



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS**  
**APLICADA A ANIMAIS DE INTERESSE REGIONAL**

**ESTUDO DE TOXICIDADE AGUDA E EFEITO CICATRIZANTE DO**  
**BIOPOLÍMERO AMILÁCEO COM EXTRATO DE BARBATIMÃO**  
**(*STRYPHODENDRON CORIACEUM BENTH.*)**

**Doutoranda: Thamires Pereira dos Santos Lima**  
**Orientador: Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa**

**Teresina – Piauí,**  
**2024**

**THAMIRES PEREIRA DOS SANTOS LIMA**

**ESTUDO DE TOXICIDADE AGUDA E EFEITO CICATRIZANTE DO  
BIOPOLÍMERO AMILÁCEO COM EXTRATO DE BARBATIMÃO  
(*STRYPHODENDRON CORIACEUM BENTH.*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito final à obtenção do título de doutora.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa**

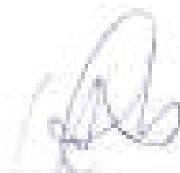
**Teresina-Piauí**

**2024**

ESTUDO DE TOXICIDADE ESTUDO DE TOXICIDADE AGUDA E EFEITO  
CICATRIZANTE DO BIOPOLÍMERO AMILÁCEO COM EXTRATO DE  
BARBATIMÃO (STRYPHODENDRON CORIACEUM BENTH.)

Thamires Pereira dos Santos

Banca Examinadora:



---

Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa  
(Orientador) / DMV/ CCA / UFPI



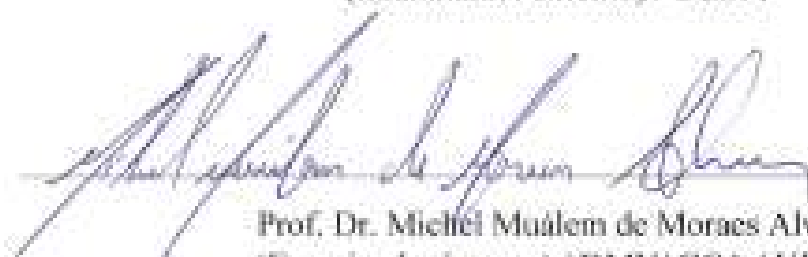
---

Prof. Dr. Antônio de Sousa Júnior  
(Examinador externo) / CTT



---

Prof. Dr. Antônio Luis Martins Maia Filho  
(Examinador externo) / UESPI



---

Prof. Dr. Michel Mualem de Moraes Alves  
(Examinador interno) / DMV/ CCA / UFPI



---

Prof. Dr. Flávio Ribeiro Alves  
(Examinador interno) / DMV/ CCA / UFPI

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial Centro de Ciências Agrárias  
Serviço de Processos Técnicos

L732e Lima, Thamires Pereira dos Santos.  
Estudo de toxicidade aguda e efeito cicatrizante do  
biopolímero amiláceo com extrato de barbatimão  
(*Stryphnodendron Coriaceum Benth.*) / Thamires Pereira dos  
Santos Lima. – 2024.  
97 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Centro  
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em  
Tecnologias Aplicadas a Animais, Teresina, 2024.  
“Orientador: Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa.”

1. Barbatimão. 2. Amido. 3. Gelatinização. 4. Hexametilol-  
melanina. 5. Curativo com princípio ativo. I. Costa, Amilton  
Paulo Raposo. II. Título.

CDD 581.634

Bibliotecário: Gésio dos Santos Barros - CRB3/1469

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)

## AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos a Deus, já que Ele colocou pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta.

A minha mãe Maria de Jesus, meu infinito agradecimento por todas as lições de amor, companheirismo, amizade, caridade, dedicação, abnegação e compreensão. Por nunca ter medido esforços para que eu alcançasse meus sonhos e estar sempre ao meu lado, incentivando-me sempre a ser otimista, acalentando-me quando precisei nos momentos difíceis. Obrigada pelo amor eterno e incondicional.

Agradeço aos meus filhos Raimundo Neto, Leona Cordélia e Otávio Augusto, pela motivação para continuar nessa caminhada e por ter me dado forças para vencer mais essa etapa na minha vida.

A meu querido e amado esposo, Raimundo Júnior, por ser tão importante em minha vida. Sempre a meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho.

Sou grata a todos os professores que contribuíram com a minha trajetória acadêmica, especialmente ao meu orientador prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa, responsável pela orientação do meu projeto e também a minha primeira orientadora profa. Dra. Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva por ter me dado a oportunidade de ingressar no doutorado e pelos ensinamentos iniciais. Sou grata a esses profissionais pela oportunidade e incentivo, e por ser um exemplo profissional e pessoa a ser seguido.

Ao Núcleo de Biotecnologia da Universidade Estadual do Piauí, em nome do Prof. Dr. Antônio Luiz Martins Maia Filho, que muito contribuiu nas análises histológicas e testes *in vivo*.

Ao Prof. Dr. Michel Muálem de Moraes Alves pelo auxílio nos estudos em toxicidade no modelo artrópode.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional UFPI, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constante, e que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização deste sonho, o meu sincero agradecimento.

MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

O Barbatimão do Piauí (*Stryphnodendron coriaceum Benth.*) é uma planta endêmica da região nordeste do Brasil, sobretudo nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Tocantins e oeste da Bahia. Este vegetal é associado à intoxicação alimentar de animais de rebanho, sobretudo bovinos e caprinos. No entanto, segundo a cultura popular esta planta também é utilizada no tratamento de diversas moléstias, como é o caso úlceras, gastrites, colites entre outras. Neste contexto, o trabalho propõe o desenvolvimento de um produto cicatrizante elaborado com o extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído, que funcionará como meio para a liberação controlada do princípio ativo, ao mesmo tempo em que age como proteção contra agentes externos. O produto desenvolvido foi caracterizado por Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), teste de viscosidade, análise termogravimétrica (TGA), estabilidade da dispersão. O composto foi preparado a partir da mistura de extrato de barbatimão em um compósito de amido e hexametilol-melamina na proporção de 40% em massa da resina. As formulações nas concentrações 0,15 mg/mL, 1,5 mg/mL, 15 mg/mL e 150 mg/mL de extrato de barbatimão passaram pelo teste de toxicidade em *Zophobas morio* e teste de cicatrização em ratos por um período de 21 dias para determinar a melhor formulação para o produto. O biopolímero amiláceo com extrato de barbatimão (*Stryphnodendron coriaceum benth*) possui estabilidade térmica (TGA), durabilidade e baixa toxicidade, compatíveis com um curativo de longa duração, porém teve o efeito cicatrizante prejudicado pela presença de componente amiláceo que causou reação tipo corpo estranho. Por ser uma formulação promissora, deve ser corrigido em sua formulação e testado novamente no protocolo de cicatrização.

**Palavras-chave:** Amido, gelatinização, hexametilol-melamina, curativo com princípio ativo.

## ABSTRACT

Barbatimão do Piauí (*Stryphnodendron coriaceum* Benth.) is a plant endemic to the northeast region of Brazil, especially in the states of Maranhão, Piauí, Ceará, Tocantins and western Bahia. This vegetable is associated with food poisoning in livestock animals, especially cattle and goats. However, according to popular culture, this plant is also used to treat various illnesses, such as ulcers, gastritis, colitis, among others. In this context, the work proposes the development of a healing product made with *Stryphnodendron coriaceum* Benth extract. added to a starchy melamine-formaldehyde composite that will function as a means for the controlled release of the active ingredient, while also acting as protection against external agents. The developed product was characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), viscosity test, Thermogravimetric Analysis (TGA), dispersion stability. The compound was prepared from a mixture of barbatimão extract in a composite of starch and hexamethylol-melamine in a proportion of 40% by mass of the resin. The formulations at concentrations of 0.15 mg/mL, 1.5 mg/mL, 15 mg/mL and 150 mg/mL of barbatimão extract underwent toxicity testing on *Zophobas morio* and healing tests on rats for a period of 21 days to determine the best formulation for the product. The starchy biopolymer with barbatimão extract (*Stryphnodendron coriaceum* benth) has thermal stability (TGA), durability and low toxicity, compatible with a long-term dressing, but its healing effect was impaired by the presence of a starchy component that caused a foreign body reaction. As it is a promising formulation, its formulation should be corrected and tested again in the healing protocol.

**Keywords:** Starch, gelatinization, hexamethylol-melamine, dressing with active ingredient.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- [Classificação dos diversos materiais de curativos](#)36

Tabela 2- [Comportamento do adesivo quanto a absorção de água em relação ao tempo](#)

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura padrão do amido.....	25
Figura 2- Estrutura dos híbridos de ressonância da melamina: (a) forma enamina. (b) forma imina.....	28
Figura 3- Estruturas dos produtos formados pela adição de formaldeído à melamina em proporções molares determinadas de melamina:formaldeído: (a) 1:1. (b) 1:2. (c) 1:3. (d) 1:4. (e) 1:5. (f) 1:6.....	30
Figura 4- Mecanismo reacional para síntese da resina melamina-formaldeído....	49
Figura 5- Resina melamina-formaldeído: (a) pura. (b) dissolvida em etanol.....	51
Figura 6- Espectros FTIR de barbatimão: (A) Extrato etanólico da casca; (B) Extrato etanólico da semente; (C) Extrato hexânico da casca; (D) Extrato hexânico da semente.....	54
Figura 7- Espectros FTIR da melamina, metiol-melamina e cola solúvel de amido com aditivo de resina melamínica.....	55
Figura 8- TGA/DTG do extrato de barbatimão: (A) Curva TGA; (B) Curva DTG..	56
Figura 9- TGA/DTG do adesivo amido + resina melamina-formaldeído.....	58
Figura 10- Grupos teste para estudo de toxicidade do biopolímero com extrato de barbatimão em tenébrios ( <i>Zophobas morio</i> ).....	62
Figura 11- Controle positivo com aplicação de 0,1 mL de DMSO em cada tenébrio. ....	63
Figura 12- Controle negativo sem aplicação nas larvas.....	64
Figura 13- Placas contendo tenébrios com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3000 mg/kg.....	65
Figura 14- Placas contendo tenébrios ( <i>Zophobas morio</i> ) com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 300 mg/kg.....	66
Figura 15- Placas contendo tenébrios ( <i>Zophobas morio</i> ) com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 30 mg/kg.....	67
Figura 16- Placas contendo tenébrios com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3 mg/kg.....	68
Figura 17- Curva de sobrevivência de tenébrios ( <i>Zophobas morio</i> ) em relação à dose de biopolímero com extrato de barbatimão .....	69

Figura 18- Análise da progressão do reparo do tecido epitelial em animais tratados por extrato de <i>Stryphnodendron coriaceum Benth.</i> agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.....	71
Figura 19-Análise da progressão do Infiltrado Inflamatório em animais tratados por extrato de <i>Stryphnodendron coriaceum Benth.</i> agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.....	72
Figura 20-Análise da progressão da proliferação Fibroblástica em animais tratados por extrato de <i>Stryphnodendron coriaceum Benth.</i> agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.....	73
Figura 21- Análise da progressão da Neovascularização em animais tratados por extrato de <i>Stryphnodendron coriaceum Benth.</i> agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.....	74
Figura 22- Fotomicroscopia com aumento de 40x de espécimes com 7 dias de lesão cutânea.A- Controle – 7d; B- Grupo 1 – 7d; C- Grupo 2 – 7d; D- Grupo 3 – 7d....	76
Figura 23- Fotomicroscopia com aumento de 40x de espécimes com 14 dias de lesão cutânea. A- Controle; B- Grupo 1 – 14d; C- Grupo 2 – 14d e D- Grupo 3 – 14d...77	77
Figura 24- Fotomicroscopia com aumento de 40x de espécimes com 21 dias de lesão cutânea. A- Controle – 21d controle; B- Grupo 1 – 21d; C- Grupo 2 – 21d e D- Grupo 3 – 21d.....	79
Figura 25- Fotomicroscopia com aumento de 100x (A) e 400x (B) de espécime do Grupo 1 com 21 dias de lesão cutânea.....	80

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	18
<b>2.1 Objetivos gerais</b> .....	18
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	18
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
<b>3.1 Barbatimão</b> .....	19
<b>3.2 Uso farmacológico do barbatimão</b> .....	23
<b>3.3 Amido</b> .....	25
<b>3.4 Melamina</b> .....	28
<b>3.5 Pele</b> .....	31
<b>3.6 Cicatrização</b> .....	33
<b>3.7 Curativos</b> .....	34
<b>3.8 Sistema de liberação controlada de fármacos</b> .....	37
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	40
<b>4.1 Preparo do adesivo amiláceo</b> .....	40
<b>4.2 Preparo da resina</b> .....	40
<b>4.3 Caracterização do material</b> .....	41
<b>4.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho</b> .....	41
<b>4.3.2 Análise termogravimétrica</b> .....	41
<b>4.3.3 Medidas de viscosidade</b> .....	41
<b>4.4 Avaliação do produto</b> .....	42
<b>4.4.1 Absorção de umidade</b> .....	42
<b>4.4.2 Tempo de prateleira em ambiente aberto e fechado</b> .....	42
<b>4.5. Estudo biológico</b> .....	43
<b>4.5.1 Teste de toxicidade no modelo arrópode tenébrio</b> .....	43
<b>4.5.2 Experimento <i>in vivo</i> em ratos wistar</b> .....	43
<b>4.5.2.1. Tratamento fitoterápico</b> .....	45
<b>4.5.2.2. Análise de resistência</b> .....	45
<b>4.5.2.3. Análise macroscópica</b> .....	46
<b>4.5.2.4. Análise microscópica</b> .....	46

4.5.2.5. Eutanásia e descarte de animais.....	46
4.5.2.6. Análise estatística.....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1 Preparo do adesivo amiláceo.....	48
5.2 Preparo da resina.....	49
5.3 Caracterização do material.....	53
5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho.....	53
5.3.2 Análise termogravimétrica.....	56
5.3.3 Medidas de viscosidade.....	59
5.4 Avaliação do produto.....	60
5.4.1 Absorção de umidade.....	60
5.4.2 Tempo de prateleira em ambiente aberto e fechado.....	60
5.5. Estudo biológico.....	62
5.5.1 Teste de toxicidade no modelo arrópode tenébrio.....	62
5.5.2 Experimento <i>in vivo</i> em ratos wistar.....	69
6. CONCLUSÃO.....	82
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84



## 1. INTRODUÇÃO

Na natureza, muitas espécies vegetais são conhecidas por serem fonte de várias substâncias que causam impactos a outras espécies, sendo que estes efeitos podem ser benéficos, como o tratamento de doenças, ou indesejáveis, quando estes metabólitos são capazes de criar efeitos danosos a outros. Quando, um vegetal tem a característica de causar efeitos positivos à saúde, este é denominado como planta medicinal, e é conceituado como sendo aquele que ao ser administrado aos seres vivos, por qualquer via, exerce ação terapêutica (ALMASSY JÚNIOR *et al*, 2005). O tratamento clínico utilizando plantas de interesse medicinal é denominado fitoterapia e os produtos medicamentosos gerados são conhecidos por fitoterápicos. Atualmente existe grande demanda pelo uso de substâncias de origem natural como forma de conexão com o meio ambiente, ao utilizar substâncias advindas da natureza com a finalidade de melhorar funções fisiológicas, imunidade, desintoxicação, incremento na expectativa de vida e tratamento de marcas ou lesões na pele (SCHENKEL *et al*, 2000).

Em contrapartida, plantas que geram metabólitos danosos à vida das espécies são denominadas de plantas ou vegetais tóxicos e são definidas como aquelas que independente da forma de administração podem causar danos à saúde do ser humano ou de outras espécies animais ou vegetais (TOKARNIA *et al*, 2012; PESSOA *et al*, 2013).

Foram descritas no Brasil cerca de 130 plantas tóxicas que apresentem algum efeito danoso a outros animais (TOKARNIA *et al.*, 2012). Estas plantas causam problemas de saúde em diversos graus, sendo que a intoxicação decorrente da ingestão pode afetar diferentes órgãos ou sistemas do corpo de animais de criação (CAMPOS; CARRER, 2010).

No nordeste brasileiro, a planta *Stryphnodendron coriaceum Benth.*, vulgarmente conhecida como barbatimão, barbatimão do nordeste ou barbatimão do Piauí, é uma das mais abundantes e uma das que mais causam intoxicação e prejuízos na pecuária, sendo muito comum efeitos sobre o sistema digestório, fotossensibilização e aborto em bovinos (BENÍCIO *et al.*, 2007; TOKARNIA *et al.*, 2012).

Apesar do conhecimento sobre a existência e toxicidade do barbatimão (TOKARNIA *et al.*, 1979; RIET-CORREA *et al.*, 1993; RIET-CORREA *et al.*, 2009;

TOKARNIA et al., 2012), ainda é necessário estudos sobre sua atuação no corpo dos animais e composição química, demonstrando assim quais delas são tóxicas e em que dose para os rebanhos que porventura entrem em contato. Principalmente para entender os efeitos no sistema digestório e a fotossensibilidade provenientes da ingestão, podendo desta forma desenvolver métodos para o combate das toxinas no corpo do animal (TOKARNIA et al., 2012; PESSOA et al., 2013; NASCIMENTO, 2018).

Há várias possibilidades de se realizar o estudo toxicológico de plantas, sendo estes embasados nos princípios de toxicologia, pois para uma substância poder ser considerada um agente tóxico dependerá das condições de exposição, como: dose, tempo, frequência e via de administração (VENANCIO, 2006). Geralmente os estudos de toxicidade, em laboratório, são realizados com ratos, porque os resultados obtidos com esta espécie, permitem fazer uma inferência para outras espécies animais e também para o homem (MARCONDES; BIANCHI; TANO, 2002).

A toxicidade aguda e crônica de substâncias pode ser avaliada através de observações do comportamento, variações no consumo de ração, evolução ponderal, avaliação biométrica dos órgãos e alterações orgânicas visualizáveis macro e microscopicamente. As determinações hematológicas e bioquímicas sanguíneas são fundamentais para prever a influência da substância-teste sobre a homeostase e o estado das funções hepática e renal (OECD, 2001).

Um contraponto a se fazer é que muitas vezes um vegetal considerado tóxico, também pode agir como planta medicinal se aplicado adequadamente, como é o caso do *Stryphnodendron coriaceum Benth.* que tem papel importante na indústria farmacêutica, por ser antimicrobiano e auxiliar no tratamento de lesões cutâneas, já que possui elevada quantidade de taninos presentes na casca de seus troncos e em suas vagens e sementes (CARVALHO et al., 2009; CASTRO et al., 2009). O tanino é um composto muito utilizado para fins medicinais, tanto de forma popular como nas indústrias farmacêuticas para o tratamento de muitos males (MONTEIRO et al., 2006), como é o caso de hemorroidas, conjuntivite, inflamações, hemorragias, diarreias, leucorreias e como tratamento para processos infecciosos, viroses, dengue, malária, febre, problemas hepáticos, infecções no trato urinário e por sua ação cicatrizante, onde o alto teor de taninos favorece a ligação química entre essas moléculas aos tecidos, gerando desta forma uma proteção que impede a ação de microrganismos e assim favorece uma aceleração no processo de cura e cicatrização (SOUZA et al.,

2006; OLIVEIRA & FIGUEIREDO, 2007; MACEDO *et al.*, 2007; ARDISSON *et al.*, 2002).

Além do uso medicinal, existem variados usos para o barbatimão. Seu tronco tem uso madeireiro por possuir elevada resistência mecânica, à ação da água e do calor do sol (MARTINS & NAKAGAWA, 2008).

As diversas espécies de barbatimão apresentam estudos justificando o seu uso como produto medicinal, tanto em nível das comunidades pela cultura popular como pela indústria farmacêutica. No entanto, a espécie *Stryphnodendrum coriaceum Benth.* é menos pesquisada que outras, como por exemplo o *Stryphnodendrum adstrigens*, principalmente pelo fato que o *S. coriacium* é comum apenas no Piauí e em partes dos estados do Maranhão, Tocantins e Bahia e é menos conhecido por seus efeitos medicinais que pelos prejuízos causados por intoxicação alimentar nos rebanhos de bovinos, caprinos e ovinos que se alimentam de suas favas no período de estiagem.

Diante do potencial uso do barbatimão como cicatrizante cutâneo, é importante fazer uso de um carreador que sirva como agente em duas frentes. Primeiro realize a proteção mecânica da lesão e posteriormente sirva como meio para a liberação controlada do fármaco. Assim, o meio deverá possibilitar a concentração e tempo de contato adequado com a lesão. Uma forma de garantir esses requisitos pode ser associar o extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* a um biopolímero.

Biopolímero é uma substância composta por monômeros de origem natural, como a glicose que naturalmente, nas plantas, forma amido ou celulose. Escolhendo o polímero de reserva energética, que é um dos mais abundantes do planeta, pode-se associar outras substâncias para aumentar a estabilidade e reduzir a solubilidade em solventes polares. Assim, ao associar o amido e a hexametilol-melamina, cria-se um biopolímero com função de cola e que apresenta baixa solubilidade em água. Por meio desta formulação, pode-se associar ao extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.*, que funcionaria como princípio ativo de ação cicatrizante (LANINI *et al.*, 2009). Ao mesmo tempo, o uso do biopolímero apresentado teria a vantagem de ser um agente colante que serviria como curativo.

Como justificativa, pode-se dizer que, uma das substâncias mais utilizadas nos dias de hoje e que foi uma das primeiras matérias-primas colantes conhecidas pelo ser humano é o amido, que após sofrer reação de gelatinização em meio aquoso, sob

aquecimento brando, gera um composto com alta capacidade colante após a secagem do solvente.

