

O autor e colaboradores concluíram que o extrato aquoso da casca e da vagem do jucá na cicatrização de feridas não se mostrou significativos neste estudo, não havendo diferenças significativas entre os dados qualitativos e quantitativos em relação aos tratamentos analisados, devido a influência de fatores externos que interferiram na cicatrização, como: presença de microrganismos oportunistas nocivos, presença de corpos estranho na área cruenta devido hábito

de rolar inerente à espécie em questão, ato do animal coçar o local da ferida atritando-a em superfícies ásperas, entre outros.

Carvalho et al. (2016) pesquisaram a atividade cicatrizante da pomada obtida com o pó da vagem da *Libidibia ferrea* em lesões cutâneas em testes pré-clínicos em ratos na cicatrização de feridas cutâneas em ratos norvegicus, com idade de 90 dias, com peso médio de $162,35 \pm 10,58$ g. Dezoito ratos foram divididos em dois grupos; grupo controle positivo (GCP), tratado com Kollagenase® um bálsamo curativo, comercialmente disponíveis no mercado e grupo experimental (GE), tratado com o pó de *Libidibia ferrea*. As lesões foram clinicamente avaliadas em 0 - 21º dias do pós-operatório, quanto a análise morfológica e histopatológica. A observação macroscópica revelou que as feridas dos animais tratados com o pó da vagem *L. ferrea* mostrou resultados menos uniforme quando comparado com o grupo tratado com Kollagenase® (GPC). A completa reepitelização no grupo controle positivo foi de 100% enquanto no grupo experimental foi inferior 66,6%. Os resultados mostraram que o tratamento de PCG com Kollagenase® foi mais eficiente, pois apresentou maior redução no tamanho da ferida quando comparado à redução das lesões com o pó da vagem de Jucá. Embora a taxa de contração das lesões em GE tenha sido menor do que no GCP, houve uma diminuição significativa na ferida do grupo tratado com a pomada do pó de *L. ferrea*. Vale ressaltar que a Kollagenase® apresenta em sua composição o antibiótico cloranfenicol o que favoreceu a ação antimicrobiana no local das lesões.

Soares et al. (2013) analisaram os possíveis benefícios do uso de dois fitoterápicos: pomada de babosa (*Aloe vera*) e pomada de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea*), ambas a 10%, com intuito de avaliar a eficácia desses produtos no processo cicatricial. No referido estudo foram utilizados 15 ratos Wistar, divididos em três grupos: Grupo A tratado com pomada de babosa (*Aloe vera*), B tratados com pomada de pau ferro (*Caesalpinia ferrea*) a 10% respectivamente e grupo C (controle) com pomada de base não iônica. A ação cicatrizante foi avaliada diariamente, por um período de 5 dias. A indução padronizada da ferida constou de um único fragmento cutâneo dorsal. Para análise histológica foram coletadas amostras de pele para os procedimentos histotécnicos de rotina. Os resultados mostraram que o uso do pau ferro acelerou a reparação das feridas quando comparados com a babosa e o grupo controle, apresentando maior poder de cicatrização nos 5 primeiros dias de tratamento ($p=0,02$) comparado a babosa ($p=0,03$).

Piriz et al. (2014) realizaram uma busca na literatura, visando sumarizar as pesquisas realizadas e obter informações acerca da utilização de plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas. Utilizaram-se os descritores: Plantas Medicinais e Cicatrização de Feridas e seus equivalentes em inglês e espanhol, com o operador booleano “AND” em três

bases eletrônicas de dados: PubMed, LILACS e COCHRANE. Foram selecionados 57 artigos para compor a revisão. Os resultados apontam que um total de 52 plantas medicinais e um composto de ervas foi estudado experimentalmente ou clinicamente, quanto aos seus efeitos no auxílio do processo de cicatrização, sendo que destas, 46 apresentaram potencial elevado de cicatrização de feridas, através de experimentação em ao menos um estudo, totalizando 88,5%, e podendo ser utilizadas como terapia em processos de cura de feridas e processos inflamatórios. Em sua pesquisa não foi encontrado nenhuma citação para *Caesalpinia ferrea* nem *Lidibidia ferrea* para cicatrização.

A espécie está inserida no Formulário Nacional de Fitoterápicos (Farmacopeia Brasileira, 2011), na composição de um gel elaborado com os frutos, com ação antisséptica e cicatrizante em concordância com os nossos resultados.

A análise laboratorial de parâmetros bioquímicos foi realizada em amostras de soro, em espectrofotômetro semiautomático^{doles} modelo D250. Os parâmetros bioquímicos avaliados foram glicose, ureia, fosfatase alcalina (FAL), aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (AST) e creatinina. A administração tópica do creme de *C. ferrea* não alterou os parâmetros bioquímicos e hematológicos, estando dentro dos padrões normais fisiológicos para a espécie.

6. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos nesse estudo nas condições experimentais aqui propostas, pode-se concluir que:

- ✓ O extrato hidroalcolico dos frutos e sementes de *C. ferrea* apresentou como componente majoritário em sua composição taninos hidrolisáveis e flavonoides, possíveis compostos biologicamente ativos da espécie;
- ✓ Que o tratamento de uso tópico do creme a base da planta, induziu a reepitelização em feridas cutâneas experimentais a partir do 3º dia após a injúria tecidual;
- ✓ Que o creme auxilia e acelera o processo cicatricial quando comparado ao controle, mostrando potencial ação terapêutica na cicatrização por segunda intenção, podendo ser uma opção alternativa como cicatrizante na clínica médica veterinária.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C.F.C.B. R; LIMA, S. T.C.; AMORIM, E.L.C.; MAIA, M.B.S.; ALBUQUERQUE, U.P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). *Journal Arid Environments*, v.62, p.127-142, 2005.
- ALMEIDA, R. N. **Triagem farmacológica comportamental**, cap. 11 em *Psicofarmacologia, Fundamentos Práticos*. Guanabara Koogan S. A. 2006, p. 131-137.
- ALZUGARAY, D. *Plantas Que Curam*. Hemus Press, São Paulo – SP, Brasil, 1984.
- BACCHI, E. M.; SERTIE, J. A. Chromatograph icidentification and pharmacologic action of *Styrax camporum* Pohl and *Caesalpinia ferrea* Martius. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, v. 27, n. 2, p. 137-49. 1991
- BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. **Avaliação da Toxicidade**. In: OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*, 1º edição, São Paulo: ATHENEU, 1996, p.59-70.
- BERTOLAMI, C. N.; MESSADI, D. V. **Complitations associated with wound healing**. 1997.
- BRAGA, R. 1976. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. Fortaleza, Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 540 p.
- BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas**. Niterói: EDUFF, 1996. 300p.
- BUENO, F. G. **Controle de qualidade, desenvolvimento de metodologia analítica e avaliação da atividade cicatrizante de *Caesalpinia peltophoroides* Benth**, 2010, 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêutica) Maringá.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA, J. R. J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 78, v. 1 p. 98-106, 2008.
- CARVALHO, F. G.; SAMPAIO, J. P. S.; ARAÚJO, M. M. S.; PINTO, L. S. S.; ROCHA, A. J. Avaliação da atividade cicatrizante de vagem do jucá (*Libidibia férrea* (Mart. ex Tul.)

