

CÁSSIA GONDIM PEREIRA RIBEIRO

**VALIDAÇÃO DE FORMULAÇÕES JACBIO® A BASE DE EXTRATOS DE  
*Piptadenia gonoacantha* (PAU JACARÉ) COM ATIVIDADE CICATRIZANTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

R484v  
2018  
Ribeiro, Cássia Gondim Pereira, 1977-  
Validação de formulações JACBIO® a base de extratos de  
*Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré) com atividade cicatrizante  
/ Cássia Gondim Pereira Ribeiro. – Viçosa, MG, 2018.  
xii, 33 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Camilo Amaro de Carvalho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 27-32.

1. Cicatrização de ferimentos. 2. Matéria médica vegetal. 3.  
*Piptadenia gonoacantha*. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Medicina e Enfermagem. Programa de  
Pós-Graduação em Ciências da Saúde. II. Título.

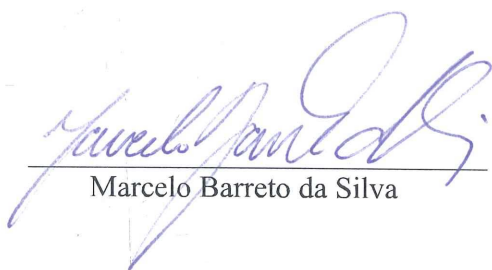
CDD 22. ed. 615.5

CÁSSIA GONDIM PERERIA RIBEIRO

**VALIDAÇÃO DE FORMULAÇÕES JACBIO® A BASE DE EXTRATOS DE  
*Piptadenia gonoacantha* (PAU JACARÉ) COM ATIVIDADE CICATRIZANTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

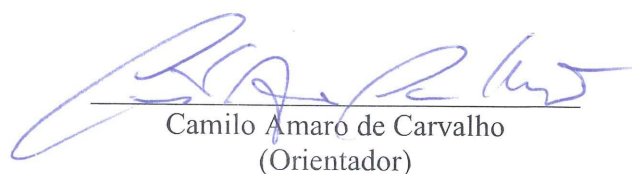
APROVADA: 29 de junho de 2018.



Marcelo Barreto da Silva



Marcelo Barcellos da Rosa  
(Coorientador)



Camilo Amaro de Carvalho  
(Orientador)

*Uma vitória que dedico a Deus*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar, por me mostrar sempre o caminho certo me iluminando e abençoando sempre.

A minha mãe que sempre está comigo, minha força. Obrigada pelas orações que me fazem uma pessoa cada dia melhor.

Aos meu irmãos Alexandre que está sempre pronto a me ajudar. Obrigada por tudo!!! E ao Jorge um exemplo de força, perseverança e determinação.

Aos demais familiares pela força e incentivo sempre.

Ao meu esposo Renato pela força, confiança, carinho, amor e companheirismo;

Aos meus filhos Pedro e Vitória obrigada por fazerem parte da minha vida.

Ao orientador Camilo Amaro de Carvalho, pelas orações, ensinamentos, confiança, auxílio e atenção que contribuíram de maneira fundamental para a realização deste trabalho.

Ao professor Marcelo Barcellos da Rosa que contribuiu muito para a realização do trabalho.

A estagiária Fernanda pela grande ajuda, juntamente com Idelvania e Mariaurea que me auxiliaram nas análises, sempre disponíveis para ajudar.

Aos professores que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa: Lenadro Licursi, Leandro Grassi, Dalila Seni, Silvia Almeida.

Aos técnicos e estudantes do laboratório de Patologia do Departamento de Medicina Veterinária pelo auxílio nas análises histopatológicas.

A todos os amigos adquiridos durante a pós-graduação, em especial a Adriane, Emília, Mirna e Renata.

A todos os alunos do Laboratório Bionema e Nematologia em especial ao Raul, Thalita, Angélica, Andressa, Lívia e Edmar.

Aos amigos da Confraria e MC 4 estações pelas risadas e momentos de descontração.

Ao Departamento de Medicina e Enfermagem pela oportunidade de realização do programa de Pós Graduação.

Ao Departamento de Fitopatologia pelo apoio e incentivo especialmente ao prof. José Rogério, prof. Olinto Liparini e a amiga Sara.

A Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de um estudo gratuito e de excelência.

## LISTA DE SIGLAS

CLSI (antigo NCCLS) – Manual Clinical and Laboratory Standards Institute

DPMA – German Patent and Trade Mark Office

EPO – European Patent Office

INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial

IPO – Intellectual Property Office

OEPM – Oficina Española de Patentes y Marcas

USPTOP – United States Patent and Trademark Office

JACBIO® - Marca dos produtos solicitados ao INPI

ANVISA: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitária

**LISTA DE ABREVIATURAS**

Pom: Pomada

Bal: Bálsamo

Sulf: Sulfadiazina de prata

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Análises espectrofotométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. A. 6-hidroxicumarina e B. Ácido p-cumárico .....13
- Figura 2** – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. C. Ácido Ferúlico e D. Rutina .....14
- Figura 3** – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. E. Quercitrina e F. Apigenina.....15
- Figura 4** – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. G – Canferol .....16
- Figura 5.** Avaliação macroscópica do processo de cicatrização das feridas excisionais e tratamento dos camundongos com formulações pomada, bálsamo a base de extratos de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).....18
- Figura 6.** Efeito do tratamento com formulações contendo extratos de *Piptadenia gonoacantha* (Bálsamo ou Pomada) ou Sulfadiazina de prata. (A) Área e (B) taxa de contração da ferida (B) em camundongos avaliados no 4º e 8º dias de tratamento. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).....18
- Figura 7.** Efeitos dos tratamentos no tecido cicatricial dos animais tratados com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. (A) Celularidade e (B) vascularização no tecido cicatricial. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).....20
- Figura 8.** Fotomicrografias representativas da celularidade tecidual em cortes de pele de ratos observados ao microscópio de luz. Coloração em H&E, Barras = 200µm. Fragmentos teciduais coletados nos dias 0, 4 e 8 de tratamento com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).....21
- Figura 9.** Proporção de fibras colágenas do tipo I (A) e tipo III (B) no tecido cicatricial de camundongos avaliados no 4º e 8º dias de tratamento com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou Sulfadiazina de prata. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).....22
- Figura 10.** Fotomicrografias representativas da síntese de colágeno no processo de cicatrização dos animais. Fragmentos teciduais coletados nos dias 0, 4 e 8 de tratamento com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. Coloração em picrosirius, Barras = 200µm. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).....23

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 -Metabólitos avaliados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS) do extrato hidroalcoólico 80% de <i>P. gonoacantha</i> .....	12
---	----

## RESUMO

RIBEIRO, Cássia Gondim Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2018. **Validação de formulações JACBIO® a base de extratos de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré) com atividade cicatrizante.** Orientador: Camilo Amaro de Carvalho. Coorientadores: Sílvia Almeida Cardoso e Marcelo Barcellos da Rosa.

A cicatrização é um processo que abrange algumas etapas, em que há um envolvimento celular e através do qual ocorre a liberação de mediadores químicos e respostas vasculares imprescindíveis à sua ocorrência. Mesmo sendo a reparação tecidual um processo sistêmico, o uso de terapias locais fornece condições ideais para o fechamento da ferida e como consequência há redução no tempo de tratamento que é fundamental para a qualidade de vida dos pacientes. O presente trabalho teve como objetivo avaliar ação da pomada e bálsamo contendo extrato obtido de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré), na cicatrização de feridas avaliando os parâmetros histológicos do processo cicatricial, a regressão da área da ferida realizadas nos camundongos, servindo de base para o pedido de patente. Foram utilizados camundongos (*Balb C*) machos, com 45 dias de idade e com o uso de um bisturi circular de 6 mm, fez-se uma ferida cirurgicamente no dorso do animal, anestesiando-o previamente. Os animais foram agrupados aleatoriamente e realizados 3 tratamentos com 6 repetições: pomada contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha*, (Pom); bálsamo contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha*, (Bal); sulfadiazina de prata, utilizada como controle positivo, (Sulf). No primeiro dia experimental, foi realizada uma ferida cirúrgica no dorso dos animais, sendo este fragmento chamado de Tempo “0” ou controle. Foram coletadas amostras do tecido no 4º e 8º dia. O tratamento iniciou imediatamente após a lesão, sendo a aplicação dos tratamentos realizados uma vez por dia, durante todo o experimento. O tratamento com as formulações bálsamo ao 4º dia e pomada ao 8º dia de tratamento, ambas contendo extrato de *P. gonoacantha*, tiveram taxas mais elevadas de regressão da área da ferida, 45,4% e 81,6%, respectivamente, em relação ao grupo controle, sulfadiazina de prata. Os tratamentos Bal e Pom proporcionaram uma redução da vascularização indicando uma redução no processo inflamatório, dando início a fase proliferativa no tecido cicatricial. Estes dados foram apoiados pela análise da síntese de colágeno, onde os tratamentos Bal e Pom promoveram maior estimulação de fibroblastos e síntese de fibras colágenas do tipo I. Os resultados revelaram a eficácia das formulações bálsamo e pomada em relação a sulfadiazina

de prata. Porém, com indicações em fases distintas, sendo o bálsamo útil para início do tratamento e a pomada para a continuação e término do mesmo.

## ABSTRACT

RIBEIRO, Cássia Gondim Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2018. **Validation of JACBIO® formulations based on extracts of *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré) with cicatrising activity.** Adviser: Camilo Amaro de Carvalho; Co-advisers: Silvia Almeida Cardoso and Marcelo Barcellos da Rosa.

The cicatrization is a process that consists of some stages, in which there is a cellular involvement and through that occurs the release of chemical mediators and vascular responses that are essential to their occurrence. Although tissue repair is a systemic process, the use of local therapies provides the ideal conditions for wound closure and therefore there is a reduction in the treatment time that is fundamental for patients' quality of life. The aim of the present study was to evaluate the effect of ointment and balsam containing extract from *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré), on the wound healing, evaluating the histological parameters of the cicatricial process and the regression of the wound area performed on the mice. This study will serve as basis for a patent application. Male mice (Balb C), 45 days old and using a circular 6 mm scalpel, were surgically wound on the animal's back, anesthetizing them previously. The animals were randomly grouped, and 3 treatments were performed with 6 replicates: ointment containing extract of *Piptadenia gonoacantha*, (Pom); balsam containing extract of *Piptadenia gonoacantha*, (Bal); silver sulfadiazine, used as a positive control, (Sulf). On the first experimental day, a surgical wound was performed on the animals' backs, this fragment being called Time "0" or control. Samples of the tissue were collected on the 4th and 8th day. The treatment started immediately after the injury, and the treatments were performed once a day, throughout the experiment. The treatment with the balm formulations at the 4th day and ointment at the 8th day of treatment, both containing *P. gonoacantha* extract, had higher rates of wound area regression, 45.4% and 81.6%, respectively, comparing to the control group, silver sulfadiazine. The Bal and Pom treatments caused a reduction of the vascularisation indicating a reduction in the inflammatory process, starting the proliferative phase in the cicatricial tissue. These data were supported by analysis of collagen synthesis where the Bal and Pom treatments promoted greater stimulation of fibroblasts and synthesis of type I collagen fibres. The results revealed the effectiveness of the formulations balm and ointment

relative to silver sulfadiazine. However, the indications occurred distinct phases, as the balm is useful for beginning the treatment and the ointment for the continuation and termination of the same.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....	5
2.1 Objetivos Específicos .....	5
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	6
3.1. <i>Aquisição da espécie</i> .....	6
3.2. <i>Processo de extração</i> .....	6
3.3. <i>Obtenção do extrato liofilizado</i> .....	6
3.4. <i>Caracterização química do extrato de P. gonoacantha</i> .....	7
3.5. <i>Preparo das formulações</i> .....	7
3.6. <i>Experimento Animal</i> .....	8
3.6.1 <i>Avaliação da atividade cicatrizante das formulações JACBIO® pomada e bálsamo a base de Piptadenia gonoacantha</i> .....	8
3.6.2 <i>Incisão Cirúrgica e Tratamentos dos animais</i> .....	8
3.6.3 <i>Avaliação histomorfométricas das feridas</i> .....	9
3.6.4 <i>Coleta e Processamento histológico do material</i> .....	9
3.7. <i>Elaboração da patente</i> .....	10
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	11
4.1 <i>Caracterização fitoquímica do extrato da espécie Piptadenia gonoacantha</i> .....	11
4.2 <i>Avaliação clínica dos animais e histopatológica do processo de cicatrização das feridas</i> ...	17
<b>CONCLUSÃO</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	27
<b>ANEXO</b> .....	33

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização plantas nos cuidados primários com a saúde é citada desde a antiguidade, sendo úteis no processo da cicatrização de feridas. Durante séculos, os produtos de origem vegetal sempre foram utilizados empiricamente, constituindo a base para tratamento de uma série de doenças (CARVALHO, 2010). A síntese de fitoterápicos foi possível, entre outras coisas, pelo crescimento de pesquisas de produtos naturais associado ao desenvolvimento da indústria química farmacêutica (DEVIENNE et al., 2004). Vários são os princípios ativos obtidos, e estes não representam somente um novo grupo de substâncias, mas a descoberta de uma nova intervenção terapêutica (FERREIRA, 1998; SIMÕES et al, 2001).