Essas colas amiláceas têm o inconveniente de serem bastante hidrofílicas, ou seja, são úteis para superfícies com esta propriedade, como papel. Entretanto, em ambientes saturados de umidade, o poder adesivo do produto é bastante reduzido. Então, verifica-se que para agregar valor comercial ao produto, deve-se acrescentar aditivos para melhorar suas propriedades, como aumentar sua durabilidade, (já que este polissacarídeo é fonte de alimento para muitas espécies de microrganismos), elasticidade, afinidade com substratos específicos e mesmo solubilidade em água.

Com a finalidade de aumentar a resistência a umidade, uma substância que pode ser utilizada é a melamina, por tratar-se de um monômero que ao se polimerizar torna-se um composto bastante hidrofóbico e devido a esta propriedade pode reduzir a solubilidade da cola amilácea em meio aquoso. Com vista nesta situação, comercial e industrialmente, a resina melamina-formaldeído é muito utilizada devido a sua afinidade com o amido.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Formulação de um cicatrizante à base de extrato de barbatimão (*Stryphnodendron coriaceum Benth.*), associado a um biopolímero formado pela mistura de amido e resina melamina-formaldeído, para aplicação em ferimentos da pele de animais, de modo que a ação protetora e cicatrizante permaneça por, pelo menos 21 dias.

### 2.2. Objetivos específicos

- Produzir extratos etanólicos e hexânicos de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* através de extração de Soxhlet;
- Caracterizar os extratos de barbatimão produzidos por Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Análise termogravimétrica (TGA) e assim determinar qual deles é mais adequado para o uso como fititerápico;
- Formular compósito proveniente da junção de biopolímero de melamina-formaldeído e amido com aditivo de extrato de extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.*, determinando a estabilidade do produto desenvolvido;
- Determinar a toxicidade do extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* em um modelo artrópode de tenébrios (*Zophobas morio*);
- Testar ação cicatrizante do biopolímero amiláceo com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na cicatrização induzida de ratos Wistar;
- Calcular o potencial de regressão da área das lesões cutâneas tratadas com compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.*;
- Verificar comparativamente a reparação tecidual entre o grupo de controle e os grupos experimentais.
- Avaliar as diferenças histológicas, de forma quantitativa, das células inflamatórias, fibroblastos no processo de reparo das lesões cutâneas tratadas com compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.*;

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. Barbatimão

O cerrado é um dos maiores e mais importantes biomas do mundo. No Brasil, é o segundo maior em extensão, apenas atrás da floresta amazônica. É reconhecido por apresentar uma notável diversidade florística a nível mundial (MARTINS et al., 2015; KLEIN, 2000), apesar de que nas últimas décadas, com o avanço das monoculturas de soja, arroz, pecuária extensiva, carvoaria e extração de madeira, o cerrado tornou-se uma das paisagens mais devastadas, tendo sua fauna e flora grandemente ameaçadas pela atividade humana (FRANCO et al., 2016).

No cerrado e em biomas de transição presentes no Piauí, existe uma abundância de espécies vegetais, que servem como alimentação para uma exuberante fauna. Há uma grande alternância de características vegetais com algumas espécies de grande porte até vegetação arbustiva. Algumas espécies que se destacam são: babaçu (*Orbignya phalerata*), bacuri (*Platonia insignis*), brejaúba (*Toxophoenix aculeatissima*), buriti (*Mauritia flexuosa*), guariroba (*Syagrus oleracea*), jussara (*Euterpe edulis*) e macaúba (*Acrocomia aculeata*) (LIMA et al, 2003), entre várias outras que tem seus frutos como fonte de alimento de animais e mesmo do ser humano, possuindo algumas vezes valor para a indústria alimentícia, como é o caso do bacuri e do figo (RIBEIRO NETO et al, 2020; ANICETO, 2017).

Entre as várias famílias vegetais que possuem representantes neste bioma, destaca-se a existência de variados espécimes da família Fabaceae, um grupo vegetal que apresenta 730 gêneros e em torno de 19.400 espécies que podem ser classificadas em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinioideae e Faboideae ou Papilionoideae (LIMA et al., 2018). Esta família é considerada uma das mais importantes e também uma das maiores em comparação com as demais famílias botânicas. Principalmente pelo fato de possuir uma ampla variedade de espécies com características bastante diversas, como é o caso de plantas medicinais, alimentícias, ornamentais, madeiras, entre outras com valores econômicos substanciais. Também deve-se pontuar que dentro deste táxon vegetal, as espécies também apresentam grande variedade de porte, indo desde vegetação arbustiva até árvores de grande porte, mas todas possuem em comum o fato de terem seus frutos na forma de vagens (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002; VIERA, 2019).

O barbatimão é o nome popular de várias espécies dos gêneros *Stryphnodendrum*, *Acacia* e *Mimosa*, todos pertencentes à família Fabaceae. Dependendo da região geográfica predomina uma espécie, tendo em vista que é um vegetal típico de clima tropical, apresentando representantes nos biomas do cerrado, mata atlântica e floresta amazônica (CORRÊA, 1926). Trata-se de uma árvore de pequeno a médio porte, caducifólio, hermafrodita, apresenta folhas pequenas e ovaladas. Apresenta tronco bastante ramificado, com cor marrom claro, casca rugosa. Os frutos são vagens que possuem várias sementes de cor avermelhada a castanho escuro em seu interior. A sazonalidade deste vegetal ocorre entre os meses de junho a setembro, quando as vagens caem no chão e os animais herbívoros as comem causando de intoxicação leve até a morte dos mesmos (SANCHES *et al.*, 2005). O barbatimão é uma das plantas tóxicas que causam quantitativamente maior número de mortes no rebanho bovino (BRITO *et al.*, 2001).

Dentre as variedade de barbatimão existe uma que é endêmica aos estados do Piauí, Maranhão, Ceará, Tocantins e Bahia, trata-se da espécie *Stryphnodendrum coriaceum Benth.*, vegetal este que já é fonte de vários trabalhos devido ao seu potencial uso como produto medicinal (SANCHES *et al.*, 2007), uso industrial (CARVALHO *et al.*, 2009) e risco à saúde dos rebanhos existentes na região em que é encontrado (CASTRO *et al.*, 2009).

Estudos revelam a existência de 25 espécies com características similares e que são denominadas pelas comunidades como barbatimão. Destas, 21 são comumente encontradas em território brasileiro (SCALON, 2010), sendo que oito destas estão presentes na região nordeste: *Stryphnodendrum coriaceum Benth.*, *Stryphnodendrum barbadetman Mart.*, *Stryphnodendrum polyphyllum Mart.*, *Stryphnodendrum rotundifolium Mart.*, *Stryphnodendrum obovatum Benth.* (SANCHES *et al.*, 2007), *Stryphnodendrum guianense Benth.*, *Stryphnodendrum polystachyum Kleinh.*, *Stryphnodendrum pulcherrimum Hochr* (SCALON, 2010).

O barbatimão é um vegetal bastante resistente, podendo prosperar facilmente mesmo em ambientes com poucos nutrientes no solo, como em climas semiáridos. No caso do bioma cerrado, apenas duas espécies típicas do nordeste brasileiro são amplamente distribuídas (SCALON, 2010).

O *Stryphnodendrum coriacem Benth* é conhecido como barbatimão, barbatimão do Nordeste ou Barbatimão do Piauí. Este vegetal está associado a vários casos de

intoxicação alimentar dos rebanhos de herbívoros entre os meses de julho a setembro que corresponde ao período em que as favas caem das árvores (MELLO *et al.*, 2010).

Apesar do nome “Barbatimão do Piauí”, este vegetal tem uma grande distribuição, sendo encontrado no Maranhão, Piauí, Ceará, Tocantins e oeste da Bahia. Interessante mencionar que em território baiano o *Stryphnodendrum coriacea* é conhecido como fava ou faveira e o nome Barbatimão é usado para se referir a *Dimorphandra mollis* e *D. gardneriana* (TOKARNIA *et al.*, 2000).

Durante o período de seca, ocorre escassez de alimentos e essa situação é concomitante com a queda das favas o que faz com que o gado bovino, ovino, caprino e mesmo animais herbívoros que compõe a fauna da região, comam estes frutos que causam desde pequenos distúrbios no trato intestinal até a morte (TOKARNIA *et al.*, 2000).

Alguns estudos revelam que a dose letal para bovinos, das favas maduras ingeridas diretamente do solo, é de 10g/kg, que pode ser ingerida em um único dia. Mas essa dose pode ser particionada para 5g/kg se ingerido em dois dias consecutivos ou até mesmo em 2,5g/kg quando esta ingestão ocorre em 4 dias consecutivos. Os caprinos por sua vez apresentam maior resistência e necessitam de uma ingestão de 20 a 30 g/kg em uma única ingestão para sofrerem os efeitos da intoxicação (TOKARNIA *et al.*, 2000).

Mesmo com o conhecimento sobre a existência e toxicidade das diversas espécies de barbatimão (TOKARNIA *et al.*, 1979; RIET-CORREA *et al.*, 1993; RIET-CORREA *et al.*, 2009; TOKARNIA *et al.*, 2012), ainda é necessário estudos sobre sua atuação no corpo dos animais e quais substâncias estão presentes neste vegetal, sobretudo na espécie *Stryphnodendrum coriaceum Benth.* que por não possuir distribuição territorial a nível nacional, não possui muitos estudos com a finalidade de demonstrar quais de seus componentes químicos são responsáveis por sua toxicidade.

Entretanto, apesar dos conhecidos efeitos danosos já mencionados, o *Stryphnodendrum coriaceum Benth* é um vegetal potencialmente importante para o ser humano, já que apresenta em sua composição elevada concentração de taninos, sobretudo em sua casca, possui corante de cor vermelha e substâncias da classe das saponinas. Todos esses metabólitos possuem usos na indústria química (produção de tintas e detergentes) e na indústria farmacêutica (produção de fitoterápicos (TURSCH

*et al.*, 1965; TROPICAL PLANTS DATABASE, 2024). Sendo que este efeito medicinal já está bastante difundido por sua ação microbiana e tratamento de lesões cutâneas e relacionadas ao trato digestivo, como úlceras, gastrites e colites (SOUZA *et al.*, 2013; TROPICAL PLANTS DATABASE, 2024).

Empiricamente, o barbatimão é usado tanto de forma interna como externa ao corpo. Sendo que as principais partes de interesse do vegetal são as cascas e as folhas. Destas, as comunidades produzem infusões e extratos alcoólicos utilizados no tratamento de infecções vaginais, hemorroidas, ulcerações na pele e estômago, além de outros distúrbios do sistema digestório como diarreias e colites (ALMEIDA, 1998; SILVÉRIO, 2008; MELO, 2011; GLASENAPP, 2011).

Os principais compostos químicos encontrados no Barbatimão são taninos, alcaloides, flavonoides, terpenóides, estilbenos, esteroides, algumas substâncias com a função de inibir atividade proteica, como a tripsina, principalmente estes compostos que possuem a função de impedir a ação das proteínas correspondem às substâncias que tem ação anti-inflamatória e antimicrobiana. Já no caso dos taninos que podem ser extraídos das cascas das árvores e das vagens produzidas, apresentam a propriedade de precipitar as proteínas da epiderme, derme e mucosas, tornando-as em compostos insolúveis (ABIFISA, 2024; MONTEIRO *et al.*, 2005; VASCONCELOS *et al.*, 2004).

Os taninos apresentam atividade tóxica, pois possuem a capacidade de realizar ligações com proteínas e outras macromoléculas, devido a sua adstringência. Além de ter a possibilidade de complexarem com certa facilidade com íons metálicos, o que gera elevados problemas pelo fato que em sistemas biológicos, os íons metálicos são importantes cofatores enzimáticos. (SCALBERT, 1991; MONTEIRO *et al.*, 2005). Outra razão para a toxicidade dos taninos é o fato que nas espécies animais que ingerem alimentos com altas concentrações dessas substâncias, existe precipitação proteica no trato digestivo, inibição das enzimas responsáveis pelo desdobramento dos alimentos, geram prisão de ventre e atrapalham o processo de utilização de vitaminas e sais minerais. Existem estudos que relacionam que elevadas concentrações podem gerar alguns tipos de câncer como de esôfago. Tudo isso faz com que alimentos que liberem taninos durante a alimentação animal ou humana sejam considerados nutricionalmente indesejáveis (CHUNG, 1998).

### 3.2. Uso farmacológico do barbatimão

A medicina tradicional é uma fonte importante para os cuidados básicos de saúde principalmente de países subdesenvolvidos e uma das formas mais clássicas é a utilização de plantas medicinais. Um exemplo claro desse potencial é que das 119 substâncias químicas provenientes de plantas e que são utilizadas como fármacos, 74% vieram do conhecimento popular (FARNSWORTH & SOERJATO, 1985).

Várias plantas de uso medicinal são encontradas na região do cerrado e possuem importância terapêutica cientificamente comprovada. Estes vegetais são vendidos para populares para a produção de infusões ou mesmo para servirem como cosméticos ou alimentos. Mas grande parte destas plantas também são vendidas para a indústria farmacêutica para a extração da substância com valor medicinal. O barbatimão está entre estes vegetais (RIZZINI & MORS, 1995).

Popularmente, a casca do caule é utilizada como cicatrizante e anti-inflamatório de aplicação externa à lesão. No tratamento de úlcera é necessária ingestão da casca. Para tratamento ginecológico, as cascas podem ser cozidas para serem utilizadas em um banho de assento, principalmente para o tratamento de ferimentos vaginais, inflamações uterinas, doenças venéreas e hemorroidas. O barbatimão serve de matéria-prima para a produção de sabonetes íntimos femininos, devido a suas propriedades adstringentes (LORENZI & MATOS, 2002).

O barbatimão é muito utilizado e é alvo do extrativismo vegetal por ser rico em taninos, uma classe de compostos que é muito utilizada no curtimento de couro de animais (RIZZINI & MORS, 1995). Muitas pesquisas indicam que a função dos taninos está associada a defesa química das plantas ao ataque de animais herbívoros e microrganismos patogênicos (SIMÕES *et al*, 2004). Os principais constituintes do barbatimão são alcalóides, taninos, saponinas, amido, flavonoides, mucilaginosas, proantocianidinas, materiais resinosos e corantes (SIMÕES *et al*, 1999). O barbatimão está na farmacopéia Brasileira (1959).

Os taninos são utilizados para o tratamento de variadas doenças, como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, queimaduras, azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica, doenças renais e urinárias, assim como a maioria dos processos inflamatórios (SIMÕES *et al*, 2004).

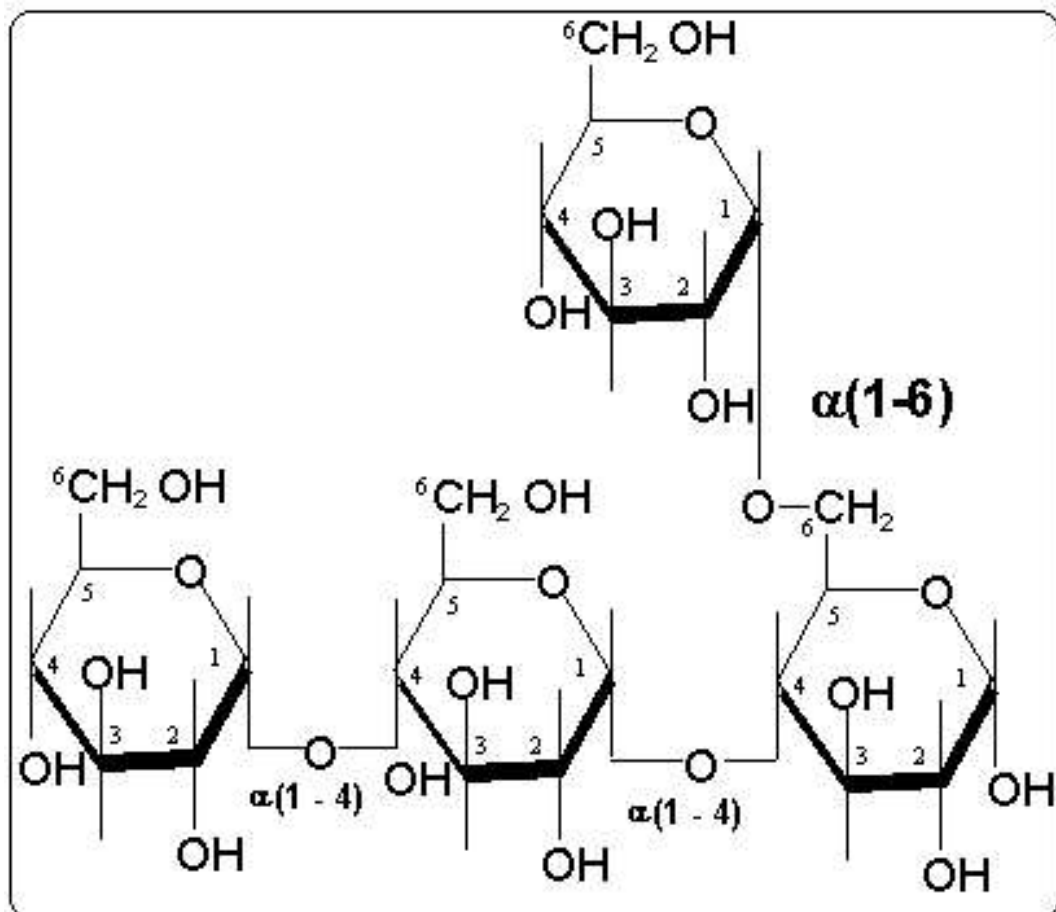
Desta forma, o barbatimão é um vegetal que apresenta elevado potencial para o uso na indústria farmacêutica e cosmética para o tratamento de diversos males e que pode ser administrado em formas variadas, resultando na possível composição de uma quantidade muito grande de produtos diferentes (REBECA *et al.*, 2002).

### 3.3. Amido

Dentro da classe de biomoléculas conhecidas como hidratos de carbono ou carboidratos, o amido é visto como o principal polissacarídeo de reserva energética dos vegetais.

Quimicamente, pode ser visto como um polímero termoplástico, visto que pode ter sua estrutura alterada por aquecimento e posteriormente, ser recomposto. O amido é formado por ligações glicosídicas, que bioquimicamente ocorrem pelo mecanismo de condensação e eliminação de moléculas de água, entre moléculas de glicose (CABALLERO *et al*, 2015), como pode ser verificado na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura padrão do amido.



FONTE: < [http://qnint.s bq.org.br/qni/popup\\_visualizarMolecula.php?id=N46O8](http://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=N46O8)>,  
 acessado em 23/02/2024 às 09:22 horas

Para se entender a composição do amido, observa-se que possui como principais formadores a amilose (trata-se de um polímero de D-glicose ligadas por pontes glicosídicas  $\alpha$ -1,4, fornecendo estrutura helicoidal ao composto) e a amilopectina (trata-se de um polímero de estrutura ramificada de glicose, que contem ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6. É menos polar que a amilose por ser um polímero mais complexo e é mais abundante na maioria das espécies de amido), sendo que a porcentagem de cada uma no amido depende da espécie fonte do composto e mesmo do grau de maturação da mesma (WHISTLER *et al*, 2009).

Vegetais possuem quantidades variáveis de amido em suas composições, também podendo variar os valores percentuais nas estruturas de uma planta, como é o caso de tronco, raiz e sementes (BALDWIN *et al*, 2011). Batata, trigo, mandioca e milho são algumas das fontes mais utilizadas para obter amido comercialmente. Outra fonte viável para obtenção de amido é o babaçu, principalmente o mesocarpo de babaçu que é um material muito aproveitado para uma diversidade de finalidades, como alimentação humana e animal, justamente devido aos grânulos de amido que o compõe, e que apresentam comportamento semelhante aos amidos de cereais (ALMEIDA *et al*, 2011).

O amido in natura é um pó de cor branca, solúvel em água, sendo facilmente atacado por agentes biológicos como fungos e bactérias, por esta razão, é um produto que deve ser consumido em curto espaço de tempo após ser retirado da natureza, mas que com o acréscimo de conservantes, pode ter sua durabilidade aumentada, o que o faz um importante componente da alimentação humana, principalmente aqueles vindouros do trigo e do milho (SILVA & PARENTE, 2001).

Por ser um carboidrato complexo, já que dependendo da fonte vegetal, pode apresentar proporções diversas dos componentes e assim, ter propriedades diferentes, como é o caso de solubilidade em água e facilidade de digestão, este composto apresenta a capacidade de sofrer gelatinização, que é um processo químico pelo qual ocorrem mudanças irreversíveis nas propriedades, tais como inchamento dos grânulos, perda da estrutura cristalina e solubilização do amido. Este processo se dá pela absorção de água na estrutura do carboidrato (SILVA & PARENTE, 2001).

Para cada amido, tem-se uma faixa de temperatura de gelatinização característica, que corresponde ao seu ponto de máxima viscosidade. Esse intervalo de temperatura é medido a partir do início do desaparecimento das zonas cristalinas

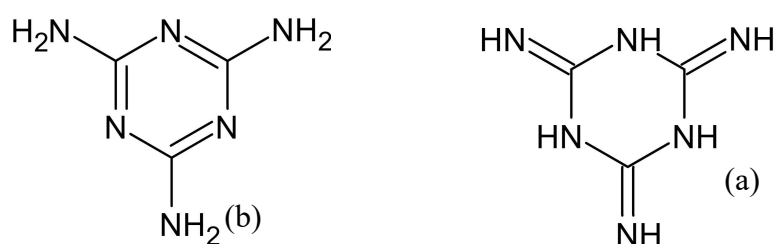
do grão até seu fim, e é visível em microscópio de luz polarizada (BOBBIO & BOBBIO, 2003).