L.P.Queiroz) em lesões cutâneas de ratos. **Acta Scientiarum.Technology**, Maringá, v. 38, n. 2, p. 137-143, 2016.

CARVALHO, J. C. T.; TEXEIRA, J. R. M.; SOUZA, P. J. C.; BASTOS, J. K.; SANTOS FILHO, D.; SARTI, S. J. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 53, p. 175 - 178, 1996.

CARVALHO, J. C. T. *Caesalpinia ferro (Pau-Ferro): Avaliação da atividade antiinflamatória e analgésica*. 1993, 125f, Masters Thesis. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

CARVALHO, P. T. C. **Análise da Cicatrização de Lesões Cutâneas Através de Espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos**. São Carlos- SP, 2002.

CAVALHEIRO, M. G.; FARIAS, D. V.; FERNANDES, G. S.; NUNES, E. P.; CAVALCANTI, F. S.; VASCONCELOS, I. M.; MELO, V. M. M.; CARVALHO, A. F. U. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. Leguminosae. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 19, n.2, p. 586-591, 2009.

CLAVIJO, M. J. L.; COMES, V. B. **Formulário básico de medicamentos magistrales**, 2007.

COCKBILL, S.M.E.; TURNER, T.D. Management of veterinary wounds. **Veterinary Record**, v.136, p.362-365, 1995.

COELHO, R.G. “Estudo químico de *Zollernia ilicifolia*(Fabaceae), *Wilbrandia ebracteata*(Cucurbitaceae) e *Caesalpinia ferrea* (Caesalpinaceae)”; 2004, 183f. Dissertação (Doutorado em química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1982,1031p.

COSTA, C. T. C. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.4, p.108-116, 2008.

COSTA, L. M., GUILHON-SIMPLICIO, F. SOUZA, T.P. *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul) L. P. Queiroz var. *ferrea*: Pharmacological, Phytochemical and Botanical Aspect. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, vol. 7, 2015.

CHANWITHEESUK, A.; APHIWAT, T.; JEREMY D. K. Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. **Food Chemistry**. v. 100, n. 3, p. 1044-1048, 2007.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Ed. Columbia University, New York, 1981.

DIRECTIVE, 2010, The European Parliament and of The Council on the protection of animals used for scientific purposes, 2010. **Official Journal of the European Union**, 276/33-79.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: verdades e mentiras, o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber**. Editora UNESP, SP, 2007. 133p.

DI STASI, L. C. HIRUMA-LIMA, C. A., **Plantas Mediciniais na Amazônia e na Mata Atlântica**, UNESP, São Paulo, 2002.

DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, 1996, 230 p.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas, 2002 In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.M.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina, Editora da UFSC, Rio Grande do Sul, 1999, p. 87-100.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Formulário Nacional de Fitoterápico**, 2011.

FERNANDES, C.P.M.; LIMA, C.S.; LOPES, S.R.F. SCHONS, S.V. FERNANDES, C.G.; NOBRE, M.O. Utilização do óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) em feridas cutâneas de ratos Wistar, **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 3, p. 147-159, 2014.

FERREIRA, F. S.; SANTOS, S. C.; BARROS, T. F.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNAN-DEZ, L. G. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 13, n. 3, 2011.

FERREIRA, T. L. **Prospecção de inibidores da secreção de histamina a partir de espécies vegetais do Cerrado e da Mata Atlântica, Botucatu**. Dissertação (Instituto de Biociências de Botucatu). 2011. 81 f, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Ciências Biológicas, Área de concentração: Farmacologia.

GALLEGOS-OLEAS, R. S.; BORGE, A. C. R.; FREIRE, S. M. F.; SILVEIRA, L. M. S.; VILEGAS, W.; RODRIGUES, C. M.; OLIVEIRA, A. V.; COSTA, J. L. Flavonoides de *Calotropes procera* R. Br. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, n. 1, p. 29-33, 2008.

GEETHA, T.; VARALAKSHMI, P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 77-80, 2001.

GONÇALVES, C.A., LELIS, R.C.C., Teores de taninos da casca e da madeira de cinco leguminosas arbóreas. **Floresta e Ambiente**, v.8, n.1,p.167-173,2001.

GONZALEZ, F. G.; BARROS, S. B. M.; BACCHI, E. M. Atividade antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpinia ferrea* Mart. **Anais IX Semana da Farmacêutica de Ciências e Tecnologia**, São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêutica**, v. 40, p. 79-79, 2004.

GONZALEZ, F. G. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Caesalpinia ferrea* Martius, 2005. 137f. Tese (Doutorado em Fármaco e Medicamentos), São Paulo: Universidade de São Paulo.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 2, p. 205-15, 1996.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 205-215, 1996.

HASLAM, E. Vegetal tannins – Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, v. 68, p. 2713-2721, 2007

HASHIMOTO G. “Illustrated Cyclopedia of Brazilian Medicinal Plants,” Kanagawa, Aboc-sha, 1996, p. 331-332

JORGE NETO, J.; FRACASSO J. F.; NEVES, C. C. L.; DOS SANTOS, L. E.; BANUTH, V. L. Tratamento de úlcera varicosa e lesões da pele com *Calendula officinalis* L. e ou com *Stryphnodendron barbatiman*(Velloso) Martius. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.17, p.181-6, 1996.

KIM, S.; JUN C. D.; SUK, K.; CHOI, B.; LIM, H.; PARK, S.; LEE, S. H.; SHIN, H.; KIM. D.; SHIN, T. Gallic Acid Inhibits Histamine Release and Pro-inflammatory Cytokine Production in Mast Cells. **Toxicological Sciences**, v. 91, p. 123–131, 2006.

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

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, COTRAN, N. R. **Bases patológicas das doenças**. v. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 49-124. 2006.

LAPA, A.J.; SOUCCAR. C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; GODINHO, R.O. DE LIMA, T.C.M. **Farmacologia e toxicologia de produtos naturais**. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVIC, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3ª ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade UFRGS; 2001. p. 183-97.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3. Ed. Araraquara: Manole. 1997. 301 p.

LOGUERCIO, A. P.; BATISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana do extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzyum cumini* (L.) Skell). **Ciência Rural**. v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LOOMIS, T.A. **Fundamentos de toxicologia**, Zaragoza, Espanha: Acribia, 1974, p.35

LORA, J. **Avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de folhas de *Eugenia uniflora* L.(Myrtaceae)**. 2007. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma/SC.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 162p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 512 p. 2002.

LOPEZ, H. S.; CAMBERROS, L. O.; OCAMPO, A. A. Evaluación comparativa de la mezcla propoleo zabila com cicatrizantes comerciales. **Veterinária México**, v.20, n.4, p. 407-414, 1989.

MALONE, M. H. The Pharmacological Evaluation of Natural Products General and specific approach to Screening ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 8, p. 127 – 147, 1983.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica, Leitura & Arte, 413 p. 2004.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares: parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 5, p. 525-42, 2003.

MARINHO, M. G. V.; SILVA, C. C.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n. 2, p.170-182, 2011.