De acordo com dados do Ministério da Saúde, 6% dos medicamentos aprovados foram extraídos de plantas, 9% foram desenvolvidos por meio de modificação molecular de substâncias naturais, e 24% obtidos de produtos obtidos por extração de vegetais, isto entre os anos de 1984 e 1994 (ALVES, 2001), confirmando assim a grande importância dos compostos de origem vegetal na saúde atual. A Food and Drug Administration (FDA) dos EUA, entre os anos de 1981 a 2006, aprovou uma grande quantidade de novos fármacos (1.184), e deste valor, metade era proveniente de produtos obtidos de plantas (NEWMAN; CRAGG, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a população em geral dos países em fase de crescimento, usavam seus conhecimentos populares, tais como chás, frutos e cascas como fonte primária de cuidados à saúde. Isto levou a OMS elaborar uma série de resoluções salientando o potencial fitoterápico das plantas nos serviços de saúde regionais, mostrando a importância do uso das plantas nos serviços primários de saúde. (ROSA et al., 2011).

O Sistema único de Saúde dispensa em quatorze estados do Brasil, doze medicamentos fitoterápicos entre os quais a *Aloe vera* com nome popular de babosa usada em tratamento de psoríase e queimaduras, cuja ação cicatrizante tópica é reconhecidamente eficaz; *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) potencial cicatrizante, antiinflamatória e anti-septica tópica; a *Glycine max L.* (isoflavona da Soja), contra sintomas do climatério, e a *Rhamnus purshiana* conhecida popularmente como Cáscara-sagrada que tem uso para prisão de ventre (BRASIL, 2012).

Na lista de medicamentos disponíveis pelo SUS para o tratamento de feridas, o creme de sulfadiazina de prata 1%, era praticamente o único presente nos receituários até 2011, sendo sua inclusão na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) incluída antes 1993 (BRASIL, 2006; BRASIL, 2012). O tratamento de um paciente em uso de sulfadiazina de prata a 1% pode ser diminuído com o uso de alternativas usando os produtos de origem vegetal. TARAMESHLO et al., 2012, faz um estudo comparativo dos efeitos da aplicação tópica de *Aloe vera*, hormônio tireoidiano e sulfadiazina de prata em feridas cutâneas em ratos Wistar. Concluiu que a aplicação tópica de *Aloe vera* proporcionou uma aceleração no processo de cicatrização mais do que o hormônio tireoidiano, sulfadiazina de prata e veículo em incisões induzidas cirurgicamente em ratos. O uso do fitoterápico à base de *Aloe vera*, proporciona uma economia de R\$ 3,4 milhões (US\$ 896.671) na aquisição de medicamentos, isto porque este fitoterápico leva ao fechamento da ferida com um tempo bem menor que a sulfadiazina de prata a 1%. (FERREIRA; PAULA, 2013; MELIONE; MELLO-JORGE, 2008, TARAMESHLO et al., 2012).

Dados do Ministério da Saúde, Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, de 2017, registram 89.037 atendimentos de Fitoterapia, sendo 2.160 Unidades Básicas de Saúde disponibilizando fitoterápicos ou plantas medicinais para o tratamento, que vão desde planta *in natura*, fitoterápico manipulado ou industrializado e droga vegetal. Os dados também apontam que a Fitoterapia é realizada por 1.457 equipes de saúde e o Programa de Farmácia Viva está instalada em oitenta municípios brasileiros (BRASIL, 2017).

O Brasil mostra uma vasta área territorial, destacando-se por conter a grande diversidade vegetal. Possui aproximadamente 20% do total de espécies medicinais existentes no mundo (RATES, 2001) e com uma rica fonte de compostos com atividade biológica (MARQUEZ et al., 2013). No entanto, somente para 10% dessas espécies foram realizadas a análise fitoquímica e biológica (PAGANO, 2010) na elucidação de seus componentes químicos em busca de compostos bioativos (GUERRA & NODARI, 2001).

Dentre as riquezas naturais disponíveis encontra-se a *Piptadenia gonoacantha*, uma espécie arbórea da família Fabaceae, encontrada com frequência na Mata Atlântica no Sul e Sudeste do Brasil e popularmente conhecida como Pau Jacaré (CARVALHO et al; 2010).

A ação antimicrobiana do extrato de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré) em bioensaios *in vitro* (CARVALHO et al; 2010) nos levou a avançar com os estudos com esta espécie vegetal. A atividade anti-inflamatória, antinociceptiva e antibacteriana, bem como a presença de compostos flavônicos, também foram confirmadas em estudos prévios (CARVALHO et al., 2012). Podemos encontrar os flavonoides em alimentos, em várias partes das plantas como caule, raízes e flores e se caracterizam por apresentar atividades farmacológicas com ação antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatório, analgésico, vasodilatador e cicatrizante (BASTOS, VIEIRA, 2009). Tais ações se somam favorecendo uma melhor atividade medicinal ao produto final e um ganho de qualidade ao paciente que faz uso do mesmo.

Estudos realizados por Franco (2018) apontam que a espécie *P. gonoacantha* possui, principalmente em suas folhas, uma constituição fitoquímica rica. Compostos potenciais para estimular a síntese de colágeno, crucial para o processo de cicatrização.

Clark (2013) relata que a cicatrização, trata-se de um processo bastante complexo, em que há o envolvimento de muitas células e através do qual ocorre a liberação de mediadores químicos e respostas vasculares imprescindíveis à sua ocorrência. O tecido lesionado é regenerado após uma sequência de eventos bioquímicos capazes de reestabelecer a integridade do tecido. Tais eventos podem ser definidos como: fase inflamatória, proliferativa e etapa de remodelamento.

A fase inflamatória desencadeia logo que imediatamente após a lesão no tecido. Ocorre ativação do sistema de coagulação sanguínea com a liberação de mediadores químicos. A dilatação dos vasos, juntamente com alterações na parede vascular e aumento da permeabilidade, iniciam a chamada resposta inflamatória (WHITE et al., 1997). A próxima fase, conhecida como proliferativa, ocorre a migração de células do endotélio e formação de novos capilares que são essenciais para o processo da cicatrização. Observa-se a formação de tecidos de granulação e a síntese de colágeno, o que levam à reconstituição da epiderme. Os fibroblastos, influenciados por fatores de crescimento e por mediadores são ativados (BALBINO, 2005).

O reparo ou remodelamento, terceira fase do processo de cicatrização, caracteriza-se pelo aumento da síntese de colágeno. Na fase inicial, o colágeno presente é do tipo III, que é caracterizado por ser mais fino e organizado de forma aleatória. Este colágeno será substituído pelo colágeno tipo I que se apresenta espesso e de uma forma mais organizada e entrelaçada. Estas mudanças levam a um aumento na força contrátil e

como consequência ocorre a contração do ferimento. (CAMPOS et al, 2007; CLARK, 1999).

Com o objetivo de obter novos tratamentos para feridas cutâneas, a proposta desta pesquisa foi avaliar a atividade cicatrizante *in vivo* das formulações JACBIO® contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré), bem como utilizar os resultados como embasamento científico para o pedido de registro de patente das formulações, vislumbrando um novo fitoterápico com potencial cicatrizante.

## 2 OBJETIVO GERAL

O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial cicatrizante das formulações pomada e bálsamo produzidas com o extrato obtido de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré), avaliando os parâmetros histológicos do processo cicatricial, regressão da área da ferida realizadas nos camundongos.

### 2.1 Objetivos Específicos

- Realizar a caracterização fitoquímica do extrato hidroalcoólico obtido a partir das folhas de *Piptadenia gonoacantha*;
- Desenvolver as formulações JACBIO<sup>®</sup> pomada e bálsamo a base dos extratos de *Piptadenia gonoacantha*;
- Analisar histologicamente o processo de reparação tecidual nos diferentes grupos de camundongos tratados com as formulações JACBIO<sup>®</sup>.
- Acompanhar a regressão da área da ferida após tratamento com as formulações JACBIO<sup>®</sup>;
- Testar e avaliar se os produtos JACBIO<sup>®</sup> (pomada e bálsamo), a base de *Piptadenia gonoacantha*, possuem ação terapêutica no tratamento de feridas experimentais;

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Aquisição da espécie

Foram coletados folíolos da espécie *Piptadenia gonoacantha*, conhecida popularmente como Pau Jacaré, no município de Viçosa, MG, Brasil, latitude 20° 45' 14" S e longitude 42° 52' 55" W, altitude de 648 m. A coleta foi realizada no mês de setembro de 2017, antes da floração que ocorre de janeiro a agosto, em árvores adultas. Foi feita a identificação e autenticação do material por comparação com espécies do Horto Botânico da Universidade Federal de Viçosa, onde a espécie testemunho foi depositada (excicata nº 35530).

#### 3.2. Processo de extração

Os extratos de *Piptadenia gonoacantha* foram obtidos a partir de seus folíolos, os quais foram secos em estufa de ar circulante  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  por 96 horas e trituradas em moinho de facas. Para o preparo do extrato foi utilizado o pó dos folíolos de *Piptadenia gonoacantha* na relação de 1:5 (100 g pó: 500 mL de solução etanol/água 80% v/v com 0,3% ácido cítrico), que resulta na concentração de 20 % de extrato seco (m/v). Em seguida, submeteu-se o extrato ao processo de maceração por 72 horas a  $25^\circ\text{C}$  em incubadora refrigerada com agitação Tecnal 220V. Após este período, foi realizado à filtração a vácuo em bomba marca Marconi MA 058, onde o filtrado foi recolhido e armazenado em geladeira em frasco âmbar protegido da luz. O resíduo que ficou retido (torta) no filtro, foi levado novamente à extração por maceração por mais 2 vezes com solução etanol/água 80% e ácido cítrico a 0,3%. Os filtrados foram reunidos ao final do processo em frasco âmbar e ao abrigo da luz para ser realizado o processo de rotaevaporação e liofilização.

#### 3.3. Obtenção do extrato liofilizado

O extrato hidroalcolólico obtido foi submetido ao processo de rotaevaporação usando o rotaevaporador com a finalidade de evaporar o álcool contido no extrato. Após este processo, foi realizada a secagem por liofilização sob pressão de  $10^{-1}$  mbar e temperatura de  $-60^\circ\text{C}$  para a eliminação da água presente no extrato. Posteriormente, o

extrato liofilizado foi utilizado nas formulações de bálsamo e pomada e nos testes antibacterianos.

#### 3.4. Caracterização química do extrato de *P. gonoacantha*

A separação cromatográfica foi realizada utilizando coluna de fase reversa C18 250 x 4,6 mm com pré-coluna. A análise foi realizada à temperatura ambiente aproximadamente 21°C, sendo que o modo de eluição isocrático usou o ácido ortofosfórico a 0,1%, m/m como solvente A e acetonitrila como solvente B. A eluição teve as seguintes condições: 80% A e 20% B (0-60 min), com a saída da fase móvel de 0,8 ml min<sup>-1</sup> (0-60min), sendo o comprimento de onda utilizado para leitura de 210 nm. As análises por cromatografia líquida foram acopladas à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS), onde foram preparadas na concentração 2000 ppm (massa de planta/volume de solvente), as quais foram diluídas até a concentração 500 ppm (massa de planta/volume de solvente). Os resultados obtidos foram expressos em relação ao LODi (Limite de Detecção do Instrumento) e LOQi (Limite de Quantificação do Instrumento).