Quando o amido é colocado na presença em água fria (em temperaturas menores que 64 °C), os grânulos sofrem um aumento em seu volume na ordem de 10 a 20 %, devido a difusão e absorção da água nas regiões amorfas, mas essa dilatação é um processo reversível, o que significa dizer que nesta etapa o material ainda pode sofrer desidratação. Contudo, quando os grânulos são aquecidos em água a temperaturas entre 64 a 72 °C, se alcança um ponto onde os grânulos que absorveram umidade apresentam um fenômeno irreversível, perdendo a ordem estrutural (perda de birrefringência), que é devido à fusão dos cristais. Quando os grânulos continuam se expandindo, a amilose é lixiviada para a fase aquosa intergranular. Estas mudanças moleculares levam a um aumento significativo na viscosidade da amostra. Em conjunto, a ruptura da estrutura granular, o inchamento devido à hidratação e a solubilização das moléculas de amido, mostram o término da gelatinização (TESTER & MORRISON, 1990).

### 3.4. Melamina

O composto químico denominado melamina, apresenta-se como um monômero orgânico o qual apresenta anel aromático que gera ressonância devido ao fenômeno da isomeria dinâmica que ocorre em sua molécula e alternando entre as formas imina e enamina como pode ser verificado na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura dos híbridos de ressonância da melamina: (a) forma enamina. (b) forma imina



FONTE: AUTORA.

A melamina (2,4,6-triamino-1,3,5-triazina) é uma triazina de fórmula  $C_3H_6N_6$  e massa molar de  $126 \text{ g.mol}^{-1}$ . É um conhecido monômero orgânico utilizado na produção de polímeros, principalmente termofixos devido a possibilidade de múltiplos sítios ligantes em sua estrutura, como é o caso da resina melamina-formaldeído, que é empregada na produção de laminados, plásticos, espumas, pigmentos, agentes de revestimentos, colas e retardadores de chamas (TYAN *et al*, 2009).

No estudo para a determinação da ocorrência de polimerização e seu mecanismo para a melamina, observa-se que a forma imina (Figura 2-b) apresenta a possibilidade de polimerização por adição com a quebra de uma ou até das três ligações pi presentes no grupo funcional. No entanto, esta via destruiria a ressonância do anel, o que diminua estabilidade do composto. Outra possibilidade seria polimerização por condensação no grupo  $NH_2$  na enamina (Figura 2-a), neste caso a ressonância do composto seria mantida, ou seja, mantém a estabilidade (LIMA JÚNIOR, 2017). Deste modo, segundo dados da literatura científica, e com a análise das estruturas, define-se que entre as duas formas da melamina, a mais estável é aquela que apresenta a forma de triazina (Figura 2-a). Desta forma, pode-se prever a

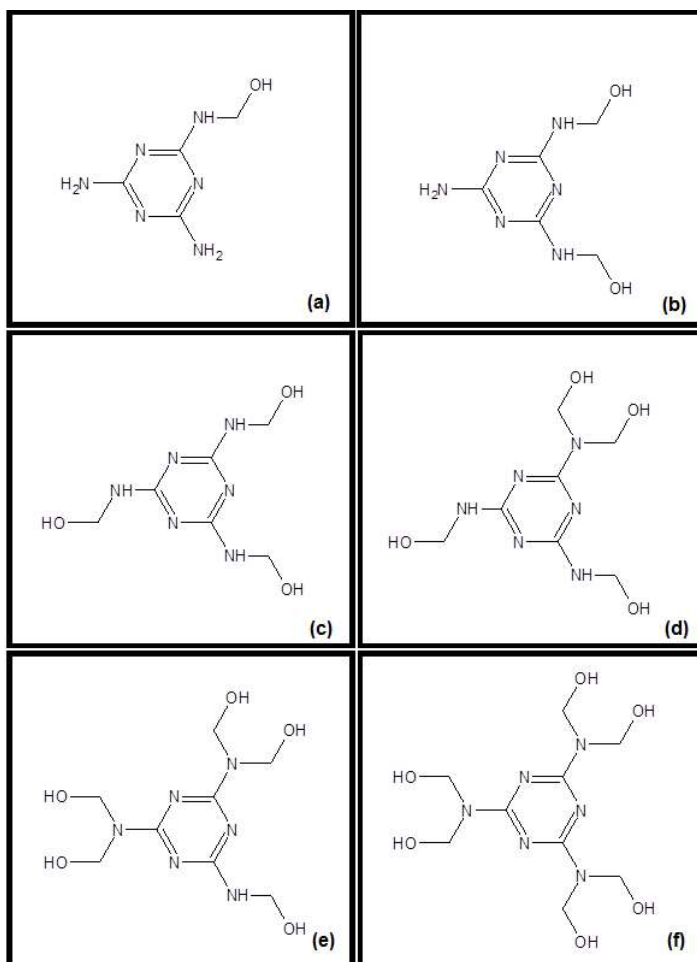
rota reacional com base nela, já que a maior parte das moléculas se encontra nesta forma (MORRISON & BOYD, 2005).

A melamina é conhecida como sendo um reagente de baixa toxicidade, apesar de que alguns estudos sugerem que este produto pode estar relacionado com lesões hepáticas em animais de estimação quando estes são submetidos a doses consideravelmente altas por um período de tempo longo. Ou seja, pode-se considerar como um produto atóxico, que quando apresenta raros casos de intercorrências e nestas a maior parte das pesquisas sobre potenciais efeitos biológicos causados enfocam no surgimento de cálculos renais (DING *et al*, 2010).

A polimerização da melamina na presença de formaldeído resulta em uma resina termorrígida produzida pela reação de condensação, o que gera a eliminação de água no processo, transformando-a em uma amino resina, que seria aquela em que existe o grupamento amina primária ou secundária, ou ainda, o grupo NH associado à carbonila do aldeído. Esta resina é importante como adesivo para a indústria de madeira na produção de painéis e compensados, por possuir baixa solubilidade em água (LEI & FRAZIER, 2015). E devido sua boa agregação com amido gelatinizado e devido ao fato de ser um produto atóxico, tem potencial uso como adesivo para múltiplas superfícies (LIMA JUNIOR, 2017).

A melamina possui seis sítios reativos, o que permite realizar reação de uma a seis substituições. Devido ao fato de ser desejável um composto, mais hidrofóbico e pelo fato de haver uma diversidade de possíveis produtos (Figura 3), a reação mais facilmente trabalhada e que confere maior caráter hidrofóbico é a hexassubstituição, no caso, por moléculas de formaldeído gerando a haxametilol-melamina (LIMA JÚNIOR, 2017), que pode ser verificada na Figura 3.f.

Figura 3 – Estruturas dos produtos formados pela adição de formaldeído à melamina em proporções molares determinadas de melamina:formaldeído: (a) 1:1. (b) 1:2. (c) 1:3. (d) 1:4. (e) 1:5. (f) 1:6



FONTE: LIMA JÚNIOR, 2017.

### 3.5. Pele

Conhecida como o maior órgão dos animais, a pele é de extrema importância para a sobrevivência dos animais, visto ser a primeira barreira de proteção contra ações danosas do meio ambiente. É formada por camadas que apresentam funções distintas, como proteção mecânica e regulação térmica, além de possuir órgãos anexos como folículos pilosos, glândulas sudoríparas, sebáceas e unhas (SÃO PAULO, 2021). Também é responsável por proteção de estruturas internas, percepção sensorial, excreção, metabolismo, absorção e em algumas espécies, até trocas gasosas (NOGUEIRA et al., 2005). Com base nesses argumentos, deixa-se claro a importância da manutenção e reparo deste tecido quando sofre acometimento de lesões.

A pele como é conhecida é formada pela epiderme, que tem origem no tecido embrionário ectoderma e é a parte externa da pele que tem contato com o ambiente, a derme (tecido intermediário) e hipododerme subcutânea (porção interior da pele), que tem origem no folheto embrionário mesoderma (SOUSA *et al*, 2015).

Nos fetos animais de mamíferos, a epiderme tem formação por uma camada do tecido epitelial que tem formato cúbico, no entanto, com a evolução do feto, ocorre estratificação dessas células, que juntamente com os melanócitos e as células de Langerhans, formam a epiderme (BANTON *et al*, 2018).

Processo diverso ocorre na formação da derme e endoderme, que são geradas pela proliferação de células mesenquimais primitivas no feto. Com o passar da gestação, este tecido sofre maturação e se diferencia em derme e endoderme. Esse processo ocorre pelo aumento do número de camadas e quantidade de fibras de colágeno. Também ocorre substituição do colágeno tipo III para o tipo I, de forma gradual. Verifica-se a redução de substância fundamental e a formação de fibroblastos (ELSTER *et al*, 2023).

Os germes epiteliais primários são células basófilas originadas da proliferação das células epiteliais cúbicas. Estas células primordiais também sofrem invaginação no processo para criar a derme subjacente ao epitélio, criando um cordão celular, que tem por função gerar os folículos pilosos e também as glândulas anexas, que são caracterizadas por manter células continuamente ligadas aos estratos da epiderme (ELSTER *et al*, 2023).

Partindo se do estudo do cordão celular, observa-se que este tem por função formar um canal dérmico que possibilita a formação de uma futura bainha radicular externa a partir da continuidade da epiderme formada. A bainha descrita origina a matriz germinativa da base do folículo piloso, responsável pelo desenvolvimento da bainha radicular interna e os pelos. O ponto de início desse processo é a liberação de substâncias químicas advindas de fibroblastos mesodérmicos que originarão a derme e endoderme. A outra etapa é a formação da papila dérmica a partir da aglomeração de células basais, os fibroblastos dérmicos (SÃO PAULO, 2021).

A partir do desenvolvimento do folículo piloso, a papila dérmica avança para o centro da área de brotamento e forma o bulbo folicular (KIERSZENBAUM, 2006).

### 3.6. Cicatrização

A priori deve-se compreender o conceito de ferida como sendo qualquer espécie de lesão que comprometa a continuidade da pele e que o processo de cicatrização, como etapa reparo fisiológico e dinâmico, tem por função a restauração da continuidade dos tecidos lesados (BARCAUI *et al.*, 2015).

Cicatrização é conceituada como um processo bioquímico e molecular que ocorrem concomitantemente para a formação de novo tecido. O processo cicatrizatório ocorre em três fases distintas: fase inflamatória ou exsudativa (limpeza), fase de granulação (proliferativa e reepitelização) e fase de maturação ou remoldagem do colágeno (SÃO PAULO, 2021).

A primeira fase é marcada pela ocorrência de uma reação completa do tecido conjuntivo que responde à lesão sofrida. Esta resposta tem por objetivo interromper os efeitos iniciais, sendo marcada pela existência de dor, calor, vermelhidão e edema. Após isso, inicia-se a segunda fase, tem é marcada pela neovascularização e proliferação de fibroblastos. Forma-se um tecido de cor rosada, textura mole e com elevada granulação na superfície da ferida. A segunda fase geralmente inicia-se por volta do terceiro ou quarto dia após a lesão. Por fim, na terceira etapa, já mencionada como fase de maturação, ocorre redução do tamanho do ferimento e fortalecimento do tecido, o que se denomina fim da cicatrização (SÃO PAULO, 2021).

Para que todo esse processo ocorra de forma viável, existem fatores que podem acelerar ou atrasar o processo. Por exemplo, o fato de que na fase inflamatória deve existir uma quantidade de nutrientes, principalmente aminoácidos, como arginina, cisteína e metionina (FARID *et al.*, 2022). Além de vitaminas C, E e alguns sais minerais como selênio que tem a função de aumentar a fagocitose e quimiotaxia. A coagulação e síntese de protrombina demandam vitamina K (ASTUR *et al.*, 2014).

Os aminoácidos, como a arginina, vitaminas A, C e vitaminas do complexo B, e sais minerais, como ferro, zinco, manganês e cobre auxiliam a proliferação dos fibroblastos. Outras substâncias relevantes nesta fase são ácido pantotênico e tiamina (LEAL *et al.*, 2017).

O aminoácido mais importante na fase de maturação é a histidina. Também auxiliam, vitamina C, zinco e magnésio (LEAL *et al.*, 2017).

### 3.7. Curativos

Desde o início da história da humanidade existe um interesse por tratar as perdas de continuidade do tegumento cutâneo (JONES *et al*, 2005). Assim, no tratamento de lesões utiliza-se de diversas modalidades que vão desde a assepsia até tratamentos cirúrgicos, passando claramente pelo método mais comum que é o uso de curativos para auxílio da recuperação tecidual em diversos âmbitos, como por exemplo a proteção contra agentes exógenos, que seriam sujeira, bactérias, vírus e umidade, e também o auxílio no fechamento da lesão, utilizando a estrutura do curativo como meio de sustentação para manter o corte fechado e acelerar o processo de cicatrização (CHUNG & GLORI, 2009).

Os curativos dependem do material mais adequado para sua aplicação, sendo que esta escolha decorre tanto do aspecto fisiopatológico quanto do bioquímico que remonta aos mecanismos de reparação tissular e cicatrização da lesão.

Inicialmente, é importante salientar que ferimentos nem sempre são apenas lesões por ruptura da epiderme e do tecido subcutâneo, algumas vezes ocorrem danos em músculos, tendões, ossos e até mesmo órgãos internos. Deste modo, pode-se distinguir os ferimentos quanto a etiologia, complexidade e tempo de existência (KANJ *et al*, 1998).

Em termos etiológicos, os ferimentos podem ser classificados em queimaduras, úlceras por pressão, úlceras por hipertensão venosa, traumatismos, entre outras. Em termos de complexidade, as feridas podem ser simples ou complexas. O primeiro tipo é aquele que possui uma evolução natural e espontânea para a resolução, passando pelos estágios da cicatrização que são: inflamação, proliferação celular e remodelagem tecidual (ISAAC *et al*, 2010). Já no caso de feridas complexas, tem-se uma lesão que são geralmente mais extensas ou profundas em termos de área afetada. Nestes casos, não se espera por uma resposta imunológica comum para a resolução do caso e, portanto, necessita-se do uso de recursos especiais para solucionar o caso. Já que o processo natural de evolução do dano não é padrão e que, devido à extensão, pode ameaçar as funções de um membro, órgão ou mesmo pode ser o caso de se tratar de uma lesão recorrente, que é aquela com risco de reabrir e necessitar cada vez de uma intervenção mais complexa (FERREIRA *et al*, 2006).

Alguns critérios podem ser utilizados para se definir um ferimento complexo. Primeiro seria a verificação da lesão em termos da extensão ou se representa uma profunda perda de tegumento. Outro ponto a ser analisado é a presença de infecções na região da lesão. Em terceiro lugar, analisa-se o comprometimento da viabilidade histológica pela presença de necrose. Por fim, deve-se verificar a associação com doenças sistêmicas, como diabetes, que dificultam fisiologicamente a reparação tecidual (FERREIRA *et al*, 2006).

Para tratar esses diversos tipos de lesões, o curativo é caracterizado como um meio terapêutico que proporciona basicamente a assepsia por meio da aplicação de um material que proteja a lesão, absorva líquidos e umidade, além de fazer a drenagem da ferida com a intenção de auxiliar na cicatrização. Assim, permite que o leito do corte permaneça limpo e assim o fechamento deverá ocorrer em tempo reduzido, visto que os impedimentos foram minimizados. Os curativos podem ser o tratamento completo ou apenas uma das etapas de um tratamento médico cirúrgico (HARDING *et al*, 2002).

Comercialmente, existe uma infinidade de materiais que podem ser utilizados nas diferentes etapas de tratamento de lesões, partindo da higienização, desbridamento, redução da população bacteriana, controle do exsudato, estímulo à granulação e proteção para a ocorrência da reepitelização (FAN *et al*, 2011). Como os curativos acabam por ter funções diferentes em feridas diferentes, eles podem ser classificados como passivos, carreadores de princípios ativos, curativos inteligentes, biológicos e compostos. A Tabela 1 descreve cada uma das características dos curativos descritos.

Tabela 1: Classificação dos diversos materiais de curativos

<b>Tipos de curativo</b>	<b>Exemplos de composição do curativo</b>
Curativos passivos	Curativo não aderente Filme transparente Espuma polimérica Hidrocolóide Hidrogel
Curativos com princípios ativos	Alginato Carvão ativado Placas de prata
Curativos inteligentes	Matriz de colágeno Matriz de celulose
Curativos biológicos	Curativos biológicos

FONTE: FAN et al, 2011.

No presente trabalho, o curativo não terá função unicamente passiva, já que além da função de proteção da lesão, ele tem em sua composição o princípio ativo (extrato de *Stryphnodendrum coriaceum Benth.*) que é o potencial agente cicatrizante.

No caso do curativo aplicado, ele seria composto por uma mistura de amido gelatinizado com o aditivo de resina melamina-formaldeído hexassubstituída, formando o composto hexametilol-melamina. A este produto inicialmente líquido é adicionado o extrato de *Stryphnodendrum coriaceum Benth.* e aplicado sobre o ferimento.

### **3.8. Sistema de liberação controlada de fármacos**

A pesquisa e desenvolvimento de fármacos novos e promissores é um dos ramos da indústria farmacêutica, que anualmente investe bilhões de dólares na tentativa de encontrar substâncias promissoras para cuidados com seres humanos e animais. O objetivo final destes estudos é a melhoria da qualidade de vida de animais de estimação, de produção, silvestres e do ser humano.

O desenvolvimento de fármacos teve sua evolução decorrer dos tempos, partindo desde o uso de produtos naturais até a busca de produtos utilizando as mais recentemente tecnologias de informação (HOFFMAN, 2008).

Historicamente, um inconveniente gerado é que os compostos de importância terapêutica têm severos problemas de utilização com base na dosagem, pois esta deve ser eficaz para combater os patógenos, mas ser suficiente sem causar danos ao ser humano.

Existem muitos problemas agregados à farmacocinética destes agentes em contato com o corpo humano, como a retenção ou degradação do agente terapêutico, baixa solubilidade e, em especial, os efeitos colaterais maléficos inerentes à sua utilização em concentrações elevadas, estes fatores são os maiores empecilhos para o bom tratamento, pois dificilmente consegue-se a dose ideal do produto no intervalo de tempo necessário para que sua eficácia ocorra no corpo humano (SANTOS & CASTANHO, 2002).

Esta dificuldade ocasionou, com o passar do tempo, um grande esforço para formular e testar substâncias que funcionem como carreadores de princípios ativos (antitumorais, especialmente as direcionadas a sítios específicos, também são estudados os antibióticos, enzimas, hormônios, entre outros compostos capazes de gerar modificação celular) direcionados a um alvo específico (célula, tecido ou órgão) (AZEVEDO, 2005).

No panorama atual, nota-se a existência de um grande incremento das áreas de pesquisa ligadas na investigação de modernos sistemas destinados ao transporte de medicamentos nos seres vivos, estes são conhecidos no meio acadêmico como sistemas de liberação controlada.

O estudo pioneiro noticiado sobre o tema é um sistema direcionado de transporte de fármacos que remonta o começo do século XX, Paul Ehrlich demonstrou

o seu modelo, que ficou conhecido por "Bala Mágica de Ehrlich" (Ehrlich's Magic Bullet) (ZIPFEL & SKERKA, 2022).

No modelo apresentado, o princípio ativo realiza uma ligação química com o carreador, e é transportado até o ponto de destino, onde a atividade farmacológica deve ser verificada. Percebe-se a existência de mecanismos de especificidade, como a ligação entre enzima e proteína, famoso modelo chave-fechadura. Este método apresenta grande eficiência pelo fato de que os efeitos colaterais sobre órgãos ou tecidos que não eram alvo são bastante minorados, pois há um elevado aumento de eficiência em relação às células, órgãos ou tecidos em que realmente o efeito é esperado. Este método foi tão eficaz que permitiu o decréscimo da dose administrada. Porém, por mais atrativos e simples que possam parecer os conceitos de Ehrlich, os sucessos eram poucos (AZEVEDO, 2005).

As primeiras tentativas para a obtenção de um sistema transportador eficaz tiveram como base o encapsulamento das biomoléculas em dispositivos na forma de vesículas de nylon e outros polímeros artificiais que apresentassem biocompatibilidade com o organismo (FIALHO & CUNHA JÚNIOR, 2007).

Entretanto, este método apresentou um grande inconveniente pelo fato de que os polímeros não eram biodegradáveis e acabavam por se acumular no organismo. Para sanar este problema, Greenstein (1987) realizou um trabalho de pesquisa onde o encapsulamento se dava por membranas lipídicas artificiais e através destas ocorria o mecanismo de difusão de íons, embora sem qualquer ligação imediata aos estudos de sistemas transportadores de fármacos.

O sistema de liberação controlada de fármacos é utilizado nos dias de hoje, fato este que gerou um avanço significativo na indústria farmacêutica e na forma como a medicina realiza o tratamento de doenças. Os motivos que justificam isso é o melhor tratamento, redução de efeitos colaterais, diminuição na quantidade de fármaco e maior eficácia no tratamento. O mecanismo se inicia com a liberação do princípio ativo em local determinado do organismo por um período maior que a administração convencional e em doses diferenciadas, pois como o sistema de liberação é controlado, o carreador vai repondo no local a quantidade de substância que foi consumida, mantendo assim a concentração do fármaco constante na maior parte do tempo sem a necessidade de uma nova aplicação (SAPRA & ALLEN, 2003).

Os polímeros são destaques na preparação de sistemas de liberação controlada de fármacos e estão entre os excipientes mais usados na indústria, funcionando como carreador. A escolha deve ser feita de forma cautelosa, pois deve-se analisar as funções orgânicas dos fármacos e dos carreadores, pois deve existir interação entre os compostos de forma a ter uma ligação estável o suficiente para que o princípio ativo não seja liberado de qualquer forma no corpo, mas no ponto onde deve haver a interação (HOARE & KOHANE, 2008).

