

**ÉRICA BRUNA DE ANDRADE SOARES**

**AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE FERIDAS CUTÂNEAS EM  
RATOS WISTAR, TRATADAS COM POMADA COMPOSTA POR ALECRIM DA  
CHAPADA (*Lippia gracilis* Schauer) E AROEIRA (*Schinus terebinthifolius*  
Raddi)**

**RECIFE**

**2019**



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

**ÉRICA BRUNA DE ANDRADE SOARES**

**AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE FERIDAS CUTÂNEAS EM  
RATOS WISTAR, TRATADAS COM POMADA COMPOSTA POR ALECRIM DA  
CHAPADA (*Lippia gracilis* Schauer) E AROEIRA (*Schinus terebinthifolius*  
Raddi)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto  
Co-orientadora: Dra. Lígia Reis de Moura Estevão

**RECIFE  
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca central, Recife-PE, Brasil

S676a Soares, Érica Bruna de Andrade  
Avaliação morfológica e morfométrica de feridas cutâneas em  
ratos wistar, tratadas com pomada composta por alecrim da chapada  
(*Lippia gracilis Schauer*) e aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) /  
Yuri Mateus Lima de Albuquerque. – 2019.  
60 f. : il.

Orientador(a): Joaquim Evêncio Neto.  
Coorientador(a): Lígia Reis de Moura Estevão.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em biociência animal,  
Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Pele - Doenças - Tratamento homeopático  
2. Neovascularização 3. Cicatrização de ferimentos 4. Matéria  
médica vegetal 5. Essências e óleos essenciais I. Evêncio Neto,  
Joaquim, orient. II. Estevão, Lígia Reis de Moura, coorient. III. Título

CDD 636.089

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

**AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE FERIDAS CUTÂNEAS EM  
RATOS WISTAR, TRATADAS COM POMADA COMPOSTA POR ALECRIM DA  
CHAPADA (*Lippia gracilis* Schauer) E AROEIRA (*Schinus terebinthifolius*  
Raddi)**

Dissertação de Mestrado elaborada por:

**ÉRICA BRUNA DE ANDRADE SOARES**

Defendida e aprovada em \_\_\_\_ de Fevereiro de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Dra. Lígia Reis de Moura Estevão  
PNPD/Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal / UFRPE

---

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

*Dedico esta Dissertação à minha amiga e cunhada, Prof<sup>a</sup> MARIA DE FÁTIMA SOARES, pelo seu apoio, amor, estímulo e cumplicidade.*

## AGRADECIMENTOS

**À DEUS** pelo dom da vida.

Aos meus pais: Edvaldo José de Andrade e Marileide Soares de Andrade, pela vida, amor e educação.

À minha bela família: Antônio Pedro, Maria Carolina e Aplysia Catarina, pelo apoio, incentivo, estímulo, amor, carinho e paciência.

Aos meus irmãos Emídio Lopes de Andrade Neto e Edvaldo José de Andrade, pelo apoio e incentivo.

Ao meu orientador e amigo sincero **Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto** pela oportunidade, confiança e cumplicidade.

A minha Co-orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lúgia Reis de Moura Estevão, pela orientação e correções.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da UFRPE e a CAPES/CNPq, pela oportunidade e apoio financeiro.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal/UFRPE pelos ensinamentos, apoio e estímulo.

À Profa. Dra. Tatiana Souza, Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal/UFRPE, pelo apoio e estímulo.

A secretária da Pós-Graduação em Biociência Animal Edna Cherias, pelos serviços prestados.

Aos membros da banca de exame de qualificação: Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lúgia Reis de Moura Estevão e Dr<sup>a</sup> Edna Maria Gomes de Barros.

Em nome do Prof. Dr. Francisco Leite e da Dr<sup>a</sup> Mariana Rêgo, agradeço aos professores do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal/UFRPE, pelos ensinamentos.

Ao meu eterno Professor e orientador, na vida e na profissão, Prof. Dr. Antônio Pedro Soares pelas co-orientações, correções, colaboração, estímulo, apoio, amor e cumplicidade.

A minha amiga Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Liriane Baratella Evêncio pelo estímulo e apoio.

Ao Prof. Dr. Fabrício Bezerra Sá, pelos ensinamentos, orientações, conselhos, estímulo, apoio e amizade.

A amiga Dr<sup>a</sup> Edna Maria Gomes de Barros e sua mãe Dona Judite, pelo apoio, colaboração e recepção.

Ao Prof. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara, pela disponibilidade do Laboratório de Química, orientações, ensinamentos e amizade.

A Curadora do herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Rita Melo pela disponibilidade do herbário, ensinamentos, conselhos e estímulos.

Ao Mestre Jorge Irapuan, do Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, pelo seu excelente trabalho e pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. George Chaves Jimenez pelos ensinamentos, apoio, estímulo e amizade.

Ao Prof. Dr. José Ferreira, a quem adotei como PADRINHO e seus filhos: o intelectual Jonathan Ferreira e a doutoranda Carolina Jones Ferreira, pelo apoio, estímulo, amizade e os excelentes, inteligentes e sinceros papos durante nossas viagens diárias.

Ao Prof. Dr. Gilvan Pio Ribeiro e sua esposa Prof<sup>a</sup> Ana Maria, pelo apoio, estímulo e cumplicidade.

Ao grupo de cicatrização: Ana Greice, Apolônia Carvalho, Dayana Serafim, Marcela Vieira, Marcela Barbosa, Juliete Lira, pelo apoio, colaboração e estímulo.

Agradecimentos especiais as minhas amigas Apolônia e Ana Greice pela dedicação que tiveram comigo durante dia e noite. (mães entendem umas às outras)!

A amiga Andressa Melo e seus pais: Senhor Nelson e sua mãe a Senhora Antônia, pelo apoio, colaboração e incentivo.

Aos colegas do Laboratório de Histologia: Andressa Melo, Edson Moura, Priscilla Rocha, Priscila Oliveira, Tomás Guilherme, Yuri Albuquerque, Erique Alves, Claudio Andrade, Eduardo (Dudu), Usman Abdulhadi, Alexandrino Neto, Rodrigo, Anderson, João, Marcela, Ana Lessa, Jéssica Bandeira, Wanessa Noadya, Thaís Almeida, Hisadora Adincola e Gilberto Bom.

À amiga, doutoranda e Técnica em Anatomia do DMFA, Priscila Albuquerque, pelo apoio, estímulo e companheirismo nas viagens.

À Marcos André e Renata Carneiro, pelos valiosos trabalhos no Biotério.

Em nome da amiga Sabrina Santana, agradeço aos colegas de sala de aulas.

Às secretarias do DMFA: Márcia Domingos, Daniela Silva e Fabiana Mercês e aos funcionários Romildo, Admilson e José Vicente, pelo apoio e estímulo.

Ao Trabalhador da Jardinagem da UFRPE, Senhor João do Nascimento, pelo apoio e ensinamentos com as plantas.

Em nome do Senhor Roberto, agradeço a todos os vigilantes da Universidade pelos serviços prestados.

A amiga Nelma Rejane Fonseca pelo seu carinho, cuidados, apoio e estímulo.

Gratidão ao Pastor Haroldo e a Igreja Presbiteriana de Catende pelo apoio e orações.

Ao Pastor Cristiano Tenório e Igreja Presbiteriana de Carpina, pelo apoio e orações.

Ao Pastor Suetônio Araújo da Igreja Presbiteriana de Caruaru.

Ao Padre José Luís da Matriz de Catende, pelo apoio e orações.

A minha amiga e irmã do coração, Jaqueline Barreto, seu esposo Gilson Pinheiro e seus lindos filhos Maria Eduarda, Sofia e Heitor, pelo apoio, incentivo, carinho e cumplicidade.

As minhas amigas de infância: Marília Cavalcanti, Joyce Brito, Amarílis Brito, Adriana Freitas e Luciana Brito, pelo apoio e incentivos, Jaqueline Barreto, Marcela Poliana e Marcela Oliveira.

À minha amiga Vera, seu esposo Joel e os filhos Vinicius e Lucas, pelo apoio, incentivo e cumplicidade.

À minha amiga Laura, Paulo seu esposo e seus filhos Larinha e Vinicius, pelo apoio, incentivo e cumplicidade.

Ao meu amigo Prof. Aduino Sebastião e sua esposa Sileide pelo apoio e incentivo.

A minha amiga Cristiana Ramos, pelo seu apoio, incentivo, cumplicidade e orações.

A minha sogra querida, Maria do Carmo Soares (Dona Carminha) – Eternas saudades!

À Maria do Perpétuo Socorro - Eternas saudades!

Em nome de Verônica Paula, agradeço a todas as minhas primas.

Em nome do Excelentíssimo Prefeito Marivaldo Andrade, agradeço a todos os meus primos.

Em nome de tia Verônica e tio Regi, agradeço a todas (os) as (os) meus (as) tias(os).

As minhas tias do coração: Alzira Correia, Romilda Medeiros, Zeza, Lúcia Brito, Nadja Lins e Regina Seelig.

Aos meus filhos (as) do coração: Luiz Henrique, Maria Goretti, André Felipe, Ana Cláudia e Paulo de Tarso.

Aos meus netos do coração: Anna Lethycia, Maria Luiza, Pedro Henrique, Sofia, Hipátias, Ana Beatriz, Adrian Felipe, Victor Gabriel, Davi Lucas e ao pequeno Paulo Levi.

A minha sobrinha do coração Cecília Soares.

Aos meus eternos alunos de lugares e Instituições variadas, pelos estímulos.

Em nome da Prof<sup>a</sup> Lúcia de Fátima, agradeço a todos meus gestores da GRE Mata Sul.

Em nome do Prof. Dr. João Rufino e da Prof<sup>a</sup> Sandra Andrade, agradeço a todos meus professores da graduação e amigos de trabalho da Faculdade de Formação de Professores da Mata Sul /FAMASUL.

Em nome da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Auristela Albuquerque, agradeço a todos os professores do curso de Especialização em Zoologia/UFRPE

Ao amigo Prof. Dr. Luiz Augustinho Menezes da Silva, pelos ensinamentos, orientações e estímulos durante as pesquisas com quirópteros na Especialização em Zoologia/UFRPE.

Ao grande Professor, Poeta e compositor, Manoel de Jesus Tavares, sua esposa Lanusa e filhos, especialmente a minha amiga, cunhada, Mestra Elisa Tavares pelo apoio e incentivo.

Ao grupo dos voluntários do Movimento dos Folcolares: Miguel, Antônio Alves, Roberto Zazar, Antônio Pedro, Marcelo, Alberisson, Mauro e suas respectivas esposas, pelas orações, apoio e incentivos.