Para a análise foram utilizados os seguintes compostos como padrão: ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, ácido vanílico, ácido caféico, 6-hidroxycumarina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina, 4-hidroxycumarina, ácido rosmarínico, quercitrina, miricetina, fisetina, resveratrol, ácido trans-cinâmico, quercetina, luteolina, apigenina, canferol, 3,6-dihydroxiflavona, crisina e galangina.

#### 3.5. Preparo das formulações

Inicialmente o extrato liofilizado de *Piptadenia gonoacantha* foi suspenso em álcool 80 % (v/v), na proporção 1:1 (1 g do pó liofilizado para 1 g de álcool a 80 %). Posteriormente, a solução obtida (50 % - m/v) foi incorporada nas bases farmacêuticas na proporção de 20 % em relação ao extrato liofilizado.

Foram manipuladas bases de pomada e bálsamo para a incorporação do extrato de *Piptadenia gonoacantha*, conforme especificações do Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2012; CORRÊA, 2012).

Para o preparo da base pomada foram utilizados os componentes como o álcool cetosteárico 90% e sulfato de cetilesteáril sal sódico 10%, óleo de amêndoas, lanolina etoxilada, vaselina líquida, vaselina sólida, cera de abelha, conservantes e água

purificada. A técnica de preparo segue o que é preconizado em literatura, com aquecimento dos componentes até fusão das ceras e resfriamento com agitação até o resfriamento (ANVISA, 2012).

A base bálsamo também possui duas fases distintas, portanto os componentes da fase oleosa (butilhidroxitolueno, propilparabeno, óleo de girassol, óleo de copaíba, óleo de rícino hidrogenado etoxilado, e álcool cetoestearílico 90 % e sulfato de cetilestearyl sal sódico 10 %) foram aquecidos a 70 °C ( $\pm$  5 °C) em banho-maria, separados dos componentes da fase aquosa (pró-vitamina B5, metilparabeno, triglicérides de ácido cáprico caprílico e a água desmineralizada), que também foi aquecida a 70 °C ( $\pm$  5 °C) em banho-maria. Os componentes da fase aquosa após o aquecimento foram vertidos sobre os componentes da fase oleosa com agitação constante até o resfriamento.

### 3.6. Experimento Animal

#### 3.6.1 Avaliação da atividade cicatrizante das formulações JACBIO<sup>®</sup> pomada e bálsamo a base de *Piptadenia gonoacantha*

Foram utilizados 18 camundongos (*Balb C*) machos, com 45 dias de idade, vindos do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa-MG. O número de animais foi definido com base nas análises estatísticas. Os animais permaneceram em gaiolas individuais de polipropileno higienizadas diariamente em temperatura controlada  $\pm$  23°C) e ciclo luz/escuro de 12 horas. Ao longo do período experimental, os animais foram alimentados com ração e água *ad libitum*. Durante os primeiros 15 dias os animais ficaram em processo de adaptação na área experimental. Após o experimento os animais foram eutanasiados seguindo as recomendações do Comitê de Ética em Experimentação animal da UFV sob número (CEUA/UFV, nº 597/2017), sendo as carcaças recolhidas pelo serviço de biossegurança da Universidade Federal de Viçosa.

#### 3.6.2 Incisão Cirúrgica e Tratamentos dos animais

Após a aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa, as feridas experimentais foram realizadas cirurgicamente. Os animais foram anestesiados usando cloridrato de xilazina na dose de 8,0 mg.kg<sup>-1</sup>, com cloridrato de ketamina a 140 mg.kg<sup>-1</sup>, via intraperitoneal. Posteriormente, foi realizado o processo de tricotomização e antisepsia com clorexidine a 2%. Utilizando um bisturi circular de

6 mm foi realizada uma incisão por meio de remoção da pele da região dorsal, segundo metodologia proposta por Carvalho (2013). As feridas foram mantidas abertas, sem nenhuma manipulação local, somente a aplicação dos tratamentos.

Foram realizados 3 tratamentos com 6 repetições conforme descrito a seguir:

- A) Tratamento com pomada contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha*, (Pom);
- B) Tratamento com bálsamo contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha*, (Bal);
- C) Tratamento com sulfadiazina de prata, utilizada como controle positivo, (Sulf).

No primeiro dia experimental, foi realizada uma ferida cirúrgica no dorso dos animais, sendo este fragmento chamado de Tempo “0” ou controle. Foram coletadas amostras das feridas no 4º e 8º dia. O tratamento iniciou imediatamente após a lesão, sendo a aplicação dos tratamentos realizados uma vez por dia, durante todo o experimento.

### 3.6.3 Avaliação histomorfométricas das feridas

Avaliação das feridas foram realizadas diariamente por meio de avaliação visual sendo observadas possíveis alterações clínicas quantitativas e qualitativas como: sinais de inflamação, halo eritematoso, tempo de epitelização e tempo de cicatrização. A avaliação da área da ferida foi realizada com paquímetro manual, e as medidas foram feitas nas direções do maior comprimento e da maior largura, mensurados no 1º, 4º e 8º dias após confecção das feridas.

### 3.6.4 Coleta e Processamento histológico do material

No 4º e 8º dia de tratamento, 6 animais de cada grupo foram eutanasiados, e uma incisão cirúrgica com auxílio de bisturi circular (6 mm) realizada para a retirada do fragmento tecidual destinado à análise histopatológica. As análises histopatológicas dos fragmentos teciduais foram realizadas no laboratório de patologia do departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Os fragmentos da pele foram coletados de cada animal e fixados em paraformaldeído a 4% por 24 h e depois colocados em álcool 70% até a confecção das lâminas histológicas. Em seguida, foram realizados procedimentos para inclusão em parafina seguindo as etapas: desidratação usando etanol crescente (70% a 100%) e transferidos para o xilol para a diafanização utilizando-se procedimento convencional. Foram obtidos cortes de 5 micrômetros utilizando o micrótomo rotativo, que

posteriormente foram corados com picosirus (que tem a finalidade para diferenciação das fibras colágenas do tipo I e III sob luz polarizada) e hematoxilina-eosina (HE) para avaliação de fibroblasto, vascularização e células inflamatórias.

Para realizar contagem de células que compõe o processo inflamatório e os fibroblastos, foi realizada a coloração de HE (Eosina-Hematoxilina). As imagens histológicas destas lâminas foram obtidas usando uma câmera digital que é acoplada ao microscópio óptico. Foram fotografados 10 campos por lâmina com objetiva de 20X, resultando na área total tecidual submetida a análise estereológica de  $7,2 \times 10^6 \mu\text{m}^2$ . Para esta análise, uma área quadriculada composta por 300 pontos na área teste usada como padrão (AT) de  $1,2 \times 10^5 \mu\text{m}^2$  foi sobreposta a cada imagem (VIEIRA, 2015).

Para a análise das fibras de colágenos usou-se a coloração de *Picosirius*, que analisa qualitativamente as fibras colágenas presentes no tecido conjuntivo. Essa coloração permite diferenciar principalmente das fibras tipo I e tipo III, uma vez que ao serem visualizadas ao microscópio com luz polarizada, as fibras colágenas tipo I que são mais espessas, são visualizadas nas cores vermelho e amarelo em tonalidades brilhantes, e as fibras mais delicadas, frágeis, imaturas que são o colágeno tipo III, são visualizadas nas cores verdes brilhantes (VIEIRA, 2015). A análise estereológica foi realizada utilizando o software especializado.

### 3.7. *Elaboração da patente*

A elaboração da patente iniciou com uma busca nos bancos de dados para verificar há possibilidade de ocorrências no campo técnico relativo ao objeto do pedido, denominada busca de anterioridade. Bancos de dados como INPI, USPTOP, EPO, OEPM, IPO, DPMA e GOOGLE, foram utilizados.

Após a busca, iniciou-se a redação do pedido de depósito de patente pela CPPI/UFV (Comissão Permanente de Propriedade Intelectual), Núcleo de Inovação Tecnológica da Universidade Federal de Viçosa (UFV), junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), segundo as disposições encontradas nas normas vigentes, contendo informações como Campo da Invenção, Estado da Técnica, Descrição da Invenção, Análise dos Resultados e suas reivindicações (SAESP/DIRPA/INPI, 2015). Após a análise preliminar e pesquisa de anterioridade, a iniciou-se a elaboração e correções sugeridas pela CPPI/UFV (ANEXO I).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização fitoquímica do extrato da espécie *Piptadenia gonoacantha*

Isolados pela primeira vez nesta espécie, destaca-se a presença de rutina (33,4 ng.mL<sup>-1</sup>), ácido ferúlico (11,6 ng.mL<sup>-1</sup>), ácido p-cumárico (10,5 ng.mL<sup>-1</sup>) e quercitrina (7,4 ng.mL<sup>-1</sup>), canferol (7,6 ng.mL<sup>-1</sup>) (Tabela 1; Figura 1 a 4).

Estudos preliminares com os extratos da espécie *Piptadenia gonoacantha*, realizados pela equipe desenvolvedora, têm demonstrado a presença de compostos fenólicos, flavonoides e cumarinas em sua constituição como foi descrito por FRANCO, (2018). Os resultados indicam a presença de metabólitos secundários que estão relacionados com atividades biológicas, benéficas no tratamento de diversas patologias. A essa classe dos polifenóis, foram atribuídas várias atividades dentre as quais a atividade antitumoral, antioxidante, antiviral e anti-inflamatória, e várias outras (SIMÕES et al., 2016; VEITCH e GRAYER 2008; CAZAROLLI et al., 2008) o que é responsável pela sua ação farmacológica.

Os compostos fenólicos, como os flavonóis, tem importante função no processo inflamatório inibindo a proliferação de linfócitos T e na produção de citocinas pró-inflamatória, TNF- $\alpha$  e IL-1. (LOPEZ-POSADAS, et al., 2008; KIM et.,al 2004; THEOHARIDES et al., 2007).

Como exemplo da grande possibilidade de utilização e aplicação dos metabólitos verificados na espécie, ressaltamos a presença de rutina. Suas concentrações consideráveis nos extratos obtidos chamam atenção para a espécie em estudo. A rutina é um flavonoide natural com ação antioxidante e com importante capacidade de proteção dos tecidos (AL-REJAIE et al., 2013). A propriedade redutora e a sua estrutura química favorecem a neutralização ou o sequestro de radicais livres, agindo no início e na transmissão do processo de oxidação (PAULA et al., 2015). Além da capacidade antioxidante a rutina apresenta ainda outras atividades farmacológicas como ação antibacteriana, anti-hepatotóxica, anti-hemorroidal antialérgico, anti-inflamatório, antitumoral, propriedades antiplaquetárias, antiespasmódico, antivirais, antiulcerogênico, antidiarreico, vasodilatador, citoprotetora, antihipertensivo, antimutagênico (OLIVEIRA, 2015; CAILLET et al., 2007; JIANG et al., 2007; CALABRÒ et al., 2005; DOMITROVIC et al., 2012; JANBAZ et al., 2002; MAHMOUD, 2012; YANG et al., 2008). Devido à alta concentração deste metabólito elucidado em relação aos demais, utilizaremos o

mesmo como um marcador biológico e no controle da qualidade durante a produção dos extratos, formulações e/ou preparações farmacêuticas.

Estudos mostraram que Canferol -flavonol muito encontrado no reino vegetal, possui atividade anti-inflamatória conferida por ação inibitória das enzimas fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), 8 lipo-oxigenase, ciclo-oxigenase e por inibição da produção de óxido nítrico (YOON, 2005; SANTAGELO et al., 2007). O ácido ferúlico, que é um produto proveniente do ácido cinâmico, possui ações tanto no tratamento quanto na prevenção de câncer e doenças cardiovasculares, entre outras. Pesquisas envolvendo ácidos fenólicos, incluindo ácido ferúlico, mostraram que o potencial antioxidante quando comparado aos ácidos clorogênico, cafeico e p-cumárico foi bem mais significativo. (SOARES, 2002).

Isoladas das folhas da *Bauhinia unguolata* L. (Maia Neto et al., 2008), mostrou que a quercitrina juntamente com outras substancias conferiu a ação antioxidante observada nos ensaios realizados.