Em suma, em se tratando de liberação controlada, verifica-se que há um enorme crescimento do setor observando os seguintes fatos: Aumento da eficiência terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz e maior tempo de permanência na circulação, além de visível redução da toxicidade, que se deve ao fato de utilizar doses consideravelmente menores (SIEPMANN & PEPPAS, 2012).

## **4. PARTE EXPERIMENTAL**

### **4.1. Preparo do adesivo amiláceo**

Para o preparo do adesivo amiláceo foi utilizado o amido de milho comercial, cuja qualidade foi avaliada pelo aspecto visual e quanto à validade e integridade da embalagem, tendo-se em vista que essa matéria prima pode ser facilmente alterada por microrganismos e por larvas de insetos.

Para realizar o preparo, pesou-se uma massa determinada de amido e a esta foi misturada água em massa igual ao dobro do carboidrato. Esta mistura foi posta sob aquecimento lento e controlado com agitação constante, para que fosse evitada a formação de aglomerações de amido e para que não queimasse ou sofresse algum processo indesejável.

A temperatura do sistema partiu da ambiente e foi elevada com moderação até que se verificou que o amido iniciou a gelatinização, que ocorreu por volta de 60 °C.

Em seguida, o produto foi retirado da fonte de calor e posto para descansar, com a finalidade de evitar que sofresse dessecação.

### **4.2. Preparo da resina**

Seguindo a metodologia proposta por Wang (2012), misturou-se nas proporções molares 1:6, respectivamente, melamina e formol (37 % em massa de formaldeído), em recipientes sob agitação e constantemente aquecidos a uma temperatura por volta de 60 °C, até que as soluções se tornassem claras. Adicionou-se solução aquosa de hidróxido de sódio 10 % em massa, gota a gota, a fim de ajustar o pH da solução para 8,5.

Os produtos finais foram dissolvidos em etanol para impedir polimerização precoce. Deste modo, foi obtida a resina com grau máximo de substituição: hexametilol-melamina.

Na etapa final misturou-se o adesivo amiláceo com a resina na proporção 4:1 e acrescentou-se o extrato de barbatimão nas concentrações estabelecidas no protocolo experimental.

### **4.3. Caracterização do material**

#### **4.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)**

Os espectros de absorção na região de infravermelho das amostras sob estudo foram obtidos utilizando um Espectrômetro Thermo Scientific™ Nicolet™ iS™ 10.

Esta análise teve o fim de se avaliar os diferentes grupos funcionais presentes em cada uma das etapas da produção do curativo. Foram analisadas as intensidades de absorção e suas respectivas ligações entre os comprimentos de onda de 450 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **4.3.2. Análise termogravimétrica**

A análise termogravimétrica (TGA) determina a perda de massa do material em relação ao aumento da temperatura. Por esse método, as amostras foram avaliadas as amostras do adesivo a ser aplicado como curativo, visando avaliar a estabilidade térmica do produto final e as possíveis decomposições térmicas. Foi utilizado o equipamento da Shimadzu TGA-2050, usando cadinho de platina e atmosfera de oxigênio, com fluxo de 50 mL/min na faixa de temperatura de 0 à 800°C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min.

#### **4.3.3. Medida de viscosidade**

As medidas de viscosidade foram feitas com o objetivo de determinar a capacidade de escoamento da cola e, com isso, propor usos e método de aplicação do adesivo em questão. Para a realização desta análise, fez-se uso de um viscosímetro rotativo microprocessado modelo Q860M21, produzido pela QUIMIB.

#### **4.4. Avaliação do produto**

##### **4.4.1. Absorção de umidade**

Para testar a absorção de umidade pelo material, realizou-se a produção de um filme do adesivo misturado com a resina, que foi submetido à secagem sob uma superfície de vidro, e a seguir separado. O material obtido foi pesado e logo em seguida molhado e retirado o excesso de água para ser pesado novamente.

A amostra foi deixada imersa e a cada hora foi pesada para verificar o total de água absorvido.

##### **4.4.2. Tempo de prateleira em ambiente aberto e fechado**

Para verificar o tempo de prateleira em ambiente aberto, preparou-se 300 mL do curativo em cada uma das concentrações em um béquer e este ficou aberto até secar. Os recipientes ficaram em temperatura ambiente, à sombra e sem a presença de correntes de ar. Nestas condições, foi verificado o tempo necessário para que o adesivo secasse e a possível ação de microrganismos, baseado no fato de que o adesivo é a base de amido, que serve de alimento para muitas espécies.

No caso do tempo de prateleira em ambiente fechado, estes foram colocados em um recipiente hermeticamente fechado. Em seguida, verificou-se o comportamento do curativo no decorrer do tempo.

## 4.5. Estudo biológico

### 4.5.1. Teste de toxicidade no modelo do artrópode tenébrio

Separou-se 60 larvas de tenébrio (*Zophobas morio*) em placas de Petri, sendo colocadas 5 larvas por placa. As larvas foram acondicionadas com o mesmo substrato vegetal utilizado no laboratório onde são reproduzidas para evitar estresse.

Em seguida, trabalhou-se com 6 grupos:

- 1- Grupo I: Controle positivo: Aplicação de 0,1 mL de DMSO;
- 2- Grupo II: Controle negativo: sem aplicação;
- 3- Grupo III: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3000 mg/kg;
- 4- Grupo IV: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 300 mg/kg;
- 5- Grupo V: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 30 mg/kg;
- 6- Grupo VI: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3 mg/kg;

Em cada grupo foi realizado teste em duplicata (duas placas contendo 5 larvas em cada).

Após a aplicação, as amostras foram deixadas no laboratório sob iluminação natural e temperatura ambiente.

Realizou-se observações hora a hora nas 8 primeiras horas, depois com 12 horas e por fim com 24 horas do início da aplicação.

### 4.5.2. Experimento *in vivo* em ratos Wistar

Para realização dos experimentos *in vivo* foram utilizados 24 *Rattus norvegicus* machos, pertencentes à linhagem Wistar que foram tratados no Biotério da Universidade Estadual do Piauí (UESPI). Os animais foram submetidos cirurgicamente à indução de ferida cutânea e mantidos em caixas plásticas de

polipropileno com temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo claro/escuro de 12 horas, com acesso livre à água e ração.

Os animais foram separados aleatoriamente em quatro grupos experimentais, contendo 6 ratos em cada grupo, sendo:

- Controle: Controle Negativo (ferida não tratada);
- Grupo 1: Grupo em que os ratos sofreram a indução de ferida cutânea e foram tratados com aplicação compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 1,5 mg/mL;
- Grupo 2: Grupo em que os ratos sofreram a indução de ferida cutânea e foram tratados com aplicação compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 15 mg/mL;
- Grupo 3: Grupo em que os ratos sofreram a indução de ferida cutânea e foram tratados com aplicação compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 150 mg/mL

Os respectivos grupos (Controle, 1, 2 e 3) foram utilizados no experimento em todo o período de avaliação (7, 14 e 21 dias de pós-operatório).

Na indução anestésica, os animais receberam atropina por via cutânea, na dose de 0,04 mL/100g, após 20 minutos foi iniciado o procedimento anestésico onde os animais foram submetidos à anestesia dissociativa com cetamina/xilazina na proporção de 1:1 na dose de 0,1mL/100g.

Em seguida, foi feita a tricotomia na região cervical e dorsal com cada área de 24 cm<sup>2</sup> (6 cm de comprimento x 4 cm de largura).

Após a antissepsia com clorexidina a 2% foram feitas na região cervical, três incisões (3,0 cm) longitudinalmente à região mediana da pele, poupando músculos subjacentes. Após as incisões, as bordas da ferida foram suturadas, com três pontos simples.

Na região dorsal, no centro da área tricotomizada, foi feita uma demarcação na pele de cada rato por rotação da borda cortante de demarcador (*punch*) metálico com 2 cm de diâmetro. Foi então removido o segmento de pele circular, seguindo a demarcação do *punch*, até exposição da fáscia muscular dorsal.

#### 4.5.2.1. Tratamento fitoterápico

Os grupos foram tratados e avaliados durante 21 dias, sendo constituído o dia 0 (dia da indução da lesão) e aos 7, 14 e 21 dias após a indução da lesão, respectivamente.

O grupo Controle, não recebeu tratamento sendo, portanto, o controle negativo. O grupo 1, foi aplicado topicamente compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 1,5 mg/mL apenas no dia 0. O grupo 2, foi aplicada, formulação tópica compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 15 mg/mL apenas no dia 0. Já o grupo 3, seguiu o mesmo procedimento, com aplicação única da formulação tópica compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 150 mg/m, no dia 0.

Após o tratamento prescrito para cada grupo, os animais foram fotografados e transferidos para as respectivas gaiolas, onde em cada gaiola foram alojados 6 ratos e identificados quanto ao grupo pertencente marcados em suas caudas com caneta de tinta azul, em ordem de um a seis. Os tratamentos dos grupos G 1, G 2 e G 3 foram realizados apenas no primeiro dia e, após isso, foram realizadas apenas observações dos animais, até o dia da eutanásia a avaliação das lesões..

#### 4.5.2.2. Análise de resistência

A resistência da cicatriz cutânea foi medida retirando-se o retalho de pele da região cervical de 4x2 cm transversal à cicatriz. As amostras foram submetidas ao teste de resistência à tensão por meio do Dinamômetro, com garras de pressão ajustáveis manualmente e sistema eletrônico de aquisição de dados com utilização do software. A pele foi pinçada por meio de um dispositivo de aço inoxidável com pressão gradual, observando-se a força de ruptura (FR). A FR corresponde ao maior valor de força necessário durante a tração da amostra, ou seja, o maior valor de resistência da amostra para que se atinja a ruptura.

#### **4.5.2.3. Análise macroscópica**

Para análise da regressão da ferida, a lesão foi fotografada por câmera digital mantida em tripé a uma altura constante de 34 cm, imediatamente após a indução da ferida cirúrgica e no 7º, 14º e 21º dia após a indução da ferida cirúrgica.

As imagens foram analisadas por meio do programa (Imaje J) que determinou a área da ferida. A área da ferida foi definida por meio do cálculo:  $\text{área final (dia 7, dia 14 ou dia 21) - área inicial (dia 1) / área inicial} * 100\%$  que definiu o percentual de regressão.

#### **4.5.2.4. Análise microscópica**

As feridas foram removidas com margem de pele íntegra onde foram fixadas em solução tamponada de formalina a 10% por 24 horas. Três amostras transversais centradas na ferida foram submetidas ao processamento histológico e incluídos em parafina, obtendo-se cortes histológicos com 5µm de espessura, que foram corados pela hematoxilina-eosina. (H.E.) e Picrossirius Red (PSR). As amostras histológicas foram analisadas em microscópio óptico trinocular, equipado com câmera digital acoplada a um microcomputador. A documentação fotográfica, para efeitos comparativos, foi no centro das lesões.

#### **4.5.2.5. Eutanásia e descarte de animais**

Após o período de 7, 14 e 21 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) para a dissecação das amostras que foram submetidas à análise. A eutanásia foi realizada por meio de injeção de Tiopental 100 mg/kg e peso corporal.

#### **4.5.2.6. Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas no programa BioEstat versão 5.3. A normalidade dos dados foi previamente testada pelo teste de D'Agostino-Pearson. As variáveis quantitativas foram apresentadas por meio de média e desvio padrão, valores mínimo e máximo e mediana e quartis.

Os resultados tempo de cicatrização e tamanho da lesão, quando paramétricos foram avaliados por análise de variância (One-Way ANOVA) seguido do teste de Tukey para comparação das médias, já os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis.. Para todas as análises, foi considerado nível de significância de 5%.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Preparo do adesivo amiláceo

No desenvolvimento do adesivo amiláceo, teve-se que ajustar a relação mássica de água:amido, que após várias tentativas, foi definido como uma proporção mínima de 2:1. Foi verificada que quanto maior a quantidade de água, mais tempo de cozimento foi necessário e isso gera um melhor um produto final com viscosidade mais adequada a aplicação.

Outro ajuste que foi necessário, é que o adesivo deve ter um tempo de secagem conveniente, visto que para o uso como curativo, principalmente de animais que tenham manejo mais difícil.

O que justifica uma secagem mais rápida é que no ambiente clínico ou de campo, o paciente pode ser molhado e a água que impregnou na superfície epidérmica dificulta a secagem, e partindo do princípio que a matéria prima da cola é o amido, que já é facilmente degradado por microrganismos, quanto maior a umidade do produto final, mais susceptível o produto será a estragar mais rápido e causar contaminações na lesão a ser tratada. Desta forma, após testes preliminares, estabeleceu-se que para cada 100g de amido comercial foi utilizado 400g de água.

Um cuidado a se tomar é que a 60°C inicia-se a gelatinização do produto e esta torna-se irreversível entre 64 a 72°C, com a expansão e perda de forma dos grãos do polissacarídeo (TESTER & MORRISON, 1990). No entanto, o tempo de cozimento foi parametrizado em 15 minutos a cada 100g de amido, pois em períodos menores, verificou-se muitos grãos do carboidrato sem gelatinizar, fato que gera dificuldades na aplicação, visto que torna o composto menos fluido e até mesmo mais suscetível à contaminação por microrganismos que usam o amido como fonte de alimento.

Quanto ao ponto de parada no aquecimento, optou-se por colocar o adesivo em um banho frio após o preparo para evitar a perda de solvente antes das outras etapas e secagem instantânea, garantindo que a viscosidade final permita a aplicação via pincel, o que facilitaria a formação do filme curativo sobre a lesão em diferentes espécies animais.

## 5.2 Preparo da resina melamina-formaldeído

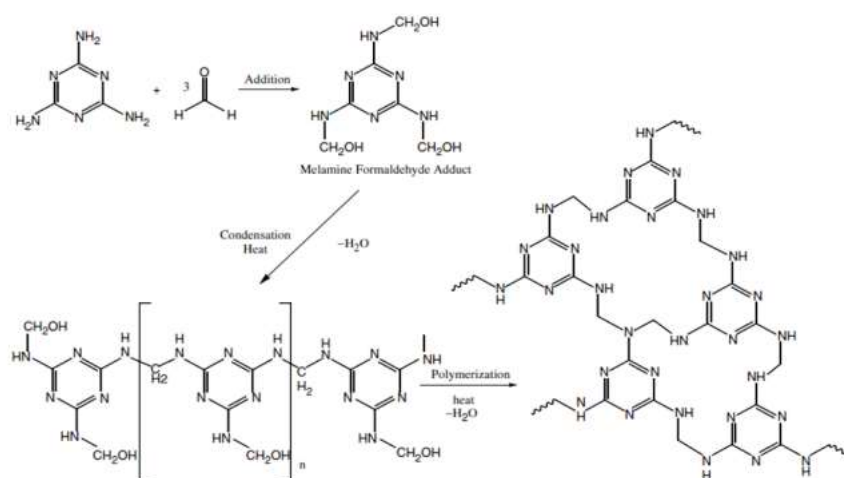
Para a produção da resina melamina-formaldeído foi utilizado formol comercial, com 37 % em volume de metanal. O sistema foi aquecido a 75 °C e a ele adicionou-se melamina sob agitação. No entanto, para que não ocorra a polimerização prematura do composto, deve-se acertar o pH em valores próximos a 8,5 e para isso utiliza-se hidróxido de sódio em concentração 0,1 mol.L<sup>-1</sup> (DING *et al*, 2010).

O pH deve ser controlado com bastante cautela, pois em valores maiores que 11 e menores que 7 ocorre polimerização por condensação e forma um sólido branco, que apresenta tenacidade elevada (MORRISON & BOYD, 2005). Nestas condições a preparação do composto demora cerca de 2 horas e no fim, obtém-se um produto viscoso e transparente, o que difere grandemente da melamina pura, confirmando a formação dos metilóis-melamina.

Os metilóis-melamina formados são muito solúveis em água e álcool e sofrem polimerização de maneira muito rápida. Desta forma, o armazenamento dos mesmos deve ser feito em etanol para ao menos dificultar a reação de condensação.

Após realizar a síntese com excesso estequiométrico de formol para garantir a hexassubstituição da melamina, realizou-se a polimerização por condensação da resina conforme descreve o mecanismo representado na Figura 4.

Figura 4 – Mecanismo reacional para síntese da resina melamina-formaldeído



FONTE: ULLAH *et al*, 2014

Com base no mecanismo, observa-se que a reação da melamina com as moléculas de formaldeído ocorrem nos grupos amina, como diante disso forma-se a metilol-melamina, que é muito polar, esta fica totalmente dissolvida em água, no entanto, suas moléculas podem sofrer polimerização por condensação, ao eliminar água das estruturas e formar uma resina com baixa afinidade ao meio aquoso após estar seca.

Após a polimerização, fez-se testes de solubilidade em água e etanol para todas. Verificou-se que todas são pouco solúveis em água, obtendo um aumento de massa menor que 1%, após deixar as amostras por 24 horas submersas, o que satisfaz sua condição como produto hidrofóbico. Quanto a solubilidade em etanol, nota-se que é muito elevada, fato que facilita sua diluição e difusão pela cola amilácea que será misturada.

Na formação do metilol-melamina observa-se que quanto maior o número de substituintes, mais polar é o monômero e mais apolar é o polímero formado, pois a eliminação de moléculas de água na reação de condensação cria grupos com baixa afinidade em água e com cadeias mais ramificadas, o que serve para dificultar qualquer possível dissolução em meio aquoso que fosse esperada.

Ao obter a metilol-melamina não polimerizada (Figura 5-a), adiciona-se etanol em excesso a fim de solubilizar a mesma, formando a mistura translúcida apresentada na Figura 5-b. Este procedimento de dissolução é muito importante, pois no momento em que ocorrer a mistura da resina com a cola amilácea, deve formar uma mistura homogênea.

Figura 5 – Resina melamina-formaldeído: (a) pura. (b) dissolvida em etanol



FONTE: AUTORA

Após completar a produção individualizada do adesivo amiláceo e da hexametilol-melamina, elas são adicionadas no mesmo recipiente e misturadas manualmente até a obtenção de um sistema homogêneo. Apenas após a secagem ocorre a polimerização. Para a confecção do adesivo vários testes foram feitos e determinado que a proporção de resina em massa é 20% da mistura.

Depois da secagem e da formação do poli(hexametilol-melamina), este demonstra ter baixa afinidade pelo amido, ou seja, forma uma mistura heterogênea, que tem o amido como porção interior e a resina melamínica como porção superficial, que propicia o caráter impermeável do composto.

O princípio ativo (extrato de *Stryphnodendrum coriaceum Benth.*) é adicionado ao adesivo criado a fim de obter as concentrações de teste. E como este extrato também é alcoólico, ocorre perfeita mistura, formando um sistema homogêneo. Para as análises a serem desenvolvidas, foram preparadas 4 amostras nas seguintes concentrações de extrato de barbatimão: 0,15 mg/mL; 1,5 mg/mL; 15 mg/mL e 150 mg/mL no caso do teste em artrópodes e em ratos Wistar.

No entanto é necessário discutir o procedimento de extração continua que foi utilizado para obter o extrato de barbatimão. Os materiais (vagem contendo casca e semente de barbatimão) que foram coletados na sazonalidade correta (julho a setembro) no município de Campo Maior – PI, foram submetidos a pulverização em almofariz. Para as extrações com Soxhlet foi utilizado solvente etanol P.A., sendo as extrações realizadas na temperatura de ebulição do solvente. As extrações foram feitas utilizando 15 gramas do material pulverizado e 250 mL de solvente sob

temperatura controlada 80 °C por 4 horas. Após a conclusão dos ciclos de extrações, o solvente orgânico foi removido em rota evaporador sob pressão reduzida e posteriormente as amostras foram guardadas em um dessecador para a secagem do material.

## **5.3 Caracterização do material**

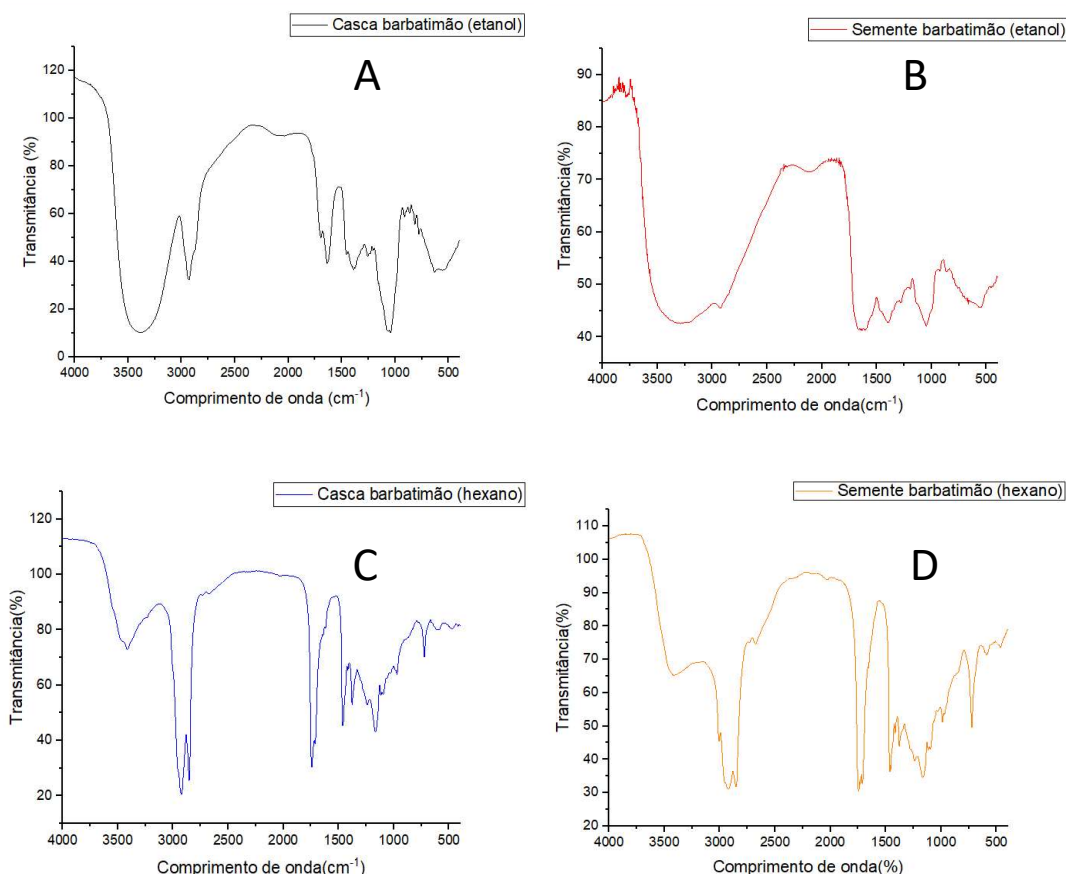
### **5.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)**

A fim de determinar os grupos funcionais presentes nas estruturas químicas dos componentes do extrato de barbatimão, realizou-se o estudo de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), pois esta análise permite conhecer as bandas de estiramento linear ou angular dos grupamentos químicos, o que permitiria inferir e caracterizar os formadores do analito.