Os meus sinceros agradecimentos aos familiares, amigos e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos muito obrigada!

*“Daqui desse momento  
Do meu olhar pra fora  
O mundo é só miragem  
A sombra do futuro  
A sobra do passado  
Assombram a paisagem  
A curva do universo  
A fórmula do acaso  
O alcance...”*

Lenine

*“Entrega teu caminho ao senhor, confia nele e o mais ele fará.”*  
Salmo 37:5

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade cicatrizante da pomada composta por óleos essenciais de alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer) e aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) em feridas cutâneas de ratos. Ratos Wistar, machos adultos (n=40), foram divididos em dois grupos: Grupo Tratado (GT) – feridas tratadas com pomada composta por óleo essencial das folhas de *L. gracilis* Schauer e *S. terebinthifolius* Raddi na concentração de 5% cada um, incorporados a base Lanette (n=20) e Grupo Controle (GC) – feridas tratadas com pomada contendo apenas a base Lanette (n=20). Cada animal foi submetido a duas incisões na pele, na região torácica dorsolateral, nos antímeros direito e esquerdo. As feridas foram mensuradas no dia 0, 3, 7, 14 e 21 de pós-operatório, com auxílio do paquímetro digital para avaliação quanto ao grau de contração e analisadas macroscopicamente. Os cortes histológicos corados com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gômori foram utilizados para as avaliações morfológicas e morfométricas pela quantificação de vasos sanguíneos e determinação da densidade de fibras colágenas. Os dados obtidos foram submetidos ao teste ANOVA complementado pelo teste de Tukey-Kramer ( $p < 0,05$ ). O estudo fitoquímico revelou que o OE das folhas de Aroeira, possui como componentes majoritários o  $p$ -vinil-Guaiacol e  $\alpha$ -Terpineol e do Alecrim da chapada, o Carvacrol e Timol. Não houve diferença estatística entre os grupos nos dados analisados. A pomada da associação de alecrim da chapada com aroeira, apesar de apresentar compostos importantes para cicatrização, não foi capaz de favorecer o processo cicatricial neste experimento. No entanto, salientamos que são necessárias maiores pesquisas sobre o uso associado desses dois óleos, assim como, sua ação no processo cicatricial.

**Palavras-chave:** Angiogênese, cicatrização, fitoterapia, óleo essencial, pele.

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the healing activity of ointment composed of essential oils of rosemary (*Lippia gracilis* Schauer) and aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in cutaneous wounds of rats. Wistar rats, adult males (n=40), were divided into two groups: Treated Group (GT) - wounds treated with ointment composed of essential oil of the leaves of *L. gracilis* Schauer and *S. terebinthifolius* Raddi at the concentration of 5% each, incorporated into Lanette base (n=20) and Control Group (GC) - wounds treated with ointment containing Lanette base alone (n=20). Each animal was submitted to two incisions in the skin, in the dorsolateral thoracic region, in the right and left antimeres. The wounds were measured on postoperative day 0, 3, 7, 14 and 21 (PO), with the aid of the digital caliper to evaluate the degree of contraction and analyzed macroscopically. Histological sections stained with Hematoxylin-Eosin (HE) and Trichrome of Gomori were used for morphological and morphometric evaluations by quantification of blood vessels and determination of density of collagen fibers. The data were submitted to the ANOVA test complemented by the Tukey-Kramer test ( $p < 0.05$ ). The phytochemical study revealed that the OE of the leaves of *S. terebinthifolius* Raddi has  $p$ -vinyl-Guaiacol and  $\alpha$ -Terpineol in greater quantity and of *L. gracilis* Schauer presented Carvacrol and Thymol as major constituents. There was no statistical difference between groups in the analyzed data. The rosemary ointment of the veneer with aroeira, although presenting compounds important for healing, was not able to favor the cicatricial process in this experiment. However, we emphasize that further research is needed on the associated use of these two oils, as well as their action in the healing process.

**Key words:** Angiogenesis, healing, phytotherapy, essential oil, skin.

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão de Literaturo

Figura 1 -	Ilustração da estrutura do tegumento.....	20
Figura 2 -	Desenho esquemático da maturação da cicatriz, na qual ocorre a remodelação do tecido conjuntivo .....	24
Figura 3 -	A: Árvore da aroeira. B: Imagem aproximada do galho da aroeira com folhas e frutos em cachos .....	27
Figura 4 -	A: Arbusto de alecrim da chapada. B: Imagem aproximada do galho de alecrim da chapada com folhas e flores .....	28

### Artigo

Figura 1 -	Ilustração da estrutura do tegumento.....	21
Figura 2 -	Desenho esquemático da maturação da cicatriz, na qual ocorre a remodelação do tecido conjuntivo .....	22
Figura 3 -	A: Árvore da aroeira. B: Imagem aproximada do galho da aroeira com folhas e frutos em cachos .....	22
Figura 4 -	A: Arbusto de alecrim da chapada. B: Imagem aproximada do galho de alecrim da chapada com folhas e flores .....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas
CG-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CG-FID	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
C	Graus Celsius
C/min	Graus Celsius por minuto
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DQ	Departamento de Química
DQF	Departamento de Química Fundamental
DMFA	Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
DIF	Detector por Ionização de Chama
Ev	Energia elétrica
FID	Detector de Ionização
G	Grama (s)
GT	Grupo Tratado
GC	Grupo Controle
HE	Hematoxilina-Eosina
IE	Ionização de elétrons
L	Litro (s)
<i>L. gracilis</i> Schauer	<i>Lippia gracilis</i> Schauer
LPNBio	Laboratório de Produtos Naturais Bioativos
m	Metro (s)
mg/kg	Miligrama (s) por quilograma (s)
MAF	Fator de Ativação de Macrófago
MIF	Fator de Inibição da Migração

min	Minuto (s)
ml	Mililitro (s)
mm	Milímetro (s)
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologias
OE	Óleo essencial
PMN	Polimorfonucleares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PO	Pós-operatório
p.s.i.	Pressão de Entrada no Modo de Divisão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
<i>S. terebinthifolius</i>	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi
Raddi	
SUS	Sistema Único de Saúde
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
µm	Micrômetro (s)
µl	Microlitro (s)
%	Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
2.1	SISTEMA TEGUMENTAR .....	19
2.2	PROCESSO CICATRICIAL DA PELE .....	21
2.3	FITOTERÁPICOS .....	24
2.4	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi .....	25
2.5	<i>Lippia gracilis</i> Schauer .....	27
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
3.1	GERAL .....	30
3.2	ESPECÍFICOS .....	30
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGO .....</b>	<b>38</b>
5.1	<b>Avaliação do uso tópico dos óleos essenciais de <i>Lippia gracilis</i> Schauer (alecrim da chapada) e <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (aroeira) na cicatrização de feridas cutâneas em ratos .....</b>	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pele atinge aproximadamente 16% do peso corporal e desempenha múltiplas funções, uma delas é proteger o organismo contra a perda de água e o atrito, atuando também como barreira mecânica e seletiva entre o corpo e o meio externo inibindo a entrada de microrganismos e toxinas, prevenindo a perda de fluídos, eletrólitos e calor (PROKSCH; BRANDER; JENSEN, 2008; JUNQUEIRA, CARNEIRO e ABRAHAMSOHN, 2017).

Nos mamíferos, órgãos inteiros e tecidos complexos raramente se regeneram após lesão. Contudo, tecidos com alta capacidade proliferativa, como o sistema hematopoiético e os epitélios da pele e do trato gastrointestinal, se auto renovam continuamente, podem regenerar-se após a lesão. Em processos como crescimento hepático após ressecção parcial ou necrose, ocorre crescimento compensatório, em vez de uma regeneração verdadeira (KUMMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

O reparo tecidual consiste frequentemente em uma combinação de regeneração e formação de cicatriz pela deposição de colágeno. É um processo complexo e dinâmico, que consiste em uma coordenada cascata de eventos celulares e fenômenos bioquímicos que interagem com o propósito de promover a repavimentação e a reconstituição do tecido. É descrita segundo Clark (2005), em três fases (inflamatória, proliferativa e de remodelação) baseadas nas alterações microscópicas, com características macroscópicas correspondentes que são reconhecidas clinicamente (WILLIAMS e MOORES, 2013; KUMMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

Na literatura especializada verifica-se que algumas substâncias podem interferir nos processos de cicatrizações, como o exsudato de algumas plantas medicinais, que são utilizadas no processo de cicatrização de feridas desde a pré-história, quando eram utilizados plantas e extratos vegetais na forma de cataplasmas, com o intuito de estancar hemorragias e favorecer a cicatrização, sendo muitas dessas plantas ingeridas para atuação sistêmica (SILVA e MOCELIN, 2007).

Pode-se afirmar que a medicina, como conhecemos hoje, só foi possível pela investigação acerca dos métodos de cura e conhecimentos empíricos utilizados há milhares de anos, como a etnobotânica e a etnofarmacologia (AQUINO et al., 2007). A integração dessas áreas na pesquisa de plantas medicinais conduz a um caminho promissor e eficaz para descobertas de novos medicamentos, pelo estudo farmacológico de extratos, óleos essenciais e dos constituintes químicos isolados, dos mecanismos de

ação, dos princípios ativos e a operação de formulações para a produção de fitoterápicos (MACIEL; PINTO; VEIGA JR, 2002).

De acordo com a medicina popular são muitas as utilizações do óleo essencial e extratos das folhas e caule da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e do alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer), que apresentam uma grande variedade de propriedades farmacológicas. As principais utilizações relatadas incluem o tratamento de lesões e úlceras de pele e mucosas, queimaduras, infecções no sistema respiratório, sistema digestivo, sistema genito-urinário, hemoptises e metrorragias (PASCUAL et al., 2001; ALBUQUERQUE et al., 2006).

Pesquisas realizadas com a aroeira por Ribas et al. (2006) que utilizaram o extrato hidroalcoólico (EHA) das folhas e Lucena et al. (2006), que utilizaram o EHA da entrecasca, porém, com modelos experimentais distintos, demonstraram que o EHA da aroeira apresenta efeito cicatrizante. O óleo essencial (OE) da aroeira apresentou atividade antimicrobiana frente à *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* (SIDDIQUI et al., 1995), antifúngica (SIDDIQUI et al., 1996) e cicatrizante (ESTEVÃO et al., 2015). O gel vaginal composto por *Schinus terebinthifolius*, Raddi (*S. terebinthifolius*) mostrou-se efetivo e seguro para o tratamento de vaginose bacteriana (AMORIM e SANTOS, 2003). O óleo essencial da *Lippia gracilis*, Schauer demonstrou efeito cicatrizante no modelo experimental de feridas cutâneas em ratos (BULHÕES, 2018).