Tabela 1 – Metabólitos avaliados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS) do extrato hidroalcoólico 80% de *P. gonoacantha*.

<b>Composto</b>	<b>Resultado (ng/mL)</b>
Rutina	33,4
Ácido Ferúlico	11,6
Ácido p-Cumárico	10,5
Canferol	7,6
Quercitrina	7,4
Apigenina	2,2
6-Hidroxycumarina	1,9

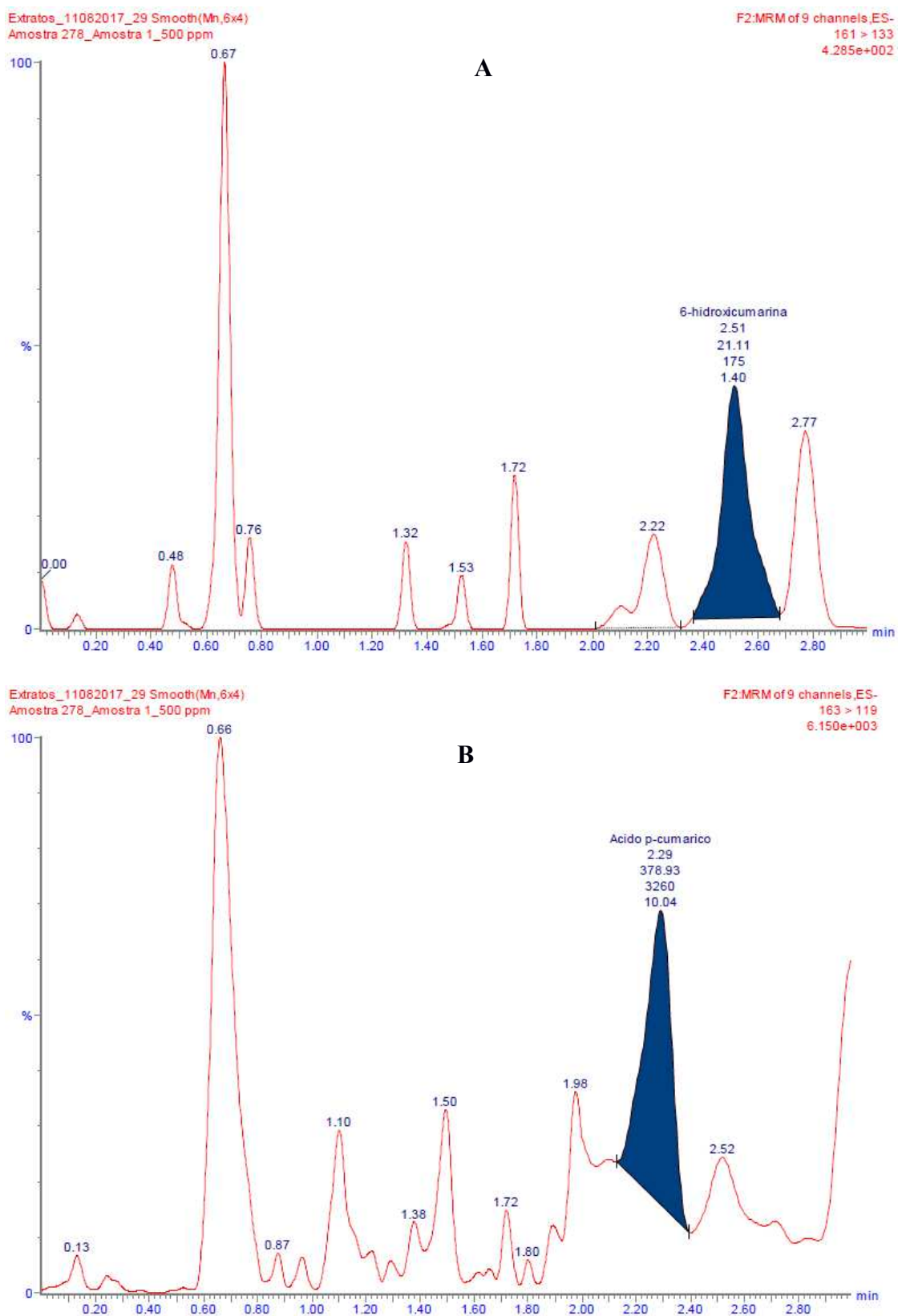


Figura 1 – Análises espectrofotométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. A. 6-hidroxicumarina e B. Ácido p-cumárico

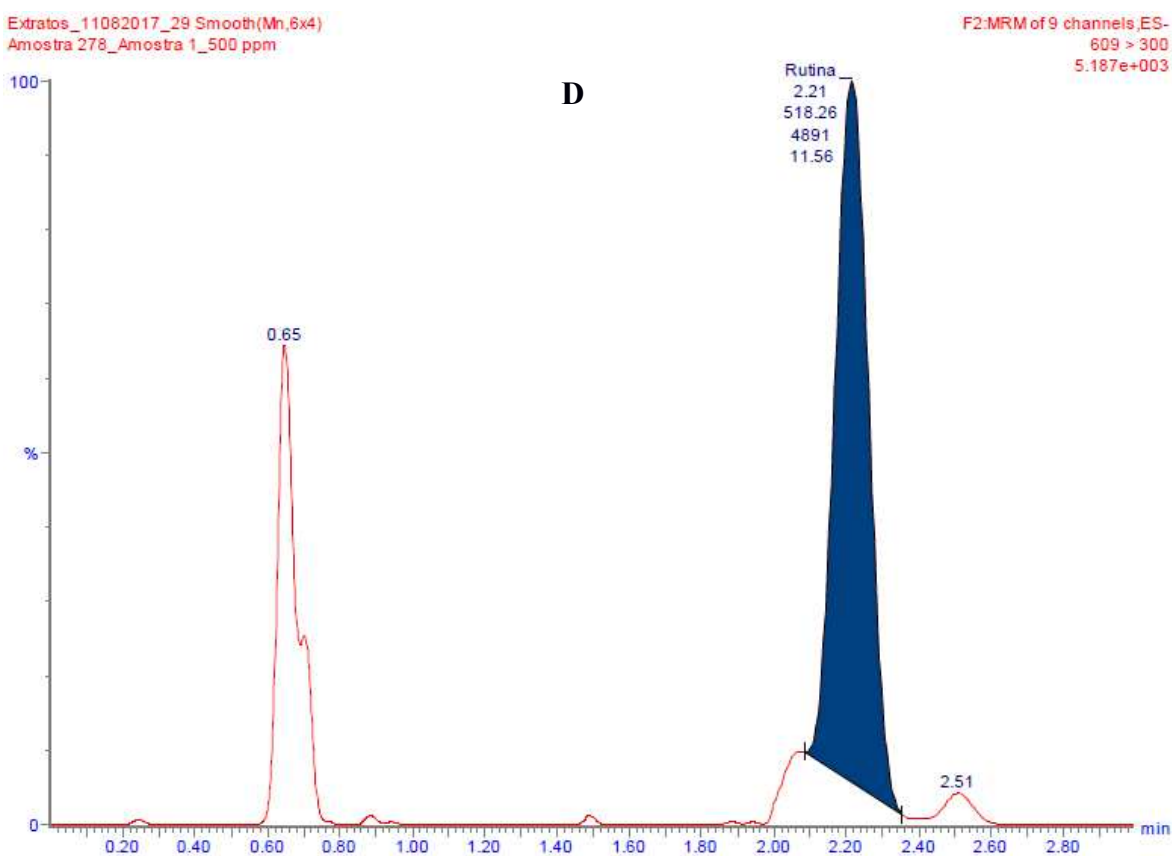
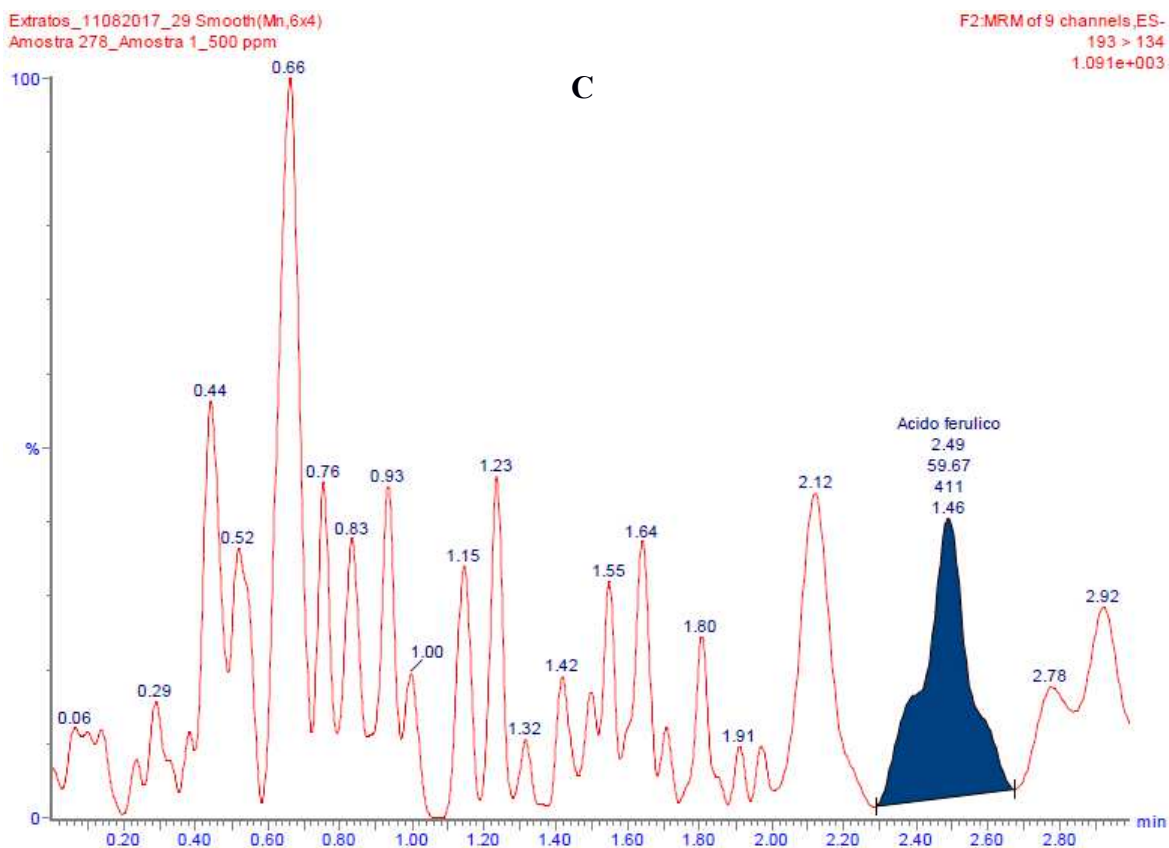
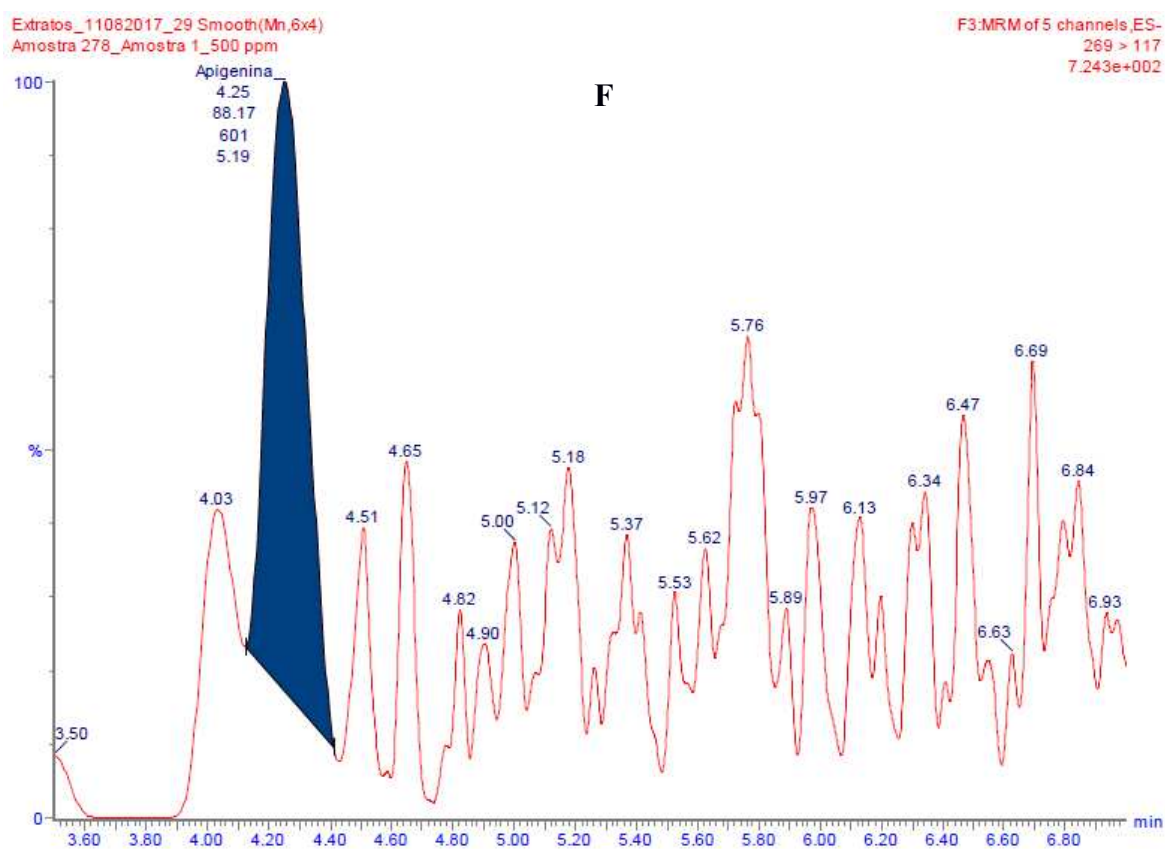
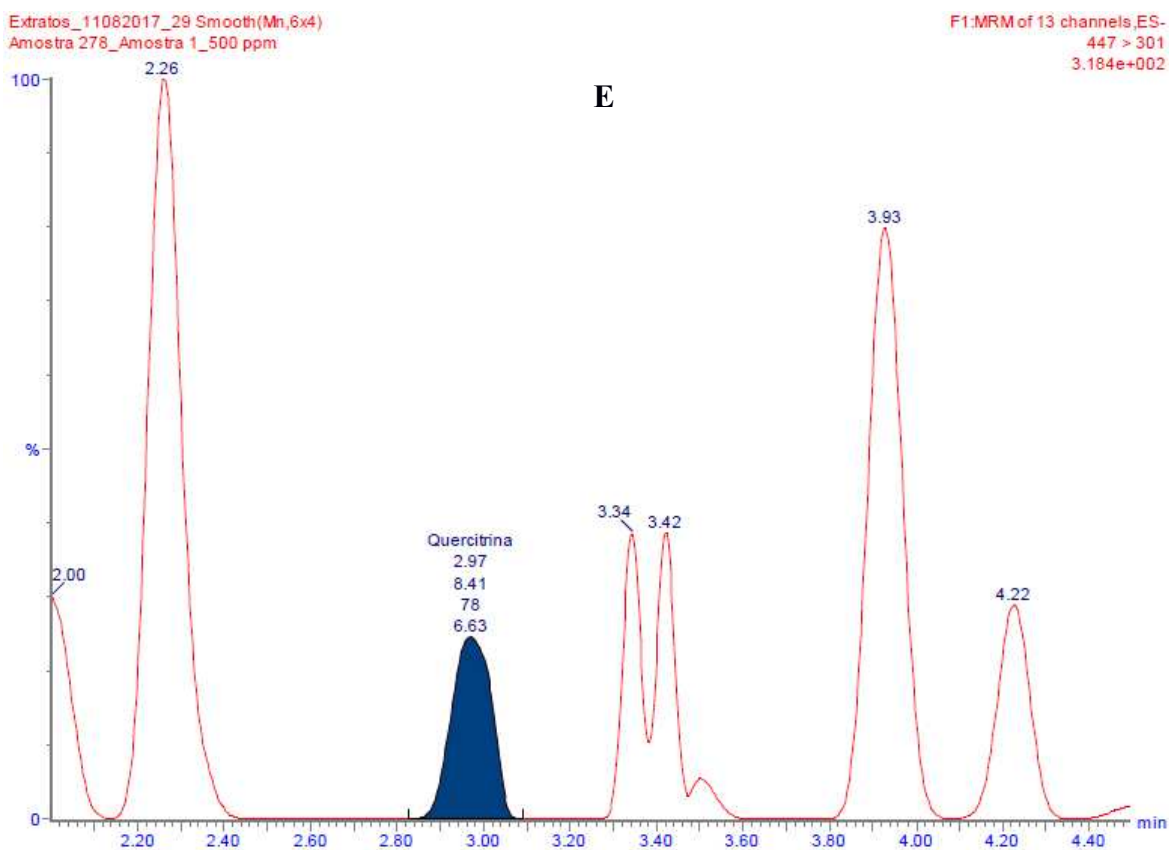