No estudo de FTIR partiu-se da seguinte pergunta: existem diferenças substâncias no solvente de extração, etanol que tende a interagir com compostos mais polares ou hexano que tenderia a reagir com compostos apolares? Ou mesmo, se seria diferente tratar as sementes ou a casca da vagem que as contem?

Sendo assim, parte-se da confecção de 4 extratos, representados na Figura 6, que demonstram o FTIR da casca em etanol (Figura 6-A), semente em etanol (Figura 6-B), casca em hexano (Figura 6-C) e semente em hexano (Figura 6-D).

Figura 6 – Espectros FTIR de barbatimão: (A) Extrato etanólico da casca; (B) Extrato etanólico da semente; (C) Extrato hexânico da casca; (D) Extrato hexânico da semente.



FONTE: AUTORA

Inicialmente, deve-se observar as semelhanças entre os grupos encontrados nas quatro estruturas. Em todas as curvas notam-se as bandas de estiramento dos grupos -OH (na região em torno do comprimento de  $3500\text{cm}^{-1}$ ), sendo que estas são mais pronunciadas nos compostos extraídos com etanol, visto a polaridade do solvente e mais interação com a banda. No caso das extrações via hexano, poderia se perguntar o porquê da presença de OH que é um grupo tipicamente polar, no entanto deve-se deixar claro que se fala de compostos orgânicos e que por si só tem natureza anfifílica, assim sendo o hexano extrai o mesmo composto apenas em menor quantidade.

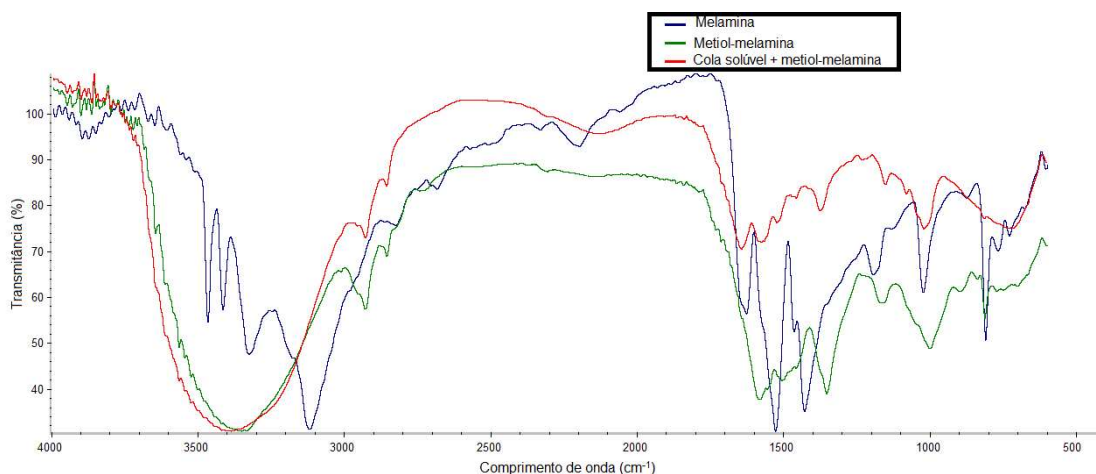
O estiramento do grupo C-H é notório na faixa ao em torno de  $2900\text{cm}^{-1}$ . Além do o grupo carbonila (na região que compreende  $1850$  e  $1650\text{cm}^{-1}$ ), da ligação C=C

(na região em torno do comprimento de 1800 a 1500  $\text{cm}^{-1}$ ), C-O (na região de 1276 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ) e do grupamento C-OH (estiramento ao redor de 1000  $\text{cm}^{-1}$ ) (SILVERSTEIN *et al*, 2005).

Em termos gerais, não existem diferenças significativas entre os analitos. Partindo-se do princípio que o animal de rebanho come a vagem completa, com casca e semente, e que nas extrações não existem bandas presentes em um e ausentes em outro, pode-se assumir que a extração deve ser feita no conjunto completo de casca e semente, até do ponto de vista de que se como final resultar em um fármaco promissor, essa não separação diminui etapas de produção e conseqüentemente, não encareceriam o medicamento.

Quanto ao solvente mais apropriado para a extração, verifica ser o etanol. Primeiro pelo fato de que os espectros demonstram bandas mais intensas, o que significaria maior taxa de extração. A Figura 7 mostra o espectro FTIR do adesivo que agrega o princípio ativo.

Figura 7 – Espectros FTIR da melamina, metiol-melamina e cola solúvel de amido com aditivo de resina melamínica



FONTE: AUTORA

As mesmas bandas já discutidas são bem visíveis, referindo-se ao estiramento dos grupos -OH (na região em torno do comprimento de 3500 $\text{cm}^{-1}$ ), estiramento do grupo C-H em torno de 2900 $\text{cm}^{-1}$ , grupamento carbonila na região que entre 1850 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ , ligação C=C com picos em 1800 a 1500  $\text{cm}^{-1}$ , C-O (na região de 1276 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ) e do estiramento C-OH por volta de 1000  $\text{cm}^{-1}$ .

Na estrutura também se visualiza os grupos C-O (1200 a 1050  $\text{cm}^{-1}$ ) e C-N (1280 a 1180  $\text{cm}^{-1}$ ), que assim descrevem adequadamente a molécula (SILVERSTEIN *et al*, 2005).

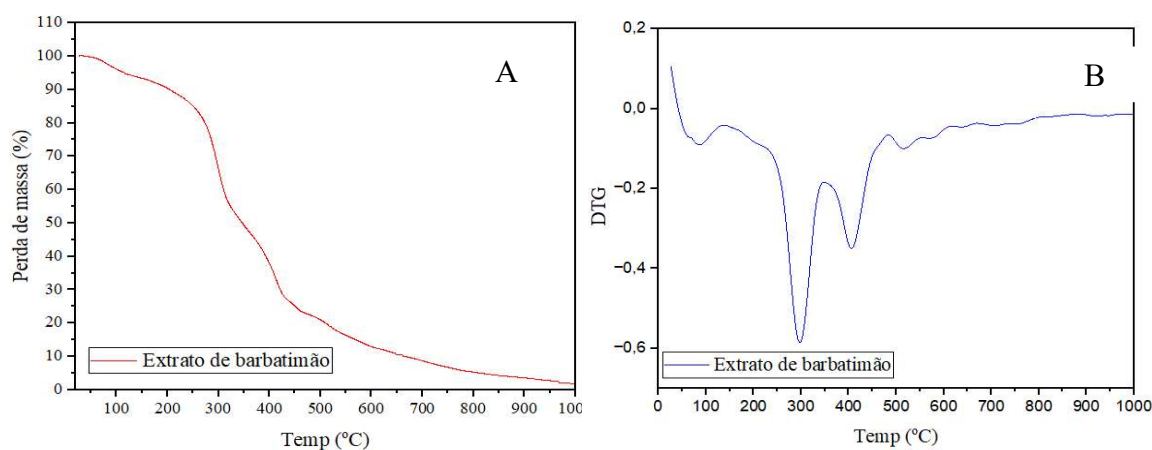
Analisando as três amostras com espectros sobrepostos, verifica-se a clara transformação da melamina na estrutura da metilol-melamina. Isso porque no caso do monômero, não existem grupamentos OH e pode-se notar o estiramento N-H já mencionado. Ficando claro que houve a formação da resina tanto do ponto de vista macroscópico, pois um pó branco tornou-se um líquido viscoso e transparente, quanto microscópico pela mudança no espectro justamente nas regiões previstas na rota sintética.

Por fim, ao realizar a mistura da cola hidrofílica com a resina para a obtenção do adesivo impermeável, verifica-se no espectro que, como trata-se de um fenômeno físico de mera mistura, nada mais ocorre do que a soma dos sinais, é o caso do estiramento do OH que apresenta um pico bem intenso se comparado com os demais grupos, pois a hidroxila é comum aos dois componentes. Já as bandas referentes à carbonila, ao grupo N-H, e outros já discutidos, estão presentes, mas possuem sinal mais fraco por serem presentes em apenas uma das substâncias.

### 5.3.2. Análise termogravimétrica

Em relação à análise termogravimétrica, pode-se verificar na Figura 8, que trata dos resultados de TGA/DTG do extrato de barbatimão.

Figura 8 – TGA/DTG do extrato etanólico de barbatimão: (A) TGA; (B) DTG



FONTE: AUTORA

A Figura 8.B que representa o DTG serve para demonstrar o número de eventos térmicos ocorridos e no caso, verifica-se que houve três grandes perdas de massa no intervalo de 25 a 1000°C. Observando a Figura 8.A tem-se uma visível perda de cerca de 5% de massa em temperatura próxima a 100 °C, o que seria perda de água (VIEIRA, 2011; ALMEIDA, 2011).

Aproximadamente na temperatura de 300°C, o segundo evento térmico o que reduz a massa a 54% da inicial. Trata-se da degradação dos componentes, sobretudo taninos, que formam o extrato e que sofrem reações de condensação liberando pequenas moléculas como água e dióxido de carbono. Também ocorre evaporação completa dos voláteis, quebra de ligações intermoleculares e perdas de grupos funcionais.

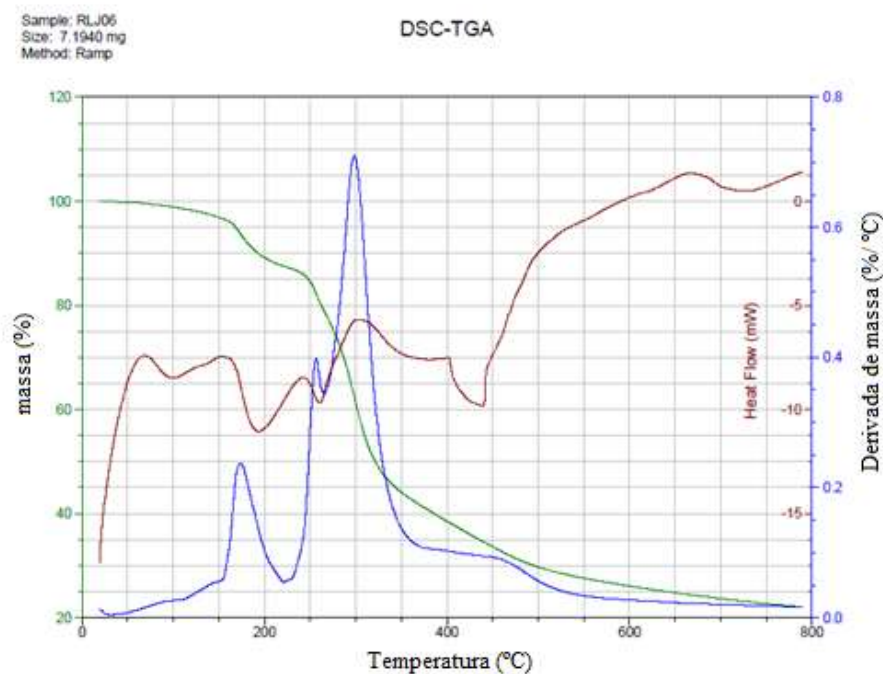
Por volta de 430°C ocorre o terceiro evento térmico que reduz a massa a apenas 27% da inicial e trata-se da carbonização da maior parte dos compostos orgânicos presentes, com quebra das ligações entre carbonos, o que afeta as cadeias moleculares, degradando os óleos e açúcares presentes (taninos) (SOUZA, 2011; LIMA, 2009).

Após isso há apenas eventos constantes de carbonização da matéria orgânica que se processa até o fim do experimento restando uma massa residual de cerca de 2% na temperatura de 1000°C. No caso, essas reações após os três eventos se dão pelas próprias características individuais das substâncias analisadas, que por possuírem moléculas maiores, tendem a ter um ponto de ignição mais elevado.

Essa análise permite garantir que o extrato de barbatimão tem grande estabilidade térmica, sendo que apenas os primeiros efeitos térmicos estruturais por volta de 100°C, temperatura essa que nenhum ser vivo alcançaria. Portanto, pode-se afirmar que o produto não sofre degradação térmica nas condições de uso.

Quanto ao adesivo que representa 90% do produto potencialmente cicatrizante testado, a literatura apresenta os dados térmicos do mesmo e estes são apresentados na Figura 9.

Figura 9 – TGA/DTG do adesivo amido + resina melamina-formaldeído



A Figura 9 trata da análise TGA/DTG do adesivo impermeável de amido com aditivo de resina melamina-formaldeído. Percebe-se não haver um evento térmico de desidratação em torno de 100 °C, tornando a perda de água inviável, uma vez que a resina que protege superficialmente a cola amilácea impede a desidratação da mesma. Somente o pico em torno de 200 °C é visualizado, com base no DTG, que demonstra a perda dos grupos funcionais tanto do amido quanto da resina, liberando pequenas moléculas.

O pico em torno de 400 °C fica mais largo e mais intenso, demonstrando a degradação do composto. Causando assim a quebra das ligações tanto da cola quanto da resina. Em suma, verifica-se que a grande importância da resina melamina-formaldeído no adesivo, pois este dá maior estabilidade térmica, impede a absorção e a perda de água, o que também significa que impede o ataque de microrganismos no amido e no leito do fermento a ser tratado nas temperaturas desejadas.

Apenas depois desta temperatura há uma aproximação das perdas de massa, pois nesta situação os dois compostos degradam a nível de quebrar suas cadeias, o que pode ser notado pelo fato de que a massa percentual residual após 400 °C é maior

na cola de amido sem resina, que na com resina, o que demonstra que mesmo o impermeabilizante sofre degradação termica nestas condições mais extremadas.

### **5.3.3. Medida de viscosidade**

Para testar a viscosidade da produto formulado é necessário fazer pesquisas dos dados da literatura para que o adesivo que carrega o princípio ativo tenha propriedade de não escorrer com facilidade, o que demoraria a formação do filme protetor sobre o leito do corte e também geraria perda do produto (MENDOZA, 2010 e LIMA *et al*, 2008).

Muitos adesivos utilizados para fins de colagem de curativos têm suas viscosidades na faixa de 1000 a 9500 mPa.s (MENDOZA, 2010; LIMA *et al*, 2008; ALBUQUERQUE *et al*, 2005; BRASEQ, 2008). Assim, como o valor de viscosidade medido foi de 3468,3 mPa.s e este está bem próximo ao de um tipo de cola cirúrgica, que é de 3000 mPa.s, pode-se afirmar que este produto tem viabilidade para ser utilizado para a produção de um filme que sirva de curativo para a liberação controlada de um possível fármaco cicatrizante.

## 5.4. Avaliação do produto

### 5.4.1. Absorção de umidade

Para testar a absorção de umidade com o tempo, preparou-se uma amostra de um filme do adesivo contendo o extrato de barbatimão simulando em uma placa de Petri. A aplicação foi feita da mesma forma que seria realizada em um ser vivo, com o uso de um pincel. O produto foi pesado e acrescentou-se água por um período de 48 horas para medir a massa de água que ficaria retida no curativo. Os dados foram descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Comportamento do adesivo quanto a absorção de água em relação ao tempo.

Tempo de exposição à água	Massa da amostra (g)	Massa de água (g)	% de água na amostra
0 hora	2,56	0	0
1 hora	2,56	0	0
2 horas	2,56	0	0
4 horas	2,57	0,01	0,39
12 horas	2,57	0,01	0,39
24 horas	2,58	0,02	0,78
48 horas	2,61	0,05	1,95

FONTE: AUTORA

Diante da observação destes dados, verifica-se que a absorção de água nas primeiras 48 horas é baixa, principalmente se for observado que se trata de um teste brusco, já que a função primária do curativo não é ficar imerso em água por longos períodos.

### 5.4.2. Tempo de prateleira em ambiente aberto e fechado

Para analisar o tempo de prateleira em recipiente aberto, tendo posse de uma porção de 300 mL em um béquer, colocou-se esta em ambiente seco e a temperatura ambiente. O adesivo demorou aproximadamente cinco dias para secar totalmente, sem a ocorrência visível de modificações, como formação de colônias de bactérias ou fungos, que ocasionariam mudança de cor. O que não pode ser considerado tempo excessivo pelo fato de que é uma amostra com baixa superfície de contato.

No entanto, para o desenvolvimento de um produto viável, este deve ter alta durabilidade em ambiente fechado, já que deve haver certa garantia de manutenção do poder adesivo no decorrer do tempo. Pois o cicatrizante deve ser armazenado para aplicação no ferimento apenas no momento necessário, sem a necessidade de produzir o curativo a cada uso.

Em ambiente hermeticamente fechado esperou-se o tempo de 45 dias a contar da data de sua produção e o curativo líquido não apresentou secagem ou modificações estruturais, o que garante que neste tempo o cicatrizante é utilizável.

## 5.5. Estudo biológico

### 5.5.1. Teste de toxicidade no modelo artrópode tenébrio

Neste teste, preparou-se quatro misturas do adesivo incorporado com extrato etanólico de barbatimão para aplicação em larvas de tenébrio (*Zophobas morio*). Além das misturas utilizando-se o extrato, houve dois outros grupos de estudo, sendo o controle positivo (aplicação de DMSO) e o controle negativo, que não teve aplicação de substâncias. A Figura 10 retrata o teste realizado.

Para cada grupo foi realizado teste em duplicata (duas placas contendo 5 larvas em cada).

Após a aplicação, as amostras foram deixadas no laboratório sob iluminação natural e temperatura ambiente.

Realizou-se observações hora a hora nas 8 primeiras horas, depois com 12 horas e por fim com 24 horas do início da aplicação.

Figura 10 – Grupos teste para estudo de toxicidade do extrato de barbatimão em tenébrios (*Zophobas morio*)



FONTE: AUTORA

Esse experimento foi realizado teve os resultados a seguir descritos.

**Grupo I: Controle positivo: Aplicação de 0,1 mL de DMSO:**

A Figura 11 retrata um o resultado verificado imediatamente após a aplicação de 0,1 mL de DMSO em cada uma das larvas de tenébrio gigante presentes na placa de Petri.

Figura 11 – Controle positivo com aplicação de 0,1 mL de DMSO em cada tenébrio



FONTE: AUTORA

Das 10 larvas analisadas, todas morreram instantaneamente, sendo observado o experimento no prazo de 24 horas apenas com a finalidade de verificar alterações na aparência, coloração, dos artrópodes analisados.

Todas sofreram alteração na cor, sendo que 5 delas sofreram melanização severa (ficando totalmente pretas), as demais sofreram mudança de cor apenas em alguns pontos.

**Grupo II: Controle negativo: sem aplicação:**

Após realizar o estudo com uma substância conhecidamente tóxica às larvas, faz-se o teste de controle negativo que consiste na observação dos insetos pelo período de 24 horas para verificar qualquer alteração e comparar com aqueles em que foram injetados o princípio ativo. Este estudo está presente na Figura 12.

Figura 12 – Controle negativo sem aplicação nas larvas



FONTE: AUTORA

Neste caso todas as larvas permaneceram saudáveis, sem alteração de coloração e com boa mobilidade. Também não foi observado comportamento que remetesse a situações de estresse.

**Grupo III: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3000 mg/kg:**

O trabalho foi iniciado com o grupo de maior dose, ou seja, 3000 mg/kg. O extrato foi aplicado diretamente no abdome das larvas com o auxílio de seringa hipodérmica. Os resultados finais são visíveis na Figura 13.

Figura 13 – Placas contendo tenébrios com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3000 mg/kg



FONTE: AUTORA

O que se percebeu foi que nas primeiras duas horas, apenas uma larva morreu e esta não apresentava mudança de cor. Após quatro horas do início do experimento 3 larvas haviam morrido e duas delas faltavam partes, pois haviam sido canibalizadas pelas sobreviventes. Nas doze primeiras horas não houve alteração no quadro.

Finalmente, observando após 24 horas, percebeu-se que 5 das 10 larvas haviam morrido, sendo 3 destas canibalizadas pelas demais. Todas as mortas apresentavam coloração normal.

As sobreviventes apresentaram boa motilidade e reação ao toque condizente com o momento antes da aplicação do extrato. No entanto, três delas apresentavam melanização bastante acentuada, enquanto que as duas outras apenas estavam levemente escurecidas.