Considerando-se que os processos de cicatrização, representam nos dias de hoje, dificuldades para alguns pacientes, em decorrência das características da resposta orgânica, reações de sensibilidade e aspectos da lesão. Para este trabalho, levantou-se a hipótese de que a associação dos princípios ativos dos óleos essenciais de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) e *Lippia gracilis* Schauer (alecrim), favoreceria o processo de cicatrização com melhor tempo de resposta, estabilidade, menor diâmetro da cicatriz e com menor custo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

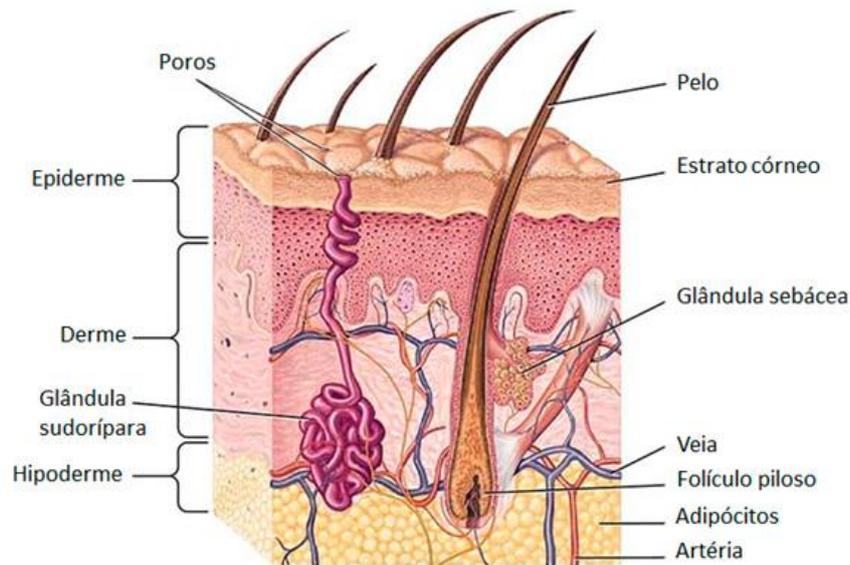
### 2.1 SISTEMA TEGUMENTAR

O sistema tegumentar é constituído pela pele e seus anexos: pelos, unhas, glândulas sebáceas, sudoríparas e mamárias (HAM e CORMACK, 1983; ROSS e PAWLINA, 2012).

A pele apresenta diferenças segundo a sua localização. A palma das mãos e a planta dos pés, que sofrem um atrito maior, possuem uma epiderme constituída por várias camadas celulares e por uma camada superficial de queratina bastante espessa. Esse tipo de pele foi denominado pele grossa (ou espessa). Não possui pelos e glândulas sebáceas, mas as glândulas sudoríparas são abundantes. A pele do restante do corpo tem uma epiderme com poucas camadas celulares e uma camada de queratina delgada e foi designada pele fina (ou delgada). A epiderme da pele grossa mede 0,8 a 1,4 mm, enquanto a da pele fina, 0,07 a 0,12 mm (GARTNER e HIATT, 2007; ROSS e PAWLINA, 2012).

O plano básico do tegumento dos vertebrados (Figura 1) é formado por uma camada epitelial estratificada e queratinizada, externa a epiderme, derivada do ectoderma e uma camada maior, a derme, de origem mesodérmica. Há ainda a hipoderme (ou fáscia subcutânea), de tecido conjuntivo frouxo e adiposo, (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2004). A epiderme é constituída por células epiteliais chamadas de queratinócitos que são produzidas na camada basal e se distribuem em várias camadas e a derme é responsável pela resistência e elasticidade da pele, subdivide-se em: derme papilar, adjacente ao epitélio e constituída por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado e derme reticular, mais profunda, constituída por tecido conjuntivo denso irregular, rico em fibras colágenas, fibroblastos e fibras elásticas, com poucos vasos sanguíneos. Sabe-se que a epiderme da pele é avascular, com isso, a única forma de nutrição é feita por difusão através dos leitos capilares da derme (ROSS e PAWLINA, 2012; JUNQUEIRA, CARNEIRO e ABRAHAMSOHN, 2017).

Figura 1 - Ilustração da estrutura do tegumento.



Fonte: Enciclopédia Britânica© (2010).

Na camada basal da epiderme, ocorre uma constante renovação celular, com intensa atividade mitótica. Essas células sofrem diferenciação, sendo empurradas para a camada espinhosa e lúcida até chegarem à camada córnea. Tais células formam de quatro a seis camadas sobrepostas de queratinócitos, conferindo uma resistência mecânica à epiderme. Na camada granular, são sintetizadas substâncias que asseguram a coesão ao estrato córneo. A camada córnea é a mais externa, constituída por células anucleadas e achatadas chamadas de corneócitos (GARTNER e HIATT, 2007).

O sistema tegumentar recobre o corpo, protegendo-o contra o atrito, a perda de água, a invasão de micro-organismos e a radiação ultravioleta. Tem papel na percepção sensorial (tato, calor, pressão e dor), na síntese de vitamina D, na termorregulação, na excreção de íons e na secreção de lipídios protetores e de leite (OVALLE e NAHIRNEY, 2008; LOWE e ANDERSON, 2015; JUNQUEIRA, CARNEIRO e ABRAHAMSOHN, 2017).

## 2.2 PROCESSO CICATRICIAL DA PELE

As dermatopatias assumem papel importante na rotina da clínica médica e médica veterinária e estão inseridas entre as principais patologias que acometem os animais domésticos (ARAÚJO, 2010). O tecido epitelial que constitui a pele apresenta uma grande coesão entre suas células, mas é sensível a solução de continuidade, que pode ocorrer devido a algum tipo de acidente tais como: mordeduras de animais, cortes produzidos por

objetos, intervenções cirúrgicas, queimaduras, ou ainda aqueles provocados por enfermidades como alergias (picada de pulgas) e endocrinopatias (hipotireoidismo), expondo o tecido conjuntivo subjacente (NITZ et al., 2006).

Em condições normais, o processo cicatricial segue um padrão, podendo ser dividido em três fases específicas: a fase exsudativa ou inflamatória, a de fibroplasia ou proliferativa e a de maturação (DE NARDI et al., 2004). Apesar das fases de reparação serem descritas de forma sequencial, na realidade os eventos consistem de interações complexas, superpostas, dinâmicas e integradas, mas sem delimitação precisa, visando o restabelecimento das estruturas lesadas (CANDIDO, 2001).

Na fase exsudativa, predominam eventos relacionados com a coagulação sanguínea, a chamada fase trombocítica e o processo inflamatório (Figura 2). Esta fase é caracterizada pela vasoconstrição seguida de vasodilatação com aumento da permeabilidade vascular, extravasamento de plasma com eritrócitos e movimentação leucocitária. Ocorre agregação plaquetária e ativação dos sistemas de coagulação. As plaquetas são importantes por serem as primeiras células a produzirem citocinas essenciais à modulação da maioria dos eventos cicatriciais subsequentes. Além da hemostasia, nessa etapa ainda se constata os eventos inflamatórios, predominando a fagocitose pelas células granulocíticas, polimorfonucleares e mononucleares, caracterizando assim as fases granulocítica e macrófaga, respectivamente. Os macrófagos, além da fagocitose também iniciam a reparação pela secreção de proteases, citocinas e substâncias vasoativas que dão continuidade às fases cicatriciais subsequentes (RODRIGUES et al., 2001; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2010).

Os principais componentes celulares de uma ferida são os leucócitos polimorfonucleares (PMN) e os macrófagos derivados de monócitos, os quais aparecem proporcionalmente à sua quantidade presente na circulação. Inicialmente, o tipo de célula predominante, o neutrófilo, tem vida breve e atua principalmente com função fagocítica (OLIVEIRA e DIAS, 2012).

Os macrófagos apresentam capacidade fagocítica, além de atuarem como células apresentadoras de antígenos e fonte de fatores de crescimento e mediadores bioquímicos que ditam e sustentam o processo de cicatrização (MANDELBAUM et al., 2003). É predominante do terceiro ao quinto dia após a lesão, fagocita bactérias, debrida corpos estranhos e ativa o desenvolvimento de tecido de granulação. Também sintetiza e libera proteases, fazendo a remoção de colágeno desvitalizado e coágulos de fibrina da ferida, expressando vários fatores mitogênicos e citocinas (OLIVEIRA e DIAS, 2012).

De acordo com Mandelbaum et al. (2003), o papel dos linfócitos na cicatrização não está bem definido e permanece controverso. Porém, sabe-se que, com suas linfocinas, tem importante influência sobre os macrófagos. Entre seis a sete dias após a injúria, a quantidade de linfócitos que aparece na ferida é menor que na circulação. Eles secretam linfocinas importantes, como o fator de inibição da migração (MIF), interleucina-2, fator de ativação de macrófago (MAF) e fatores quimiotáticos, além de aumentar o estágio inicial da cicatrização através da estimulação de macrófagos, células endoteliais e fibroblastos. Entretanto, pesquisas sugerem que os linfócitos tendem a aparecer tardiamente na reparação cicatricial caso esta regulação não esteja presente (OLIVEIRA e DIAS, 2012).

A fase proliferativa é caracterizada pelos processos de granulação, contração e epitelização. A granulação é a formação de um tecido composto de capilares, colágeno e proteoglicanos. Nesta fase, a formação capilar resulta da liberação de fatores angiogênicos secretados pelos macrófagos que estimulam a proliferação de células endoteliais dos vasos sanguíneos. A produção de colágeno ocorre pelos fibroblastos. Aliada à granulação, manifesta-se a reepitelização com migração e divisão mitótica das células basais nas bordas da ferida (DE NARDI et al., 2004). Este movimento celular é bastante rápido nos ferimentos cirúrgicos, cujas margens das feridas foram adequadamente coaptadas por sutura. Nas feridas abertas a epitelização deve contar com o mecanismo acessório que é a contração (MODOLIN e BELILACQUA, 1985; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2010).

