

# Perfil fitoquímico e avaliação das atividades antioxidante e cicatrizante dos extratos aquosos obtidos das folhas e da casca do caule de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K. Schum

*Phytochemical profile and evaluation of antioxidant and healing activities of aqueous extracts obtained from the leaves and stem bark of Tocoyena formosa (cham. & schltdl.) k. schum*

*Perfil fitoquímico y evaluación de las actividades antioxidante y cicatrizante de los extractos acuosos obtenidos de las hojas y la cáscara del tallo de tocoyena formosa (cham. & schltdl.) k. schum*

Émily Rosane de Melo Almeida<sup>1</sup>, Helder Lucas da Silva Santos<sup>1</sup>, Adeilda Firmino dos Santos<sup>2</sup>, Natália Cordeiro de Melo<sup>2</sup>, Emilly Beatriz de Barros Nascimento<sup>2</sup>, Andressa Aguiar Bezerra de Araújo<sup>1</sup>, Pedro Henrique Sette de Souza<sup>3</sup>, Ana Carolina de Carvalho Correia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Pernambuco, PPGSDS, Garanhuns, Brasil. E-mail: emily.rosane@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4217-622X>

<sup>1</sup> Universidade de Pernambuco, PPGSDS, Garanhuns, Brasil. E-mail: helder.santos@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8990-5636>

<sup>2</sup> Universidade de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: adeilda.santos@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2622-2490>

<sup>2</sup> Universidade de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: natalia.cmelo@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-7111-0691>

<sup>2</sup> Universidade de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: emilly.nascimento@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0492-3980>

<sup>1</sup> Universidade de Pernambuco, PPGSDS, Garanhuns, Brasil. E-mail: andressa.aguiararaujo@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5378-9840>

<sup>3</sup> Universidade de Pernambuco, PPGSDS, Arcoverde, Brasil. E-mail: pedro.souza@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9119-8435>

<sup>1</sup> Universidade de Pernambuco, PPGSDS, Garanhuns, Brasil. E-mail: ana.correia@upe.br.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4880-8634>

**Resumo:** A *Tocoyena formosa* (Rubiaceae) tem sido utilizada popularmente para tratar inflamações e propiciar o reparo tecidual. Assim, objetivou-se prospecção fitoquímica dos extratos aquosos das folhas (Tf-aqf) e das cascas do caule (Tf-aqc) de *T. formosa*, avaliar sua atividade antioxidante e seus efeitos citotóxico e migratório sobre fibroblastos (L929). Os extratos foram obtidos por maceração a quente e, em seguida, foi realizada a prospecção preliminar e a determinação do conteúdo de fenóis e flavonoides totais. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH e ABTS. O efeito citotóxico pelo ensaio de MTT e o potencial cicatrizante foi determinado pelo ensaio scratch-wound healing. Os extratos mostraram-se ricos compostos fenólicos, entre eles os flavonoides. Esses compostos têm especial importância por sua propriedade de interagir diretamente no metabolismo oxidativo. Ambos se mostraram com capacidade antioxidante de maneira concentração-dependente, porém o Tf-aqf mostrou-se mais potente que o Tf-aqc. Por outro lado, ambos não foram citotóxicos e aceleraram a migração celular

após 12 e 24 horas, não havendo diferença entre si. Os dados obtidos corroboram com o uso popular da espécie frente ao reparo tecidual, tornando-a uma promissora alternativa terapêutica para o enfrentamento de dificuldades na cicatrização de feridas.

**Palavras-chave:** Fitoterapia; Plantas medicinais; *Tocoyena formosa*; Fibroblastos murino L929; Feridas cutâneas.

**Abstract:** *Tocoyena formosa* (Rubiaceae) has been popularly used to treat inflammation and promote tissue repair. Thus, the objective was to conduct a phytochemical screening of the aqueous extracts of the leaves (Tf-aqf) and stem bark (Tf-aqc) of *T. formosa*, evaluate their antioxidant activity, and their cytotoxic and migratory effects on fibroblasts (L929). The extracts were obtained by hot maceration, followed by a preliminary screening and determination of total phenol and flavonoid content. Antioxidant activity was evaluated by DPPH and ABTS methods. The cytotoxic effect was assessed by the MTT assay, and the wound healing potential was determined by the scratch-wound healing assay. The extracts were found to be rich in phenolic compounds, including flavonoids. These compounds are particularly important for their property of directly interacting with oxidative metabolism. Both extracts showed antioxidant capacity in a concentration-dependent manner, with Tf-aqf being more potent than Tf-aqc. On the other hand, neither extract was cytotoxic, and they accelerated cell migration after 12 and 24 hours, with no difference between them. The data obtained support the popular use of the species in tissue repair, making it a promising therapeutic alternative for addressing wound healing challenges.

**Keywords:** Phytotherapy; Medicinal plants; *Tocoyena formosa*; Murine fibroblasts L929; Cutaneous wounds.

**Resumen:** *Tocoyena formosa* (Rubiaceae) ha sido utilizada popularmente para tratar inflamaciones y promover la reparación tisular. Así, el objetivo fue realizar una prospección fitoquímica de los extractos acuosos de las hojas (Tf-aqf) y la corteza del tallo (Tf-aqc) de *T. formosa*, evaluar su actividad antioxidante y sus efectos citotóxicos y migratorios sobre fibroblastos (L929). Los extractos se obtuvieron por maceración en caliente, seguida de una prospección preliminar y la determinación del contenido total de fenoles y flavonoides. La actividad antioxidante se evaluó mediante los métodos DPPH y ABTS. El efecto citotóxico se evaluó mediante el ensayo MTT y el potencial cicatrizante mediante el ensayo de cicatrización por rasguño. Los extractos resultaron ser ricos en compuestos fenólicos, incluidos los flavonoides. Estos son de especial importancia por su propiedad de interactuar directamente con el metabolismo oxidativo. Ambos mostraron capacidad antioxidante de manera dependiente de la concentración, siendo Tf-aqf más potente que Tf-aqc. Por otro lado, ninguno de ellos fue citotóxico y aceleraron la migración celular después de 12 y 24 horas, sin diferencia entre ellos. Los datos obtenidos corroboran el uso popular de la especie en la reparación tisular, convirtiéndola en una prometedora alternativa terapéutica a los desafíos en la cicatrización de heridas.

**Palabras clave:** Fitoterapia; Plantas medicinales; *Tocoyena formosa*; Fibroblastos murinos L929; Heridas cutáneas.

---

## 1. Introdução

A cicatrização raramente é vista como um problema em indivíduos saudáveis, contudo a prolongação desse processo é um grave problema de saúde pública, tendo em vista que reduz a qualidade de vida do paciente e aumenta significativamente os custos para o tratamento (NASCIMENTO *et al.*, 2020). Este por sua vez pode vir a ser muito oneroso tanto para os sistemas públicos de saúde como para o indivíduo devido aos gastos excessivos com curativos e medicamentos necessários, os quais muitas vezes são inviáveis para pessoas de baixa renda (NASCIMENTO, 2015). Estudos mostram que aproximadamente 22,8% da população mundial sofre com feridas crônicas o que resulta em despesas custosas que variam de R\$ 28,1 a R\$ 96,8 bilhões (SILVA *et al.*, 2020; DOMINGUES; URIZZI; SOUZA, 2022).

Há poucas informações sobre o custo do tratamento de feridas no Brasil. No entanto, estima-se que a cada ano 570 mil brasileiros apresentem novas feridas crônicas (JUNIOR; CARBINATTO; BAGNATO, 2019). As complicações durante esse processo podem resultar em intensas dores, infecções, hospitalização e amputações, comprometendo a saúde e a qualidade de vida do paciente (FUHR MARCHESINI; BAZI RIBEIRO, 2020; BRITO; LEITE, 2021; DANTAS *et al.*, 2022; MAGALHÃES *et al.*, 2022; FREEDMAN *et al.*, 2023).

Diversos fatores podem contribuir para a dificuldade de cicatrização, como: a idade do indivíduo, o estado nutricional, má vascularização (RIBEIRO, 2019; FUHR MARCHESINI; BAZI RIBEIRO, 2020; ZANOTI, 2021) e presença de condições crônicas como obesidade e diabetes que alteram o funcionamento metabólico normal do organismo, aumentando o estresse oxidativo (MORESKI; BUENO; LEITE-MELLO, 2018; VIEIRA; DE FARIA

NUNES; BRAGA, 2021; DE ALFAIA; PANTOJA, 2022) e, por consequência, aumenta o tempo hábil de reparo tecidual (SOUZA; MENDONÇA; SILVA, 2013).