**Grupo IV: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 300 mg/kg:**

No grupo de estudo referente à aplicação de extrato na concentração de 300 mg/kg, os resultados apresentados estão na Figura 14, que assim como os demais consiste na aplicação do extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* no abdome das larvas.

Figura 14 – Placas contendo tenébrios (*Zophobas morio*) com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 300 mg/kg



FONTE: AUTORA

Nas doze primeiras horas nada ocorreu. Na observação final, verificou-se que 3 larvas morreram, sendo duas em uma placa e uma na segunda placa. Destas três, duas foram parcialmente canibalizadas.

Das sete sobreviventes, 6 estavam muito sensíveis ao toque e apresentavam coloração normal. Apenas um espécime possuía baixa motilidade.

**Grupo V: aplicação de 0,1 mL de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 30 mg/kg:**

O penúltimo grupo de estudo é aquele em que as dez larvas de tenébrio (*Zophobas morio*) são submetidas a aplicação de extrato de referente à aplicação de extrato *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na dose de 30 mg/kg. Nesse caso, os resultados após o prazo de 24 horas são observados com base na Figura 15.

Figura 15 – Placas contendo tenébrios (*Zophobas morio*) com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 30 mg/kg



FONTE: AUTORA

Neste caso, mesmo após 24 horas não houve mortes dos artrópodes. Todos os espécimes estavam muito reativos ao toque, apresentando grande sensibilidade. Não houve alteração de cor possível de ser percebida.

**Grupo VI: aplicação de 0,1 mL biopolímero com de extrato de barbatimão na dose de 3 mg/kg:**

Por fim, o grupo com aplicação da menor dosagem de extrato de barbatimão (3 mg/kg) também foi observado pelo período de 24 horas para verificar a evolução na sobrevivência das 10 larvas de tenébrio que foram submetidas aplicação da resina com o aditivo de extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* A Figura 16 representa o momento do término do experimento onde podem ser confirmadas as conclusões.

Figura 16 – Placas contendo tenébrions com aplicação de biopolímero com extrato de barbatimão na dose de 3 mg/kg

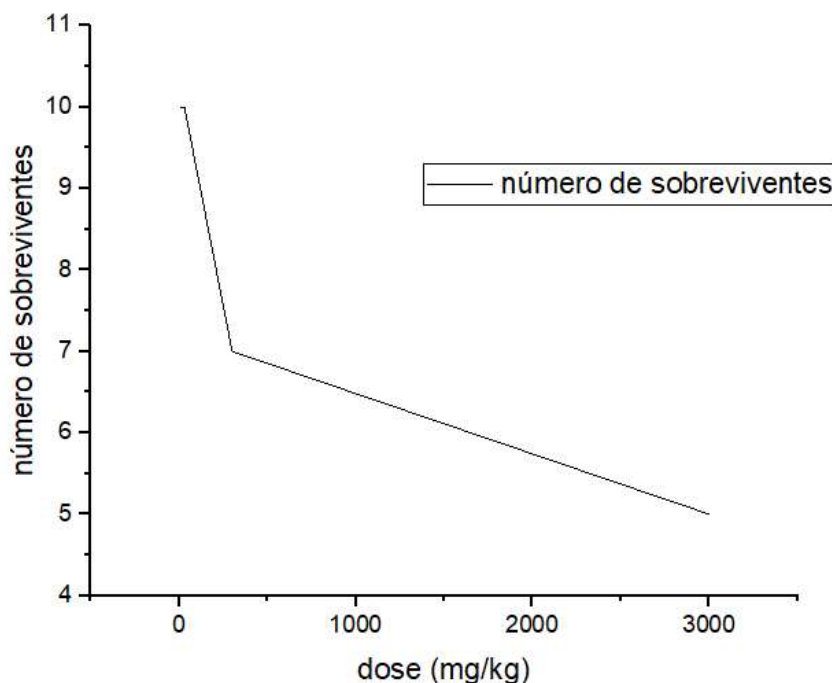


FONTE: AUTORA

Como já havia sido analisado o resultado com dosagem dez vezes maior (30 mg/kg) e que não havia mortes ou mudanças nos insetos, previa-se que o mesmo ocorreria neste e caso e, sem nenhuma surpresa, foi o que ocorreu. Os dez espécimes permaneceram vivos após 24 horas, sem alteração de cor e com sensibilidade ao toque.

A Figura 17 apresenta o gráfico de curva de sobrevivência nas doses descritas.

Figura 17 – Curva de sobrevivência de tenébrios (*Zophobas morio*) em relação à dose de biopolímero com extrato de barbatimão



/FONTE: AUTORA

Diante dos seis testes e do estudo da Figura 17, verifica-se que em doses menores que 30 mg/kg do biopolímero com adição do extrato de barbatimão, não ocorreram mortes das larvas. Entre 30 e 300 mg/kg a curva teve uma grande variação e depois tornou-se mais estável entre 300 e 3000 mg/kg.

### 5.5.2. Tratamento *in vivo* em ratos Wistar

Para realizar o tratamento *in vivo* nos ratos da variedade Wistar, separou-se 24 animais, visto que poderiam ser feitas três incisões em casa animal, evitando assim o uso e eutanásia e mais espécimes do que necessário.

Iniciou-se com a separação em 4 grupos, cada um contendo 6 ratos e sendo acomodado em uma gaiola individualizada.

Após isso, foram feitas as incisões nos roedores e tratados da seguinte forma:

**Grupo controle:** sem tratamento, sendo neste caso que a cicatrização ocorreria normalmente.

**Grupo 1:** Os ratos tratados com aplicação compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 1,5 mg/mL.

**Grupo 2:** Os ratos tratados com aplicação compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 15 mg/mL.

**Grupo 3:** Os ratos tratados com aplicação compósito amido/melamina com extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* na concentração de 150 mg/mL.

Se observado o teste em artrópodes, verifica-se que foi excluído o produto de concentração menor (0,15 mg/mL de extrato de barbatimão) e o motivo para isso é que como não aparentou toxicidade relevante em nenhuma concentração e novamente, evitando maus tratos aos animais, é prudente analisar as maiores concentrações e só retornando a menor caso verifique-se estatisticamente que o efeito cicatrizante seria melhor em menores concentrações.

Os animais foram observados por 21 dias, sendo que foram feitas coletas nos tecidos no em três ocasiões: 7 dias, 14 dias e 21 dias. Deste tecido foram feitas lâminas e realizado o estudo histológico dos mesmos.

Um fato relevante a ser mencionado é que como a resina funciona como cola, cria-se um filme protetor sobre o ferimento o que faz assim que necessite em todo os 21 dias, de apenas uma aplicação. Sendo que só seria feita uma segunda caso o animal removesse o filme mecanicamente, o que na pesquisa realizada não ocorreu.

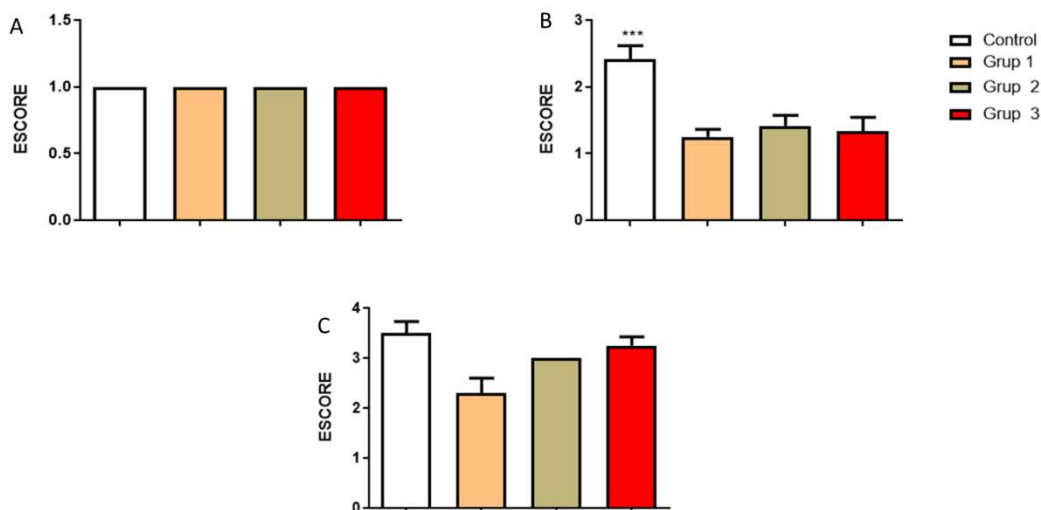
Para compreender como funciona a cicatrização, parte-se de que após o ferimento ocorre uma resposta inflamatória à lesão que tem como intenção eliminar agentes nocivos, tecido lesionado e gerar o incremento da deposição de componentes da matriz celular. Concomitantemente, ocorre a proliferação de fibroblastos e células endoteliais vasculares, que geram um tecido de aparência rosada, lisa e com grânulos. Também ocorre a formação de vasos sanguíneos novos enquanto os fibroblastos se multiplicam, o que permite a síntese de matriz extracelular e que o colágeno se deposite, o que forma a cicatriz. Em uma última etapa, tem-se o processo denominado remodelação, etapa em que a síntese e degradação de matriz extracelular se equilibram.

Dito isso, o efeito cicatrizante foi analisado tanto do ponto de vista micro e macroscopicamente. As análises microscópicas seguiram podem ser verificadas

primeiro partindo do estudo estatístico dos parâmetros de evolução de um ferimento, que seriam: progressão do reparo epitelial (quanto maior o reparo, melhor seria a cicatrização), progressão do infiltrado inflamatório (quanto maior a progressão, mais eficiente é o agente cicatrizante), progressão da proliferação fibroblástica (quanto mais desenvolvidos e alinhados estão os fibroblastos, melhor a evolução do ferimento e mais próxima a cicatrização) e progressão da neovascularização (onde no início do ferimento ter-se-ia edema e conforme a evolução novos vasos sanguíneos seriam formados).

A Figura 18 aborda o primeiro parâmetro que seria a progressão do reparo epitelial.

Figura 18 - Análise da progressão do reparo do tecido epitelial em animais tratados por extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.



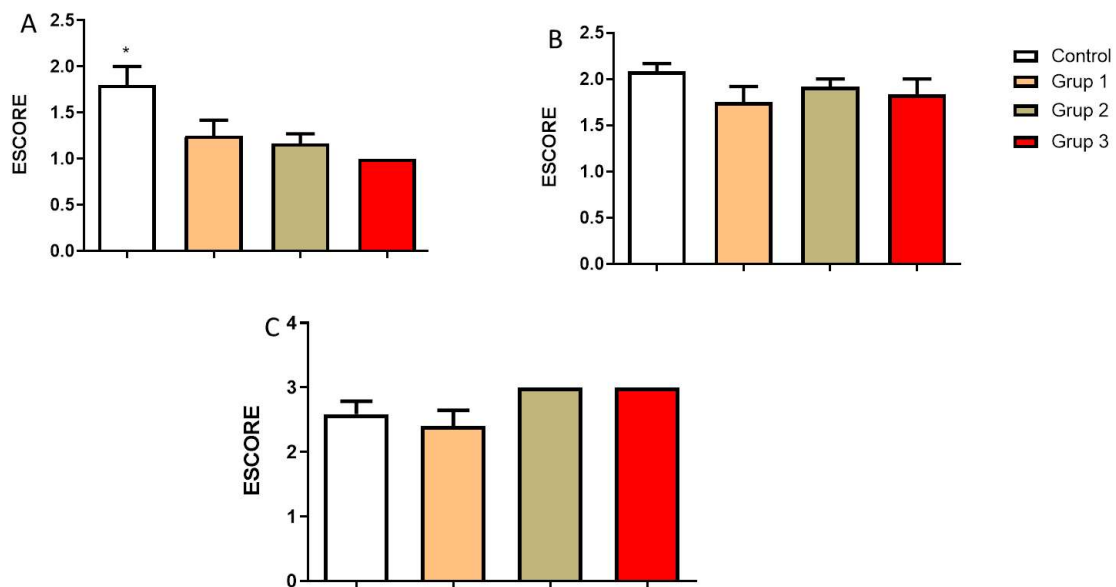
Legenda: \*\*\* =  $p < 0,005$  quando comparados aos demais grupos

Percebe-se que nos primeiros 7 dias, o reparo tecidual é exatamente igual em todos os grupos de trabalho. Mas quando se parte para o período de 14 dias, nota-se que o reparo é quase o dobro no grupo de controle que não recebeu nenhum tratamento se comparado com os grupos experimentais. No período final de 21 dias, houve uma grande evolução nos grupos experimentais se comparado com a amostragem anterior, mas apenas o grupo 3 é estatisticamente igual ao grupo controle.

Com este primeiro resultado já se pode questionar a ação cicatrizante do produto aplicado se comparado com animais que não passaram por nenhum tratamento. Mas esta análise tem que ser aprofundada, pois os grupos 1, 2 e 3 possuem resultados diferentes, sendo que a cicatrização em 3 é maior que em 2 e maior que em 1 e a única diferença entre esses grupos é a concentração do extrato de barbatimão. Então pode-se também preliminarmente deduzir que quanto maior a concentração do extrato, maior será a progressão do reparo tecidual epitelial.

Para aprofundar este entendimento, segue-se para o segundo parâmetro, progressão do infiltrado inflamatório, verificado na Figura 19.

Figura 19 - Análise da progressão do Infiltrado Inflamatório em animais tratados por extrato de *Stryphnodendron coriaceum* Benth. agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.



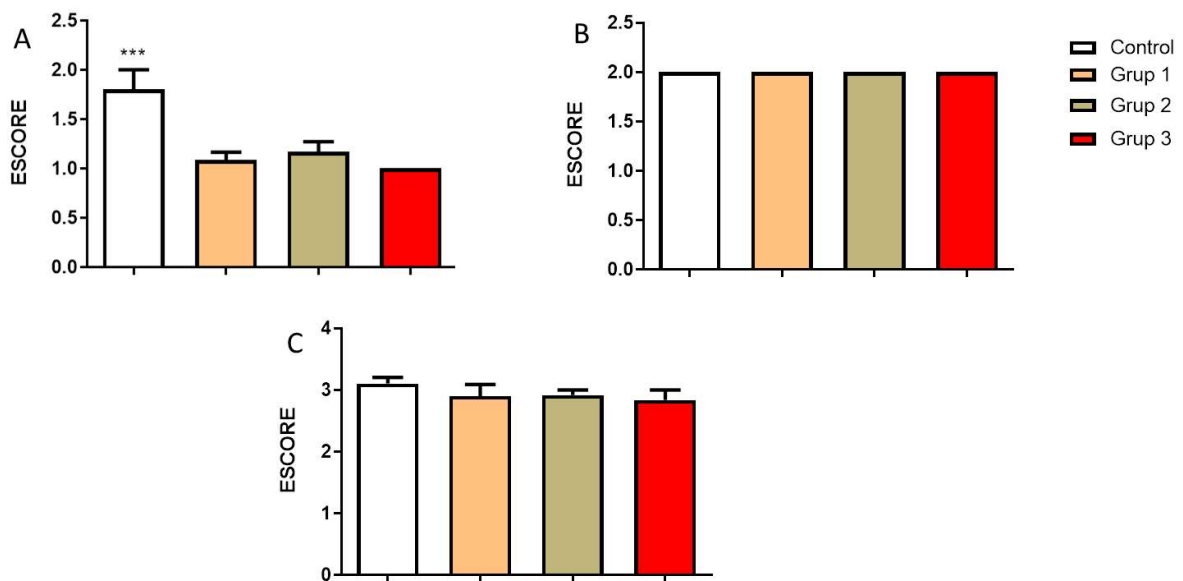
Legenda: \* =  $p < 0,005$  quando comparados ao grupo 3

Quando se analisa a progressão do infiltrado inflamatório, tem-se que nos primeiros 7 dias o controle negativo supera os grupos 1 e 2, sendo mais eficiente na eliminação de agentes nocivos e tecido danificado. No entanto, aos 14 dias, os grupos 1, 2 e 3 tornam-se estatisticamente iguais ao controle e esse quadro permanece aos 21 dias.

Novamente se percebe que inicialmente algo atrapalhava o efeito cicatrizante com a progressão do infiltrado inflamatório, nos grupos 1, 2 e 3. Mas que com o passar dos dias, aqueles com maior concentração crescem e se igualaram ao grupo controle, fazendo suspeitar de que algum fator contrário à cicatrização estaria sendo superado com a progressão temporal.

O terceiro parâmetro de estudo é a progressão da proliferação de fibroblastos e este pode ser analisado estatisticamente com base nos dados da Figura 20.

Figura 20 - Análise da progressão da proliferação Fibroblástica em animais tratados por extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.



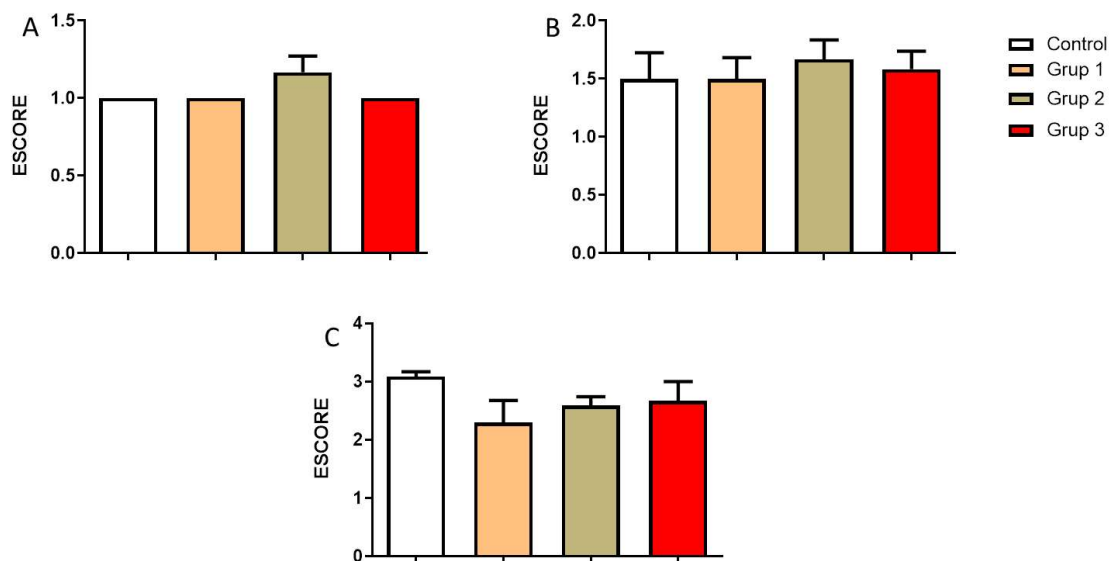
Legenda: \*\*\* =  $p < 0,005$  quando comparados aos demais grupos

Analisando os dados obtidos, verifica-se que nos 7 primeiros dias, o aparecimento de fibroblastos é relativamente maior no grupo de controle se comparado com os grupos que contém a resina agregada ao extrato de barbatimão. Comparando os grupos, verifica-se que os valores são estatisticamente iguais, porém, quando se analisa os 14 primeiros dias, verifica-se que o desenvolvimento dos fibroblastos é estatisticamente igual em todos os grupos experimentais, ocorrendo o mesmo em 21 dias.

Neste caso o efeito do agente potencialmente cicatrizante chega a ser desconsiderado, pois não há melhoras em relação aos animais que não passaram por nenhum tratamento especial, ou seja, quanto ao desenvolvimento de fibroblastos precisa-se de dados mais detalhados, que serão discutidos nas lâminas histológicas a seguir.

O quarto estudo tem relação com a progressão de uma nova vascularização, já que quando ocorre a lesão cria-se um edema e aos poucos novos vasos surgem. Para verificar o efeito do tratamento aplicado, visualiza-se a Figura 21.

Figura 21 - Análise da progressão da Neovascularização em animais tratados por extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* agregado a um compósito amiláceo de melamina-formaldeído após 7 dias de tratamento em A, 14 dias de tratamento em B e 21 dias de tratamento em C.



No primeiro período analisado nota-se que o grupo controle, o grupo 1 e o grupo 3 tiveram os mesmos resultados, com base no estudo das amostras, e que o grupo 2 teve um resultado maior. Isso se confirma quando do tempo de 14 dias, mas no caso, agora todos os dados são estatisticamente iguais, tendo prevalecido no grupo 2 sendo superior a 3 e este superior ao controle e grupo 1 que apresentaram os mesmos valores. No tempo final de 21 dias, o grupo de controle apresentou os melhores

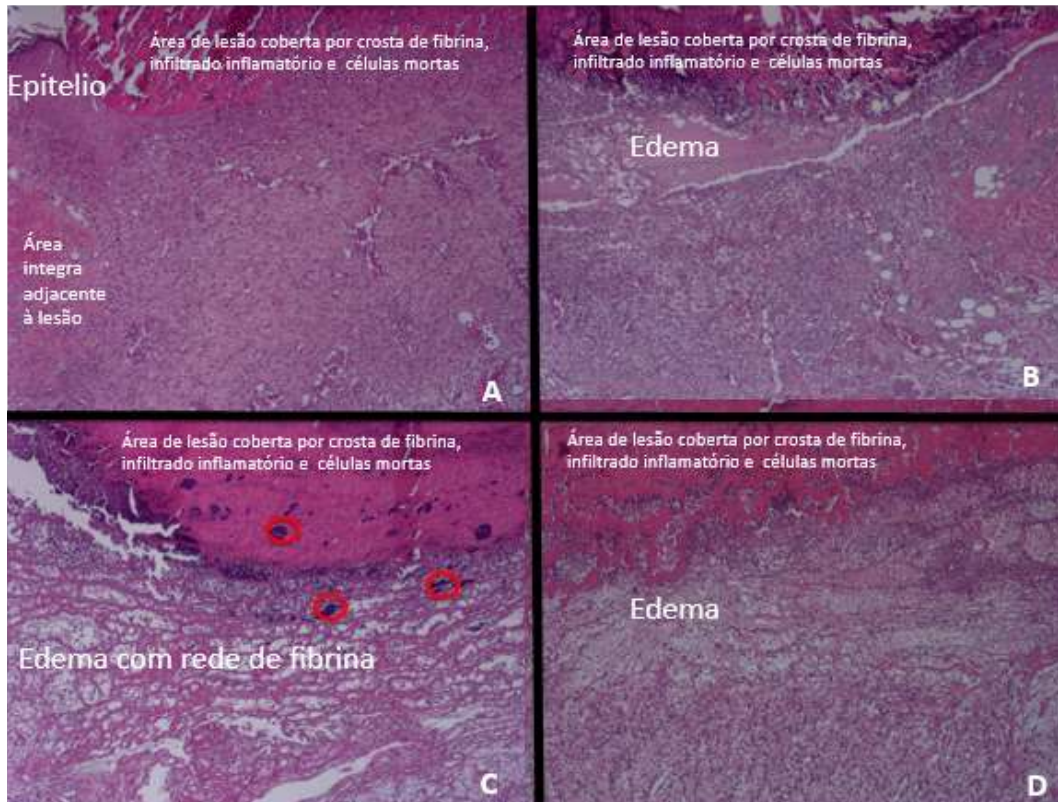
resultados, apesar de ser muito próximo de 3 que supera 2 e este supera 1. Mas os três grupos experimentais são estatisticamente iguais.