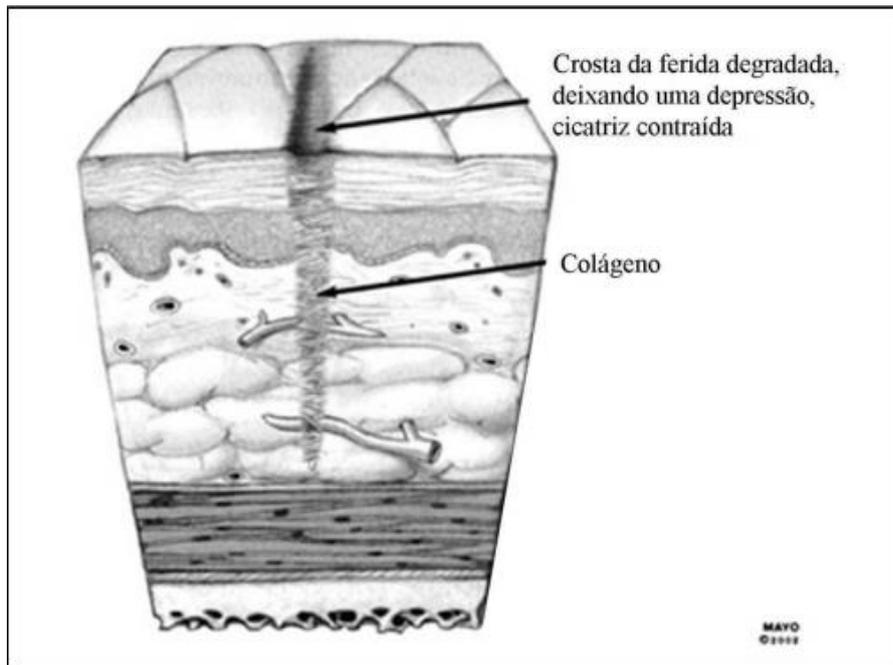
No processo de cicatrização o último evento da etapa é a contração, pelo qual ocorre o fechamento espontâneo das feridas cutâneas, pela ação especializada dos miofibroblastos (BOSQUEIRO et al., 1999; CANDIDO, 2001; RODRIGUES et al., 2001). Esta fase é ativa durante 12 dias, segundo Candido (2001) e Rodrigues et al. (2001). A fase de maturação ou de remodelação permanece por meses ou anos (CANDIDO, 2001; RODRIGUES et al., 2001) e, nesta, as células inflamatórias agudas e crônicas diminuem gradualmente e cessam a angiogênese e a fibroplasia. É também nesse período que se constata o equilíbrio entre a síntese e a degradação de colágeno, sendo que esta remodelação é responsável pelo aumento da força tensil do tecido cicatricial (BOSQUEIRO et al., 1999; CANDIDO, 2001; RODRIGUES et al., 2001).

O processo de remodelamento da cicatriz envolve etapas sucessivas de produção, digestão e orientação das fibrilas de colágeno. A deposição de colágeno é feita a princípio de maneira aleatória tendo como orientação a organização da fibronectina e dependente da natureza e direção das tensões aplicadas ao tecido. Essas fibras são

subsequentemente digeridas pela colagenase, ressintetizadas, rearranjadas de acordo com a organização das fibras do tecido conjuntivo adjacente e lateralmente ligadas por ligações covalentes. Essas ligações são formadas entre moléculas de tropocolágeno no âmbito da fibrila e entre as próprias fibrilas. Repetições sucessivas da lise, ressíntese, redirecionamento e religação formam fibras maiores de colágeno e resultam numa configuração mais regular da cicatriz. Isso aumenta a sua resistência devido à organização das fibras acompanharem as forças mecânicas a que o tecido está sujeito durante a atividade normal (CLARK, 1985).

A fase de maturação envolve a deposição de MEC, o remodelamento do tecido e a contração da ferida. Simultaneamente à epitelização, as fibrilas colágenas tornam-se mais abundantes e começam a formar pontes na incisão. Inicialmente, é formada uma matriz provisória contendo fibrina, fibronectina plasmática e colágeno tipo III, que é substituída por uma matriz composta principalmente de colágeno tipo I. Esse processo se dá sob o estímulo do TGF- $\beta$ , que é o agente fibrogênico mais importante e é produzido pela maioria das células do tecido de granulação, provocando a migração e a proliferação de fibroblastos, aumentando a síntese de colágeno e fibronectina e diminuindo a degradação da matriz pelas metaloproteinases. Os colágenos fibrilares principalmente colágeno tipo I, formam a principal porção do tecido conjuntivo nos locais de reparo e são essenciais para o desenvolvimento da força tênsil nas feridas em cicatrização. A remodelação é um equilíbrio entre a expressão de MMP e TIMP, sobre o qual a MEC exerce papel-chave (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2010; WILLIAMS e MOORES, 2013).

Figura 2 - Desenho esquemático da maturação da cicatriz, na qual ocorre a remodelação do tecido conjuntivo.



Fonte: Fahie e Shettko (2007).

Ao final desta etapa, os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas sofrem regeneração limitada e a coloração da cicatriz permanece pálida, pois a regeneração dos melanócitos é deficiente (JOHNSTON, 1990).

### 2.3 FITOTERÁPICOS

O uso de plantas medicinais pode ser entendido como uma prática que atravessa milênios, estando historicamente presente na sabedoria do senso comum, articulando cultura e saúde, uma vez que estes aspectos não ocorrem isoladamente, mas inseridos em um contexto histórico determinado (ALVIM et al., 2006).

Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças, quer de forma tradicional, devido ao conhecimento das propriedades de determinada planta, que é passado de geração a geração, quer pela utilização de espécies vegetais, como fonte de moléculas ativas (CARVALHO e SILVEIRA, 2010).

A aplicação de fitoterápicos na cicatrização de lesões cutâneas, assim como de outros órgãos e tecidos, tem sido amplamente avaliada em estudos experimentais (CECHINEL e YUNES, 1998). Assim, atualmente, existem diversos recursos disponíveis

para auxiliar no processo de cicatrização e sua aplicação na realização de curativos e técnicas para o tratamento de feridas (MANDELBAUM et al., 2003). Na medicina verifica-se grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido descobrir rapidamente estruturas complexas de constituintes naturais, até outrora difíceis de serem elucidadas (CECHINEL e YUNES, 1998).

Nos últimos anos, o Ministério da Saúde Brasileiro busca estimular a inserção das práticas complementares de cuidado no sistema oficial de saúde. Como a implementação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2006a) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL, 2006b) e que visam estimular o acesso às práticas complementares e às plantas medicinais para o cuidado em saúde. Outra importante publicação é a Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS), contendo 71 plantas medicinais que devem ser objeto de pesquisa e implementação dos setores e serviços de saúde públicos brasileiros (BRASIL, 2009). Já a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 10, do ano de 2010, lista 66 plantas medicinais com comprovadas ações na saúde humana; dentre estas, várias espécies são indicadas para o processo de cicatrização, o que implica em grande avanço da saúde pública brasileira que começa a valorizar a utilização de novas terapias baseadas nas plantas medicinais, prática tão difundida ao redor do mundo e das gerações (PIRIZ; LIMA; JARDIM, 2014).

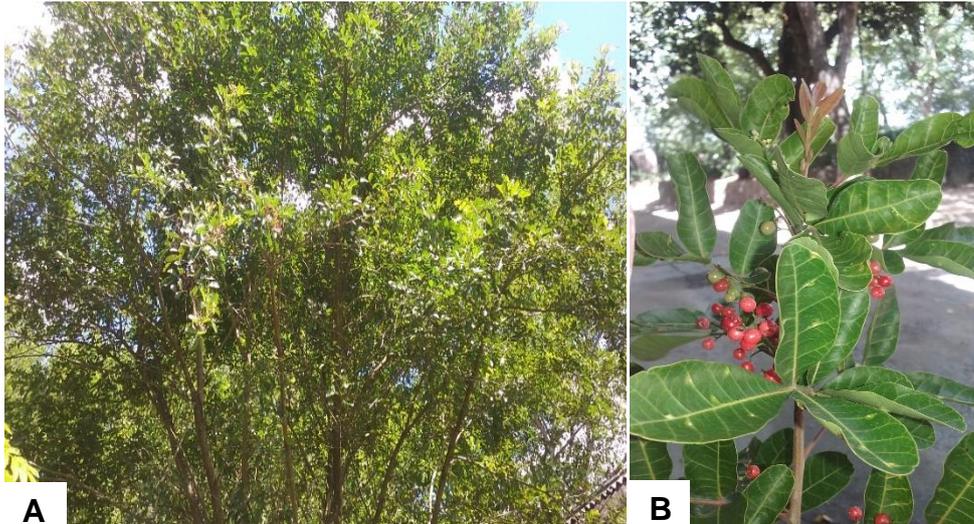
#### 2.4 *Schinus terebinthifolius* Raddi

A *Schinus terebinthifolius* Raddi pertencente à família Anacardiaceae, é dióica, conhecida popularmente como aroeira vermelha, aroeira pimenteira e pimenta do Brasil, seu fruto é conhecido como pimenta rosa por ser utilizado como tempero. Apresenta um sabor parecido com a da pimenta do reino, um pouco mais suave. Árvore de médio porte, 5 a 10 metros de altura (Figura 3A). Folhas compostas imparinadas, possuem flores brancas, muito pequenas e fruto redondo, vermelho, em cachos (Figura 3B). Uma única semente envolta em película atrativa por pássaros. Muito usada em paisagismo urbano pela beleza. Adaptável a vários tipos de solo e clima. No Brasil é encontrada desde Pernambuco até o Rio Grande do Sul (CARVALHO, 1994).

A aroeira tem sido alvo de pesquisas envolvendo o uso de extratos de cascas, folhas e frutos, e do óleo essencial no auxílio a processos cicatriciais (BRANCO-NETO et al., 2006; RIBAS et al., 2006; ESTEVÃO et al., 2013b; 2013c; 2015), como agente antibacteriano e antifúngico (SIDDIQUI et al., 1995; 1996). Existem relatos na literatura das diversas atividades biológicas do óleo essencial da aroeira, incluindo atividade antimicrobiana frente às bactérias *Enterococcus faecium*, *Streptococcus agalactiae* (ENNIGROU et al., 2018), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* (SALEM et al., 2018) e antifúngica frente aos patógenos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae in vitro* e *Candida* spp. (SILVA et al., 2013; SANTOS et al., 2014). Atividade cicatrizante no modelo experimental com feridas cutâneas em ratos, nas concentrações de 5% e 10% em pomada (ESTEVÃO et al. 2013b; 2013c; ESTEVÃO et al. 2015) e atividade anti-inflamatória no modelo experimental com feridas cutâneas em camundongos, na concentração de 10% em pomada (ESTEVÃO et al., 2017).