Dessa forma, é imprescindível o desenvolvimento de estudos que corroborem para a busca de medicamentos que possibilitem a potencialização da cicatrização. Os brasileiros apresentam grande aceitação ao uso tradicional de produtos naturais como terapia alternativa ou complementar para diversos problemas de saúde. Ademais, o Brasil, é o país de maior biodiversidade do mundo, tendo condições de adotar a fitoterapia como uma possibilidade eficaz no tratamento de diversas doenças (SANTOS *et al.*, 2019; FERRAZ *et al.*, 2023). Entretanto, apesar de toda diversidade vegetal encontrada no país, a utilização de plantas medicinais de forma regulamentada e segura ainda é reduzida, tendo seu uso norteado pelos saberes populares (CONCEIÇÃO *et al.*, 2023; VELOSO *et al.*, 2023).

Até o momento apenas 71 espécies de plantas medicinais constam na Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (ReniSUS) e 12 medicamentos fitoterápicos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename) que são ofertados à população através SUS (BRASIL, 2024). Isso reforça o quanto é necessário o desenvolvimento de pesquisas sobre plantas medicinais consagradas no meio popular não só para a valorização do saber popular, mas também para expandir as possibilidades terapêuticas (SOARES *et al.*, 2020; VELOSO *et al.*, 2023).

Dentre os diversos compostos provenientes do metabolismo secundário de plantas, os compostos fenólicos se destacam por estarem diretamente relacionados com propriedades biológicas apresentadas por extratos vegetais, tais como atividade antibacteriana, anti-inflamatória, imunomoduladora e no combate ao estresse oxidativo (NASCIMENTO; DUTRA; MELO, 2020, VANLALVENI *et al.*, 2021). Além disso, eles também auxiliam o processo de proliferação de fibroblastos e, por conseguinte, na aceleração do processo de cicatrização (JARDIM; CORTELI, 2019).

Nesse contexto, o gênero *Tocoyena*, pertencente à família *Rubiaceae*, possui espécies com potencial antioxidante (OLIVEIRA, 2021), antifúngica, antileishmania (SOUSA *et al.*, 2019), anti-inflamatório e antibacteriano (BELCHIOR, 2021). Dentre elas, a espécie *Tocoyena formosa*, popularmente conhecida como Jenipapo bravo e Jenipapo do campo, é nativa da América Tropical, típica dos domínios xeromórficos como o cerrado, restinga e caatinga (COELHO; AGRA; BARBOSA, 2006). Sua utilização baseada no conhecimento popular foi descrita no tratamento de diversas enfermidades como inflamações, entorses, inchaços e lesões, sendo amplamente utilizada no Nordeste brasileiro (AZEVEDO; NETO; DANTAS, 2006). Além disso, as cascas do caule são utilizadas em forma de cataplasma sendo aplicado diretamente sobre a área lesionada para acelerar o processo de reparo tecidual (CESÁRIO *et al.*, 2019).

Diante disso, decidiu-se investigar o efeito do extrato aquoso das folhas e das cascas do caule de *T. formosa* sobre a cicatrização experimental de feridas em fibroblastos, por ser células importantes para o complexo processo de cicatrização, bem como avaliar o seu potencial antioxidante *in vitro*.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Coleta do material botânico

As cascas do caule foram coletadas na Propriedade Agroecológica do Vale de São José, na Zona Rural do Município de Caetés, localizado no Agreste de Pernambuco. O material botânico foi coletado por meio da técnica de turnê-guiada (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014), onde um especialista indicou o local e a planta a ser coletada. Por meio aplicativo de celular SW MAPS®, foi possível detectar a localização mais precisa da árvore, que apresentou coordenadas geográficas 8,77429627° ao sul e 36,71909083° ao oeste para latitude e longitude, respectivamente, bem como elevação de 883,519 metros. Para identificação botânica, foram coletadas amostras em estado fértil, onde foram prensadas ainda em campo e levadas para secagem em estufa a 50 °C por 48 horas. Por fim, as exsiccatas foram depositadas no Herbário IPA do Instituto Agrônomo de Pernambuco com N° de tombo 94760. O acesso ao uso da planta para fins de pesquisa foi autorizado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN - n° A93223E).

### 2.2. Prospecção dos extratos e análise do perfil fitoquímico

As folhas e as cascas coletadas de *T. formosa* foram fragmentadas e desidratadas em estufa a 37 °C. Posteriormente, foram trituradas em moinho obtendo-se um pó fino do qual foram pesados 2 g em um béquer, sendo acrescido de 200 mL de água ultrapura. O extrato aquoso das folhas (TF-aqf) e extrato aquoso das cascas do caule (TF-aqc) foram obtidos a 1% por maceração a quente até atingir 70 °C durante 15 minutos, sob agitação

constante, para a extração dos metabólitos (MENDES *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2024). Em seguida, filtrou-se o extrato para a remoção das partículas grandes. O extrato foi estocado em recipiente âmbar e armazenado em geladeira com temperatura abaixo de 10 °C, para impedir a degradação dos compostos presentes. Uma alíquota desse extrato foi submetida ao processo de liofilização, visando à realização de algumas metodologias do estudo. Para a realização da análise do perfil fitoquímico do extrato obtido, foi utilizada a metodologia de Matos (1997).

Para execução dessa análise qualitativa utilizou-se os extratos TF-aqf e TF-aqc na concentração de 1 mg/mL. Foram separados 9 tubos para os testes de cada amostra. Nos tubos de número 1, foram realizados o teste de saponinas, foram colocados 10 mL dos extratos e agitado manualmente entre 3-5 minutos, observando a formação de espuma, característico desses metabólitos. Nos tubos 2 e 4, a fim de identificar a presença de taninos, taninos pirogálicos, gomas e mucilagens, foram adicionados 2 mL dos extratos e 5 mL da solução de acetato de chumbo neutro a 10%. Nos tubos de número 3, foram realizados o teste de fenóis, onde adicionou-se 5 mL dos extratos e 2 mL de cloreto de ferro III a 3-5%. Para identificar a presença de flavonoides, foram utilizados 3 tubos, para cada extrato, contendo 2 mL da amostra, sendo o primeiro tubo acidificado com ácido clorídrico (HCl) diluído, o segundo alcalinizado com hidróxido de sódio (NaOH) 70%, deixando o terceiro como branco.

Nos tubos de número 8, a fim de identificar a presença de alcaloides, foram adicionados 2 mg dos extratos liofilizados e solubilizados em 8 mL de HCl a 5%. Em seguida, 2 mL da solução ácida foi acrescida de 5 gotas dos reagentes de Dragendorff. Nos tubos de número 9 foi realizado o teste para identificar a presença de taninos, para isso utilizou-se 2 mL dos extratos e adicionou-se 10 mL de água destilada e, posteriormente, 5 gotas da solução de cloreto férrico 1%.

### 2.3. Determinação do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides

O teor dos compostos fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SOUSA *et al.*, 2007; Gülçin *et al.*, 2004) com modificações, empregando o ácido gálico como composto fenólico padrão. Os experimentos foram realizados em triplicata. As amostras foram solubilizadas em etanol numa concentração de 1 mg/mL. 25 µL das amostras foram misturadas com 25 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após 1 minuto, adicionou-se 25 µL da solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15%, p/v) e a microplaca foi agitada por 30 segundos. A microplaca foi deixada em repouso por 2 horas em ambiente protegido de luz, e a absorbância foi medida em 760 nm com o auxílio do leitor de microplacas. Utilizando água destilada como branco. Os resultados dos teores de compostos fenólicos totais foram expressos como equivalentes de ácido gálico (µg EAG/g).

A determinação do conteúdo de flavonoides totais seguiu o método de (Meda *et al.* 2005). O volume de 5 mL dos extratos solubilizados em metanol foi acrescido do mesmo volume de solução de AlCl<sub>3</sub> a 2% (p/v). A mistura permaneceu em repouso por 10 min antes de ser colocada em microplaca. Em seguida, adicionou-se 300 µL/poço da mistura e leu-se a microplaca na absorbância a 415 nm contra um branco composto pela solução de AlCl<sub>3</sub>. A curva de calibração foi obtida a partir de uma solução padrão a 100 µg/mL de quercetina em metanol. A concentração de flavonoides foi expressa como equivalentes de quercetina (µg EQ/g).