Unindo os quatro parâmetros analisados, poderia ser dito que não houve efeito cicatrizante. Mas com base na progressão do reparo do tecido epitelial, a concentração de 150 mg/mL supera a de 15 mg/mL e esta supera a de 1,5 mg/mL. Sobre a progressão do Infiltrado Inflamatório, tem-se um empate entre o grupo 2 e 3. Quanto a progressão da proliferação Fibroblástica o grupo 2 supera o 3 levemente, e um tem um resultado pouco melhor, mas os grupos são estatisticamente iguais. Em relação a progressão da Neovascularização, o grupo 3 supera 2 que supera 3. Em suma, verifica-se que a mudança na concentração do extrato muda a evolução da lesão de modo que quanto maior a concentração melhor o resultado, mas para ser considerado cicatrizante deveria ter valores que apresentassem vantagens em relação ao grupo controle. Assim, o que se pode propor é que os componentes do compósito aplicado, especialmente o amido não gelatinizado, tem efeito concorrente e dificultam a ação do extrato vegetal.

O adesivo é composto por grãos de amido gelatinizado e resina hexametilol-melamina, algum destes ou os dois podem causar tais problemas. Mas para ratificar este pensamento, verifica-se comparativamente as lâminas nos períodos de 7, 14 e 21 dias. A Figura 22 demonstra o período de 7 dias após lesão e tratamento.

Figura 22 - Fotomicroscopia com aumento de 40x de espécimes com 7 dias de lesão cutânea.

A- Controle – 7d; B- Grupo 1 – 7d; C- Grupo 2 – 7d; D- Grupo 3 – 7d.



Agora visualizando as lâminas referentes ao estudo histológico de 7 dias, tem-se que um quadro em comum que se refere a uma incipiente proliferação epitelial nas margens da lesão, com abundante número de células inflamatórias (leucócitos polimorfonucleares – PMN). Existe também uma intensa proliferação de células endoteliais organizando novos vasos e matriz extracelular pobre em fibras colágenas com identificação de fibroblastos jovens.

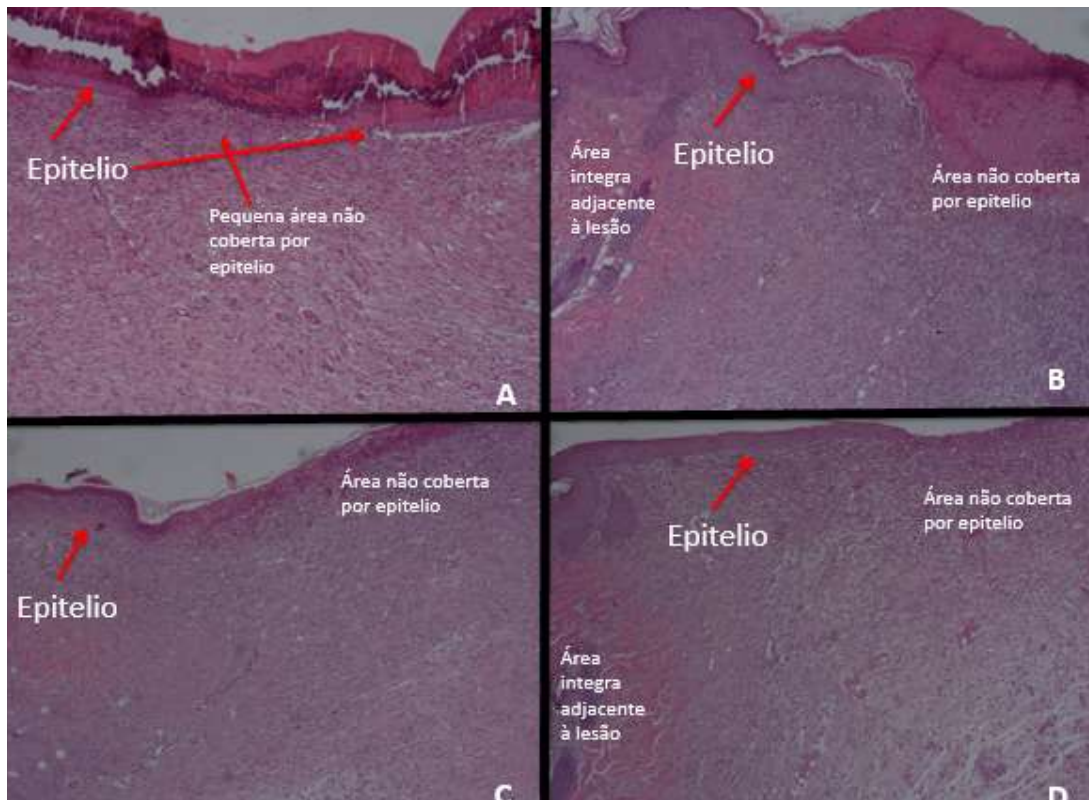
Se compararmos o grupo controle (A) com os grupos experimentais (B, C e D), verifica-se que estes apresentam um edema mais marcado, sendo que em (C) observou-se a presença de um edema circundado por uma rede de fibrina e a presença de material experimental não solubilizado e marcado na Figura 21-C por círculos vermelhos.

Analisando mais profundamente, nota-se que o grupo de controle em 7 dias já possui uma maior organização da lesão, até por conta de não haver nenhuma

substância presente, já nos grupos controle, sobretudo em (B) tem-se já uma grande quantidade de macrófagos a fagocitar parte do material aplicado, provavelmente grãos de amido que podem não ter sofrido perfeita gelatinização e que acabaram por entrar no leito do corte, o que de certa forma não é totalmente desejável, por não ter poder cicatrizante e pela possível capacidade de desencadear reação tecidual, ele teria meramente a função de carrear o princípio ativo e funcionar como um curativo colante que protege contra microrganismos externos e mantém o corte o mais fechado possível, sem entrar em contato com a área em recuperação, tendo aplicação meramente superficial.

Nos primeiros sete dias não há mudança substancial entre os grupos de estudo, assim deve-se observar os instantes posteriores e isso é verificado na Figura 23 que retrata as lâminas histológicas de 14 dias.

Figura 23 - Fotomicroscopia com aumento de 40x de espécimes com 14 dias de lesão cutânea. A- Controle; B- Grupo 1 – 14d; C- Grupo 2 – 14d e D- Grupo 3 – 14d.



O período de 14 dias já é uma data base importante, pois com este tempo, lesões consideradas mais simples já estariam quase que completamente cicatrizadas

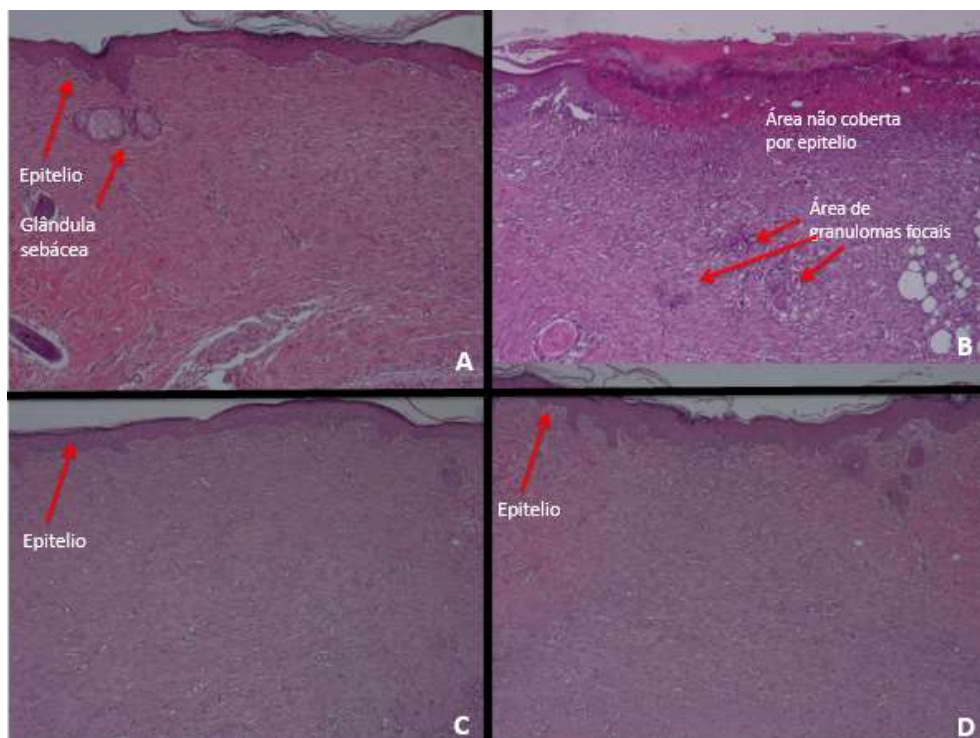
e este dado é bastante corroborado com o observado no grupo controle (A), visto que existe um tecido epitelial neoformado cobrindo quase que completamente o leito do ferimento e isto se dá em sua extensão geral. O tecido conjuntivo subjacente com moderada a discreta presença de PMN e grande número de fibroblastos jovens com produção de nova e delicada Matriz Extracelular (MEC) e presença de fibras dispersas irregularmente. Isto serve para mostrar que a cicatrização já encontra-se em fase avançada e correndo muito bem sem nenhum interferente ou cicatrizante, apenas com a resposta imunológica do próprio corpo dos roedores.

Já quando se analisa os grupos experimentais isoladamente, nota-se que quanto maior a concentração de extrato de barbatimão mais elevada é a cicatrização, sendo que em (D) existe reparo tecidual e presença de PMN no tecido conjuntivo subjacente comparável a (A) e também a revascularização está bem pronunciada em (C) e (D) superando até mesmo (A), o que garante uma cicatrização viável ainda que não se note um efeito de melhoria de fechamento do leito do ferimento superior a ausência de tratamento.

Mas novamente, observa-se a potencialidade do uso do extrato de barbatimão como cicatrizante se comparado ao fato que nesta etapa, quanto maior a concentração do extrato vegetal, há melhoria no procedimento de cicatrização, o que deve estar ocorrendo é a presença de interferentes como o amido não gelatinizado que pode estar sendo digerido pelas células de defesa retardando o completo fechamento da lesão.

Partindo-se para um momento mais avançado que corresponderia aos 21 dias, momento esse em que o processo de evolução do ferimento deveria estar completo e em que pode-se fazer a eutanásia dos animais para melhor compreender os efeitos biológicos, observa-se a Figura 24.

Figura 24 - Fotomicroscopia com aumento de 40x de espécimes com 21 dias de lesão cutânea. A- Controle – 21d controle; B- Grupo 1 – 21d; C- Grupo 2 – 21d e D- Grupo 3 – 21d.



No momento final da análise verifica em (A) um epitélio completo com queratinização, espessura e maturação normal, no conjuntivo subjacente, observa-se avançada maturação com maior grau de fibrosamento e menor celularidade, além de poucos leucócitos difusamente dispersos e vascularização discretamente maior que o tecido normal adjacente.

Partindo para os grupos com aplicação de extrato de barbatimão, verifica-se que (D) apresentou melhores resultados sendo em alguns pontos, como progressão do infiltrado inflamatório e neovascularização, até superior a (A), ou seja, conforme as concentrações aumentam, a cicatrização torna-se maior.

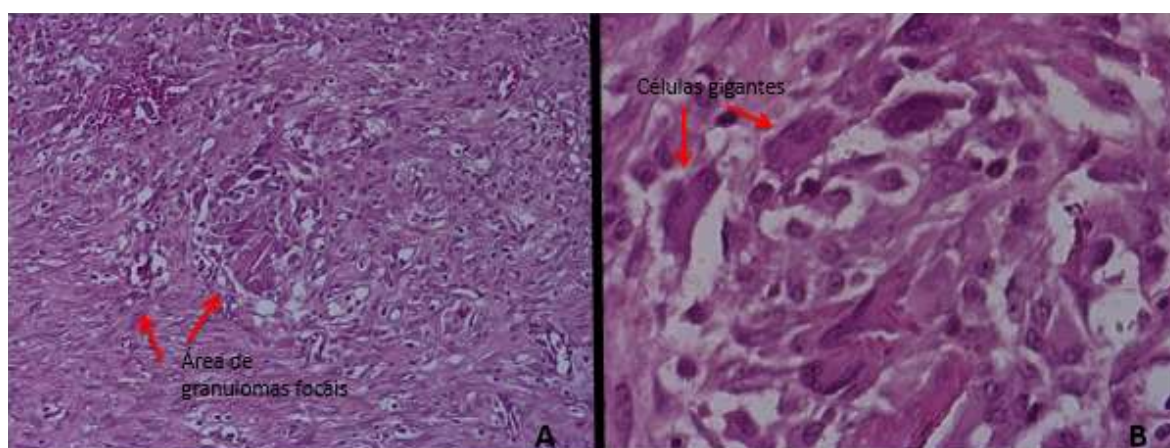
No Grupo 1, a proliferação epitelial não recobriu a lesão totalmente (não houve diferença estatística entre a epitelização do grupo 1 de 14 e de 21 dias), e observou-se também a presença de moderado infiltrado inflamatório, em especial a concentração focal de macrófagos organizados em células gigantes, no tecido conjuntivo subjacente. No Grupo 2 apresenta epitélio neoformado cobrindo totalmente superfície da ferida, porém na maioria dos espécimes, com estratificação irregular, além disso, o

tecido conjuntivo subjacente exibiu avançada maturação com fibrosamento e fibroblastos maduros, além de moderados leucócitos difusamente dispersos e vascularização discretamente maior que o tecido normal adjacente.

Com o final dos 21 dias realmente nota-se que há um efeito cicatrizante, mas que devido a interferente no leito do corte, além do trabalho normal de evoluir a lesão, o material teve que ter um poder extra para controlar o corpo estranho que dificultava o processo de cicatrização. Desta forma, verifica-se sim um efeito potencial para uso do extrato de barbatimão como componente de fármaco para este fim, com adaptações para evitar a reação tipo corpo estranho que retarda a reparação tecidual.

Para corroborar a tese de corpo estranho e que este provavelmente trata-se de grânulos de amido não gelatinizado, observa-se a Figura 25.

Figura 25 - Fotomicroscopia com aumento de 100x (A) e 400x (B) de espécime do Grupo 1 com 21 dias de lesão cutânea.



Na Figura 25, que apresenta maior ampliação sobre o Grupo 1, que apresenta concentração muito baixa de extrato de barbatimão, ou seja, funciona como uma espécie de branco por possuir basicamente o compósito amiláceo melamina-formaldeído, nota-se áreas de formação de granuloma de corpo estranho com a presença de abundantes macrófagos epitelióides e organizados em células gigantes, sugerindo a presença de material de corpo estranho (provavelmente amido não gelatinizado no processo de aquecimento em meio aquoso) sendo fagocitado no local. Esta análise mostra o efeito que o compósito dificulta a cicatrização quando entra em contato com o tecido a ser recuperado, mas quando se nota que nos Grupos 2 e 3 que possuem respectivamente concentrações de 15 mg/mL e 150 mg/mL de princípio ativo

e que tiveram resultados similares ao grupo controle, mostra-se que efetivamente há efeito cicatrizante no extrato de *Stryphnodendron coriaceum Benth*, mas que o método de aplicação do mesmo deve sofrer adaptações.

Do ponto de vista macroscópico, não houve diferenças claras no período de 21 dias entre o grupo controle e o Grupo 3, sendo que os dois tiveram cicatrização completa. No Grupo 2 apesar de cicatrização completa, nota-se uma estratificação irregular na cicatriz e no Grupo 1 o processo ainda não apresentava completo após 21 dias.

**Em síntese**, por análise de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) determinou-se que os grupos funcionais presentes em extratos de barbatimão do Piauí utilizando como solvente hexano ou etanol apresentam as mesmas bandas, o que sugere que como o etanol é um solvente anfifílico, consegue carrear a maior parte dos compostos e seria um solvente mais adequado para o estudo desenvolvido.

Os resultados permitiram concluir que o extrato etanólico de *Stryphnodendron coriaceum Benth*. é miscível ao biopolímero amiláceo melamina-formaldeído e o produto desenvolvido apresentou estabilidade tanto térmica (TGA) quanto durabilidade de secagem quando em recipiente fechado.

Os testes de toxicidade em tenébrios (*Zophobas morio*) demonstraram que nas dosagens de 3 a 30 mg/kg não há mortes dos espécimes, enquanto na dose de 3000 mg/kg ocorre a morte de 5 das 10 larvas utilizadas no teste, apresentando na dosagem mais elevada toxicidade ao modelo artrópode proposto.

Quanto ao uso agregado ao compósito amido/hexametilol-melamina, observa-se que o compósito desencadeia uma reação tipo corpo estranho, vista pela concentração focal de macrófagos organizado em células gigantes. No entanto, mostra-se como um curativo agregado a princípio ativo com potencial, tendo em vista que tanto causa proteção mecânica da ferida quanto permite, através do mecanismo de impregnação dos princípios ativos ao amilácio, é possível ter a substância atuando por vários dias sem a necessidade de nova aplicação, o que é muito válido principalmente para animais criados de forma extensiva. No entanto, verificou-se que o extrato de barbatimão, principalmente na concentração de 150 mg/mL, foi capaz de reverter o efeito negativo do componente [da formulação](#) que causou reação tipo corpo estranho e atrasou a cicatrização.

## 6. CONCLUSÃO

O biopolímero amiláceo com extrato de barbatimão (*Stryphnodendron coriaceum benth*) possui estabilidade tanto térmica (TGA), durabilidade e baixa toxicidade, compatíveis com um curativo de longa duração, porém teve o efeito cicatrizante prejudicado pela presença de componente amiláceo que causou reação tipo corpo estranho. Por ser uma formulação promissora, deve ser corrigido em sua formulação e testado novamente no protocolo de cicatrização.

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Em termos de perspectivas futuras do trabalho realizado, pode-se dizer que o biopolímero amiláceo melamina-formaldeído tem grande potencial para o uso como curativo, visto que se trata de um composto que não sofre ação de degradação por microrganismos, é insolúvel em água e impermeável, é colante e não apresenta toxicidade. Assim sendo, é um produto que serviria para aplicação única e tratamento duradouro.

Quando associado ao extrato de barbatimão, a mistura une o que é de melhor em cada parte, sendo que o fitoterápico tem ação antimicrobiana e cicatrizante.

Desta forma, pretende-se refinar o produto para combater o efeito de corpo estranho e verificar as melhores formas de aplicação do biopolímero associado ao barbatimão. Deste modo, em uma pesquisa associada a profissionais de diversas áreas de conhecimento, prevê a elaboração de um curativo associado a fármaco que possa ser patenteado e produzido para o bem das espécies animais.

## 8. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R.R., ALMEIDA, R. R., LACERDAB, L. G.; MURAKAMIB, F.S.C.; BANNACHD, G.; DEMIATEA, I.M.; SOCCOL, C. R.; CARVALHO FILHO, M.A.S., SCHNITZLER, E. *Thermal analysis as a screening technique for the characterization of babassu flour and its solid fractions after acid and enzymatic hydrolysis*, *Thermochimica Acta*, v. 519, p. 50-54, 2011.
- ALMEIDA, S.P.; *Cerrado espécies vegetais úteis*. 1º Edição. Planaltina, DF. EMBRAPA-CPAC, 1998, p. 106-110, 129-133, 182-185, 223-225 e 347-350.
- ANICETO, A.; PORTE, A.; MONTENEGRO, J.; CADENA, R.S.; TEODORO, A.J. *A review of the fruit multinutritional and biological activities of three Amazonian species: bacuri (Platonia insignis), murici (Byrsonima spp.), and taperebá (Spondias mombin)*. *Fruits* 72(5): 317-326, 2017.7
- ARANTES, A.R.; COUTO, V.R.M.; SANO, E.E.; FERREIRA, L.G. *Livestock intensification potencial in Brazil based on agricultural censos and satellite data analysis*. *Pesq. agropec. bras.* vol.53 no.9 Brasília Sept. 2018.
- ARDISSON, L.; GODOY, J.S.; FERREIRA, L.A.M.; STEHMANN, J.R.; BRANDRÃO, M.G.L. *Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de Stryphnodendrum adstringens (Mart.) Coville (Barbatimão)*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, n.1, 27-34, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR DE FITOTERÁPICOS, SUPLEMENTO ALIMENTAR E DE PROMOÇÃO DA SAÚDE - ABIFISA. Disponível em: <http://www.abifisa.org.br>, Acesso em 19 out. 2024.