MARTINAZZO, A. P.; CARLOS FILHO, L.; ROSA, D. A.; TEODORO, C. E. S.; TOMAZELLI, K. K. Perfil de utilização de Fitoterápicos nos Municípios de Volta Redonda e Barra Mansa/RJ. **RevistaFitos**, v. 8, n. 2, p. 103-112, 2013.

MATOS, F. J. A. Roteiro sequencial de prospecção de constituintes químicos de extratos de plantas. Cap. 4. In: **Introdução à fitoquímica experimental** – 2ª Edição, Fortaleza, Edições UFC 1997. P. 41-75.

MONTEIRO, M. V. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; PALHA, M. D. C.; BRAGA, R. R.; SCHWANKE, K.; RODRIGUES, S. T.; LAMEIRA, O. A. Ethnoveterinary knowledge of the inhabitants of Marajó Island, Eastern Amazonia, Brazil. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 2, p. 233-242, 2011.

NAKAMURA, E.S., KUROSAKI,F.,ARISAWA, M., MUKAINAKA, T. OKUDA, M., TOKUDA, H.,NISHINO,H.,PASTORE,F. Cancer chemopreventive effects of constituents of *Caesalpinia ferrea* and related compound. **Cancer Letters**, 177,119-124, 2002.

NOLLA, D.; SEVERO, B. M. A.; MIGOTT, A. M. B. M. **Plantas Mediciniais**. 2. ed. Passo Fundo: UPF, 2005.

NOZAKI, H.; HAYASHI, K.; KIDO, M.; KAKUMOTO, K.; IKEDA, S.; MATSUURA, N.; TANI, H.; TAKAOKA, D.; LINUMA, M.; AKAO, Y. **Paufferol A**, a novel chalcone trimer with a cyclobutane ring from *Caesalpinia ferrea* Mart exhibiting DNA topoisomerase II inhibition and apoptosis-inducing activity. **Tetrahedron Letters**, v.48, p.8290–8292, 2007.

OLIVEIRA, P.O.; SOUZA, P.T.; CAETANO, S.K.; FARIAS, K.S.; VENANCIO, K.G.N.; BANDEIRA,M.F.C.; CONDE,N.C.O. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato da casca e do caule e da vagem de *Libidibia ferrea* L. frente a microrganismo da cavidade bucal. **RevistaFitos**,v.8,p. 95-102,2013.

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

OLIVEIRA, A. F. Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia ferrea* (tul.) Martius (Juca) em lesões cutâneas de caprinos, Dissertação. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2008.

OLIVEIRA, H. P. Traumatismos nos animais domésticos. **Caderno Técnico**. Escola Veterinária, v. 1, n. 7, p. 01-57, 1992.

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

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C.; LUCENA, E. C. R.; COSTA, A. L.; SAKAMOTO, S. M.; PIMENTEL, M. M. L. Avaliação cicatricial macroscópica da vagem e da casca de jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul var. *ferrea*) em lesões cutâneas em asininos (*Equus asininus*). **Acta Veterinária Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 129-135, 2014.

OMS, Organização Mundial De Saúde. 2008, Traditional medicine: definitions.

OKUDA, T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 66, n. 17, p. 2012-2031, 2005.

PAIVA, W. S.; SOUZA NETO, F. E.; BANDEIRA, M. G. L.; ABRANTES, M. R.; BATISTA, A. C. L.; SILVA, J. B. A. Atividade antibacteriana da casca do jucá (*Libidibia ferrea* Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz) frente a *Staphylococcus* spp. isolados do leite de cabras com mastite. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, p. 141-146, 2015.

PEREIRA^a, A. V.; RODRIGUES, O. G.; AZEVÊDO, T. K. B.; BEZERRA, D. A. C.; LIMA E. Q.; PEREIRA, I. M. S. V. Perfil de extratos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 3, n. 1, p. 105-111. 2009.

PEREIRA^b, A.V.; LOBO, K. M. S.; BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A.; DE LIMA E. Q.; DE MEDEIROS, E. S. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de jurema preta e neen sobre amostras de *Staphylococcus* sp. isoladas de mastite em búfalas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 3, p. 341-346, 2009.

PICKLER, T. B. **Ensaio pré-clínicos da exposição materna a *Caesalpinia ferrea***. 2015. 72 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica) Universidade de Sorocaba, São Paulo.

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

PINTO, G.A.S.; COURI, S.; LEITE, S.G.F.; BRITO E.S. Tanasse: Conceito, Produção e Aplicação. *B.ceppa*, v.23, P. 435-462, 2005

PIO CORREA, M. **Dicionário de plantas úteis no Brasil**. Rio de Janeiro, Brasil: Imprensa Nacional. 1984.

PRATA, M. B.; HADDAD, M. C.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M. J.; MOURA, L. A. R.; TRABULSI, L. R. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 43-48, 1988.

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

REBOREDO, M. M.; LUCINDA, L. M. F.; FONSCUCA, L. M.; ROCHA, C. B.; QUEIROZ, G. T.; FARIA, V. C.; VIEIRA, V. A.; SÁ, R. C. S. Avaliação da toxicidade do extrato aquoso de *Caesalpinia ferrea* em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozoides de ratos Wistar submetidos a tratamento subagudo. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 26, n. 1\2, p. 11-17, 2007.

REBOREDO, M. M.; LUCINDA, L. M. F.; ROCHA, C. B.; QUEIROZ, G. T.; FARIA, V. C.; VIEIRA, V. A. Evaluation of short-term exposure to *Caesalpinia ferrea* on male Wistar rats' vital organs, reproductive system and sperm product ,on **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**. v. 25, p. 17-29, 2006.

ROMAGNOLO, D. F.; SELMIN, O. I. Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence. **Journal of Nutrition in Gerontology Geriatric**, v. 31, p. 206-38, 2012.

SAMPAIO, F. C.; PEREIRA, M. S. V.; DIAS, C. S.; COSTA, V. C. O.; CONDE, N. C. O.; BUZALAF, M. A. R. *In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Matius fruits against oral pathogens. **Journal of Ethofarmacology**, v. 124, p. 289- 294, 2009.

SEIZI, O. **Fundamentos de toxicologia**, 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003, 474p.

SILVA, A. C. C. **Avaliação das atividades citotóxica, antitumoral, antiinflamatória e analgésica do extrato bruto e de uma fração parcialmente purificada da vagem de *Caesalpinia ferrea* Mart.** 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Recife.

SIMÕES. C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 2004. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1102 p.

SOARES, J. A.; BARROS, M.; GONÇALVES, W. P.; CRISCI, A. R.; JORGE, M. H. S. Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia ferrea* ex. TUL. var. *ferrea* e da *Aloe vera* (L.) *Burm. f.* em lesões cutâneas totais em ratos. **Perspectivas online: Ciências Biológicas e da Saúde**, v.11, 2013.

SOUZA, H. R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. v. 30, p. 351-355, 2007.

THOMAS, G.; ARAÚJO, C.C.; SOUZA, O.S. 1988. Avaliação das atividades antiinflamatória, analgésica e antipirética dos extratos aquosos de *Caesalpinia ferrea*, *Plantago major*, *Polygonumacra* e *Pterodonpolygae florus*. **Tenth Brazilian Symposium in Medicinal Plants**. São Paulo, Brasil.