Barbosa et al. (2007) analisaram os óleos voláteis dos frutos e das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM), coletados na cidade de Viçosa-MG, entre o mês de outubro de 2004 e Setembro de 2005. Entre as amostras de óleos presentes nas folhas frescas, folhas frescas em floração e nos frutos verdes, observaram a predominância dos mesmos constituintes químicos, destacando-se os compostos  $\beta$ -pineno (10,21%),  $\alpha$ -terpineol (5,35%),  $\beta$ -elemeno (5,92%), (*E*)-cariofileno (13,61%), germacreno-D (37,55%), biciclogermacreno (20,82%), Epi- $\alpha$ -murolool (9,89%),  $\delta$ -cadineno (15,48%) e  $\alpha$ -cadinol (20,60%). Santos et al. (2014), encontraram o  $\delta$ -3-careno (81,79%) como constituinte majoritário no óleo essencial das folhas frescas, coletadas na “Cidade Universitária José Aluísio de Campos”, localizada no município de São Cristóvão-SE. Estevão et al. (2017), encontraram no óleo essencial obtido a partir das folhas frescas, coletadas no mês de setembro de 2010, na cidade de Recife-PE, os determinados componentes majoritários: *p*-cimen-7-ol (22,5%), 9-epi-(*E*)-cariofileno (10,1%), carvona (7,5%) e verbenona (7,4%). Os estudos de Lúcio et al. (2017), demonstraram que o óleo essencial obtido a partir das folhas secas de *Schinus terebinthifolius*, coletadas no município de Agudos-SP, é composto majoritariamente por terpenos como: limoneno (61.9%), delta-3-careno (22 %),  $\alpha$ -pineno (2.5 %) e mirceno (2.1 %).

Figura 3 - A: Árvore da aroeira. B: Imagem aproximada do galho da aroeira com folhas e frutos em cachos.



Fonte: Arquivo pessoal

### 2.5 *Lippia gracilis* Schauer

O gênero *Lippia*, é o segundo maior da família Verbenaceae, foi descrito primeiramente por Linnaeu no ano de 1753 (BRANDÃO, 2003) e é constituída por aproximadamente 100 gêneros e 2.600 espécies (CRONQUIST, 1981). No Brasil com 111 espécies, que se destacam por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu aroma forte e geralmente agradável (TERBLANCHÉ e KORNELIUS, 1996; PASCUAL, 2001; GOMES, 2009) (Figura 4).

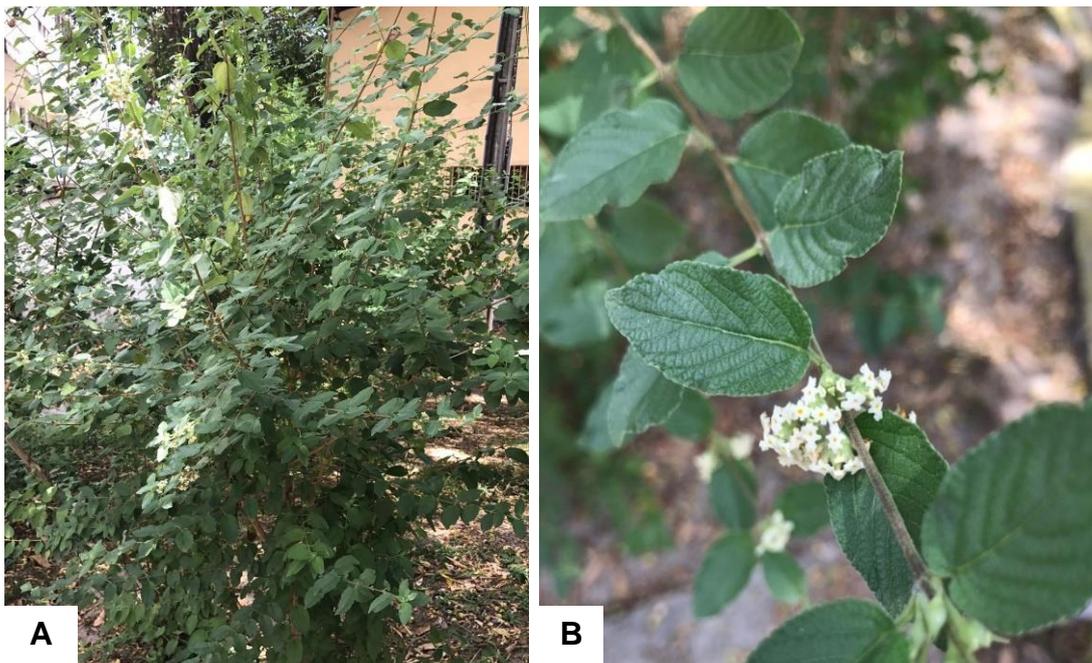
*Lippia gracilis* Schauer é conhecida popularmente como alecrim da chapada ou alecrim do serrote, é uma planta aromática endêmica do Nordeste brasileiro, própria da vegetação semiárida. É encontrada predominantemente nos estados da Bahia, Sergipe e Piauí (LORENZI e MATOS, 2002) e usada na medicina popular para tratamento de resfriado, gripes, bronquites e tosse. A espécie apresenta propriedades medicinais destacando-se por apresentar altos teores de monoterpenos. Os compostos químicos presentes no óleo essencial, principalmente os monoterpenos carvacrol e timol, tem apresentado forte ação contra bactérias e fungos (ALBUQUEQUE et al., 2006; GOMES et al., 2011). O óleo essencial das folhas de *Lippia gracilis* Schauer apresenta atividade antimicrobiana frente às bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. *in vitro* e *Pseudomonas aeruginosa* (DANTAS et al., 2010; CARVALHO NILO BITU et al., 2014; CARDOSO JÚNIOR, 2017) e efeito fungicida frente aos fungos *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (SANTOS et al., 2014), *Colletotrichum acutatum* *in vitro* (CRUZ et al., 2017) e

*Macrophomina phaseolina* (UGULINO et al., 2018). O óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer geralmente é extraído das folhas e flores, possuem atividade anti-inflamatória (GUILHON et al., 2011), antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 2006; NETO et al., 2010), inseticida (SILVA et al., 2008), efeito analgésico (MENDES et al., 2010) e cicatrizante (BULHÕES, 2018).

Santiago et al. (2016) ao utilizar o óleo essencial de *Lippia gracilis* (alecrim da chapada) a 0,05% em pomada, no modelo experimental de feridas cutâneas em ratos, apresentou o mesmo período de cicatrização que as feridas do grupo controle positivo (tratadas com dexametasona). Porém, a pomada a base de óleo de *Lippia* mostrou uma cicatrização melhor em termos de ausência de edema, vermelhidão e prurido. Além desses benefícios possui a vantagem de ser um produto natural.

Testes fitoquímicos realizados para determinar a composição química do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer, identificaram os componentes químicos encontrados com maior frequência em sua estrutura e são responsáveis por diversas atividades biológicas, são eles: timol, carvacrol,  $\gamma$ -terpineno, *p*-cimeno e  $\beta$ -cariofileno (NEVES et al., 2008; SANTOS et al., 2014; COSTA-JÚNIOR et al., 2016; MENEZES, 2016; CRUZ et al., 2017). De acordo com Coringa e Viana (2015), no mês de outubro e a partir do mês de abril, é a época mais indicada para coleta de óleo, por se tratar da estação mais produtiva.

Figura 4 - A: Arbusto de alecrim da chapada. B: Imagem aproximada do galho de alecrim da chapada com folhas e flores.



Fonte: Arquivo pessoal.

A atividade inerente de um óleo pode ser esperada relacionando a configuração química dos componentes, as proporções em que estão presentes e às interações entre eles. Um efeito aditivo é observado quando o efeito combinado é igual à soma dos efeitos individuais. O antagonismo é observado quando o efeito de um ou ambos componentes é menor quando são aplicadas em conjunto do que quando aplicadas individualmente. O sinergismo é observado quando o efeito das substâncias combinadas é maior do que a soma dos efeitos individuais (BURT, 2004). A amplitude dos efeitos dos constituintes químicos é apenas dependente da sua concentração, quando foram testados sozinhos ou incluídos nos óleos essenciais. Contudo, é possível que a atividade dos componentes principais seja modulada por outras moléculas principais (BAKKALI et al., 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Avaliar morfológicamente e morfometricamente as feridas cutâneas em ratos Wistar, tratadas com pomada composta por alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer) e aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi).

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo essencial das folhas de alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer) e da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), calculando o rendimento nos processos de extração;
- Realizar testes fitoquímicos com as amostras de óleos essenciais obtidas, para determinar compostos bioativos;
- Determinar o perfil temporal de fechamento das feridas cutâneas em ratos tratados com a pomada, pelo monitoramento da variação temporal da área lesada e cálculo de contração da ferida;
- Avaliar macroscopicamente as feridas quanto à hiperemia, secreção, crosta, tecido de granulação e reepitelização durante a cinética de cicatrização nos períodos determinados;
- Avaliar morfológicamente a intensidade da inflamação, formação de crosta, tecido granulomatoso, angiogênese e epitelização durante a cinética da cicatrização nos períodos determinados;
- Avaliar morfometricamente os processos inflamatório, regenerativo e cicatricial nas feridas cutâneas de ratos tratadas com a formulação da pomada, pela quantificação de vasos neoformados e a densidade de fibras colágenas.

#### 4 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, C.C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; JÚNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, v. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.

ALVIM, N.A.T.; FERREIRA, M. A.; CABRAL, I. E.; ALMEIDA FILHO, A. J. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n. 3, p. 316-323, 2006.

AMORIM, M. M. R.; SANTOS, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **RBGO**, v. 25, n. 2, p. 95-102, 2003.

AQUINO, D.; SILVA, R. B. L. da; GOMES, V. F.; ARAÚJO, E. C. de. Nível de conhecimento sobre riscos e benefícios do uso de plantas medicinais e fitoterápicos de uma comunidade do Recife - PE. **Revista de Enfermagem UFPE** [online], v.1, n.1, p.107-110, 2007.

ARAÚJO, A. K. L. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea* sp.** 2010. 177f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food Chem Toxicol**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, L. C. A. B.; DEMUNER, A. J.; CLEMENTE, A. D.; PAULA, V. F.; ISMAIL, F. M. D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1959-1965, 2007.

BOSQUEIRO, C. M.; GUIMARÃES, C.; FERRAZ, C. R. C.; BAJAY, H. M. **Manual de tratamento de feridas**. Campinas: UNICAMP, 1999.

BRANCO-NETO, M. L. C.; RIBAS FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; OLIVEIRA FILHO, M. A.; CZECZKO, N. G.; AOKI, S.; CUNHA, R.; FONSECA, V. R.; TEIXEIRA, H. M.; AGUIAR, L. R. F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas de pele em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 21, p. 17-21, 2006.