### 2.4. Avaliação do potencial antioxidante pelo método de DPPH e ABTS

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando o método de redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). O método de redução do DPPH foi realizado por microdiluição em microplacas de 96 poços proposto por Mezza *et al.*, (2017) e realizado em triplicata. A amostra foi solubilizada em etanol numa concentração de 1 mg/mL. Em microtubos, foram adicionadas as quantidades apropriadas dos extratos, do etanol (padrão) ou da solução de DPPH (em etanol). Posteriormente um volume de 300,0 µL de cada uma das soluções foi transferido para microplacas com 96 poços, ficando em repouso por 30 min sob o abrigo de luz. Em seguida, a leitura foi realizada no espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 517 nm. Para o controle, foi feita uma solução de 50 µL em 450 µL de solução DPPH, utilizando etanol como branco. A capacidade antioxidante foi determinada conforme equação: % de proteção = (Abs do controle – Abs da amostra) x 100 / Abs do controle. A concentração de inibição (CI<sub>50</sub>) foi determinada em (µL/mL) capaz de reduzir 50% da concentração inicial da solução padrão de DPPH 60 µM.

O método de análise antioxidante por ABTS é amplamente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de diferentes amostras, baseado na redução do radical ABTS<sup>+</sup> gerado pela oxidação do ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)). Inicialmente a solução estoque de ABTS foi preparada obtendo-se uma concentração de 7 mM. A solução de persulfato de potássio foi obtida numa concentração de 140 mM.

Posteriormente, foi realizado o preparo da solução do radical Cátion ABTS<sup>+</sup>, para isso, foi adicionado a um balão volumétrico 2,5 mL da solução de ABTS (7,0 mM), 44 µL da solução estoque de persulfato de fosfato (140 mM), a qual foi mantida sob abrigo de luz por 16h. Após, a solução de ABTS<sup>+</sup> foi diluída em aproximadamente 40 mL de etanol, até atingir uma absorvância de 0,7 +/- 0,05 num comprimento de onda de 734 nm. Para a execução do ensaio ABTS, adicionaram-se quantidades apropriadas das soluções das amostras, em uma concentração de 0,1 mg/mL, ou do padrão, etanol e solução de ABTS em eppendorfs de 500,0 µL, em triplicata. As soluções foram homogeneizadas e os eppendorfs foram submetidos a um banho ultrassônico por 6 minutos. Em seguida, transferiram-se 300,0 µL de cada solução para uma placa de 96 poços. Para o controle, adicionaram-se 300,0 µL da solução de ABTS em eppendorfs de 500,0 µL, em triplicata, utilizando-se etanol como branco. Em seguida, a leitura foi realizada no espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 517 nm (RE, *et al.*, 1999; RUFINO *et al.*, 2007; HAN; ZHANG; LUO, 2011; ZHU *et al.*, 2011).

## 2.6. Cultura de células

A linhagem de fibroblastos murinos L929 foi cultivada em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de glutamina e 100 U de penicilina 10 µg de estreptomicina/mL a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram manuseadas em ambiente estéril de câmara de fluxo laminar vertical e cultivadas em frascos plásticos para cultura (25 cm<sup>2</sup>, volume de 50 mL ou 75 cm<sup>2</sup>, volume de 250 mL).

## 2.7. Avaliação do potencial citotóxico dos extratos

A capacidade Tf-aqf e Tf-aqc em induzir a proliferação celular foi avaliada pelo ensaio de MTT ([brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio]) de Mosmam, 1983. Os fibroblastos (7x10<sup>3</sup> células/poço) foram cultivados em microplacas de 96 poços, e tratados apenas com DMEM (controle negativo) ou com Tf-aqf ou Tf-aqcas diluídos em meio de cultura DMEM, em concentrações de 1, 3, 9, 27 e 81 µg/mL. Como controle positivo foram utilizadas células tratadas com 1% de TRITON X-100. Após a incubação por 24h a 37 °C em estufa de CO<sub>2</sub>, adicionou-se 15 µg/mL de MTT, as placas foram mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 4 horas. Após o período de incubação, o sobrenadante foi desprezado e, adicionado 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), para solubilizar o formazan produzido. A densidade óptica (OD) da solução em cada poço foi registrada a 540 nm. A avaliação da citotoxicidade foi realizada em triplicata e os valores de absorvância foram expressos como percentagem de viabilidade celular, conforme a equação: (Abs de células tratadas/Abs de células não tratadas) x 100%.

## 2.8. Avaliação da capacidade cicatrizante *in vitro* dos extratos

A capacidade dos Tf-aqf e Tf-aqc em induzir a migração celular foi avaliada pelo ensaio de migração horizontal (*scratch-wound healing*) (CARDOSO *et al.*, 2018). Os experimentos foram realizados em triplicata. As células L929 (2x10<sup>5</sup> células/poço) foram plaqueadas em microplacas de 24 poços. Após 90% de confluência, foi realizado um risco linear em cada poço, com o auxílio de uma ponteira de 200 µL. Os poços foram lavados duas vezes com tampão salina fosfato (PBS), para remover os resíduos celulares. Em seguida, o meio removido foi substituído por um meio suplementado apenas com 1% de SBF na ausência dos extratos (controle negativo) ou na presença deles na concentração de 27 µg/mL. Foi feita a avaliação microscópica dos riscos, mediante as aquisições de imagens com uma câmera acoplada ao microscópio de luz invertida, nos tempos 0, 12 e 24 horas após o tratamento. A migração celular foi avaliada mediante a análise das imagens através do programa de análise de imagens ImageJ. O valor da migração das células, em porcentagem, foi obtido mediante o cálculo: % de migração = (A<sub>0</sub>-A<sub>t</sub>)/A<sub>0</sub> x 100, no qual A<sub>0</sub> é a área original e A<sub>t</sub> é a área no período de tempo após a lesão.

## 2.9. Análise estatística

Todos os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), e analisados empregando testes estatísticos. Os resultados foram considerados significantes quando p < 0,05. Os valores de CI<sub>50</sub> foram calculados por regressão não linear. Todos os dados foram analisados pelo programa GraphPad Prism versão 8.0.3.

### 3. Resultados

#### 3.1. Análise do perfil fitoquímico e quantificação do teor de fenólicos totais e flavonoides

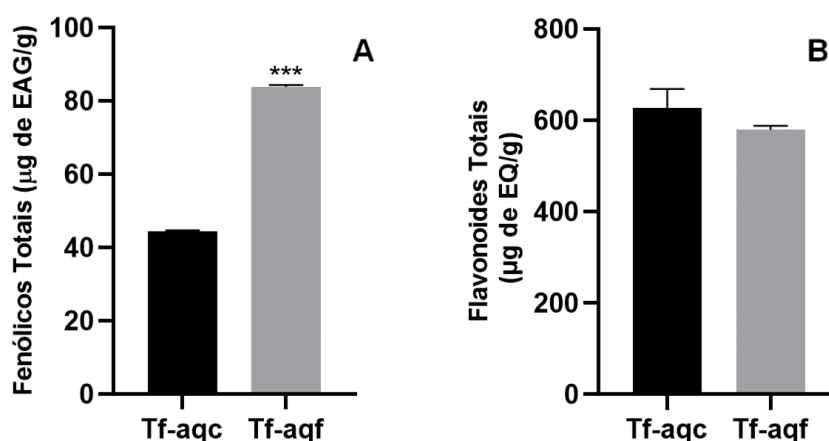
Partindo da triagem fitoquímica preliminar dos extratos de TF-aqf e TF-aqc, através da realização de testes colorimétricos e de formação de espuma, revelou a presença de fenóis, taninos, saponinas, flavonoides e alcaloides (Tabela 1). Apresentando maior intensidade da presença de fenóis no extrato das folhas.

**Tabela 1.** Tabela de prospecção fitoquímica dos extratos Tff-aq e Tfc-aq.

Teste	TF-aqf	TF-aqc
Saponinas	+++	++
Taninos, Gomas e Mucilagens	+++	+++
Taninos pirogálhicos	-	-
Fenois	+++	+
Flavonoides	+	+
Alcaloides	-	-
Taninos	-	-

(+++) Alta intensidade; (++) Média intensidade; (+) Baixa intensidade; (-) Ausente. Fonte: Autores, 2024.

Ainda referente aos metabólitos, os compostos fenólicos totais foram avaliados pelo método de Folin-Ciocalteu, os resultados foram expressos como micrograma equivalente ao ácido gálico por grama de extrato ( $\mu\text{g}$  de EAG/g) de peso seco da amostra. O valor de fenólicos totais observados foi de 44,33 e 83,89  $\mu\text{g}$  de EAG/g para os extratos TF-aqc e TF-aqf, respectivamente (Figura 1a). Na determinação de Flavonoides Totais, os dados foram expressos como micrograma equivalente a quercetina por grama de extrato ( $\mu\text{g}$  de EQ/g) de peso seco da amostra, obtendo-se 641,66 e 589,03  $\mu\text{g}$  de EQ/g para os extratos TF-aqc e TF-aqf, respectivamente (Figura 1b), corroborando com os dados obtidos na triagem preliminar.