Figura 2 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. C. Ácido Ferúlico e D. Rutina



**Figura 3** – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. E. Quercitrina e F. Apigenina

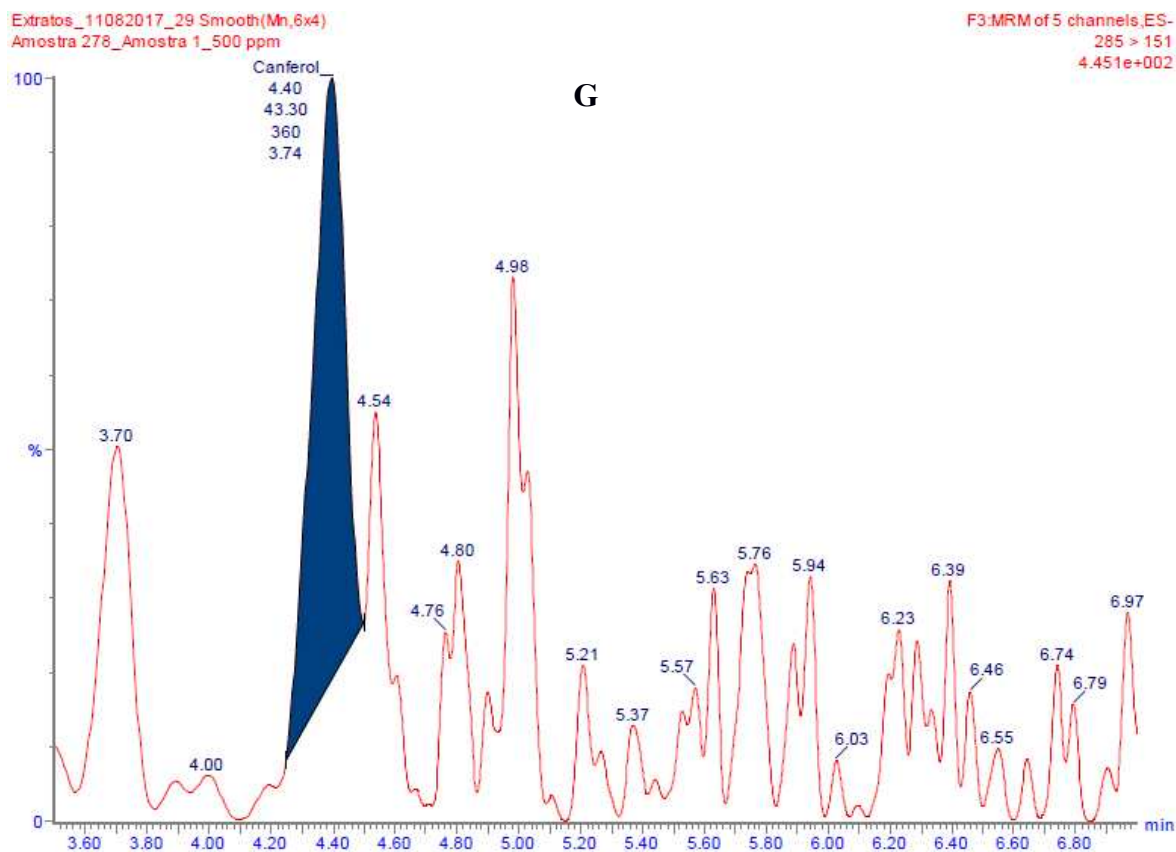


Figura 4 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. G  
- Canferol

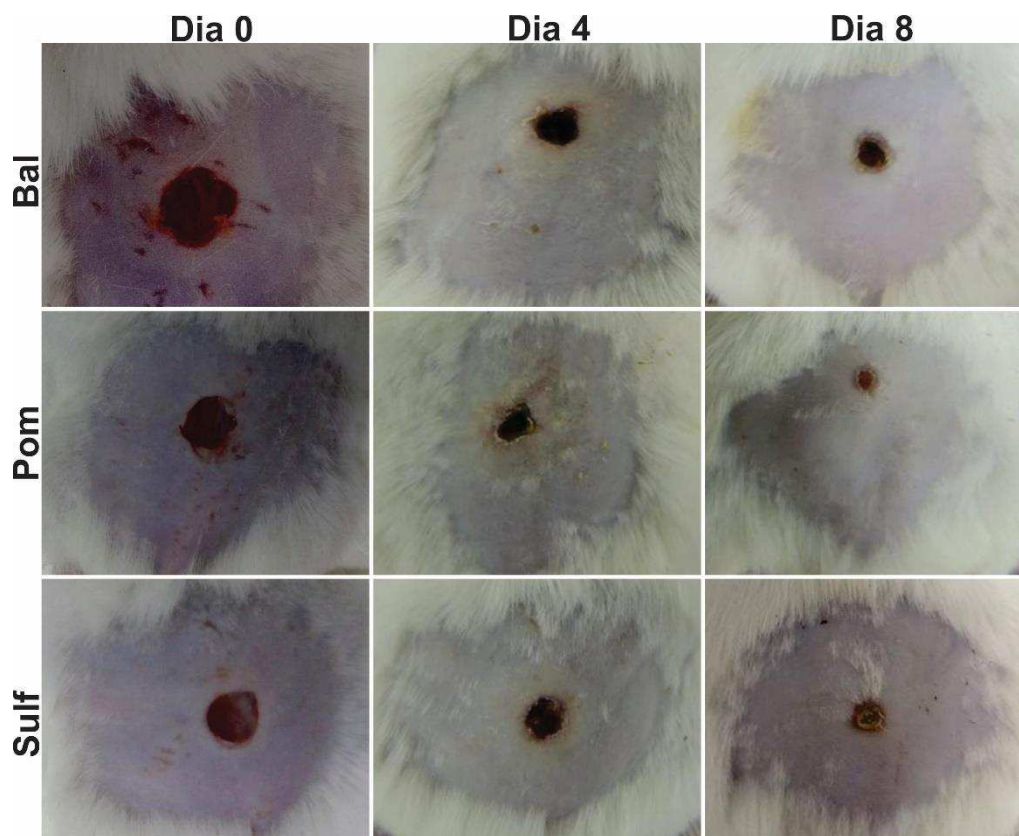
#### 4.2 Avaliação clínica dos animais e histopatológica do processo de cicatrização das feridas

Os camundongos receberam cuidados diariamente, sendo aplicada a mesma quantidade de pomada, bálsamo aos grupos tratados com as formulações contendo extrato da planta e com sulfadiazina de prata. Neste estudo, o tempo experimental total escolhido foi de 8 dias, baseado em estudos prévios. O acompanhamento diário dos animais, mostrou que não houve diminuição do peso e que as feridas não apresentaram visualmente aspectos de infecção (Figura 5). O que observou-se foi a formação de uma crosta nas feridas nos grupos avaliados.