BRANDÃO, A. D. **Citogenética comparativa do gênero *Lippia*, *Lantana* e *Aloysia* (Verbenaceae, Lamiales)**. 2003. 128f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Estadual de Campinas, SP.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 60 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS** - PNPI-C-SUS: atitude de ampliação de acesso. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b. 92 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS)**. 2009. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms\\_relacao\\_plantas\\_medicinais\\_sus\\_0603.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf)>. Acesso em: 28 ago. 2018.

BULHÕES, A. A. V. C. **Estudo do processo de reparo tecidual de feridas cutâneas em ratos tratados com alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer) em pomada**. 2018. 80f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **Int J Food Microbiol** [online], v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CANDIDO, L. C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: SENAC, 2001.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília: EMBRAPA, 1994.

CARVALHO, A. C. B.; SILVEIRA, D. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Médica**, v. 48, n. 2, p. 219-237, 2010.

CARVALHO NILO BITU, V.; FACUNDO, H.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. Chemical composition of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer leaves and its potential as modulator of bacterial resistance. **Nat Prod Res**, v. 28, n. 6, p. 399-402, 2014.

CARDOSO JÚNIOR, G. S. **Óleo essencial de *Lippia gracilis* Shauer (alecrim da chapada) em dietas de codornas japonesas em crescimento**. 2017. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998.

CLARK, R. A. F. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 13, p. 701-725, 1985.

CLARK, R. A. F. Wound repair. In: KUMAR, ROBBINS, COTRAN: **Pathologic Basis of Disease**, 7. ed. Saunders, 2005. 112 p.

COSTA-JÚNIOR, L. M.; MILLER, R. J.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; LI, A. Y.; LEÓN, A. A. P. Acaricidal efficacies of *Lippia gracilis* essential oil and its phytochemicals against organophosphate-resistant and susceptible strains of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 60-64, 2016.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Ed. Columbia University, New York, 1981. 1262 p.

CRUZ, E. M. O.; ALVES, M. F.; MENDONÇA, M. da C.; SAMPAIO, T. S.; LUZ, J. M. Q.; BLANK, A. F. Atividade antifúngica da emulsão e do óleo essencial de genótipos de *Lippia gracilis* sobre *Colletotrichum acutatum*. In: Simpósio da Rede de Recursos Genéticos Vegetais do Nordeste, 3., 2017, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Revista RG News, 2017. p. 28.

DANTAS, L. I. S.; ROCHA, F. A. G.; MEDEIROS, F. G. M.; SANTOS, JÉSSICA, A. B. dos. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre patógenos de importância na indústria de alimentos. **HOLOS**, [S.l.], v. 5, p. 114-123, 2010.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; SOUSA, R. S.; BAUDI, D. L. K.; CASTRO, J. H. T. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácidos graxos essenciais, vitamina A e E, lecitina de soja e iodo polivinilpirrolidona em cães. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2004.

ENNIGROU, A.; CASABIANCA, H.; VULLIET, E.; HANCHI, B.; HOSNI, K. Assessing the fatty acid, essential oil composition, their radical scavenging and antibacterial activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves and twigs. **J Food Sci Technol**, v. 55, n. 4, p. 1582-1590, 2018.

ESTEVÃO, L. R. M.; MEDEIROS, J. P.; SCOGNOMILLO-ZSABÓ, M. V. R.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; GUIMARÃES, E. C.; CÂMARA, C. A. G.; EVÊNCIO-NETO, J. Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 4, p. 406-412, abr. 2009.

ESTEVÃO, L. R. M.; MEDEIROS, J. P.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; SIMÕES, R. S.; MENDONÇA, F. S.; EVÊNCIO-NETO, J. Effects of the topical administration of copaiba oil ointment (*Copaifera langsdorffii*) in skin flaps viability of rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 863-869, 2013a.

ESTEVÃO, L. R. M.; MENDONÇA, F. S.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; SIMÕES, R. S.; BARROS, M. E. G.; ARANTES, R. M. E.; RACHID, M. A.; EVÊNCIO-NETO, J. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 202-209, 2013b.

ESTEVÃO, L. R. M.; NETO JÚNIOR, J. C. S.; CANESSO, M. C. C.; ALMEIDA, C. P.; PINTO, P. V. A.; RACHID, M. A.; EVÊNCIO-NETO, J. Avaliação do fluxo sanguíneo de feridas cutâneas em camundongos tratadas com pomadas contendo óleo essencial de aroeira a 10%. In: XIV Simpósio de Pós-Graduação (SIMPÓS), 2013, Recife. **Anais...** Recife: XIII JEPEX-UFRPE, 2013c.

ESTEVÃO, L. R. M.; MEDEIROS, J. P.; SIMÕES, R. S.; ARANTES, R. M. E.; RACHID, M. A.; SILVA, R. M. G.; MENDONÇA, F. S.; EVÊNCIO-NETO, J. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 289-295, 2015.

ESTEVÃO, L. R. M.; SIMÕES, R. S.; Cassini-Vieiral, P.; Canesso, M. C. C.; Barcelos, L. S.; RACHID, M. A.; Câmara, C. A. G.; EVÊNCIO-NETO, J. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 726-735, 2017.

FAHIE, M. A.; SHETTKO, D. Evidence-based wound management: a systematic review of therapeutic agents to enhance granulation and epithelization. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 37, n. 3, p. 559-577, 2007.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em Cores**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 96 p.

GOMES, S. V. F. **Desenvolvimento de método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para diferenciação de genótipos de *Lippia gracilis* Schauer**. 2009. 163f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão,

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, São Paulo, 2011.

GUILHON, C.C.; RAYMUNDO, L.J.R.P.; ALVIANO, D.S.; ARIE F. BLANK, A.F.; ARRIOGONI-BLANK, M.F.; MATHEUS, M.E.; CARVALCANTI, S.C.H.; ALVIANO, C.S.; FERNANDES, P.D. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of action of *Lippia gracilis* essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.135, p460-413, 2011.

HAM, A. W.; CORMACK, D. H. **Histologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 35 p.

HICKMAN JR, C. P.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A. **Princípios Integrados de Zoologia**. 16. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

JOHNSTON, D. E. Wound healing in skin. **Veterinary Clinics of North America: small animal practica**, v. 20, n.1, p. 1-25, 1990.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica: texto e atlas**. 13.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 368-380 p.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran Patologia - Bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.1464 p.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, C. **Robbins & Cotran Patologia - Bases patológicas das doenças**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.1440 p.

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

LOWE, J. S.; ANDERSON, P. G. **Stevens & Lowe's Human Histology**. 4. ed. Philadelphia: Elsevier, Mosby, 2015.

LUCENA, P. L. H.; RIBAS FILHO, J. M.; MAZZA, M.; CZECZKO, N. G.; DIETZ, U. A.; CORREA NETO, M. A.; HENRIQUES, G. S.; SANTOS, O. J.; CESCHIN, A. P.; THIELE, E. S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Supl. 2), 2006.

LÚCIO, A. A.; MACHADO, A. C.; MOREIRA, R. R. D.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C. Determinação da composição química do óleo essencial de *Schinus terebhintifolius* Raddi (aroeira-da-praia). **Rev Ciên Farm Básica Apl**, v. 38, Supl. 1, 2017.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia** [online], Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MENDES, S.S; BOMFIM, A.R.R.; JESUS,H.C.R.; BLANK,A.F.; ESTEVAMA, C.S.; ANTONIOLLI, S.M. Evolution of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, n.4, p.391-397, 2010.

MENEZES, A. S. **Caracterização química e efeito do óleo essencial de *Lippia gracilis* e seus constituintes majoritários sobre *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae)**. 2016. 39f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

MODOLIN, M.; BELIVACQUA, R. G. Cicatrização das feridas: síntese das aquisições recentes. **Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica**, São Paulo, v.14, n.6, p. 208-213, 1985.

NETO, R. M.; MATOS, F. J. A.; ANDRADE, V. S.; MELO, M. C. N; CARVALHO, C. B. M.; GUIMARÃES, S, B.; PESSOA, O. D. L.; SILVA, S. L.; SILVA, S. F. R.; VASCONCELOS, P. R. L. The essential oil from *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae, in diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.2, p.261-266, 2010.

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

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201–214, 2001.

NEVES, I. A.; OLIVEIRA, J. C. S.; SELVA, T. M. G.; SCHWARTZ, M. O. E.; CAMARA, C. A. G. Composição química do óleo das folhas de *Lippia gracilis* Schauer de duas localidades de Pernambuco. **Sociedade Brasileira de Química**, v. 20, n. 2, p. 157-169, 2008.

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

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C.; NETTER, F. H. **Netter bases da histologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201–214, ago. 2001.

- PIRIZ, M. A.; LIMA, C. A. B.; JARDIM, V. M. R. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Rev Bras PI Med**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 628-636, 2014.
- PROKSCH, E.; BRANDNER, J. M.; JENSEN, J. M. The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**, v. 17, n. 12, p. 1063-1072, dez. 2008.
- RIBAS, M. O.; SOUZA, M. H.; SARTORETTO, J. T. A.; NORONHA, L.; ACRA, L. A. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. **Revista Odonto Ciência**, v. 21, n. 53, p. 245-252, 2006.
- RODRIGUES, F. R.; CÂNDIDO, L. C.; ASSAD, L. G.; COSTA, M. C. A.; COUTINHO, V. L. Curativos em cirurgia. In: MARQUES, R. G. **Cirurgia: Instrumental e fundamentos técnicos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2001. 359-374 p.
- ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia: texto e atlas, em correlação com Biologia celular e molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- SALEM, M. Z. M.; EL-HEFNY, M.; ALI, H. M.; ELANSARY, H. O.; NASSER, R. A.; EL-SETTAWY, A. A. A.; EL SHANHOREY, N.; ASHMAWY, N. A.; SALEM, A. Z. M. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. **Microb Pathog**, v. 120, p. 119-127, 2018.
- SANTIAGO, A. C. A.; MOTA, T. R.; URTIGA, A. I. S.; ALBUQUERQUE, C. C. Efeito anti-inflamatório do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA DIVERSIDADE DO SEMIÁRIDO, 1., 2016, Campina Grande-PB. **Anais...** Campina Grande: CONIDIS, 2016.
- SANTOS, I. T. B. F.; SANTOS, T. S.; SILVA, F. L. S. da; GAGLIARDI, P. R.; OLIVEIRA JÚNIOR, L. F. G.; BLANK, A. F. Óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi como controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, fungos fitopatogênicos de pós-colheita. **Revista GEINTEC**, v. 4, n. 4, p. 1409-1416, 2014.
- SIDDIQUI, R., ZAFAR, U., CHAUDHRY, S. S., AHMAD, H. Antimicrobial activity of essential oils from *Schinus terebinthifolius*, *Cypress sempervireus*, *Citrus lemon*, *Ferula assafoetida*. Part I. **Pakistan J Sci Ind Res**, v. 38, n. 9-10, p. 358-361, 1995.
- SIDDIQUI, R.; AHMADA, H.; SULTANS, S., EHTESHAMUDDIN, A.F.M., SHIRREM, S. Antimicrobial activity of essential oils. Part II. **Pakistan Journal of Scientific and Research**, v. 39, n. 1-4, p. 43-47, 1996.
- SILVA, D. M.; MOCELIN, K. R. O cuidado de enfermagem ao cliente portador de feridas sob a ótica do cuidado transcultural. **Nursing (São Paulo)**, v. 9, n. 105, p. 8188, 2007.
- SILVA, A. C. C. **Avaliação das atividades citotóxica, antitumoral, antiinflamatória e analgésica do extrato bruto e de uma fração parcialmente purificada da vagem de *Caesalpinia ferrea* Mart.** 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SILVA, A. G.; OLIVEIRA, C. A. M.; SILVA, A. P. S.; SILVA, C. M. A.; MATOS, V. P.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, M. V. Composição química e atividade anti-*candida* do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 7., 2013. Santarém-PA. **Anais...** Santarém: SBOE, 2013.