**Figura 1.** Comparação da presença de compostos fenólicos e flavonoides nos extratos TF-aqf e TF-aqc. (a) Quantificação de compostos fenólicos. (b) Quantificação de flavonoides. \*\*\* $p < 0,001$ . Fonte: Autores, 2024.

#### 3.2. Avaliação do potencial antioxidante pelo método de DPPH e ABTS

O acúmulo de radicais livres além da capacidade de neutralização do organismo pode resultar em um estado de estresse oxidativo o que interfere diretamente em processos inflamatórios de forma que haja a sua intensificação e, por consequência, levando a um retardo do tempo hábil de fechamento da ferida (LOPEZ *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2023). Assim, torna-se importante buscar por produtos vegetais que apresentem potencial antioxidante e auxiliam no processo de cicatrização.

O método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) são técnicas utilizadas para avaliar a atividade antioxidante de compostos e extratos. Através dessa metodologia é possível avaliar substâncias com potencial para atividade antioxidante, a partir do parâmetro  $IC_{50}$  que representa qual a concentração do extrato é necessária para o DPPH e/ou ABTS perderem sua atividade em 50%. Os resultados são frequentemente expressos como porcentagem de inibição do DPPH e/ou ABTS, que indica o quanto o composto é capaz de neutralizar estes radicais livres.

Para calcular a porcentagem de inibição do radical DPPH (I%), foi utilizada uma curva linear baseada nos valores das concentrações empregadas e na capacidade de cada uma delas de reduzir a atividade do DPPH, utilizando-o o Trolox como controle positivo. As concentrações utilizadas vão de 40  $\mu\text{g/mL}$  a 500  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 2a e 2b).

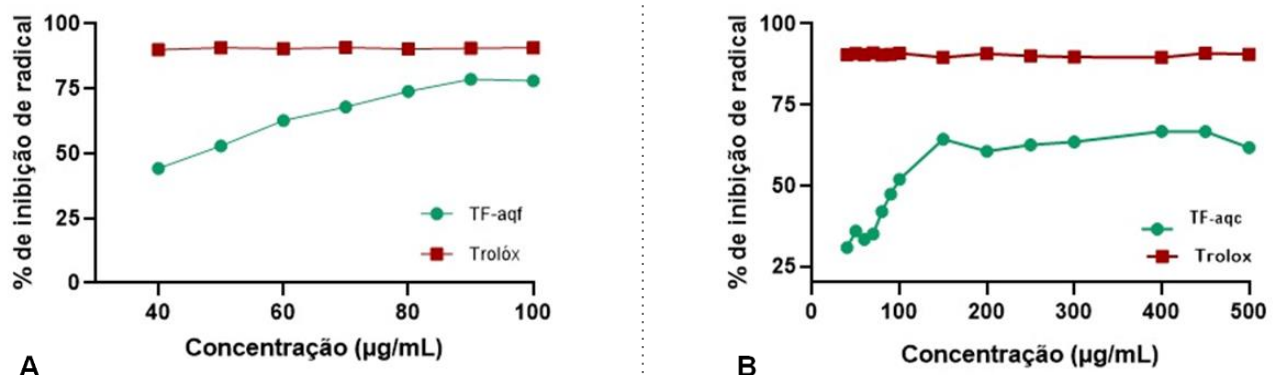


Figura 2. Porcentagem de inibição de radicais de DPPH pelos (a) TF-aqf e (b) TF-aqc.

As porcentagens de sequestro de DPPH ( $CI_{50}$ ) obtidas foram de  $46,19 \pm 3,58 \mu\text{g/mL}$  e  $118,7 \pm 14,92 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente, havendo diferenças significativas entre si. Pode-se inferir que ambos os extratos demonstraram um bom potencial antioxidante e o Tf-aqf se destaca por apresentar um valor menor de  $CI_{50}$ . Esses dados corroboram com os obtidos no perfil fitoquímico, em que o Tf-aqf apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos totais.

Para calcular a porcentagem de inibição do radical  $ABTS^+$ , foi utilizada uma curva linear baseada nos valores das concentrações empregadas e na capacidade de cada uma delas de reduzir a atividade do ABTS, utilizando o Trolox como controle positivo. Foram utilizadas concentrações crescentes de 5  $\mu\text{g/mL}$  a 100  $\mu\text{g/mL}$  para TF-aqf e TF-aqc (Figura 3). As porcentagens de redução do ABTS ( $CI_{50}$ ) obtidas foram de  $9,78 \pm 0,2103 \mu\text{g/mL}$  e  $15,45 \pm 0,528 \mu\text{g/mL}$ , para os extratos Tf-aqf e Tf-aqc, respectivamente, (Figura 3). Semelhante ao observado no ensaio de DPPH, o Tf-aqf mostrou-se mais potente em inibir o radical  $ABTS^+$ .

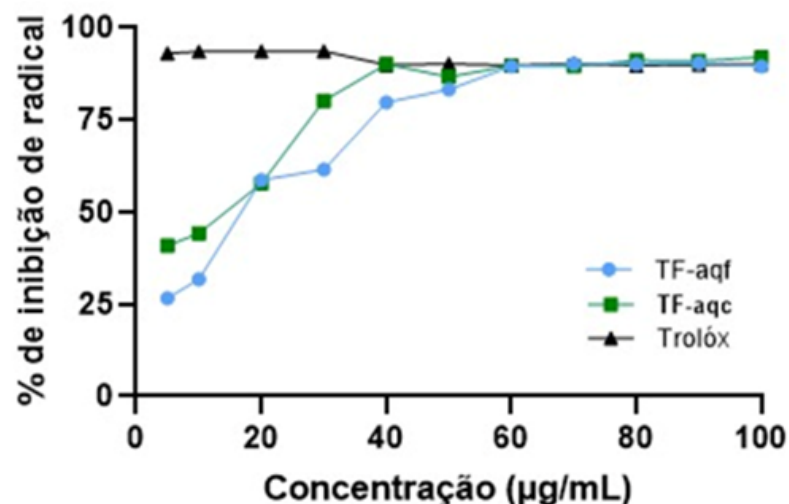
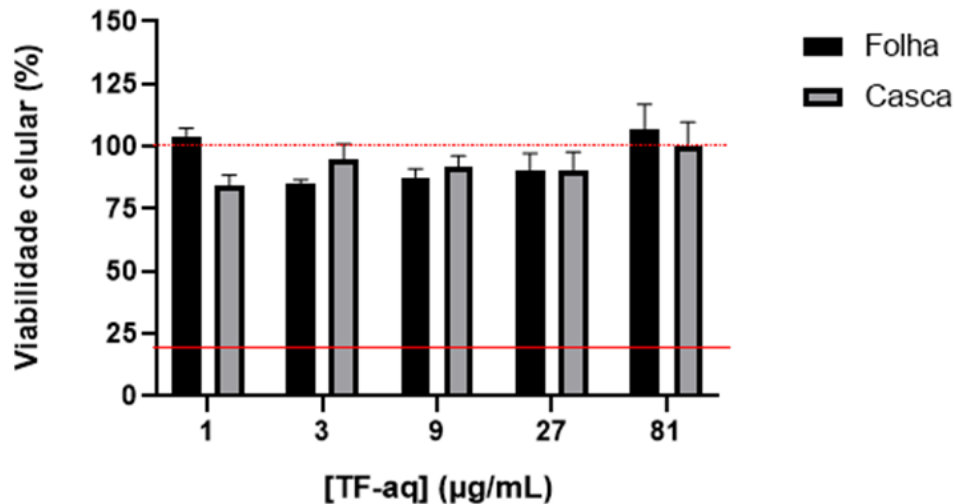


Figura 3. Porcentagem de inibição de radicais pelos TF-aqf e TF-aqc.

### 3.2. Avaliação do potencial citotóxico dos extratos

Para testar o potencial efeito citotóxico dos extratos de TF-aqf e TF-aqc sobre fibroblastos da linhagem L929, foi aplicado o ensaio de MTT. Ambos os extratos não apresentaram efeito citotóxico nas concentrações testadas (1 – 81  $\mu\text{g/mL}$ ) no período de 24 h (Figura 4).