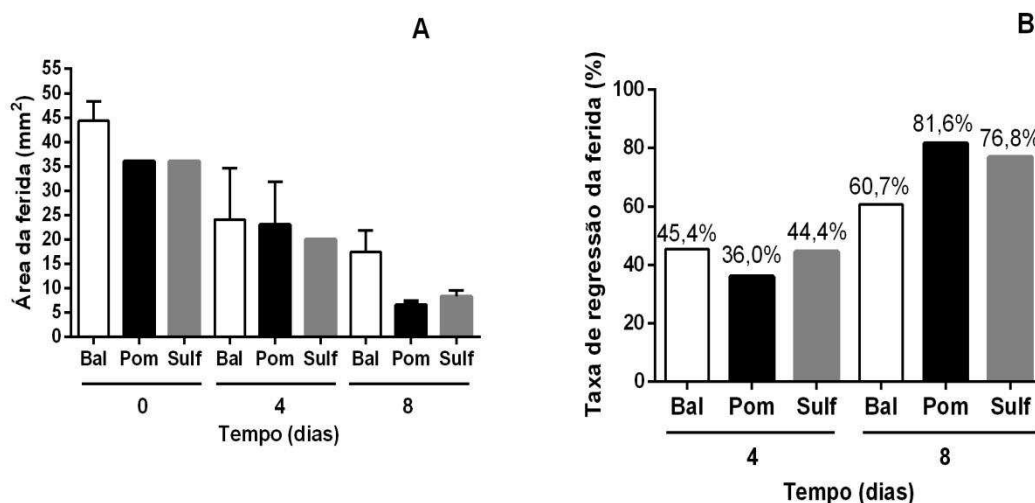
Estudos relatados por Mandelbaum, 2003, demonstram que as feridas abertas formaram crosta e epitelização de forma mais lenta. De acordo com estudos de Ricardo (2018), ao utilizar o barbatimão, o mesmo levou a formação de crostas espessas, secas e irregulares. Os autores relatam que a ação verificada, provavelmente, esteja relacionada a ação adstringente dos taninos contidos no mesmo. Entretanto, em nossos estudos a utilização das formulações promoveram uma maior hidratação do tecido. Vários medicamentos com finalidade cicatrizante são utilizados para produzir umidade no local, devido aos constituintes da formulação, melhorando bastante a reepitelização das feridas.

A taxa de regressão das feridas é um dado importante no processo de avaliação de uma ferida e desta forma, fazer medições em intervalos regulares é essencial. Em estudos de GARROS et al. 2006, o uso de extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos mostrou que área da ferida diminuiu gradativamente com a evolução do tempo, ou seja, as áreas das feridas diminuíram progressivamente de maneira significativa tanto no grupo tratado com *Passiflora edulis* quanto no grupo controle.

Ao observar, macroscopicamente, o grupo tratado com BAL, verificou-se a cicatrização com maior evolução quando comparado aos demais. A figura 6 apresenta os valores da área (expressa em mm<sup>2</sup>) e o índice de contração das feridas (expresso em %) cirúrgicas dos animais tratados com bálsamo (Bal), pomada (Pom) contendo extrato de *P. gonoacantha* ou sulfadiazina de prata (Sulf).



**Figura 5.** Avaliação macroscópica do processo de cicatrização das feridas excisionais e tratamento dos camundongos com formulações pomada, bálsamo a base de extratos de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).



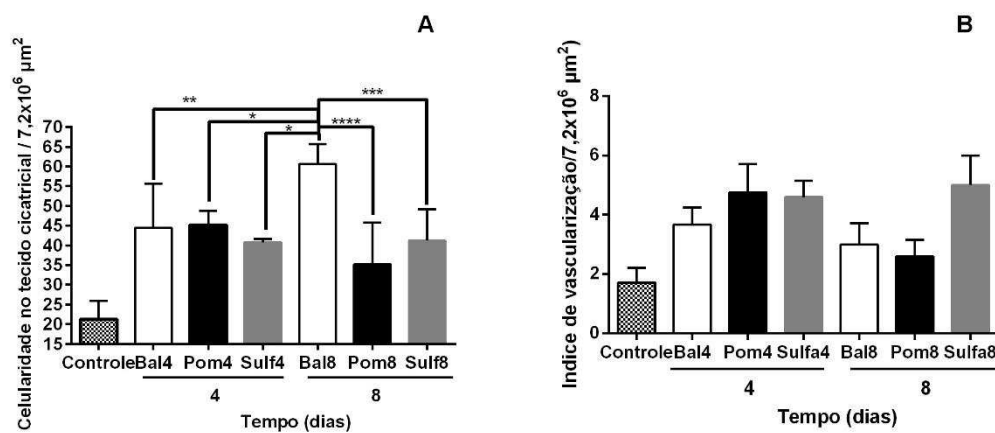
**Figura 6.** Efeito do tratamento com formulações contendo extratos de *Piptadenia gonoacantha* (Bálsamo ou Pomada) ou Sulfadiazina de prata. (A) Área e (B) taxa de contração da ferida (B) em camundongos avaliados no 4º e 8º dias de tratamento. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).

No 4º dia de tratamento, os grupos tratados com Sulf e Bal, apresentaram as taxas de regressão da área da ferida bem semelhantes, 44,4% e 45,4%, respectivamente (Figura 3, A e B). Ao 8º dia experimental, Houve uma maior porcentagem de regressão da ferida nos grupos pomada (81,6%), seguida pelos grupos Sulf (76,8%) e Bal (60,7%). Estes dados revelam que os animais tratados com Bal proporcionam o fechamento da ferida em menor tempo (4º dia de tratamento), quando comparado ao Pom e Sulf. Entretanto, o tratamento com a Pom contendo *P. gonoacantha*, foi capaz de reduzir a área da ferida em 81,6%, sendo mais eficaz que os demais tratamentos ao 8º dia, seguido por Sulf (76,8%) e Bal (60,7%) (Figura 3, B). Estes resultados permitem concluir que o tratamento Bal contendo extrato de *P. gonoacantha*, proporciona maior velocidade no processo de cicatrização logo nos primeiros dias de tratamento. Já o tratamento com a pomada de *P. gonoacantha* se mostra mais eficaz após o 4º dia de tratamento. Ou seja, tanto o tratamento Bal e Pom contendo extrato de *P. gonoacantha* são superiores ao tratamento controle, Sulf. Porém, em fases diferentes, possuindo o Bal maior eficácia no início do tratamento e a Pom na continuação e término do mesmo. Esta observação é de suma importância, pois a redução no tempo de tratamento é fundamental para a qualidade de vida dos pacientes e redução com gastos financeiros aos pacientes e aos cofres públicos.

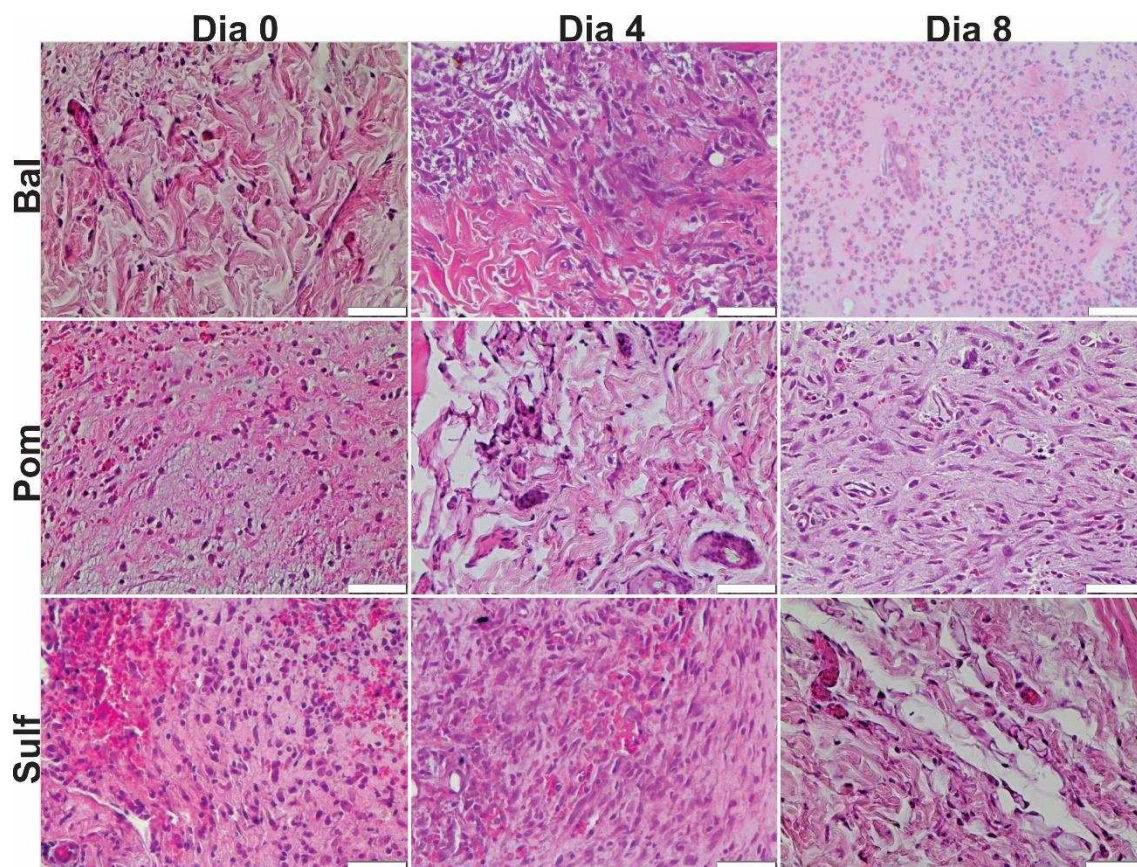
Diversos são os resultados encontrados em pesquisas envolvendo o uso tópico de fitoterápicos no processo de cicatrização. Barros (2016) avaliou os efeitos da *Passiflora edulis* S. na cicatrização de queimaduras induzidas em camundongos e mostrou que o extrato planta acelerou a cicatrização das queimaduras. Observou uma diminuição do número de células envolvidas nos processo inflamatório no período de 7 dias e um aumento de fibroblastos com deposição e organização das fibras colágenas nos animais do grupo tratado com a *Passiflora edulis* S. no período de 14 dias. Ribeiro (2011) em pesquisa envolvendo o sumo das folhas e caule da *Chenopodium ambrosioides* L, avaliou o seu potencial na contração de feridas cutâneas induzidas no dorso de ratos. Mostrou que houve aumento da retração das feridas após 12 dias do tratamento. Faleiro e colaboradores (2009) mostrou que o extrato das folhas de babosa, aloe vera na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos facilitou o processo de cicatrização pela utilização do fitoterápico na forma de extrato glicólico, uma vez que este proporcionou maior contração das feridas experimentais. MONTEIRO et al, 2015, avaliou a influência do extrato hidroetanólico das folhas de *Moringa oleifera* em lesões cutâneas de ratos e observou que

o extrato auxiliou no processo de cicatrização em lesões de ratos por aumentar a colageneização na pele lesada.

Em relação ao número de células totais, todos os tratamentos apresentam resultados superiores e estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) (Figura 7, A), quando comparado ao tecido retirado no primeiro dia, denominado controle. Entretanto, não diferiram estatisticamente entre si, nos primeiros 4 dias de tratamento. Embora, resultados estatísticos significativos não foram observados neste período, os dados demonstraram um aumento da celularidade em 8,10% e 9,73% com os tratamentos Bal e Pom, respectivamente, em relação ao controle Sulf. Os dados encontrados estão de acordo com os resultados obtidos por Janning e colaboradores (2011), onde avaliaram macro-microscópicamente a cicatrização de feridas cutâneas em ratos tratados com uso tópico do extrato hidroalcoólico de *Tabernaemontana catharinensis* (nome popular catavento). Os autores concluíram que o extrato hidroalcoólico possui ação sobre a proliferação vascular, proliferação endotelial e fibroblastos, podendo sugerir então que o extrato de *T. catharinensis* possui ação cicatrizante, semelhantes aos resultados obtidos em nosso estudo.



**Figura 7.** Efeitos dos tratamentos no tecido cicatricial dos animais tratados com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. (A) Celularidade e (B) vascularização no tecido cicatricial. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).