TERBLANCHÉ, F.C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia gracilis* (Verbenaceae) – A literature review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, p. 471-485, 1996.

UGULINO, A. L. N.; MENDONÇA JÚNIOR, A. F.; RODRIGUES, A. P. M. S.; SANTOS, A. B.; FRANÇA, K. R. S.; CARDOSO, T. A. L.; PRADO JÚNIOR, L. S. Inhibition Effect of Vegetable Oils on the Mycelial Growth of *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). **Goid. Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 6, p. 49-56, mai. 2018.

WILLIAMS, J.; MOORES, A. **Manual de feridas em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2013. 276 p.

## 5 ARTIGO

(Artigo científico formatado segundo as normas da Revista "Pesquisa Veterinária Brasileira")

### **Avaliação do uso tópico dos óleos essenciais de *Lippia gracilis* Schauer (alecrim da chapada) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) na cicatrização de feridas cutâneas em ratos<sup>1</sup>**

Érica B. de A. Soares<sup>2</sup>, Lígia R. de M. Estevão<sup>3</sup> e Joaquim Evêncio-Neto<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.-** Soares E.B.A., Estevão L.R.M. & Evêncio-Neto J. 2019. [Evaluation of the topical use of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer (rosemary of the chapada) and *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) in wound healing in rats.] Avaliação do uso tópico do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer (alecrim da chapada) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) na cicatrização de feridas em ratos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Histologia, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brazil. E-mail: [joaquim.evenciont@ufrpe.br](mailto:joaquim.evenciont@ufrpe.br).

The objective of this work was to evaluate the topical use of the essential oils of *Lippia gracilis* Schauer and *Schinus terebinthifolius* Raddi 5% in ointment in the healing of cutaneous wounds in rats. Wistar rats (n=40) were divided into two groups: Control Group (GC), wounds treated only with the Lanette base (cetostearyl alcohol and cetyl stearyl sulfate sodium) and Treated Group (GT), wounds treated with essential oils *Lippia gracilis* Schauer and *Schinus terebinthifolius* Raddi 5% incorporated into the Lanette base, administered topically once daily for 3, 7, 14 and 21 postoperative days (PO). The lesions were analyzed macroscopically, evaluated for the degree of contraction, morphologically and morphometrically by the quantification of blood vessels and determination of the density of collagen fibers. The results showed that *L. gracilis* Schauer oil has a high amount of Thymol (15.37%) and Carvacrol (51.15%) and *S. terebinthifolius* Raddi oil presented  $\rho$ -vinyl-Guaiacol (7.70%), as its major constituent. In the macroscopic evaluation, some animals of the GC had exudates of light yellow staining, fibrous leukocyte layer heterogeneity and mild hyperemia, while GT presented crust formation and absence of exudate. There was no statistical difference in the contraction of wounds between GT and GC. In the morphological evaluation at 21 days PO, total re-epithelization and the presence of mature granulation tissue with lower cellularity were observed, with no differences between the experimental groups. In the morphometric evaluation, there was no statistical difference in the quantification of blood vessels and in the determination of the density of collagen fibers between GT and GC. It was concluded that the ointment composed of essential oils from the leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi and *Lippia gracilis* Schauer at 5% in the treatment of cutaneous wounds in rats did not favor the cicatricial process.

INDEXING TERMS: Cutaneous wounds, *Lippia gracilis*, *Schinus terebinthifolius*, essential oil, rats.

<sup>1</sup> Recebido em .....

Aceito para publicação em .....

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil. Pesquisa de Mestrado com apoio CAPES.

<sup>3</sup> PNP/Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900.

<sup>4</sup> Laboratório de Histologia, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900. \*Autor para correspondência: [joaquim.evenciont@ufrpe.br](mailto:joaquim.evenciont@ufrpe.br).

**RESUMO.-** O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso tópico dos óleos essenciais de *Lippia gracilis* Schauer a 5% e *Schinus terebinthifolius* Raddi a 5% em pomada na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Ratos Wistar (n=40) foram distribuídos em dois grupos: Grupo Controle (GC), feridas tratadas apenas com a base Lanette (álcool cetosteárico e cetil estearil sulfato de sódio) e Grupo Tratado (GT), feridas tratadas com óleos essenciais de *Lippia gracilis* Schauer e *Schinus terebinthifolius* Raddi a 5% incorporados a base Lanette, administrados topicamente uma vez ao dia e avaliados nos dias 3, 7, 14 e 21, pós-operatório. As lesões foram analisadas macroscopicamente, avaliadas quanto ao grau de contração, morfológicamente e morfometricamente pela quantificação de vasos sanguíneos e a determinação da densidade de fibras colágenas. Os resultados revelaram que o óleo de *L. gracilis* Schauer possui elevada quantidade de Timol (15,37%) e Carvacrol (51,15%) e o óleo de *S. terebinthifolius* Raddi apresentou *p*-vinil-Guaiacol (7,70%) como seu constituinte majoritário. Na avaliação macroscópica, alguns animais do GC apresentaram exsudato de coloração amarelo claro, camada fibrino leucocitária heterogênea e discreta hiperemia, enquanto o GT apresentou formação de crosta e ausência de exsudato. Não houve diferença estatística na contração das feridas entre o GT e GC. Na avaliação morfológica aos 21 dias PO, verificou-se reepitelização total e a presença de tecido de granulação maduro com menor celularidade, sem diferenças entre os grupos experimentais. Na avaliação morfométrica, não houve diferença estatística na quantificação de vasos sanguíneos e na determinação da densidade de fibras colágenas entre GT e GC. Conclui-se que a pomada composta por óleos essenciais das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e *Lippia gracilis* Schauer a 5% no tratamento de feridas cutâneas em ratos não favoreceu o processo cicatricial.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Feridas cutâneas, *Lippia gracilis*, *Schinus terebinthifolius*, óleo essencial, ratos.

## INTRODUÇÃO

Os processos de cicatrização e reparo tecidual ocorrem após um trauma ou devido a uma doença. As feridas e sua reestruturação constituem um mecanismo complexo que envolve vários fatores com o objetivo de restaurar o tecido (Clark 1985, Mendonça et al. 2009). Embora o reparo tecidual seja um processo sistêmico, é necessário proporcionar condições locais para viabilizar o processo fisiológico, através de terapia tópica adequada (Dealey 1996).

No tratamento de feridas tem-se intensificado a pesquisa em busca de produtos naturais para auxiliar a cicatrização, destacando-se os óleos de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) por Estevão et al. (2009, 2013a), aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) por Estevão et al. (2013b, 2013c, 2015 e 2017), alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer) por Bulhões (2018) e o extrato hidroalcoólico de ameixa-do-mato (*Ximenia americana*) por Neto-Júnior et al. (2017).

*Lippia gracilis* Schauer (*L. gracilis*) pertence à família Verbenaceae, popularmente conhecida como alecrim da chapada, nativa do Nordeste brasileiro, caatinga (Ragagnin 2013), rica em óleo essencial o qual apresenta timol e carvacrol como seus constituintes majoritários (Santos et al. 2014, Martins 2017). Apresenta atividade antimicrobiana (Santos et al. 2014a, Fernandes et al. 2015, Cardoso-Junior, 2017, Ugolino et al. 2018), citotóxica (Ferraz et al.

2013), antinociceptiva, anti-inflamatória e cicatrizante (Guilhon et al. 2011, Guimarães et al. 2012, Bulhões 2018).

A *Schinus terebinthifolius* Raddi (*S. terebinthifolius*) pertencente à família Anacardiaceae, denominada pela comunidade como aroeira vermelha, aroeira pimenteira e pimenta do Brasil, tem seu fruto conhecido como pimenta rosa por ser utilizado como tempero. Tem sido alvo de pesquisas envolvendo o uso de extrato das cascas, folhas e frutos e, seu óleo essencial é utilizado para auxiliar nos processos cicatriciais (Branco-Neto et al. 2006, Ribas et al. 2006, Estevão et al. 2013b, 2015), como agente antibacteriano (Ennigrou et al. 2018, Salem et al. 2018), antifúngico (Silva et al. 2013, Santos et al. 2014b) e anti-inflamatório (Estevão et al. 2017).

Considerando-se a importância de realizar buscas que reafirmem os benefícios e comprovações da eficácia de plantas medicinais que vêm sendo utilizadas no processo de cicatrização de feridas e a identificação de suas atividades biológicas, bem como, o Brasil possui uma das maiores diversidades vegetais do mundo e com inúmeras experiências vinculadas ao conhecimento popular das plantas medicinais, é preciso correlacionar o conhecimento popular com a comprovação científica.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso tópico dos óleos essenciais de *Lippia gracilis* Schauer e *Schinus terebinthifolius* Raddi a 5% em pomada na cicatrização de feridas cutâneas em ratos, pela avaliação macroscópica, índice de contração das feridas, avaliação morfológica e morfométrica pela quantificação de vasos sanguíneos e determinação da densidade de fibras colágenas.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Material botânico.** Os espécimes vegetais empregados neste trabalho foram coletados e devidamente processados para produção de exsicata, sendo submetidos em seguida ao Herbário Vasconcelos Sobrinho da PEUFR, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), para correta identificação e depósito em um arquivo de referência. As plantas foram identificadas como *Lippia gracilis* Schauer (*L. gracilis* Schauer) com nº de registro 53.610 (alecrim da chapada) e a *Schinus terebinthifolius* Raddi (*S. terebinthifolius* Raddi) com nº de registro 53.677 (aroeira).