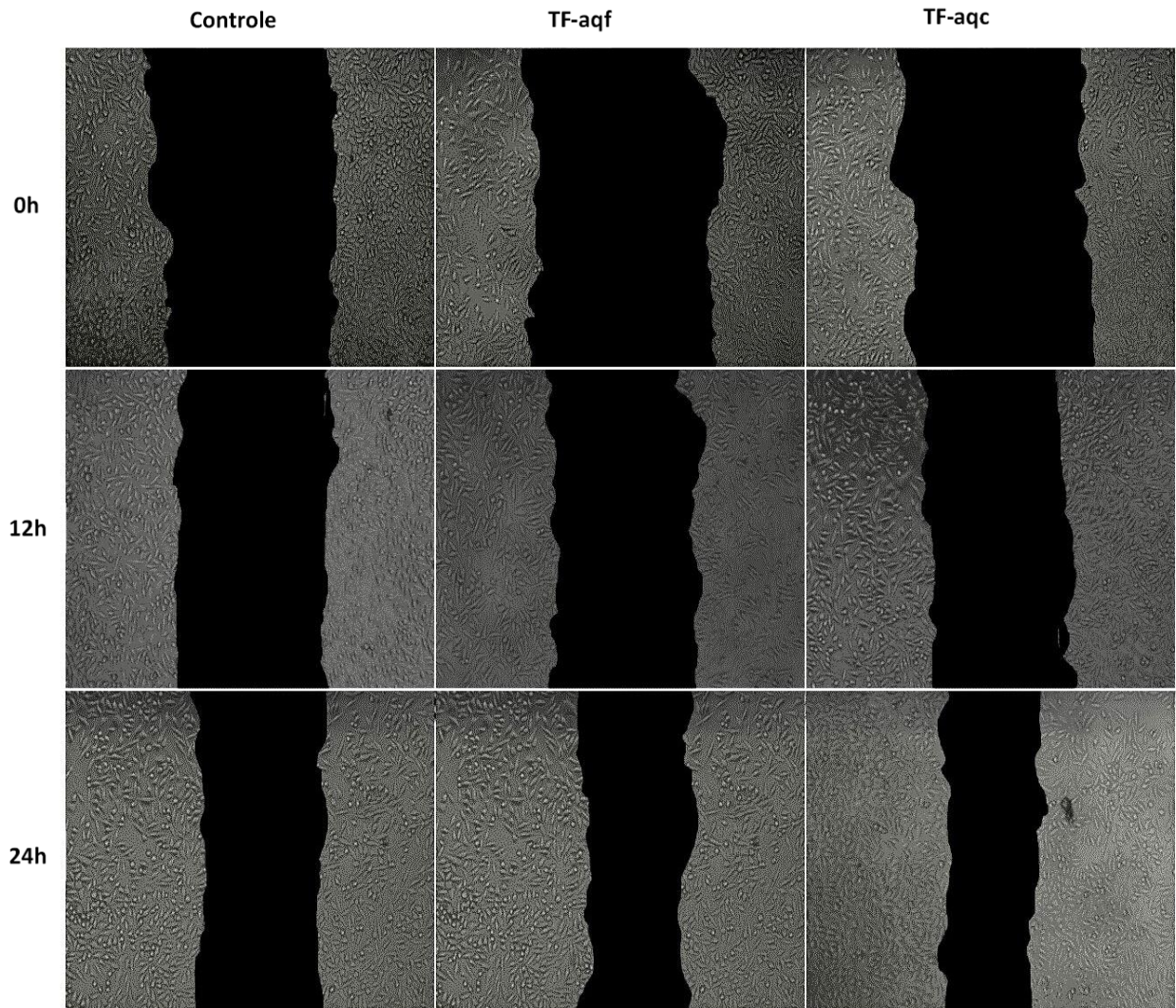
**Figura 4.** Efeito dos extratos de TF-aqf e TF-aqc sobre a viabilidade celular da linhagem fibroblastos da linhagem celular L929. A linha pontilhada vermelha representa o grupo controle, onde as células foram mantidas apenas com o meio de cultura (DMEM), a linha vermelha sólida representa as células na presença do TRITON X-100 (controle positivo) e as barras verticais representam a média e S.E.M de três experimentos independentes, cada um realizado em quadruplicata. ANOVA two-way, seguida do pós teste de Dunnet (controle negativo vs. TF-aqf ou TF-aqc).

Após a verificação da baixa toxicidade celular apresentada pelos extratos, dos metabólitos encontrados com a prospecção fitoquímica e da apresentação de atividade antioxidante por ambos, prosseguiu-se com a avaliação da capacidade cicatrizante, utilizando o ensaio de migração horizontal. Para isso, utilizou-se a concentração submáxima (27  $\mu\text{g/mL}$ ) utilizada no ensaio de MTT.

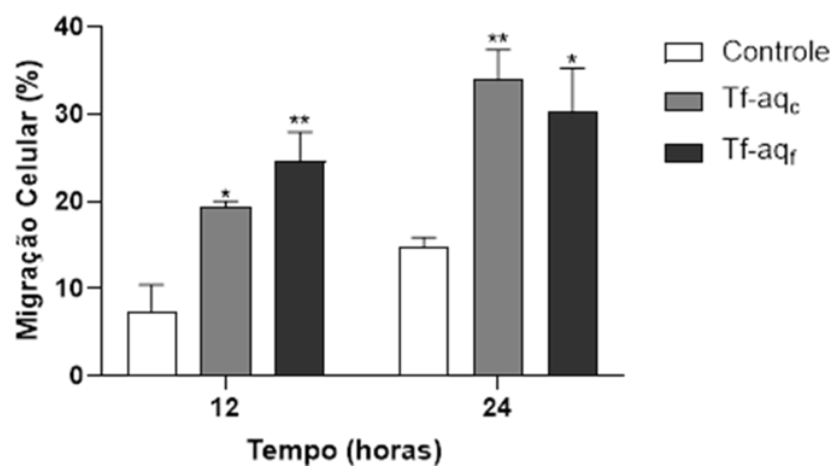
### 3.2. Avaliação da capacidade cicatrizante *in vitro* dos extratos

O efeito dos Tf-aqf ou Tf-aqc sobre a atividade migratória de fibroblastos foi avaliado utilizando o ensaio *scratch-wound healing*. Os fibroblastos tratados com o ambos os extratos apresentaram uma taxa de fechamento do risco superior ao observado com o grupo controle (Figura 5). Após 12 e 24 h de cultivo, é possível observar os níveis basais do fechamento do risco em células do grupo controle de 7,43% e 14,84%, respectivamente. Enquanto isso, os fibroblastos cultivados na presença da concentração de 27  $\mu\text{g/mL}$  de TF-aqf e TF-aqc, apresentaram um aumento na migração de 11,9% e 17,19% no tempo de 12 h e 19,1% e 15,55% no tempo de 24 h, respectivamente (Figura 6).





**Figura 5.** Imagens representativas da migração celular para a área livre de células após 12 e 24 h. Aumento de 100X.



**Figura 6.** A percentagem de riscos cobertos foi medida pela quantificação do total da distância em que as células moveram da borda do arranhão em direção ao centro do arranhão, usando o software ImageJ, seguida de conversão para uma percentagem da ferida abordada. As barras verticais representam a média  $\pm$  S.E.M de dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata. \*p < 0,05 e \*\* p < 0,01 comparado com células tratadas com veículo nos respectivos intervalos de tempo.

#### 4. Discussão

A *Tocoyena formosa*, popularmente conhecida como Jenipapo do campo, tem uma ampla distribuição no Nordeste brasileiro e é popularmente utilizada para diversas finalidades, dentre elas no auxílio do reparo tecidual (CESÁRIO *et al.*, 2019).

Estudos apontam que produtos naturais são ricos em compostos bioativos importantes no enfrentamento de alguns problemas de saúde por apresentarem propriedades analgésicas, antimicrobianas (DA SILVA *et al.*, 2019; CHOPRA; DHINGRA, 2021), cicatrizantes, anti-inflamatórias e antioxidantes (DE SÁ-FILHO *et al.*, 2021; VELOSO *et al.*, 2023). Assim, essa riqueza de propriedades faz dos produtos naturais potenciais alternativas terapêuticas para o tratamento de algumas condições como a demora na cicatrização de feridas (DE PRADO *et al.*, 2020). Para tanto, é importante investigar a composição química destes para relacioná-los com as propriedades difundidas em meio popular (DE SÁ-FILHO *et al.*, 2021).