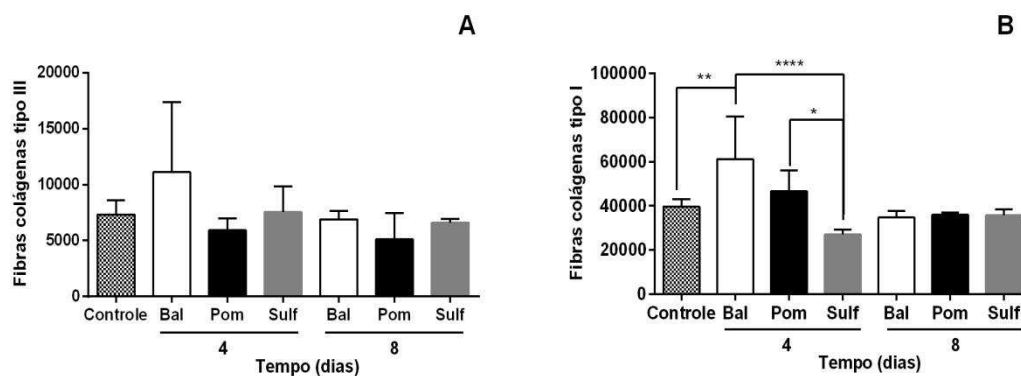


**Figura 8.** Fotomicrografias representativas da celularidade tecidual em cortes de pele de ratos observados ao microscópio de luz. Coloração em H&E, Barras = 200 $\mu$ m. Fragmentos teciduais coletados nos dias 0, 4 e 8 de tratamento com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).

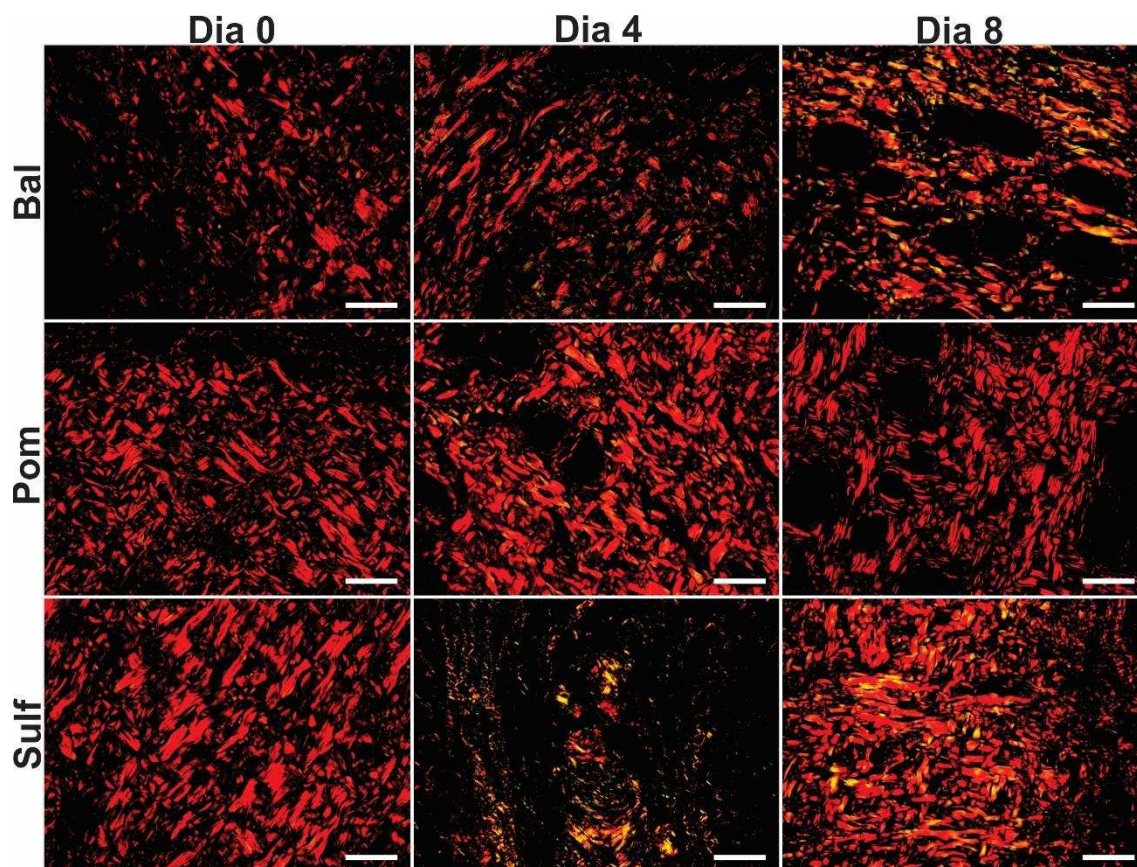
Quando se avalia a celularidade tecidual ao 8º dia experimental (Figura 7, A; Figura 8), percebe-se um aumento no número de células, estatisticamente significativo, nos animais tratados com Bal em relação aos grupos Pom ( $p < 0,0001$ ) e Sulf ( $p < 0,001$ ). A diferença observada demonstrou por meio dos dados, que o processo cicatricial proporcionado pelo uso do tratamento Bal foi favorecido pelo aumento no número celular no tecido cicatricial. Estudos têm apontado para algumas classes de metabolitos secundários, presentes em extratos vegetais, como responsáveis pela proliferação celular em processos cicatriciais. Hernandez e colaboradores (2010) utilizaram uma pomada a composta da fração semipurificada do extrato da casca da árvore de barbatimão, que é rica em taninos condensados a 1%, em feridas cutâneas de ratos realizadas cirurgicamente. Obteve como resultado, um estímulo na proliferação de queratinócitos, por estimular a proliferação destas células ao longo da margem de reepitelização em relação ao grupo controle no quarto, sétimo e décimo dia após a lesão.

Em relação a vascularização tecidual (Figura 7, B; Figura 8), todos os tratamentos proporcionaram um aumento na vascularização e diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do grupo denominado controle, pele íntegra. Entretanto, não foi verificada diferença estatística significativa entre os tratamentos Bal, Pom e Sulf, nos quatro dias iniciais. Contudo, ao 8º dia, houve redução da vascularização no tecido tratado com Bal ( $p < 0,01$ ) e Pom ( $p < 0,001$ ), não diferindo entre si, mas sendo estatisticamente diferentes quando comparados ao controle Sulf (Figura 7, B; Figura 8). A redução da vascularização observada no tecido tratado com Bal e Pom, reflete uma redução no processo inflamatório no tecido cicatricial. Esta redução é fundamental para que dê início à fase proliferativa permitindo uma a continuação do processo de cicatrização.

Para confirmar estas observações, relativo às fases da cicatrização, nosso grupo de pesquisa analisou e quantificou a produção de colágeno no tecido cicatricial (Figura 9 e 10).



**Figura 9.** Proporção de fibras colágenas do tipo I (A) e tipo III (B) no tecido cicatricial de camundongos avaliados no 4º e 8º dias de tratamento com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou Sulfadiazina de prata. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).



**Figura 10.** Fotomicrografias representativas da síntese de colágeno no processo de cicatrização dos animais. Fragmentos teciduais coletados nos dias 0, 4 e 8 de tratamento com formulações (pomada e bálsamo) contendo extrato de *Piptadenia gonoacantha* ou sulfadiazina de prata. Coloração em picrossirus, Barras = 200 $\mu$ m. Bal – bálsamo; Pom – Pomada; Sulf - Sulfadiazina de prata (Controle positivo).

Em relação a avaliação da síntese de colágeno tipo III, por meio dos resultados, não foram observados diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. Estes resultados são semelhantes ao encontrados por Sarandy (2007), onde os valores obtidos por meio das análises realizadas na diferenciação das fibras do tipo I e tipo III, não mostraram diferenças significativas quando submetidas ao teste de Tukey. Entretanto, em valores absolutos, o tratamento Bal proporcionou um aumento das fibras colágenas tipo III, quando comparado aos grupos controle (51,1%), Sulf (68,1%) no 4º dia e Sulf (59,5%) no 8º dia de tratamento (Figura 9, A). Nitz e colaboradores (2006) estudaram o potencial cicatrizante do extrato aquoso de *Coronopus didymus*, e descobriram a eficiência no processo cicatricial de feridas cutâneas em ratos, promovendo um aumento no número de fibroblastos e fibras colágenas.

Os fibroblastos e as células endoteliais são células que compõe a fase proliferativa (MORESKI, 2018) sendo um dos principais componentes do tecido de granulação que sob a influência dos fatores de crescimento e outros mediadores, são ativadas e migram das bordas do ferimento para o seu centro (BALBINO et al., 2005). Aumentando o número de fibroblastos ativados, a produção de colágeno no local inicia, ocorrendo a substituição da matriz extracelular por um tecido conjuntivo mais forte e com maior elasticidade e ocorre também a formação de novos vasos sanguíneos. A indução da angiogênese ocorre devido à baixa tensão de oxigênio, característica que ocorre no centro da ferida (MORESKI, 2018).

Na quantificação de fibras colágenas notou-se que ao 4º e 8º dia de tratamento, o tratamento Bal mostrou-se mais eficaz do que os demais grupos, na indução da formação de colágeno do tipo III, demonstrando resposta inflamatória e angiogênese maior, com menor tempo de cicatrização.

Quando analisamos a síntese de colágenos do tipo I, fundamental para o processo de cicatrização, verificou-se um aumento expressivo nos tratamentos com Bal e Pom em relação aos grupos controle (Tempo 0) e Sulf (Figura 9, B; Figura 10). O tratamento Bal, proporcionou aumento das fibras colágenas do tipo I, estatisticamente significativo em relação ao tratamento Sulf ( $p < 0,0001$ ) e ao controle (Tempo 0) ( $p < 0,001$ ), tecido íntegro. Por meio dos dados, pode-se inferir que os compostos bioativos do extrato de *P. gonoacantha*, presentes nas formulações Bal e Pom, promoveram proliferação e maturação de fibroblastos, bem como a síntese de colágeno do tipo I.

O colágeno é uma proteína encontrada em grande número no tecido conectivo em fase de cicatrização (BALBINO, 2005). Nesta fase de reparo ou remodelamento do processo de cicatrização, que ocorre a deposição de colágeno de maneira organizada. Estas fibras são classificadas como tipo I e III de acordo com o grau de maturação, sendo a sua quantificação essencial para se comparar a reparação tecidual. O colágeno tipo I é o que está presente com mais frequência na pele (80%), sendo sintetizado por fibroblastos em ossos e tendões. É considerado o colágeno maduro. O Colágeno tipo III (30 a 40%) é encontrado em vasos sanguíneos, derme e outros tecidos moles (ROBSON, 2001).

O tratamento com as formulações bálsamo ao 4º dia e pomada ao 8º dia de tratamento, ambas contendo extrato de *P. gonoacantha*, apresentaram as maiores taxas de regressão da área da ferida, 45,4% e 81,6%, respectivamente, em relação ao grupo controle, sulfadiazina de prata. Os tratamentos Bal e Pom proporcionaram uma redução

da vascularização indicando uma redução no processo inflamatório, dando início a fase proliferativa no tecido cicatricial. Estes dados foram apoiados pela análise da síntese de colágeno, onde os tratamentos Bal e Pom promoveram maior estimulação de fibroblastos e síntese de fibras colágenas do tipo I.

## CONCLUSÃO

Os resultados revelaram a eficácia das as formulações JACBIO® bálsamo e pomada em relação a sulfadiazina de prata. Porém, com indicações em fases distintas, sendo o bálsamo útil para início do tratamento e a pomada para a continuação e termino do mesmo. Esta observação é de suma importância, pois a redução no tempo de tratamento é fundamental para a qualidade de vida dos pacientes e redução com gastos ao longo do tratamento.

Considerando os compostos naturais encontrados no extrato de *P. gonoacantha*, a presente proposta objetiva o desenvolvimento de um produto destinado à saúde, utilizando tecnologias e insumos nacionais, cuja produção poderá ser realizada inteiramente no país. Tal iniciativa propiciará a substituição de importações de produtos e insumos, agregando densidade de conhecimento a um produto nacional, aumentando a competitividade do país no cenário global, com o objetivo de ampliar as possibilidades de recursos terapêuticos de baixo custo destinado ao SUS, para o tratamento de processos cicatriciais, infecciosos e inflamatórios cutâneos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-REJAIE, Salem S. et al. Protective effect of rutin on the antioxidant genes expression in hypercholesterolemic male Westar rat. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 136, 2013.

ALVES, H. de M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de química nova na escola**, v. 3, p. 11-15, 2001.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2ª edição. Brasília, 2012.

BALBINO, Carlos Aberto; PEREIRA, Leonardo Madeira; CURI, Rui. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

BARROS, Esmeralda Maria Lustosa et al. Efeitos da *Passiflora edulis* S. no processo de cicatrização em queimaduras induzidas em camundongos. **ConScientiae Saúde**, v. 15, n. 1, p. 122-128, 2016.