TOMAZ, K. L. R. 2010. 64f. **Atividade antimicrobiana do extrato alcoólico do fruto da *Caesalpinia ferrea* Mart. frente a bactérias causadoras de mastite bovina**. Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, CE.

UEDA, H.; TACHIBANA, Y.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K.; ALVES, S. N. Aldose reductase inhibitors from the fruits of *Caesalpinia ferrea* Mart. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 377-81. 2001.

VALENTE, R. O. H. **Avaliação das propriedades tóxicas, anti-inflamatórias e cicatrizantes do extrato de crava-da-Índia *Syzugium aromaticum* (L) Merr. & LM Perry.** 2006. 126f. Tese (Doutorado em Odontologia) UFPB / UFBA.

VIEIRA, V.A. Avaliação da toxicidade do extrato aquoso de *Caesalpinia férrea* em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozóides de ratos Wistar submetidos a tratamento subagudo. **Boletim do Centro de Biologia da reprodução**, v.25, p.17-29, 2006.

XIMENES, N. C. A. **Caracterização e avaliação de atividades biológicas da lectina da vagem de *Caesalpinia ferrea* (CfePL).** 2009. 121f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE.

XIMENES, N. C. A. **Purificação e Caracterização da Lectina da Vagem da *Caesalpinia férrea* (CfePL): aplicação biológica.** 2004. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZAUPA, C.; CARRASCHI, L.; TSUZUKI, J. K.; BOEIRA, R.; DUTRA, A. L.; AKIMOTO, L.; KANESHIMA, E. N.; SILVA, J. C.; MARQUES, L. C. Estudo toxicológico pré-clínico (agudo e sub-agudo) do produto Propovit Plus® em roedores. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 21, n. 4, p. 265-72, 2002.

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Caesalpinia ferrea* Mart.
FRENTE A *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DE MASTITE BOVINA**

Resumo: A mastite é um processo infeccioso da glândula mamária, ela possui etiologia ampla e é causada principalmente por microrganismos. Em medicina veterinária o gênero *Staphylococcus* é o mais frequente agente causador dessa infecção. O uso indiscriminado de antibióticos no controle desses microrganismos em raças de aptidão leiteira promove o aumento da resistência, dificultando o tratamento. Esse trabalho teve como objetivo avaliar atividade antimicrobiana de *Caesalpinia ferrea* Mart. frente a *Staphylococcus* spp causador de mastite bovina. Foram realizados dois ensaios. O primeiro avaliou a ação antimicrobiana da planta pelas técnicas de difusão em disco, poço e superfície (Spot on) de duas diluições (9,3% e 15%) e do extrato bruto, frente a treze de *Staphylococcus* spp isolados de vacas com mastite clínica e subclínica, no período de 24, 48 e 72 horas. O segundo avaliou a ação de um manipulado sólido (creme) da planta, na concentração de 9,3%, frente a oito dessas amostras, no período de 24 horas. As bactérias foram semeadas em tubos de ensaio de 5 ml contendo caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion), e incubados em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas. Em seguida, quando já se observava turvamento dos tubos, realizaram-se as culturas. Nos dois ensaios o antibiótico padrão utilizado foi a vancomicina. No primeiro ensaio, os melhores resultados foram obtidos com o extrato bruto, seguido do extrato na concentração de 9,3% pela técnica de poço, com halos médios de 30, 32 e 33 mm, e 22, 22, 25 mm respectivamente. No segundo ensaio, os resultados demonstraram que o manipulado apresentou atividade antimicrobiana para todas as amostras testadas com halos mínimo de 13 mm e máximo de 21 mm. Já o antibiótico não apresentou atividade frente às amostras testadas, com halos mínimo de 7 mm e máximo de 8mm. Os resultados favoráveis demonstram que *C. ferrea* tem potencial como antimicrobiano natural, podendo ser usada no tratamento complementar da mastite na clínica médica veterinária.

Palavras chave: *Caesalpinia ferrea*, mastite, antibiótico, fitoterapia.

Abstract: Mastitis is an infectious process of the mammary gland, it has broad etiology and is mainly caused by microorganisms. In veterinary medicine the genus *Staphylococcus* is the most frequent causative agent of this infection. The indiscriminate use of antibiotics in the control of these microorganisms in dairy breeds promotes the increase of resistance, making treatment difficult. This work aimed to evaluate *Caesalpinia ferrea* Mart. antimicrobial activity against *Staphylococcus* spp. causing bovine mastitis. Two tests were performed. The first one evaluated the antimicrobial action of the plant by the diffusion techniques of two dilutions (9.3% and 15%) and the crude extract, in contrast to thirteen *Staphylococcus* spp isolated from cows with clinical mastitis And subclinical, in the period of 24, 48 and 72 hours. The second evaluated the action of a solid (cream) manipulation of the plant, in the concentration of 9.3%, against eight of these samples, in the period of 24 hours. Bacteria were seeded in 5 ml vials containing BHI (Brain Heart Infusion) broth, and incubated in an oven at 37 ° C for 24 to 48 hours. Then, when turbidity of the tubes was already observed, cultures were performed. In both trials the standard antibiotic used was vancomycin. In the first assay, the best results were obtained with the crude extract, followed by the extract in the concentration of 9.3% by the well technique, with medium halos of 30, 32 and 33 mm, and 22, 22, 25 mm respectively. In the second assay, the results showed that the manipulated presented antimicrobial activity for all samples tested with minimum halos of 13 mm and maximum of 21 mm. The antibiotic showed no activity against the samples tested, with halos minimum of 7 mm and maximum of 8 mm. The favorable results demonstrate that *C. ferrea* have potential as a natural antimicrobial, and it can be used in the complementary treatment of mastitis in the veterinary medical clinic.

Keywords: *Caesalpinia ferrea*, mastitis, antibiotic, phytotherapy.

7. INTRODUÇÃO

A mastite é um processo infeccioso da glândula mamária, ela possui etiologia ampla e é causada primordialmente por micro-organismos (ANDERSON et al., 2004). Em medicina veterinária o gênero *Staphylococcus* é o prevalente agente causador dessa infecção (COSTA et al., 1985). O uso indiscriminado de antibióticos no controle desses microrganismos causadores de doenças em raças de aptidão leiteira promove o aumento da resistência dificultando o tratamento (DRESCHERET et al., 2010), aumentando o número de casos provocados por outros micro-organismos não habitualmente ligados a esses processos (COSTA et al., 1985). Além dos altos custos com o tratamento, há uma preocupação crescente com a presença de resíduos de antibióticos no leite, estimulando uma busca de métodos alternativos para a abordagem clássica dos antibióticos (COSTA et al., 1985).