Estudos realizados por Bolzani *et al.* (1996a, 1997b) identificaram a partir das cascas do caule e das folhas de *T. formosa* a presença de saponinas, flavonoides, iridoides e esteroides. CESÁRIO *et al.* (2019) avaliou qualitativamente o Extrato Hidroalcoólico das folhas de *T. formosa* e identificou algumas classes de metabólitos como: taninos condensados, flavonoides, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavonas, catequinas, leucoantocianidinas, triterpenoides pentacíclicos e saponinas.

Já é sabido que os metabólitos secundários desempenham um papel importante na defesa contra herbívoros e patógenos, além de atrair outros animais e proteger contra a radiação ultravioleta (DE SÁ-FILHO *et al.*, 2021). Este fato pode justificar a variação dessas quantificações dos extratos nas diferentes partes da planta. Além disso, seu conteúdo e composição química podem variar de acordo com condições climáticas e geográficas (AUAD, 2018).

Ademais, a presença dos compostos mencionados sugere que os extratos obtidos das diferentes partes dessa planta possuem potencial para apresentar atividades biológicas antioxidantes, anti-inflamatória e cicatrizante (SHUKLA; RASIK; DHAWAN, 1999; LU *et al.*, 2004; WYKOWSKI, 2012; JARDIM; CORTELLI, 2019; BACELAR, 2020; DA SILVA NETO *et al.*, 2022; PEREIRA; KAFER; WYREPKOWSKI, 2022; FARISCO *et al.*, 2019; DE VARGAS; ANDRADE, 2022; MORAES *et al.*, 2022).

O acúmulo de radicais livres além da capacidade de neutralização do organismo pode resultar em um estado de estresse oxidativo o que interfere diretamente na inflamação de forma que haja a sua intensificação e, por consequência, levando a um retardo do tempo hábil de fechamento da ferida (LOPEZ *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2023). Assim, torna-se importante buscar por produtos vegetais que apresentem potencial antioxidante e contribuam para a melhora do processo de cicatrização.

É importante salientar que o ensaio da capacidade antioxidante foi realizado com o extrato aquoso. Além disso, é importante ressaltar que ambos os métodos mostraram uma correlação demonstrando atividade antioxidante, mesmo depois de seguir metodologias diferentes. Os dados encontrados na literatura são escassos, tanto sobre a respectiva planta quanto ao método de extração escolhido baseado no uso popular, levando a dificuldade na comparação de resultados. Por outro lado, ao avaliar atividade antioxidante, pelo método de DPPH, do extrato hidroalcoólico de folhas de *T. formosa* (HELTF), Cesário *et al.* (2018) observaram apresentando uma  $CI_{50}$  de aproximadamente 180  $\mu\text{g/mL}$ , bem superior aos nossos achados. Tal diferença pode estar relacionada ao tipo de solvente e método de extração utilizado, resultado diretamente da quantidade e nos compostos extraídos.

Além disso, essa capacidade antioxidante pode estar relacionada com a presença dos metabólitos secundários encontrados na *T. formosa*, uma vez que estes já demonstraram ser bons antioxidantes naturais (FARISCO, 2019; DE VARGAS; ANDRADE, 2022). Devido a sua potencialidade em modular o estresse oxidativo, espera-se também que os extratos apresentem ação frente ao fechamento de feridas (ZAMBONI, 2023).

Os produtos de origem natural possuem inúmeras propriedades terapêuticas de acordo com a medicina popular (SOARES *et al.*, 2020; FONSECA *et al.*, 2023). Contudo, sua utilização deve ser cautelosa e seguida de testes científicos que, além de investigar seus 34 potenciais, atestem sua viabilidade terapêutica (ZAGO; DE MOURA, 2018; VELOSO *et al.*, 2023), tendo em vista que estes compostos podem apresentar toxicidade (PEDROSO; ANDRADE; PIRES, 2021; VELOSO *et al.*, 2023), o que compromete a confiabilidade de sua utilização.

O ensaio MTT tem sido amplamente utilizado em pesquisas experimentais para avaliar viabilidade celular (KUMAR; NAGARAJAN; UCHIL, 2018). Existem inúmeras vantagens do ensaio de MTT, a exemplo: facilidade e rapidez de execução, reprodutibilidade dos resultados, além de ser evidenciado uma correlação clínica entre os testes *in vitro* e *in vivo* (SASAKI *et al.*, 2019).

Há dificuldades em encontrar em artigos científicos estudos com espécies do gênero *Tocoyena* spp. para poder realizar uma discussão mais acurada. Em trabalhos avaliando a citotoxicidade de espécies da mesma família *Rubiaceae* foi possível identificar o trabalho de Oliveira *et al.* (2024). Os autores avaliaram o extrato de *Hamelia patens* sobre a viabilidade celular de fibroblastos da linhagem (NIH/3T3) e observaram que o extrato reduziu a viabilidade de maneira concentração-dependente a partir da concentração de 50 µg/mL. Arruda (2019), ao realizar testes com o extrato de *Morinda citrifolia*, nas concentrações de 6,25 µg/mL a 200 µg/mL, não encontrou citotoxicidade diante da linhagem de macrófagos murinos RAW 264.7. Bem, ambos os extratos Tf-aqf e Tf-aqc não foram citotóxicos em fibroblastos L929, dando segurança na avaliação do seu potencial cicatrizante.

Durante o processo de cicatrização de feridas, os fibroblastos são importantes para restaurar a integridade e função tecidual. As respostas dos fibroblastos adjacentes ao local da ferida incluem proliferação, migração (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; CARMO, 2019; GUSMÃO, 2023), além de auxiliar na contração da ferida, formação do tecido de granulação e síntese da nova matriz extracelular (MEC), produzindo principalmente colágeno, glicosaminoglicanos e proteoglicanos, sendo que a falta dessas funções leva ao comprometimento da cicatrização (LEAL; CARVALHO, 2014; MORESKI; BUENO; LEITE-MELLO, 2018; WANG *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2017).

Segundo achados de Oliveira *et al.* (2024), a espécie *Hamelia patens*, da mesma família botânica, aumentou a proliferação celular em células NIH/3T3 tratadas com o extrato nas concentrações de 10 µg/mL e 50 µg/mL. Estudos *in vitro* com fibroblastos humanos abordam a utilização de compostos fenólicos e flavonoides estando relacionados à estimulação da viabilidade celular, proliferação e migração celular (YANG *et al.*, 2016; MOGHADAM *et al.*, 2017; PIVEC *et al.*, 2019). Esse fato corrobora com os achados deste trabalho, visto que extratos de Tf-aqf e Tf-aqc são ricos em compostos fenólicos em especial flavonoides e apresentaram um bom perfil de acelerar a migração/proliferação celular de fibroblastos.

Todos esses dados corroboram com o uso popular da espécie *T. formosa* frente ao reparo tecidual, sendo uma potencial alternativa terapêutica na cicatrização de feridas cutâneas. Tais descobertas são relevantes para a avaliação de alternativas terapêuticas e até mesmo vislumbrar o desenvolvimento de um novo fitoterápico destinado a aprimorar o processo de cicatrização. No entanto, são necessários mais estudos para melhor caracterizar os mecanismos moleculares pelos quais *T. formosa* exerce tais efeitos biológicos.

## 5. Conclusões

Os extratos de TF-aqf e TF-aqc não demonstraram ser tóxicos para os fibroblastos murinos (L929) nas concentrações testadas, além de apresentar quantidades satisfatórias de compostos fenólicos, flavonoides e outros metabólitos secundários o que sugere que ambos possuem potenciais atividades anti-inflamatórias. Eles também exibiram atividade antioxidante, sendo capazes de inibir os radicais DPPH e ABTS mesmo em concentrações baixas. Assim, infere-se que tais extratos podem apresentar atividade biológica no combate à inflamação e ao estresse oxidativo, os quais são obstáculos para uma cicatrização eficiente. Os resultados indicam que os extratos das folhas e das cascas do caule de *Tocoyena formosa* se apresentam como uma potencial alternativa terapêutica frente à melhora do processo de cicatrização, principalmente para indivíduos com condições de saúde que o afetam. Tais descobertas são relevantes para a descoberta de alternativas terapêuticas e o desenvolvimento de produtos destinados a aprimorar o processo de cicatrização.

**Contribuições dos Autores:** Concepção, Émily; Prospecção fitoquímica, Andressa; Ensaios de compostos fenólicos e flavonoides, Pedro; Avaliação do potencial antioxidante, Emily e Natália; Ensaio de citotoxicidade, Adeilda; Avaliação da capacidade cicatrizante, Émily; Análises estatísticas, Hélder; Supervisão geral, Ana Carolina. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

**Financiamento:** Esta pesquisa foi financiada Universidade de Pernambuco (UPE) através do edital APQ-Multicampi 2022.

**Agradecimentos:** Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade de Pernambuco (UPE) por disponibilizar os recursos e os laboratórios que foram de suma importância para realização da pesquisa.