BASTOS, Maria Lysete A. et al. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur.(Bignoniaceae) extracts and their main constituents. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 8, n. 1, p. 16, 2009.

BEZERRA, Denise AC. Estudo Fitoquímico, Bromatológico e Microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. 63f. **Campina Grande, PB. apresentada como dissertação de mestrado, Departamento de Zootecnia, UFCG**, 2008.

BRASIL, Portal. SUS tem fitoterápicos para doenças simples. **Notícia. Publicada em**, v. 9, 2012. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/8061/162/sus-oferece-fitoterapicos-como-alternativa-de-tratamento.htm>

BROUGHTON, G. 2nd; JANIS, Jeffrey E.; ATTINGER, Christopher E. Wound healing: an overview. **Plast Reconstr Surg**, v. 117, n. 7 Suppl, 2006.

CAILLET S, YU.H.; LESSARD, S.; LAMOUREUX, G.; AJDUKOVIC, D.; LACROIX, M. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. **Food Chem**. V. 100, p. 542-552, 2007.

CALABRÒ, M.L.; TOMMASINI, S.; DONATO, P.; STANCANELLI, R.; RANERI, D.; CATANIA, S., COSTA, C.; VILLARI, V.; FICARRA, P.; FICARRA, R. The rutin/ $\beta$ -cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: spectroscopic studies and biological assays. **J Pharm Biomed Anal**. V.36, p. 1019-1027, 2005.

CAMPOS, Antonio Carlos Ligocki; BORGES-BRANCO, Alessandra; GROTH, Anne Karoline. Cicatrização de feridas Wound healing. **ABCD: Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CARVALHO Gabriel Domingos 2013. 91f. Efeito da ingestão de água-de-coco e água magnetizada na reparação de feridas experimentais em coelho. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG).

CARVALHO, Ana Cecília; SILVEIRA, Dâmaris. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília méd**, v. 47, n. 2, 2010.

CARVALHO, C.A. Caracterização Botânica, Fitoquímica e avaliação da Atividade biológica de extratos de *Piptadenia gonoacantha* (mart.) J.f. macbr (fabaceae). 2012. 71 f. Dissertação (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARVALHO, M.G. et al. Chemical constituents of *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr (pau jacaré). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, v.82, n.3, p. 561-567, 2010.

CAZAROLLI, Luisa H. et al. Flavonoids: prospective drug candidates. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 8, n. 13, p. 1429-1440, 2008.

CLARK, Richard AF (Ed.). **The molecular and cellular biology of wound repair**. Springer Science & Business Media, 2013.

CORRÊA, M.A. **Cosmetologia: Ciência e Técnica**. 1ª edição, ed. Medfarma, São Paulo, 2012.

DEVIENNE, K. F.; RADDI, G.; POZETTI, G. L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 11-14, 2004.

DOMITROVIC, R.; JAKOVAC, H.; VASILJEV MARCHESI, V.; KNEZEVIC, V.S.; CVIJANOVIC, O.; TADIC, Z. Differential hepatoprotective mechanisms of rutin and quercetin in CC14-intoxicated BALB/cN mice. **Acta Pharmacol Sin**. V.33, p. 1260-1270, 2012.

FALEIRO, C. C. et al. O extrato das folhas de babosa, Aloe vera na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo Natureza on line, v. 7, n. 2, p. 56-60, 2009.

FERREIRA, Francis Villegas; PAULA, Larissa Barbosa. Sulfadiazina de prata versus medicamentos fitoterápicos: estudo comparativo dos efeitos no tratamento de queimaduras. **Rev Bras Queimaduras [Internet]**, v. 12, n. 3, p. 132-9, 2013.

FERREIRA, Sérgio H. et al. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. **Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências**, 1998.

FRANCO, Adriane Jane Franco. Universidade Federal de Viçosa, maio de 2018. Formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade antimicrobiana e uso. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG).

GONCALVES, Reggiani Vilela et al. Comparative study of the effects of laser photobiomodulation and extract of Brassica oleracea on skin wounds in wistar rats: A histomorphometric study. **Pathology-Research and Practice**, v. 209, n. 10, p. 648-653, 2013.

GUERRA, Miguel Pedro et al. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. **SIMÕES, MO et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento**, v. 3, p. 15, 2001.

HERNANDES, Luzmarina et al. Wound-healing evaluation of ointment from Stryphnodendron adstringens (barbatimão) in rat skin. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 3, p. 431-436, 2010.

JANBAZ, K.H.; SAEED, S.A.; GILANI, A.H. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rodents. **Fitoterapia**. V. 73, p.557-563, 2002.

JANNING, Denise; ALBUQUERQUE, Cláudia AC; BARAUNA, Sara C. Avaliação preliminar do extrato hidroalcoólico de Tabernaemontana catharinensis no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos (Rattus norvegicus). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 12, 2011.

KIM, Hyun Pyo et al. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. **Journal of pharmacological sciences**, v. 96, n. 3, p. 229-245, 2004.

LAWRENCE, W. Thomas; DIEGELMANN, Robert F. Growth factors in wound healing. **Clinics in dermatology**, v. 12, n. 1, p. 157-169, 1994.

LEONARDI, Gislaiane Ricci. Cosmetologia Aplicada. 1. ed. São Paulo: Medfarma, 2004

LÓPEZ-POSADAS, Rocío et al. Efeito de flavonóides em esplenócitos de ratos, um estudo de relação estrutura-atividade. **Farmacologia Bioquímica**, v. 76, n. 4, p. 495-506, 2008.

MAHMOUD, A.M. Influence of rutin on biochemical alterations in hyperammonemia in rats. **Exp Toxicol Pathol**.V.64, p. 783-789, 2012.

MANDARIM-DE-LACERDA, Carlos A. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia brasileira de Ciências**, v. 75, n. 4, p. 469-486, 2003.

MARQUES, Maria Carolina S. et al. In vitro biological screening and evaluation of free radical scavenging activities of medicinal plants from the Brazilian Cerrado. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 15, p. 957-962, 2013.

MELIONE, Luís Paulo Rodrigues; MELLO-JORGE, Maria Helena Prado de. Gastos do Sistema Único de Saúde com internações por causas externas em São José dos Campos, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 8, p. 1814-1824, 2008.

MONTEIRO, Edylaine Aparecida et al. AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE Moringa oleifera NO PROCESSO DE

CICATRIZAÇÃO EM LESÕES CUTÂNEAS DE RATOS. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 3, p. 25-34, 2015.

MORESKI, Danieli Bobbo; BUENO, Fernanda Giacomini; DE SOUZA LEITE-MELLO, Eneri Vieira. AÇÃO CICATRIZANTE DE PLANTAS MEDICINAIS: UM ESTUDO DE REVISÃO. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 22, n. 1, 2018.

MS, Ministério da Saúde, Portal da Saúde. SUS Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) 2012. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/anexos\\_rename\\_2012\\_pt\\_533\\_11\\_06\\_2012.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/anexos_rename_2012_pt_533_11_06_2012.pdf)>. Acesso 18 set. 2012.

MS, Ministério da Saúde, Portal da Saúde. SUS Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rename2006.pdf> . Acesso 18 set. 2012.

MS, Ministério da Saúde, Portal da Saúde. SUS Portal. Plantas medicinais e Fitoterápicos no SUS. Disponível em: < <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnprmf/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus2017>>.

NETO, M. Maia et al. Flavonoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia unguolata* L. **Biochemical systematics and ecology**, v. 36, n. 3, p. 227-229, 2008.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of natural products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

NITZ, Antonio Carlos et al. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopodium* e *Calendula officinalis*. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 35, n. 4, p. 74-79, 2006.

OLIVEIRA, R.C.S. Desenvolvimento, Formulação e Avaliação de Sistemas de Liberação Transdérmica Incorporando Sistemas Ternários de Complexação (Fármaco/Ciclodextrina/Polímero). Portugal: Universidade do Porto; 2008.

PAGANO, Marcela Cláudia; MARIA, S. M. Effect of phosphorus fertilization on arbuscular mycorrhizal colonization of *Zeyheria tuberculosa* a native species in Brazil's forest. **Middle-East J Sci Res**, v. 6, n. 6, p. 604-11, 2010.

PAULA, Cristiane da Silva et al. Potencial antioxidante in vitro das folhas da *Bauhinia unguolata* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 2, p. 217-222, 2015..

PAULINO DE ALBUQUERQUE, Ulysses; DE HOLANDA CAVALCANTI ANDRADE, Laise. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.

RATES, Stela Maria Kuze. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

RICARDO, Letícia M. et al. Evidence of traditionality of Brazilian medicinal plants: The case studies of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão) barks and *Copaifera* spp.(copaíba) oleoresin in wound healing. **Journal of ethnopharmacology**, v. 219, p. 319-336, 2018.

ROBSON, Martin C.; STEED, David L.; FRANZ, Michael G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. **Current problems in surgery**, v. 38, n. 2, p. 72-140, 2001.

ROSA, Caroline da; CÂMARA, Sheila Gonçalves; BÉRIA, Jorge Umberto. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & saúde coletiva**, v. 16, p. 311-318, 2011.

SANTANGELO, Carmela et al. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. **Annali-istituto superiore di sanita**, v. 43, n. 4, p. 394, 2007.

SILVA, J.A.; APOLINÁRIO, A.C.; SOUZA, M.S.R.; DAMASCENO, B.P.G.L.; MEDEIROS, A.C.D. Administração Cutânea de Fármacos: Desafios e Estratégias para o Desenvolvimento de Formulações Transdérmicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, Paraíba: 14/09/2010. p 125-131.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SINGER, Adam J.; CLARK, Richard AF. Cutaneous wound healing. **New England journal of medicine**, v. 341, n. 10, p. 738-746, 1999.

Steed DL; Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. In: Robson MC; Steed DL; Franz MG. Wound healing. *Curr Probl Surg*. Chicago, 2001; 38(2): 73-94.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes Phenolic acids as antioxidants. **Revista de nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TARAMESHLOO, Mahsa et al. A comparative study of the effects of topical application of Aloe vera, thyroid hormone and silver sulfadiazine on skin wounds in Wistar rats. **Laboratory animal research**, v. 28, n. 1, p. 17-21, 2012.

THEOHARIDES, Theoharis C. et al. Liberação diferencial de mediadores de mastócitos e a patogênese da inflamação. **Revisões imunológicas**, v. 217, n. 1, p. 65-78, 2007., 52, 673.

VEITCH, Nigel C.; GRAYER, Renée J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. **Natural product reports**, v. 25, n. 3, p. 555-611, 2008.

VIEIRA, Alno Poiares et al. Ação dos flavonóides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 1, p. 65-74, 2008.

VIEIRA, Geisla Teles et al. Avaliação do efeito cicatrizante de Inga subnuda e Pseudopiptadenia contorta em feridas cirúrgicas em coelhos. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa para obtenção do título de Doctor Scientiae .2015.

WITTE, Maria B.; BARBUL, Adrian. General principles of wound healing. **Surgical Clinics**, v. 77, n. 3, p. 509-528, 1997.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **LWT-Food Sci Technol**. V. 41, p. 1060-1066, 2008.

YOON, Joo-Heon; BAEK, Seung Joon. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. **Yonsei medical journal**, v. 46, n. 5, p. 585-596, 2005.

## ANEXO

### Patente

A Comissão Permanente de Propriedade Intelectual (CPPI), Núcleo de Inovação Tecnológica da Universidade Federal de Viçosa (UFV), instituída pela Portaria nº 0769/99, Ato Nº 00049/2013/PPG, por meio de seu Presidente, Professor Rodrigo Gava, declara, para os devidos fins, que a estudante de mestrado do programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Cássia Gondim Pereira e o Professor Camilo Amaro de Carvalho, vinculados ao Departamento de Medicina e Enfermagem da UFV, solicitaram auxílio no processo de depósito do pedido de patente inicialmente intitulado “USO IN NATURA DE EXTRATOS E FORMULAÇÕES OBTIDOS E DESENVOLVIDOS A PARTIR DE *Piptadenia gonoacantha* COM AÇÃO CICATRIZANTE”, junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). No momento, o processo de pedido de patente está na fase confecção dos documentos a serem protocolados junto ao INPI.