A resistência bacteriana aos antibióticos é mundial (WHO, 1997). Atualmente, 95% das cepas de *Staphylococcus aureus*, de todo o mundo, são resistentes à penicilina, ampicilina e penicilina antipseudomonas. A indústria farmacêutica respondeu a esta crise com a síntese da methicilina (penicilina semi-sintética), mas desde 1980 tem-se notado o aumento da resistência de *S. aureus* a este antibiótico (Neu, 1992 *apud* Pereira et al., 2009). Além dos altos custos com o tratamento dessa infecção, há uma preocupação crescente com a presença de resíduos dos mesmos no leite, estimulando uma busca de métodos alternativos para a abordagem clássica dos antibióticos (COSTA et al., 1985). Schuch et al. (2008) relatam que produtores rurais e médicos veterinários ainda utilizam produtos oriundos de plantas, tanto para a prevenção quanto para o tratamento da mastite. As práticas predominam com o uso de soluções ou pomadas medicinais à base de ervas para utilização local ou administração de plantas verdes ou secas via oral. Dentre essas espécies encontra-se *Caesalpinia ferrea* conhecida também pela sinonímia de *Libidibia ferrea*, e popularmente como pau-ferro, jucá, e pelos nomes indígenas ibira-obi, imira-ita, muira-obi, muire-ita; sendo uma espécie que cresce em todo o país e largamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, principalmente em Pernambuco e no Ceará (LORENZI, 1998).

Estudos buscam por um antimicrobiano ideal, ou seja, aquele que apresente maior espectro de ação, menor toxicidade, menor custo e menor índice de resistência bacteriana. A atividade antimicrobiana desejada pode ser encontrada em espécies vegetais. Pesquisas de tal natureza no Brasil são de grande valia, pelo fato do país ser considerado um dos maiores reservatório de biodiversidade do mundo e, além disso, a grande extensão territorial abriga diversos ecossistemas, cada um com suas particularidades, o que torna uma verdadeira fonte quase que inesgotável de moléculas a serem descobertas (FERREIRA et al., 2011), que na maioria, ainda não foram pesquisadas cientificamente para este fim medicinal (FERRONATTO

et al., 2007). Profissionais adeptos da terapia natural externam alta frequência de bons resultados em tratamentos de parasitose e doenças infecciosas incluindo a mastite (PEREIRA et al., 2009).

A espécie foi selecionada pelas inúmeras propriedades terapêuticas descritas na etnoveterinária e ação comprovada como antimicrobiano natural (PEREIRA et al., 2009a,2009b; TOMAZ, 2010; OLIVEIRA et al., 2013; PAIVA et al., 2015) por ser uma das plantas selecionada de acordo com a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde-SUS (RENISUS/2009) editado pelo Ministério da Saúde (MS), no qual consta uma lista com 71 plantas medicinais, que devem ser objeto de pesquisa e implementações dos setores e serviços de saúde pública brasileiro (PIRIZ et al., 2014) por ser uma espécie nativa do Brasil (LORENZI;MATOS, 2002) e finalmente por constar no Formulário Nacional de Fitoterápico (FARMACOPÉIA BRASILEIRA,2011).

Considerando a nova perspectiva mundial do uso de produtos naturais e os transtornos econômicos à indústria leiteira causada pela mastite, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana “*in vitro*” de *C. ferrea* Mart. frente a amostras de *Staphylococcus* spp. causadoras de mastite bovina.

8. MATERIAL E METÓDOS

8.1 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE

Caesalpinia ferrea Mart. conhecida também pela sinonímia *Libidibia ferrea*, é conhecida vulgarmente como “jucá” ou “pau-ferro”, e pelos nomes indígenas ibira-obi, imira-ita, muira-obi, muire-ita (LORENZI, 1998). Espécie que está inserida na família das Leguminosae, uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas com cerca de 650 gêneros, que reúnem mais de dezoito mil espécies. É uma árvore que cresce em todo o Brasil (BRAGANÇA, 1996; LORENZI, 2002), sendo largamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, principalmente em Pernambuco e no Ceará (ALZUGARAY, 1984). A espécie possui flores amarelas pequenas e em cachos; frutos de cor marrom escura, do tipo legume, com sementes escuras; folhas compostas; altura de 10-15m, com tronco curto de 40-60 cm de diâmetro (LORENZI, 2002).

8.2 ELABORAÇÃO DO CREME

Uma vez conhecido o perfil toxicológico da planta, foi providenciada a formulação de um creme para a realização dos bioensaios em modelo de cicatrização com ratos, tomado como referência às sugestões disponíveis na Farmacopeia Brasileira (2011). A partir da obtenção do extrato hidroalcolico bruto na concentração de 170 mg/ml, tirou-se uma massa do extrato, que foi incorporado à lanolina anidra pura (veículo) dando uma concentração de 9,3%. Todos os

ensaios para a obtenção do creme foram realizados no Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE.

8.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “*IN VITRO*”

Para o teste da atividade antimicrobiana *in vitro*, foram selecionadas 13 amostras bacterianas de campo do gênero *Staphylococcus* spp. obtidas de vacas com mastite clínica e subclínica, pertencentes a bacterioteca do Laboratório de Bacteriose dos Animais Domésticos/ Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE. Com auxílio de alça de platina estéril, as cepas bacterianas foram semeadas em tubos de ensaio de 5 ml contendo caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion), e incubados em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas até atingirem turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala Mac Farland (BAUER et al., 1966). Em seguida, quando já se observava turvamento dos tubos, realizaram-se as culturas, que foram distribuídas uniformemente sobre a superfície das placas com o auxílio de swab estéril.

Para a avaliação do potencial antimicrobiano da planta foram feitos dois ensaios. O primeiro avaliou a melhor técnica de difusão em meio sólido de duas diluições (9,3% e 15%) e do extrato bruto frente a 13 amostras de *Staphylococcus* spp. O segundo avaliou a atividade de uma formulação sólida (creme a 9,3%) frente a oito dessas amostras. No primeiro ensaio as diferentes concentrações foram testadas pelas técnicas de poço (GROOVE; RANDALL, 1955), de disco (BAUER et al., 1966) e de espalhamento em superfície/Spot on (SANTOS et al., 2007). Em placas de Petri medindo 150 x 15 mm, os discos e poços (medindo 6 mm de diâmetro) e as diluições (Spot on) foram distribuídos no seguinte modelo: disco seco, disco úmido, Spot on e poço. Com o auxílio de pipeta graduada, foram depositados nos discos, poços e diluição diretamente no meio, 8µl da solução dos extratos nas respectivas concentrações, com exceção do poço com extrato bruto, onde o mesmo foi depositado até o total preenchimento do poço. Os discos, poços e diluições foram dispostos nas placas na seguinte sequência: (1) disco seco, (2) disco úmido, (3) poço, (4) e Spot on com extrato a 9,3%;(5) disco seco,(6) disco úmido com extrato a 15%, (7) poço com extrato bruto e (8)Spot on a 15%, e no centro da placa, o disco de antibiograma(vancomicina). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por um período 24, 48 e 72 horas. Após resultado foi realizado o segundo ensaio.