- ASTUR, D.C.; NOVARETTI, J.V.; UEHBE, R.K.; ARLIANI, G.G.; MORAES, E.R.; POCHINI, A.C.; EJNISMAN, B.; COH, M. *Lesão muscular: perspectivas e tendências atuais no Brasil*. Revista Brasileira de Ortopedia, v. 49, n. 6, p. 573-580, 2014.
- AZEVEDO, M.M.M. Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas [tese]. Campinas: Universidade estadual de Campinas. Instituto de Química. Departamento de Físico-Química, 2005
- BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J. (Ed.). Edible coatings and films to improve food quality. Boca Raton: CRC Press, 2011. 430 p
- BARBOSA, R. R.; FILHO, M. R. R.; SILVA, I. P.; SOTO-BLANCO, B. Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo. Acta Veterinaria Brasília, v.1, n.1, p.1-7, 2007.
- BARCAUI, E.O.; CARVALHO, A.C.P.; PIÑEIRO-MACEIRA, J.; BARCAUI, C.B. Estudo da anatomia cutânea com ultrassom de alta frequência (22 MHz) e sua correlação histológica. Radiologia Brasileira, v. 48, n. 5, p. 324-329, 2015.
- BANTON, R., PIEHLER, T., ZANDER, N., BENJAMIN, R., AND DUCKWORTH, J.; Comparison of numerical simulations with experiments of blast-induced pressure wave impact on a surrogate head model, in *Conference proceedings of the society for experimental mechanics series* (Berlin, Germany: Springer), 181–187, 2018.
- BENÍCIO, T. M. A.; NARDELLI, M. J.; NOGUEIRA, F. R. B.; ARAÚJO, J. A. S.; RIET-CORREA, F. Intoxication by the pods of *Enterolobium contortisiliquum* in goats, In: PANTER, K. E.; WIERENGA, T. L.; PFISTER, J. A. (Eds), Poisonous

Plants: global research and solutions. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK. 2007. p.80-85.

- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A.; *Introdução à química de alimentos*. 3 ed. São Paulo: Varela, 2003.
- BRASEQ – BRASILEIRA EQUIPAMENTOS. Viscosidade e reologia: noção básica. São Paulo.2005. Disponível em: <http://www.braseq.com.br/pdf/brookfield.pdf>.. Acesso em: 28 jun. 2024.
- BRITO, M.F.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; SILVA, H.K.; NOGUEIRA, M. Intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendrum obovatum* (Leg. Mimosoideae) em bovinos. 1. Caracterização de quadro clínico. Pesq. Vet. Bras. 21(1):9-17, jan./mar. 2001
- BRITO, M.F.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; SILVA, H.K.; NOGUEIRA, M. Intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendrum obovatum* (Leg. Mimosoideae) em bovinos. 1. Caracterização de quadro clínico. Pesq. Vet. Bras. 21(1):9-17, jan./mar. 2001.
- BRITO, M. F.; ARMIÉN, A. G.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendron coriaceum Benth.* (Leg. Mimosoideae) em caprinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 15, n. 4, p.111-116, 1995.
- CABALLERO, B.; FINGLAS, P.; TOLDRÁ, F. Encyclopedia of Food and Health. Cambridge: Academic Press, 2015. 4013 p.
- CAMARGO, W. Intoxicação em bovinos por “barbatimão” (*Stryphnodendron obovatum* Benth.; Fam. Leguminosae). Biológico, São Paulo,v. 31, n.1, p.7- 11, 1965.

- CAMPOS, CARRER. Produtos e serviços veterinários. Plantas tóxicas. Disponível em:<http://www.camposecarrer.com.br/default.asp?secao=det.asp&codigo=116&tipo=3>). Acesso em: 10 de janeiro de 2024.
- CARVALHO, F.A.; JACOBSON, T.K.B.; COSTA, A.F.; SANTOS, A.A.B.; HAY, J.D.V. Estrutura e distribuição espacial do Barbatimão (*Stryphnodendrum polyphyllum*) em uma área de cerrado do sudeste de Goiás. Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas, v.3, n.1, 14-19, 2009.
- CASTRO, A.H.F.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A.A.; VITOR, S.M.M. Calogênese e teores de fenóis e taninos totais em barbatimão [*Stryphnodendrum adstrigens* (Mart.) Coville]. Ciência Agrotec., Lavras, v.33, n.2, 385-390, 2009.
- CHUNG, K.; *Crit. Rev. Food Sci. Nutrition*, 1998, 38, 421.
- CHUNG, K.C; GLORIA, K.; *Systematic review of skin graft donor-site dressings. Plast Reconstr Surg.* 2009;124(1):307-8.
- CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Indústria e Comércio. V.1. 1926.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. Unesp, São Paulo , n. 2- edição, e ampliada, p. 264, 2002.
- DING, N., YAN, N., REN, C., CHEN, X.; *Anal. Chem.,( Washington – DC – US)*, 2010, 82, n. 13, 5897- 5899.
- DÖBEREINER, J.;CANELLA C.F.C. Intoxicação de bovinos pela fava do barbatimão (*Stryphnodendron coriaceum* Benth.) Bol. M. Soc. Bras. Med. Vet. 24:49-69, 1956.
- FAN K, TANG J, ESCANDON J, KIRSNER RS. State of the art in topical woundhealing products. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127 Suppl 1:44S-59S.

- FARID, M. F.; ABOUELELA, Y.S.; RIZK, H.; *Stem cell treatment trials of spinal cord injuries in animals*, Autonomic Neuroscience, Volume 238, 2022, 102932.
- FARSNWORTH, N. R. ; SOERJATO, D. D. Potencial consequence of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. *Economic Botany*, v. 39, p. 231-240. 1985.
- FERREIRA MC, TUMA JR. P, CARVALHO VF, KAMAMOTO F. Feridas complexas. *Clinics*. 2006;61(6):571-8.
- FIALHO SL, CUNHA JUNIOR AS. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. *Arq. Bras. Oftalmol*. 2007; 70(1):173-79.
- FRANCO, J.L.A.; GANEM, R.S.; BARRETO, C. Devastação e conservação no bioma cerrado: duas dinâmicas de fronteira. *Expedições: Teoria da história e historiografia*, 2, ano 7: 56-83, 2016.
- GLASENAPP, J. S. *Variação aloenzimática e estrutura genética populacional de Stryphnodendron adstringens(Mart.) Coville (Leguminosae)*. Tese pós-graduação em genética e melhoramento.Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2011. Orientador: Vicente Wagner Dias Casali. Coorientadores: Cosme Damião Crus e Ernane Ronie Martins.
- GREENSTEIN, G. Effects of subgingival irrigation on periodontal status. *J. Periodontol*. 1987; 58(12): 827-36.
- HARDING KG, MORRIS HL, PATEL GK. Science, medicine and future: healing chronic wounds. *BMJ*. 2002;324(7330):160-3.
- HOARE, T.R.; KOHANE, D.S. Hidrogels in drug delivery: progress and challenges. *Polymer*, v.49, p.1993-2007, 2008.

- HOFFMAN, A.S. The origins and evolution of “controlled” drug delivery systems. *Journal of controlled release*, v.132, p.153-163, 2008.
- ISAAC C, LADEIRA PRS, REGO FMP, ALDUNATE JCB, FERREIRA MC. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Rev Med*. 2010;89(3/4): 125-31.
- JONES JE, NELSON EA. Skin grafting for venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;25(1):CD001737.
- KANJ LF, WILKING SV, PHILLIPS TJ. Pressure ulcers. *J Am Acad Dermatol*. 1998;38(4):517-36.
- KIERSZENBAUM A.L. *Histology and Cell Biology: An introduction to pathology*. 2<sup>nd</sup> ed. Mosby Elsevier, St Louis. 688, 2006.
- KLEIN, A. L. (Org). *Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois*. São Paulo: Editora UNESP; Imprensa Oficial do Estado; Fapesp, 2000.
- LANINI, J. et al.. “O que vêm da terra não faz mal” - relatos de problemas relacionados ao uso de plantas medicinais por raizeiros de Diadema/SP. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.1A, p.121-9, 2009.
- LEAL, T.S.; OLIVEIRA, B.G.; BOMFIM, E.S.; FIGUEREDO, N.L.; SOUZA, A.S.; SANTOS, I.S.C. Percepção de pessoas com feridas crônicas. *Revista de enfermagem UFPE*, v.11, n. 3, p. 1156-62, 2017.
- LEI, H., FRAZIER, C.E.; *Int. J. Adhes. Adhes.*, 62, 40-44, 2015
- LIMA CG, VILELA AFG, SILVA AAS, PIANNOVSKI AR, SILVA KK, CARVALHO VFM, MUSIS CR, MACHADO SRP, FERRARI M. Desenvolvimento e avaliação

da estabilidade física das emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*). Rev Bras Farm. 2008;89(3):239-45.

- LIMA, E.S.; FELFILI, J.M.; MARIMON, B.S.; SCARIOT, A. Diversidade, estrutura e distribuição espacial de palmeiras em um cerrado *sensu stricto* no Brasil Central – DF. Revista Brasil. Bot., V.26, n.3, p.361-370, jul.-set. 2003
- LIMA, L.M.R. Estudo de degradação térmica oxidativa de graxas. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- LIMA, N. M.; SANTOS, N. C.; La Porta, A. Quimiodiversidade, Bioatividade E Quimiosistemática Do Gênero *Inga* (Fabaceae): Uma Breve Revisão. Revista Virtual de Química, Londrina, Vol. 10, p. 459-473, 2018.
- LIMA JÚNIOR, R.O. Preparação e caracterização de cola amilácea de babaçu (*Orbignya sp*) com adição de resina melamina-formaldeído. Dissertação (Mestrado em química) - Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Piauí, Teresina. 2017.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais do Brasil Nativas e Exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. p. 296.
- MACEDO, F.M.; MARTINS, G.T.; RODRIGUES, C.G.; OLIVEIRA, D.A. Triagem fitoquímica do barbatimão [*Stryphnodendrum adstringens* (Mart) Coville]. Revista Brasileira de Biociências, v.5, 1166-1168, 2007.
- MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P.. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. Brazilian Journal of Biology. v. 62, n.4, p. 609-614, 2002.
- MARTINS, L.P.; MATTOS, P.P.; BRAZ, E.M. Crescimento de *Stryphnodendrum adstringens* no bioma Cerrado, Formosa, GO. Colombo, PR:

- EMBRAPA-CNPTIA, 2015. 6p. (EMBRAPA-CNPTIA. Comunicado Técnico-357).
- MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J. Germinação de sementes se *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville de diferentes origens submetidas a tratamentos para superação de dormência. R. Árvore, Viçosa-MG, v.32, n.6, p.1059-1067, 2008
  - MELO, J.A. Valorização da flora do cerrado com importância medicinal. Universidade de Brasília. Trabalho de Conclusão de Curso, Luziânia: p.11-19, 11 dez. 2011.
  - MELLO, G. W. S.; OLIVEIRA, D. M.; CARVALHO, C. J. S.; PIRES, L. V.; COSTA, F. A. L.; RIET-CORREA, F.; SILVA, S. M. M. S. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 30, p. 1-9, 2010.
  - MENDOZA, Z. M. S. H. Efeito da inclusão laminar nas propriedades de painéis aglomerados fabricados com resíduos da indústria laminadora. 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, MG. 2010. 128 p.
  - MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; LINS NETO, E.M.F.; ARAÚJO, E.L.; AMORIM, E.L.C. Use Patterns and Knowledge of Medicinal Species among Two Rural Communities from Northeastern Brasil's Semi-arid Regional. Journal of Ethnopharmacology, v.105, 173-186, 2006.
  - MONTEIRO J.M.; DE ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. Quim. Nova, p. 892-896, v. 28, n. 5, 2005.
  - MORRISON, R., BOYD, R.; *Química Orgânica*. 14ª Edição. Editora Fundação: Calouste Gulbenkian, 2005.

- NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. Patologia da reprodução dos animais domésticos. 4ª ed. Ed. GUANABARA KOOGAN S.A. Rio de Janeiro, RJ, 2018. p. 74-79.
- OECD (Organization for economic co-operation and development). Guideline 423: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. OECD, Paris, 2001.
- OLIVEIRA, A.L.S.; FIGUEIREDO, A.D.L. Prospecção Fitoquímica das folhas de *Stryphnodendrum adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). Revista Brasileira de Biociências, v.5, sup1.2, 384-386, 2007.
- OLIVEIRA, J. M. G. Determinação da atividade antioxidante e toxicidade *in vitro* e *in vivo* de *Myracrodruon urundeuva* Allem. 2013.104p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina. 2013.
- PESSOA, C. R. M.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 33, n. 6, p. 752-758, 2013.
- REBECCA, M. A. et al. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. Journal of Ethnopharmacology, v. 83, 2002, p. 101-104.
- Rezende, M.A.S.; Silva, C.A. de S.; Campos, A.N. da R. Larva de *Tenebrio molitor* como fonte de proteína na alimentação humana: possibilidade e perspectivas. Contribuições para a Área de Alimentos: Experiências do Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Rio Pomba, p. 222, 2020.
- RIBEIRO NETO, J.A.; TARÔCO, B.R.P.; SANTOS, H.B.; THOMÉ, R.G.; WOLFRAM, E.; RIBEIRO, R.I.M.A. Using the plants of brazilian cerrado for wound healing: from tradicional use to cientific aprouch. Journal of ethnopharmacology, 260: 2020.

- RIET-CORREA, F. Intoxicação por *Claviceps purpurea*. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. (Eds.). Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos. Pelotas: Editorial Hemisfério Sul do Brasil, 1993. p. 227-239.
- RIET-CORREA, F.; HARAGUCHI, M.; DANTAS, A. F.; BURAKOVAS, R. G.; YOKOSUKA, A.; MIMAKI, Y.; MEDEIROS, R. M. T.; MATOS, P. F. Sheep poisoning by *Panicum dichotomiflorum* in Northeastern Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 29, p. 94-98, 2009.
- RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J. Toxic plants for livestock in Brazil: economic impact, toxic species, control measures and public health implications. In: PANTER, K. E.; WIERENGA, T. L.; PFISTER, J. A. (ed.). (Org.). Poisonous Plants: global research and solutions. Wallingford: CAB International, 2007. p. 2-14.
- RIZZINI, C. T. & MORS, W. B. Botânica econômica brasileira. 2. Ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, v. 1995, p. 248.
- RONDELLI, L.A.S.; BECKER, M.; CALDEIRA, F.H.B.; RIBEIRO, M.; FURLAN, F.H.; COLODEL, E.M.; PESCADOR, C.A.; ANTONIASSI, N.A.B. Hemolytic anemia in beef cattle in extensive system farming in Mato Grosso and Rondônia. Pesq. Vet. Bras. vol.38 no.8 Rio de Janeiro Aug. 2018
- SAATH, K.C.O; FACHINELLO, A.L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. Rev. Econ. Sociol. Rural vol.56 no.2 Brasília Apr./June 2018.
- SANCHES, A.C.CC; LOPES, G.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; MELLO, J.C.P. Antioxidant antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendrum obovatum Benth.* Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.41, n.1, p.101-107. 2005.

- SANCHES, A.C.CC; LOPES, G.C.; TOLEDO, C.E.M.; SACRAMENTO, L.V.S.; SAKURAGUI, C.M.; MELLO, J.C.P. Estudo morfológico comparativo das cascas e folhas de *S. adstrigens*, *S. polyphyllum* e *S. obovatum* – Leguminosae. Latin. American Journal of Pharmacy, v.26, n.3, 362-368, 2007.
- SANTOS, N. C., CASTANHO, M. A. R. B. Quím. Nova, 25,1181, 2002.
- SÃO PAULO. *Secretaria Municipal da Saúde. Manual de Padronização de Curativos. Comissão Especial de Avaliação de Padronização de Curativos Médicos em Geral - CPCM* – Secretaria Municipal de Saúde/SP. 2021. 61p.
- SAPRA, P, ALLEN, TM. Ligand-targeted liposomal anticancer drugs. Prog. Lipid Res. 2003; 42(2): 439-62.
- SCALBERT, A. *Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry*, Elsevier v.30, p.3878-3883, 1991.
- SCALON, V.R. *Stryphnodendrum* in lista de espécies da flora do Brasil. Jardim botânico do Rio de Janeiro, 2010.
- SIEPMANN, J; PEPPAS, N. Modeling of drug release from delivery systems based on hidroxypropylmethylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.64, P.163-174, 2012.
- SILVA, B. P.; PARENTE, P.; *Fitoterapia*, 2001,72, 887-893.
- SILVÉRIO, J.P. *Manual de fitoterapia e plantas medicinais úteis (Especialmente as do Cerrado)*. 1º Edição. Brasília, DF. RBS Gráfica e Editora. 2008, p. 257, 271, 319.

- SILVERSTEIN, R.M., WEBSTER, F.X., KIEMLE, D.J.; *Spectrometric identification of organic compounds*. John Wiley & Sons. 7<sup>a</sup>.Ed., 2005.
- SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. 5. ed. UFRGS Editora, Florianópolis-SC: 1999, p. 1102.
- SIMÕES, CM.O.; SCHEMKEL, E. P.; GOSMANM, G.; MELO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5<sup>o</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS e UFSC, 2004. p. 643.
- SOUSA, A.E.S.; BATISTA, F.O.C.; MARTINS, T.C.L.; SALES, A.L.C.C.; *O papel da arginina e glutamina na imunomodulação em pacientes queimados revisão de literatura*. *Revista Brasileira de Queimaduras*, v. 14, n. 4, p. 295-299, 2015.
- SOUZA, C.M.P., BRANDÃO, D.O., SILVA, M.S.P., PALMEIRA, A.C., SIMÕES, M.O.S., MEDEIROS, A.C.D.; *Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do Serviço Público de Saúde em Campina Grande – Paraíba*. *Rev. Bras. Pl. Med.* 15, 188–193, 2013.
- SOUZA, N. J. A.; JUSTO, G. Z.; OLIVEIRA, C. R.; HAUN, M.; BINCOLETTO, C. *Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells*. *International Endodontic Journal*, vol. 39, n. 1, p. 40-47, 2006.
- SOUZA, N. L. G. D. ; BRANDÃO, H.M ; OLIVEIRA, L.F.C .*Análise térmica da degradação de quitosana utilizada em rúmen bovino*. In: 34<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade de Química. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/34ra/resumos/T1718-1.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2023.

- TESTER, F.R.; MORRISON, W.R.; *American Association of Cereal Chemistry*, St. Paul, 1990, 67, 551-557.
- TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. *Plantas Tóxicas do Brasil*. 2<sup>a</sup> ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2012. 566p.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; SILVA, M. F. *Plantas toxicas da Amazonia: a bovinos e outros herbívoros*. INPA: IBGE, Rio de Janeiro, 1979, 95p.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. *Plantas tóxicas do Brasil*. 1<sup>a</sup>ed. Helianthus, Rio de Janeiro, 2000. 311p.
- TROPICAL PLANTS DATABASE, 2018. Ken Fern <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Stryphnodendron+coriaceum>, acesso em 17/09/2024.
- TURSCH, B.; TURSCH, E.; HARRINSON, I. T.; SILVA, G. B. C. T. C.; MONTEIRO, H. J.; GILBERT, B.; MORS, W. B.; DJERASSI. Terpenoids. LIII. Demonstration of ring conformational changes in triterpenes of the  $\beta$ -amynn class isolated from *Stryphnodendron coriaceum*. *Benth. Journal Organic Chemistry*, vol. 28, p. 2390, 1963.
- TURSCH, B., DALOZE, D., TURSCH, E., CHIURDOGLU, G., 1965. *Triterpenes 11. Les Sapogénines J et L de Stryphnodendron Coriaceum*. *Bull. des Sociétés Chim. Belges* 75, 26–28.
- TYAN, Y.C., YANG, M.H., JONG, S.B., WANG, C.K., J. Shiea *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, 395, 729–735.

- ULLAH, S., HASAN, Z. BEGUM, M., 2014. The edible ichthyofauna of Konhaye Stream District Dir Lower, Khyber Pakhtunkhwa. *Pakhtunkhwa Journal of Life Science*, vol. 2, no. 3-4, pp. 87-95.
- VASCONCELOS, M.C.A. et al. Avaliação de atividade biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth (Leguminosae). *Rev Bras Farmacogn*, p. 121-127, 2004.
- VENANCIO, A. M. Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), em *Mus músculos* (camundongos). 2006. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Nucleo de Pós-Graduação em Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju. 2006.
- VIEIRA, A. P; SANTANA, S. A. A.; BEZERRA, C. W. B.; SILVA, H. A. S.; CHAVES, J. A. P.; MELO, J. C. P.; SILVA, V. F.; C. AIROLDI. Epicarp and mesocarp of babassu (*Orbignya speciosa*): characterization and application in copper phtalocyanine dye removal. *Journal of Brazilian Chemical Society*. São Paulo, v. 22, n. 1, 2011.
- VIEIRA, H.B. Uso potencial das espécies nativas do cerrado em sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA): Destaques para a família Fabaceae. TCC – IFGoiano – Iporá – Goiás, 2019.
- WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F.; *Starch: Chemistry and technology*. 2 ed.1984
- WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F.; *Starch: Chemistry and technology*. 3 ed.2009
- ZIPFEL, P.F.; SKERKA,C. *Mol. Immunol.*,v.150, outubro-2022, 90-98.