**Conflito de Interesse:** Os autores declaram não haver conflito de interesse. Os financiadores não tiveram interferência no desenvolvimento do estudo; na coleta, análise ou interpretação dos dados; na redação do manuscrito, ou na decisão de publicar os resultados.

## Referências

1. ALBUQUERQUE, U. P.; CUNHA, L. V. S. C.; LUCENA, R. F. P.; ALVES, R. R. N. **Methods and techniques in Ethnobiology and Ethnoecology**. New York, Springer Science+Business Media, 2014. p. 476.
2. ARRUDA, M. G. M. **Avaliação fitoquímica e hepatotóxica do extrato etanólico dos frutos de Morinda citrifolia Linn. em modelos experimentais**. Dissertação (mestrado em morfotecnologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.
3. AUAD, P. **Composição Química de Taninos Vegetais, Curtimento e Propriedades dos Couros**. Dissertação (mestrado em engenharia química) - Escola de engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.
4. AZEVEDO, C. F.; NETO, B. M. C.; DANTAS, I. C. Estudo farmacobotânico de *Tocoyena formosa* (Jenipapo-Bravo). In: Reunião Anual Da Sbpcc, 58., 2006, Florianópolis. **Estudo farmacobotânico de Tocoyena formosa (Jenipapo-Bravo)**. Anais eletrônicos. São Paulo : SBPC/UFSC, 2006.
5. BACELAR, T. S. **Identificação de flavonoides e taninos em plantas medicinais pertencente a lista estadual de plantas medicinais comercializadas em um mercado público em Fortaleza-CE**. Monografia (Graduação em Farmácia) – Centro Universitário Fametro, Fortaleza, 2020.
6. BELCHIOR, G. S. **Isolamento e análise do perfil químico e biológico do fungo endofítico TB3 da espécie vegetal Tocoyena bullata (Vell.) Mart. tendo em vista seu potencial antimicrobiano e anti-inflamatório**. Monografia (Graduação em farmácia), Campus UFRJ-Macaé, Macaé, 2021.
7. BOLZANI, V. S. et al. Antifungal iridoids from the stems of *Tocoyena formosa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, p. 157-160, 1996a.
8. BOLZANI, V. S. et al. Iridoids from *Tocoyena formosa*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 2, p. 305-308, 1997b.
9. BRASIL. Ministério da saúde. **Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS**. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnmpmf/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus>.
10. BRITO, A. S. B.; LEITE, F. A. S. Curativos de prata no tratamento de feridas exsudativas - uma revisão sistemática. **Revista Feridas**. Osasco, v. 9, n. 46, p. 1682-1689, 2021.
11. CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 20, p. 51-58, 2007. DOI: 10.1590/S0102-67202007000100010
12. CARMO, J. O. S. **Tratamento tópico com friedelina acelera a cicatrização de feridas cutâneas em camundongos diabéticos e induz a ativação de fibroblastos in vitro**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2019.
13. CARDOSO, S.H. et al. Synthesis of newly functionalized 1,4-naphthoquinone derivatives and their effects on wound healing in alloxan-induced diabetic mice. **Chemico-Biological Interactions**. v. 291, p. 55–64, 2018. DOI: 10.1016/j.cbi.2018.06.007.
14. CESÁRIO, F. R. A. S. et al. Chemical fingerprint, acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlecht.) K. Schum. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 5, p. 873-880, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2018.01.008
15. CHOPRA, B.; DHINGRA, A. K. Natural products: a lead for drug discovery and development. *Phytotherapy Research*, [S.L.], v. 35, n. 9, p. 4660-4702, 13 abr. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.7099>.
16. COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K. Schum. (*Rubiaceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 170-177, 2006. DOI: 10.1590/S0102-695X2006000200007.
17. CONCEIÇÃO, T. F. et al. Plantas medicinais no distrito de Coxipó do Ouro. **Observatório de la economía latinoamericana**, v. 21, n. 7, p. 7683-7695, 2023. DOI: 10.55905/oelv21n7-102.
18. DANTAS, J. S. et al. Qualidade de vida relacionada à saúde de pessoas com feridas crônicas e fatores associados. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 31, 2022. DOI: 10.1590/1980-265X-TCE-2022-0010pt.
19. DA SILVA, A. C. M. et al. O uso de três plantas medicinais populares no Brasil: uma revisão da literatura. **Revista saúde em foco**, n. 11, p. 435-444, 2019.
20. DA SILVA NETO, I. F. et al. Detecção de taninos em plantas exóticas cultivadas no Ceará. **Cadernos UniFOA**, v. 17, n. 49, p. 157-163, 2022. DOI, 10.47385/cadunifoa.v17.n49.3680
21. DE ALFAIA, L. S. C.; PANTOJA, M. S. **Suporte nutricional na cicatrização de feridas crônicas**. São Luís: Editora Pascal, 2022. p. 66.
22. DE PRADO, E. M. L. et al. **Pesquisa de produtos naturais para cicatrização de feridas. Tópicos Especiais em Ciência Animal IX**. 1ª Ed. Alegre : CAUFES, 2020. p. 282.

23. DE SÁ-FILHO, G. F. *et al.* Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096-e140101321096, 2021 DOI: 10.33448/rsd-v10i13.21096.
24. DE VARGAS, G. C.; ANDRADE, E. H. B. Estudo da atividade antioxidante dos compostos fenólicos na medicina preventiva: Revisão de literatura. **Visão Acadêmica**, Open journal Systems, v. 23, n. 1, 2022. DOI: 10.5380/acd.v23i1.73530.
25. SOUZA, R. K. S.; MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. da. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos y farmacológicos de espécies de *Rubiaceae* em Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 1, p. 140-156, 2013.
26. DOMINGUES, E. A. R.; URIZZI, F.; SOUZA, F. R. Efeito da terapia fotodinâmica em feridas agudas e crônicas: revisão de escopo. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 96, n. 38, 2022. DOI: 10.31011/reaid-2022-v.96-n.38-art.1360.
27. FARISCO, F. *et al.* **Dosagem de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante de extratos brutos de *Richardia Brasiliensis* Gomes (Poaia-Branca) produzidos por maceração dinâmica ou banho ultrassônico.** Monografia (Graduação em biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.
28. FERRAZ, M. P. S. *et al.* Plantas medicinais utilizadas no nordeste brasileiro com potencial fitoterápico: uma revisão bibliográfica. **Revista Etnobiologia**, Vol, v. 21, n. 2, p. 52-70, 2023.
29. FONSÊCA, A. C. D. *et al.* **Estudo Fitoquímico e potencial terapêutico da *Bauhinia variegata*.** Monografia (Graduação em farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2023.
30. FREEDMAN, B. R. *et al.* Breakthrough treatments for accelerated wound healing. **Science Advances**, v. 9, n. 20, p. eade7007, 2023. DOI: 10.1126/sciadv.ade7007.
31. FUHR MARCHESINI, B.; BAZI RIBEIRO, S. Efeito da ozonioterapia na cicatrização de feridas. **Fisioterapia Brasil**, v. 21, n. 3, 2020.
32. GÜLÇİN, I. *et al.* Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, (22, Setembro de 2003). v. 90, n. 2-3, p. 205-215. DOI: 10.1016/j.jep.2003.09.028
33. GUSMÃO, A. B. **Síntese verde de nanopartículas de prata a partir do extrato aquoso de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan e atividade de cicatrização *in vitro* em fibroblastos (L929).** Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento Socioambiental) - Universidade de Pernambuco, Garanhuns, 2023.
34. HAN, L.; ZHANG, HAI-D.; LUO, SHI-S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenol from betel nut seed and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, 10 (5), 2011. DOI: 10.5897/AJB11.703.
35. JARDIM, J. C. M.; CORTELLI, J. R. Avaliação dos mecanismos de cicatrização de feridas periodontais em pacientes diabéticos e não diabéticos. **Braz J Periodontol**, v. 29, p. 35-41, 2019.
36. JUNIOR, A. E. A.; CARBINATTO, F. M.; BAGNATO, V. S. **Feridas: um desafio para a saúde pública.** 1ª Edição. São Carlos: Instituto de Física de São Carlos - IFSC, 2019. P. 13-15.
37. KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P.D. Analysis of cell viability by the MTT assay. **Cold Spring Harb Protoc**, v. 469-471, 2018. DOI: 10.1101/pdb.prot095505
38. LEAL, E. C.; CARVALHO, E. Cicatrização de feridas: o fisiológico e o patológico. **Revista Portuguesa de Diabetes**, v. 9, n. 3, p. 133-143, 2014.
39. LOPEZ, T. *et al.* Wound Healing versus Metastasis: Role of Oxidative Stress. **Biomedicines**, v. 10, n. 11, p. 2784, 2022. DOI: 10.3390/biomedicines10112784.
40. LU, W. L. *et al.* Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activities of ketoprofen  $\beta$ -Cyclodextrin inclusion complexes in animals. **Biol Pharm Bull**, v.27, n.10, p.1515-1520, 2004. DOI: 10.2147/JPR.S295795.
41. MAGALHÃES, C. W. F. *et al.* **Análise das evidências científicas publicadas sobre a relação existente entre infecção de feridas e cicatrização quanto aos microrganismos e tratamento tópico.** Monografia (Graduação em enfermagem) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2022.
42. MATOS, F J A. **Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology.** 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, P. 476.
43. MEDA, Aline *et al.* Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food chemistry**, v. 91, n. 3, p. 571-577, 2005. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.10.006
44. MENDES, L. P. M. *et al.* Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciências farmacológicas básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 121-125, 2011.
45. MEZZA, G. N. *et al.* Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food Chemistry**, 242, p. 9-15, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.09.042.
46. MOGHADAM, S. E. *et al.* Wound Healing Potential of Chlorogenic Acid and Myricetin-3-O--Rhamnoside Isolated from *Parrotia persica*. **Journal Molecules**, v. 22, p. 1501, 2017. DOI: 10.3390%2Fmolecules22091501.
47. MORAES, G. V. *et al.* Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e238111436225-e238111436225, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i14.36225.