No segundo ensaio, das treze amostras bacterianas foram selecionadas oito para avaliação do manipulado (creme). Em placas de Petri medindo 150 x 15 mm foram confeccionados 4 poços, que foram preenchidos com: (1)lanolina,(2)antibiótico diluído em solução salina a 0,9% na concentração de 30µg/ml (3) solução salina a 0,9% e (4) manipulado. As placas foram

incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por um período de 24 horas. A leitura das placas foi realizada com auxílio de um halómetro, levando em consideração a presença ou ausência de halos medidos em milímetros, em volta dos discos, poços e superfície. A sensibilidade das amostras foi considerada para medidas de halos inibitório superiores a 12 mm (BEZERRA et al., 2009).

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato hidroalcoólico bruto dos frutos e sementes de *C. ferrea* caracterizou-se por uma coloração marrom-escuro, de consistência resinosa e bastante aromática. Na triagem fitoquímica, foi possível constatar a presença dos compostos fenólicos tanino hidrolisáveis e flavonoides. Os compostos fenólicos são classificados em ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, flavonoides, estilbenos, lignanas, ligninas, taninos hidrolisáveis e condensados (SOUSA et al., 2007). Ueda et al. (2001) determinaram que no extrato aquoso dos frutos secos de *L. férrea* há presença de ácido gálico e ácido elágico, que são monômeros de taninos hidrolisáveis e são os supostos responsáveis pela capacidade de inibição da enzima aldoreductase, e que essas prováveis substâncias são responsáveis pela atividade biológica e terapêutica dos frutos da espécie.

Almeida et al. (2005), analisaram o perfil fitoquímico do extrato etanólico de frutos de *C. ferrea* e determinou a presença dos metabólicos taninos e fenóis. Reboredo et al. (2006) determinaram a presença de ácido gálico e galato de metila isolados a partir do extrato etanólico dos frutos.

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural (GALLEGOS-OLEA et al., 2008) É uma classe de substâncias que têm mostrado possuir uma ampla variedade de atividades farmacológicas, tais como: antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana, hipotensora, antitumoral, antioxidante, antiviral (SIMÕES et al., 2004). Os taninos são classificados segundo sua estrutura química em taninos condensados e taninos hidrolisáveis. Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas atividades biológicas dessa classe de substância, dentre essas podemos citar ação bactericidas, fungicida e moluscicida, (SIMÕES et al., 2004).

De acordo com Loguercio et al. (2005), o mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos explica-se por três hipóteses: a primeira pressupõe que os taninos inibem enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexão com os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo; e

terceira fundamenta-se na complexão dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano.

A sensibilidade antimicrobiana *in vitro* dos extratos e do manipulado, frente às amostras microbianas testadas, obteve resultados satisfatórios. No primeiro ensaio, os melhores resultados foram obtidos com o extrato bruto seguido do extrato na concentração de 9,3% pela técnica de poço, com halos médios de 30, 32 e 33 mm, e 22, 22, 25 mm respectivamente, nos períodos observados (Fig.14).

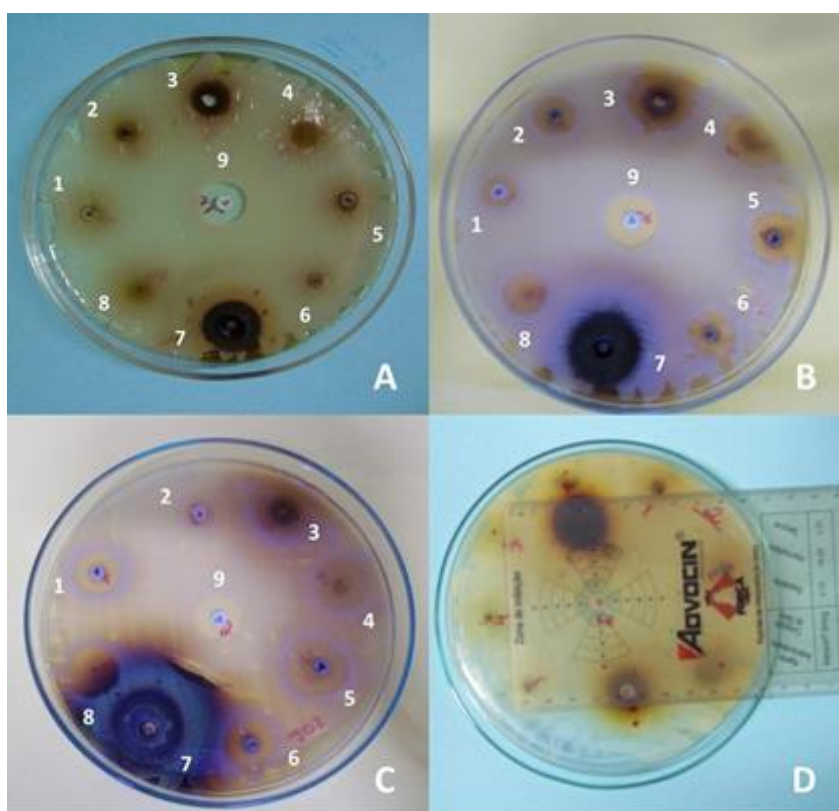


Figura 14 - A,B,C. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcolico de *C fereea* sobre *Staphylococcus* spp., período de 24,48 e 72 horas de incubação respectivamente (1 disco seco,2 disco úmido, 3 poço, 4 spot on,extrato 9,3%; 5 disco seco,6 disco úmido, 8 spot on, extrato a 15%; 7 poço extrato bruto; 9 disco antibiótico) figura D medição dos halos inibitório com halômetro.

No segundo ensaio os resultados foram extremamente favoráveis, tendo o manipulado apresentado atividade antimicrobiana para todas as amostras testadas, com halos mínimo de 13 mm e máximo de 21 mm. Já o antibiótico não apresentou atividade frente as amostras bacterianas testadas, com halos mínimo de 7mm e máximo de 8mm como observado na tabela 7 e na figura 15.

Tabela 7. Avaliação antimicrobiana do creme de *C. ferrea* frente a amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina no período de 24 horas de incubação.

24 horas	Halos de inibição (mm)				
	Amostras	Creme	Antibiótico	Lanolina	NaCl a 0,9%
203	17	-	-	-	-
204	20	-	-	-	-
205	21	7	-	-	-
206	13	-	-	-	-
207	15	7	-	-	-
208	14	-	-	-	-
210	13	-	-	-	-
211	16	8	-	-	-

(-) ausência de atividade

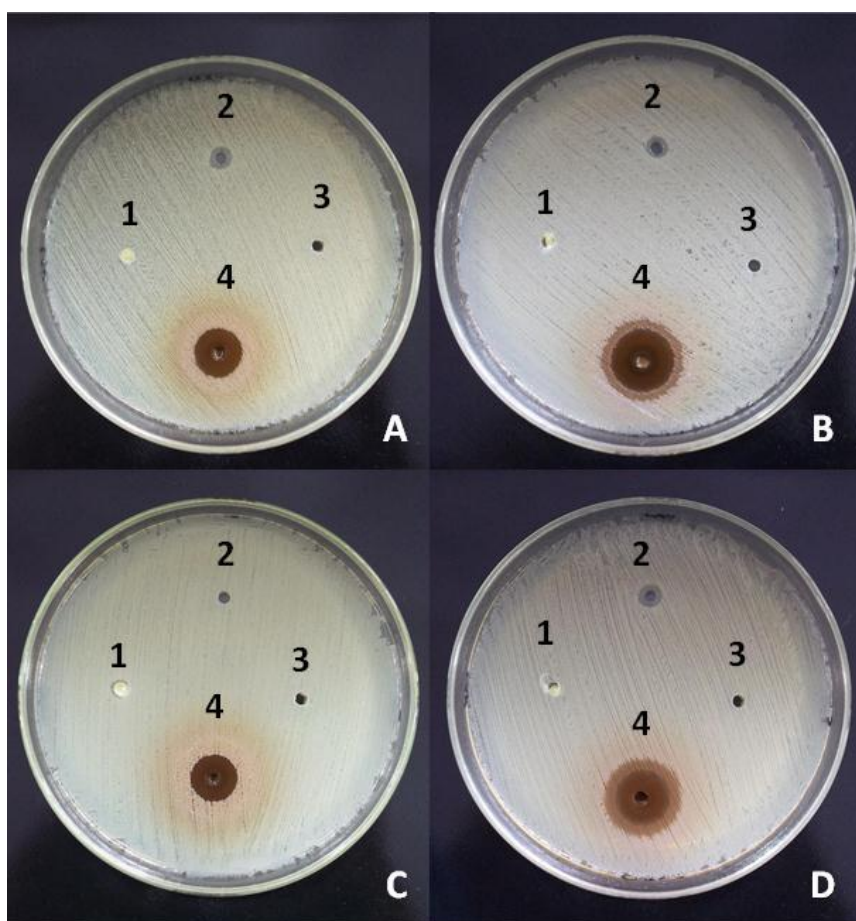


Figura 15- A,B,C e D, Atividade antimicrobiana do creme de *C. ferrea* sobre *Staphylococcus* spp. (1)lanolina,(2) antibiótico,(3) solução salina,(4)creme, no período de 24 horas de incubação.

Nossos resultados estão em concordância com Silveira et al.(2009) que comprovaram que a técnica do poço é mais sensível para a determinação da ação antimicrobiana de extrato vegetais que a técnica do disco. A atividade inibitória do extrato também deve estar relacionada com os constituintes químicos da planta e seus respectivos mecanismos de ação, relacionados com cada microrganismo, levando a inibição de seu crescimento, já que segundo Chanwitheesuk et al. (2007) o ácido gálico (tanino hidrolisável) é o princípio ativo da *Caesalpinia mimosoides*, responsável pela ação antimicrobiana desta espécie, o que sugere que este composto ou outro correlato podem estar presentes na *C. ferrea* apresentando ação antibacteriana.

Tomaz (2010) constatou pela técnica de difusão em poço com modificações que o extrato alcoólico dos frutos de *C. ferrea* apresentou atividade antibacteriana frente a doze cepas bacterianas, quatro cepas padrão (*Echerichia coli*, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus aureus*, e *Enterobacter* sp) e oito isoladas de amostras de leite de vacas com mastite(*Staphylococcus aureus* 1,2,3 e 4, *Bacillus* sp 1 e 2,*Streptococcus* sp e *Corynebacterium* sp) tendo como controle positivo a estreptomicina e a gentamicina. O extrato da planta apresentou atividade positiva para todas as bactérias testadas, com halos médios de 25 mm.

Pereira et al. (2009) compararam ação antimicrobiana dos extratos etanólico de *Mimosa tenuiflora*(jurema preta),*Punica granatum*(rôma) e *C. ferrea*(pau-ferro) sobre amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite bovina, pela técnica de poço, em diluições sequenciais para determinação da CIM. Os poços foram preenchidos com 50 µl das soluções, tendo como controle positivo os antibióticos penicilina e azitromicina. O resultado confirmou que o extrato da jurema preta foi mais eficiente do que a romã, o pau-ferro e os antibióticos testados, com halos inibitórios médios de 6-30 mm.

Paiva et al. (2015) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da casca de Jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz) em três diferentes concentrações (extrato bruto, extrato a 70% e extrato a 50%) frente a 18 estirpe isoladas de cabras com mastite, pela técnica de difusão em disco, usado os seguintes antibióticos: ampicilina, cefalexina, gentamicina, penicilina G e oxacilina. Os microrganismos isolados apresentaram alta resistência a ampicilina, penicilina G e oxacilina, apresentando resistência de 88,83 e 77%, respectivamente. O extrato bruto foi quem apresentou melhor eficiência na inibição dos microrganismos em teste, em concordância com os nossos resultados obtidos pela técnica de poço.

Bezerra et al. (2009) testaram a sensibilidade do extrato etanólico da casca de jurema-preta(*Mimosa tenuiflora*), frente a 25 cepas de amostras de leite de vacas com histórico de mastite clínica e subclínica, utilizado o método de difusão em meio sólido pela técnica de poço, utilizando 50 µl da solução do extrato, a amoxicilina foi utilizada como antibiótico padrão. O

resultado demonstrou que o extrato apresentou atividade antimicrobiana frente a bactéria em estudo com halos de inibição entre 6 e 25mm. O autor concluiu que o resultado positivo da atividade da espécie, poderia está vinculada a presença de taninos e flavonoides na planta, compostos esses também presentes em *C. ferrea* contudo, os nossos resultados foram mais significativos com halos de inibição entre 7 a 33mm.

Pereira et al.(2009) testaram o perfil de sensibilidade antimicrobiana do extrato etanólico da jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) e de neen(*Azadiracta indica*) sobre amostras de campo de *Staphylococcus* sp. isolados de amostras de leite de búfalas com mastite subclínica, tendo usado a técnica de difusão em poço através da CIM tendo o antibiótico padrão ampicilina como controle positivo. Foram utilizados 50 µl dos extratos em cada poço. O autor concluiu que a jurema preta apresentou maior eficácia quando comparado ao neen, sobre os microrganismos em teste com média de halos de inibição de 25 mm, resultado esse menos significativo aos nossos, quando utilizando apenas 8 µl do extratos 9,3% nos poços, obtivemos halos inibitórios de até 26mm.

Cavalheiro et al. (2009) testaram o extrato aquoso das sementes de *C. ferrea* pela técnica de difusão em disco, frente as bactérias padrão Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* e Gram negativas *Enterobacter aerogens*, *Salmonella choleraensis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, foram utilizadas 15 µL do extrato bruto estéril. A tetraciclina foi utilizada como controle positivo e o tampão fosfato de sódio com NaCl como controle negativo. Segundo o autor, o extrato das sementes de *C. ferrea* não inibiu nenhum dos microrganismos testados. Essa discordância com os nossos resultados podem ser explicados pela utilização do solvente de extração já que Chanwitheesuk et al. (2007) afirma que o álcool etílico é considerado o melhor solvente para extração se substâncias bioativas, e sugere que na nossa pesquisa, os bons resultados obtidos frente às bactérias testadas, foram devido à ação antimicrobiana dos compostos ativos presentes nos frutos.