48. MORESKI, D. B.; BUENO, F. G.; LEITE-MELLO, E. V. de S. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de revisão. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 22, n. 1, 2018. DOI: 10.25110/arqsaude.v22i1.2018.6300.
49. MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
50. NASCIMENTO, E. G. R. Qualidade de vida de idosos com ferida crônica. Monografia (Bacharelado em Enfermagem) - Unidade Acadêmica de Enfermagem, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité. 2015.
51. NASCIMENTO, E. G. R. *et al.* Qualidade de vida de idosos com ferida crônica. **Revista Família, Ciclos de Vida e Saúde no Contexto Social**, v. 8, n.3, 2020. DOI: 10.18554/refacs.v8i3.4010
52. NASCIMENTO, G. F.; DUTRA, J. V.; MELO, F. R. Determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos dos vegetais: unha de gato (*Uncaria tomentosa*); indiano oli-banum (*Boswellia serrata*); gymnema (*Gymnema sylvestre*) e alcachofra (*Cynara scolymus*). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 96637-96656, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n12-235
53. OLIVEIRA, A. K. S. **Potencial terapêutico de flavonoides na síndrome dos ovários policísticos e complicações clínicas associadas**. Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2022.
54. OLIVEIRA, A. M. A. **Avaliação da atividade anti-leishmania de extratos de espécies de plantas nativas do mato grosso do sul**. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande/MS, 2021.
55. OLIVEIRA, G. R. *et al.* Avaliação da ação antioxidante e citotóxica do extrato etanólico de *Hamelia patens* Jacq. em células NIH 3T3. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 5, n. 5, p. 1407-1422, 2024. DOI: 10.36557/2674-8169.
56. PEDROSO, R. S., ANDRADE, G., PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, n. 2, p. e310218, 2021. DOI: 10.1590/S0103-73312021310218
57. PEREIRA, H. A.; KAFER, G. A.; WYREPKOWSKI, C. C. Triagem fitoquímica de plantas medicinais do bioma Pampa, da microrregião da campanha ocidental do Estado do Rio Grande do Sul. Phytochemical screening of medicinal plants of the Pampa biome, the micro-region of West Campaign of Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 28045-28054, 2022. DOI:10.34117/bjdv8n4-345.
58. PIVEC, T. *et al.* Chemical Structure–Antioxidant Activity Relationship of Water–Based Enzymatic Polymerized Rutin and Its Wound Healing Potential. **Journal polymers**, v. 11, p. 1566, 2019. DOI: 10.3390/polym11101566.
59. RE, R. *et al.* Antioxidant activity an applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology e Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999. doi: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
60. RIBEIRO, E. E. F. **Desenvolvimento e análise do efeito de um extrato combinado de andiroba, copaíba e guaraná em modelos de cicatrização *in vitro* e *in vivo***. Dissertação (Mestre em Cirurgia)-Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.
61. RODRIGUES, M. *et al.* Cicatrização de feridas: uma perspectiva celular. **National Library of Medicine**, v. 99, n. 1, p. 665-706, 2019. DOI: 10.1152/00067.2017.
62. RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **Comunicado Técnico, Embrapa Agroindústria Tropical**, 128, 2007.
63. SANTOS, D. L. *et al.* Saberes tradicionais sobre plantas medicinais na conservação da biodiversidade amazônica. **Ciências em foco**, v. 12, n. 1, p. 86-95, 2019. DOI: 10.1002/(SICI)1099-1573(199902)13:1%3C50::AID-PTR368%3E3.0.CO;2-V
64. SASAKI T *et al.* Evaluation of cell viability and metabolic activity of a 3D cultured human epidermal model using a dynamic autoradiographic technique with a PET radiopharmaceutical. **Scientific Reports**, v. 9, n. 10685, p. 1-10, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-47153-0.
65. SHUKLA, A.; RASIK, A. M.; DHAWAN, B. N. Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 13, n. 1, p. 50-54, 1999. doi: 10.1002/(SICI)1099-1573(199902)13:1<50::AID-PTR368>3.0.CO;2-V.
66. SILVA, Á. L. D. A. *et al.* Fatores preditores ao agravamento de feridas crônicas. **Revista Rene**, v. 21, e43615, 1, 2020. DOI: 10.15253/2175-6783.20202143615.
67. SOARES, J. A. S. *et al.* Potencialidades da prática da atenção farmacêutica no uso de fitoterápicos e plantas medicinais. **Journal Of Applied Pharmaceutical Sciences**. Minas Gerais, p. 10-21, 2020.
68. SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000200021.
69. SOUSA, E. A. *et al.* Composição química e atividade antileishmania de *Tocoyena hispida*. **Química Nova**, v. 42, n. 2, p. 192-196, 2019. DOI: 10.21577/0100-4042.20170313
70. VANLALVENI, C. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. **RSC advances**, v. 11, n. 5, p. 2804-2837, 2021. DOI: 10.1039/d0ra09941d.

71. VELOSO, A. R. *et al.* Cultivo e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 1, n. 1, p. 90-104, 2023. DOI: 10.25110/arqsaude.v27i1.20239068
72. VIEIRA, N. M. A.; DE FARIA NUNES, K. C.; BRAGA, L. M. Eficácia da alta frequência e microcorrente no processo de cicatrização de úlceras: um estudo clínico experimental. **Perquirere**, v. 1, n. 18, p. 236-249, 2021.
73. WANG, G. *et al.* The initiation of oxidative stress and therapeutic strategies in wound healing. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 157, , p. 114004, 2023. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.114004.
74. WANG, P. H. *et al.* Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n. 2, p.94-101, 2018. DOI: 10.1016/j.jcma.2017.11.002.
75. WYKOWSKI, R. **Saponinas: uma promessa da ciência contra o câncer**. 2012. 58f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
76. YANG, D. J. *et al.* Gallic acid promotes wound healing in normal and hyperglucidic conditions. **Molecules**, v. 21, p. 1-15, 2016. DOI: 10.3390/molecules21070899.
77. ZAGO, L. M. S.; DE MOURA, M. E. P. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: uma análise cienciométrica. **Tecnia**, v. 3, n. 1, p. 157-173, 2018.
78. ZAMBONI, L. F. **O efeito do ácido ascórbico na cicatrização cutânea de pacientes em pós operatório: da suplementação à aplicação tópica**. 2023. 26f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Universidade do Vale do Taquari – UNIVATES, Lajeado, 2023.
79. ZANOTI, M. D. U. Acompanhamento de pacientes com feridas crônicas em uma unidade básica de saúde do interior paulista. **CuidArte Enfermagem**, v. 15 , n. 2 , p. 196-204, 2021.
80. ZHU, KE-X. *et al.* Influence of ultrasound during wheat gluten hydrolysis on the antioxidant of the resulting hydrolysate. **International Journal of Food Science and Technology**, 46, 1053-1059, 2011.