10. CONCLUSÃO

Os resultados *in vitro* favoráveis da ação inibitória do extrato bruto e do creme de *Caesalpinia ferrea*, frente às amostras de *Staphylococcus* spp. causadoras da mastite, confere à espécie uma opção alternativa ao tratamento da mastite a ser usada na clínica médica veterinária.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. N. **Triagem farmacológica comportamental**, cap. 11 em Psicofarmacologia, Fundamentos Práticos. Guanabara Koogan S. A. 2005, p. 131-137.

ALZUGARAY, D. Plantas Que Curam. **Hemus Press**, São Paulo – SP, Brasil, 1984.

ANDERSON, D. E.; HULL, B. H.; PUGH D. G. 2004. **Enfermidades da glândula mamária**. In: PUGH, D.G. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, p. 379-399.

BAUER, A. W.; PERRY, M. B.; KIRBY, W. M. M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, **American Journal of Clinical Pathology**.v. 45,493-496.

BEZERRA, D. A. C.; PEREIRA, A. V.; LÔBO, K. M. S.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A. M.; MEDEIROS, E. S. M.; RODRIGUES, S. C. R. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* Wild.). Poir. Sobre *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite bovina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. n. 19, v. 4, p. 814-817. 2009.

BRAGANÇA, L.A.R. **Plantas medicinais antidiabéticas**. Niterói: EDUFF, 1996. 300p.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Formulário Nacional de Fitoterápico**, 2011.

COSTA, E. O.; COUTINHO, S. D.; CASTILHO, W. Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, p. 65-69, 1985.

CAVALHEIRO, M. G.; FARIAS, D. F.; FERNANDES, G. S.; NUNES, E. P.; CAVALCANTI F. S.; VASCONCELOS, I. M.; MELO, V. M. M.; CARVALHO, A. F. U. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 19, p. 586-591, 2009.

CHANWITHEESUK, A.; APHIWAT, T.; JEREMY, D. K. Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. **Food Chemistry**, n.100, v.3, p. 1044-1048, 2007.

DRESCHERET, G.; MATTIELLO, S. P.; PEIXOTO, R. M.; VARGAS, A. C.; MACIEL, M.; COSTA, M. M. Caracterização bioquímica e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de agentes bacterianos isolados de mastite subclínica ovina na região do oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 188-193, 2010.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Formulário Nacional de Fitoterápico**, 2011.

FERREIRA, F. S.; SANTOS, S. C.; BARROS, T. F.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDEZ, L. G. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 13, n. 3, p. 305-310, 2011.

FERRONATO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E. E.; BERNARSKI, F.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 224-230, 2007.

GALLEGOS-OLEAS, R. S.; BORGE, A. C. R.; FREIRE, S. M. F.; SILVEIRA, L. M. S.; VILEGAS, W.; RODRIGUES, C. M.; OLIVEIRA, A. V.; COSTA, J. L. Flavonoides de *Calotropes procera* R. Br. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, n. 10, v. 1, p. 29-33, 2008.

GROOVE, D. C.; RANDAL, W. A. 1995. **Assay methods of antibiotic a laboratory manual medical encyclopedie**, Nova York, 238p.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana do extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzyum cumini* (L.) Skell). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LORENZI, H. E.; MATOS, F. J. A. 2002. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum. 512 p.

LORENZI, H. 1998. **Árvores brasileiras, Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora do Instituto Plantarium de Estudo da Flora. 246p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 162p.

OLIVEIRA, A. F. **Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia ferrea* (tul.) Martius (Jucá) em lesões cutâneas de caprinos**. 2008. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, CE.

OLIVEIRA, A. F.; BATISTA, J. S.; PAIVA, E. S.; SILVA, A. E.; FARIAS, Y. J. M. D.; DAMASCENO, C. A. R.; BRITO, P. D.; QUIROZ, S. A. C.; RODRIGUES, C. M. F.; FREITAS, C. I. A. Avaliação da atividade cicatrizante do jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. exTul. var.*ferrea*) em lesões cutâneas de caprinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 302-310, 2010.

PAIVA, W. S.; SOUZA NETO, F. E.; BANDEIRA, M. G. L.; ABRANTES, M. R.; BATISTA, A. C. L.; SILVA, J. B. A. Atividade antibacteriana da casca do jucá (*Libidibia ferrea* Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz) frente a *Staphylococcus* spp. isolados do leite de cabras com mastite. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, p. 141-146, 2015.

PEREIRA, A. V.; RODRIGUES, O. G.; AZEVÊDO, T. K. B.; BEZERRA, D. A. C.; LIMA, E. Q.; PEREIRA, I. M. S. V. Perfil de extratos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Revista de Biologia e Farmácia**, n. 3, v. 1, p. 105-111, 2009.

PEREIRA, A. V.; LÔBO, K. M. S.; BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A.; DE LIMA, E. Q.; MEDEIROS, E.S. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de jurema preta e neen sobre amostras de *Staphylococcus* sp. isoladas de mastite em búfalas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n3, p.341-346, 2009.

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

PIO CORREIA, M. 1984. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional IBDF.

RAPINI, L. S.; TEIXEIRA, J. P.; MARTINS, N. E.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isolados de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 1, p. 130-133, 2004.

REBOREDO, M. M.; LUCINDA, L. M. F.; ROCHA, C. B.; QUEIROZ, G. T.; FARIA V.C.; VIEIRA, V. A. Evaluation of short-term exposure to *Caesalpinia ferrea* on male Wistar rats' vital organs, reproductive system and sperm product on **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 25, p. 17-29, 2006.

SANTOS, P. O.; BARBOSA JUNIOR, A. M.; MELO, D. L. F. M.; TRINDADE, R. C. Investigação da atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancernia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 2, p. 108-111, 2007.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; TONI, L. D.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 161-169, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 2004. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1102 p.

SILVEIRA, L. M. S.; OLEA, R. S. G.; MESQUITA, J. S.; CRUZ, A. L. N.; MENDES, J. C. Metodologias de atividades antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 2, p. 124-128, 2009.

SOUZA, H. R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

UEDA, H.; TACHIBANA, Y.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K.; ALVES, S. M. Aldose reductase inhibitors from the fruits of *Caesalpinia ferrea* Mart. **Phytomedicine**, n. 8, v. 5, p. 377-81, 2001.

TOMAZ, K. L. R. 2010. 64f. **Atividade antimicrobiana do extrato alcoólico do fruto da *Caesalpinia ferrea* Mart. frente a bactérias causadoras de mastite bovina.** Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, CE.

WHO. 1997. **The medical impact of antimicrobial use in foods animals.** Report of a WHO Meeting. Berlim, Germany.

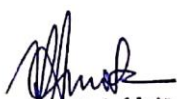


UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que a tese intitulada "AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICOLÓGICA, CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANA DE FRUTOS E SEMENTES DE *Caesalpinia ferrea* Mart. (LEGUMINOSAE)" da Dra EULINA TEREZA NERY FARIAS, gerou a patente intitulada "PRODUTO FITOTERÁPICO DE USO TÓPICO CONTENDO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DE PAU-FERRO COM ATIVIDADE CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANA" depositada junto ao INPI sob o número de registro BR 10 2018 077165 em 26/12/2018.

Recife, 31 de Janeiro de 2019.


Prof. Dr. Rinaldo A. Mota
Coord. do PPGBA
SIAPE 21188675