**Extração dos óleos essenciais.** Para a obtenção dos óleos essenciais foram utilizadas folhas frescas das espécies de *L. gracilis* Schauer e *S. Terebinthifolius* Raddi, coletadas no período da manhã, no campus Dois Irmãos da UFRPE. Alecrim da chapada foi coletada no mês de janeiro de 2018, próximo ao Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBio) do Departamento de Química (DQ) e a aroeira foi coletada no mês de março de 2018, próximo ao Restaurante Universitário.

O processo de extração dos óleos essenciais foi realizado através da técnica de hidrodestilação, utilizando o aparelho tipo Clevenger modificado. Após a coleta, as folhas foram levadas imediatamente ao DCM da UFRPE, onde foram pesadas (100 g), lavadas, trituradas separadamente com água destilada e cada espécie vegetal foi colocada em um balão com capacidade de 5 litros. O balão foi acoplado ao aparelho Clevenger e a extração foi realizada por um período de duas horas. Após este período, uma alíquota do óleo essencial foi recolhida e, devido à diferença de densidade, os óleos foram separados da água e “secos” com sulfato de sódio anidro. Então, os rendimentos foram calculados com base na massa do material vegetal fresco, sendo os experimentos realizados em triplicata. Os óleos essenciais foram armazenados separadamente em recipientes de vidro, posteriormente fechados hermeticamente e mantidos a baixa temperatura ( $\pm 5$  °C) até a fase das análises químicas. Posteriormente foram disponibilizados para os bioensaios.

**Reagentes químicos.** Todos os reagentes tais como monoterpenos ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, silvestreno,  $\gamma$ -terpineno, geranial, timol e carvacrol) e sesquiterpenos ( $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, aromadendreno, biciclogermacreno e óxido de cariofileno),

utilizados na identificação dos componentes voláteis foram adquiridos em grau analítico, da Sigma-Aldrich® - Brasil.

**Análises por Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM).** As análises quantitativas dos óleos essenciais por CG foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) utilizando um aparelho PerkinElmer Clarus® 500 CG equipado com um detector de ionização (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 não polar (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm). A temperatura do forno foi programada para 60 até 240 °C a 3 °C min<sup>-1</sup>. As temperaturas do injetor e do detector foram de 260 °C. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, com um fluxo de 1 L min<sup>-1</sup> e 30 p.s.i. de pressão de entrada no modo de divisão (1:30). O volume de injeção foi de 0,5 ml de solução diluída (1/100) de óleo em *n*-hexano. A quantidade de cada composto foi calculada a partir de áreas de pico CG na ordem de eluição da coluna DB-5 e expressa como uma porcentagem relativa da área total dos cromatogramas. As análises foram realizadas em triplicatas.

A análise qualitativa dos óleos essenciais por CG/EM foi realizada utilizando o sistema PerkinElmer Clarus® 580 com detector seletivo de massa, sendo o espectrômetro de massas ajustado para 70 Ev por IE com velocidade de leitura de 0,5 scans<sup>-1</sup> e fragmentos de 40 a 550 D, equipado com o mesmo programa de coluna e temperatura como utilizado no experimento com CG, com os seguintes parâmetros: gás de arraste = hélio; fluxo = 1 ml min<sup>-1</sup>; modo de divisão (1:30); volume injetado = 1 µl de solução diluída (1/100) de óleo em *n*-hexano.

**Identificação de componentes.** A identificação dos componentes foi baseada nos índices de retenção de CG com referência a uma série homóloga de *n*-alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub> calculada usando a equação de Van de Dool e Kratz (1963) e por computador comparando com a biblioteca de espectrometria de massa do sistema de dados CG/EM (NIST versão 14 e WILEY versão 11) e co-injeção com padrões autênticos, bem como outros espectros de massa publicados (Adams 2007). Os percentuais de área foram obtidos eletronicamente a partir da resposta CG-FID sem o uso de um padrão interno ou fatores de correção.

**Preparação das formulações.** A pomada teste e a preparação de controle foram dimensionadas sobre uma base de Lanette (álcool cetosteárilico e cetil estearil sulfato de sódio). A formulação teste foi constituída por óleos essenciais das folhas de *L. gracilis* Schauer e *S. terebinthifolius* Raddi na concentração de 5% cada, incorporados à base Lanette, conforme preconizado por Ferreira (2002) e a formulação controle foi constituída apenas pela base Lanette.

#### FORMULAÇÃO:

Óleo essencial de aroeira -----	5 ml
Óleo essencial de alecrim da chapada -----	5 ml
Base Lanette (qsp) -----	100 g

**Animais e local.** O experimento foi realizado no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram utilizados 40 ratos Wistar albinos (*Rattus norvegicus albinus*), machos, com peso corporal variando de 250 a 300 g, aproximadamente 90 dias de idade, provenientes do Biotério do DMFA da UFRPE. Estes animais foram mantidos em caixas individuais, em ambiente com temperatura de 23 a 25 °C, umidade relativa de 70%, ciclo claro/escuro de 12/12 horas, recebendo ração e água à vontade.

Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo Tratado (GT) – receberam aplicação tópica diária da pomada composta por óleos essenciais das folhas de *L. gracilis* Schauer e *S. terebinthifolius* Raddi na concentração de 5% cada um, incorporados a base Lanette (n=20) e Grupo Controle (GC) – receberam aplicação tópica diária da pomada contendo apenas a base

Lanette (n=20). Foram formados subgrupos (G3, G7, G14 e G21) contendo cinco animais cada, os quais foram avaliados aos 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório (PO), respectivamente.

**Procedimento cirúrgico.** Para a realização da ferida cirúrgica os animais foram imobilizados por cruzamento das patas anteriores e foi feita uma anestesia dissociativa utilizando cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de quetamina a 10%, administrados por via intramuscular, nas doses de 10 mg/kg e 90 mg/kg, respectivamente. Em seguida os animais foram posicionados em decúbito ventral para realização da antissepsia da região com clorexidina a 2% e submetidos à tricotomia das regiões torácicas dorsolaterais direita e esquerda. Com auxílio de um *punch* dermatológico descartável com 8 mm de diâmetro (KRUUSE®, Dinamarca) foram realizadas duas incisões de pele e tela subcutânea no antímero direito e esquerdo, com distância mínima de 2 cm, ficando exposta a fáscia muscular adjacente (Figuras 5 e 6). Logo após o procedimento cirúrgico, foi mensurada a área de cada falha cutânea com auxílio do paquímetro digital milimetrado (King Tools) e recebeu o tratamento de acordo com a metodologia estabelecida.

**Avaliação clínica dos animais e das feridas.** As avaliações clínicas dos animais e das feridas foram realizadas com 24 horas após a cirurgia e diariamente, observando-se o estado geral dos animais, tomando como base parâmetros fisiológicos, tais como: fezes, urina, inapetência e dor ao caminhar. A avaliação das feridas quanto à presença de hiperemia, edema, dor, secreção, prurido, crosta, contração, tecido de granulação e tecido cicatricial. No dia 0 (dia da cirurgia) e nos dias 3, 7, 14 e 21 de pós-operatório todas as feridas foram mensuradas com auxílio do paquímetro digital milimetrado (King Tools).

**Avaliação do fechamento das feridas.** A mensuração da área das feridas ao longo do experimento foi feita com o auxílio do paquímetro digital milimetrado (King Tools), conforme a Figura 7, para o acompanhamento da cinética de fechamento das mesmas, no qual foi observado os diâmetros maior (R) e menor (r). A partir desses dados a área da ferida foi calculada utilizando-se a seguinte equação matemática:  $A = R \cdot r \cdot \pi$ , onde A representa a área, R é o raio maior e r o raio menor. A fim de normalizar os dados, os resultados foram expressos como porcentagem de fechamento relativo ao tamanho original da ferida (Estevão et al. 2015), utilizando-se a seguinte fórmula:

$$100 \times \frac{(A_o - A_i)}{A_o} = \% \text{ média de contração} \pm DP,$$

onde  $A_o$  é a área inicial da ferida (dia 0) e  $A_i$  é a área da ferida no 3º, 7º, 14º e 21º dia de PO.

**Avaliações histológicas (morfológica e morfométrica).** As avaliações histológicas foram realizadas no 3º, 7º, 14º e 21º dia de pós-tratamento. Foram coletados fragmentos de pele através de incisão elíptica, abrangendo a pele íntegra e todo o tecido em processo de cicatrização. Uma parte do material coletado foi imediatamente fixado em formol a 10% tamponado com solução de fosfato de sódio a 0,1 M e pH 7,2 permanecendo por 24 horas. Após esses procedimentos, os fragmentos foram para o álcool etílico a 70%, posteriormente desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes (80 a 100%), diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59 °C e emblocados em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo da LEICA®, modelo M2125RT, do tipo *Minot*, ajustado para 4 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ). Os cortes obtidos foram divididos e colocados em duas lâminas de vidro que seguiram para estufa regulada à temperatura de 37 °C, durante 24 h, para secagem. Em sequência, as lâminas foram submetidas à coloração por Hematoxilina-Eosina (HE) e suas réplicas por Tricrômico de Gomori, para análises morfológica e morfométrica.

Para avaliação microscópica da evolução da cicatrização, o material foi fotografado e analisado em Microscópio Trinocular LEICA® DM500 com câmera ICC50 HD e as imagens foram digitalizadas por computador através do Software LEICA® LAS EZ. Para a análise morfológica, utilizou-se cortes histológicos corados por HE, imagens observadas na objetiva

de x10. Na análise morfométrica, para cada ferida foram obtidas cinco imagens e observadas em objetiva de 40x. A angiogênese foi avaliada pela quantificação de vasos sanguíneos, em cortes corados por HE, as imagens obtidas foram analisadas pelo software ImageLab versão 6.0. Para a determinação da densidade de fibras colágenas, em cortes corados por Tricrômico de Gômori, as imagens obtidas foram analisadas pelo software GIMP versão 2.10.

**Delimitação e Análise Estatística.** O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) composto por dois tratamentos: GT – animais com feridas tratadas com pomada composta por óleos essenciais das folhas de *L. gracilis* Schauer e *S. terebinthifolius* Raddi na concentração de 5% cada um, incorporados a base Lanette (n=20) e GC - animais com feridas tratadas com pomada contendo apenas a base Lanette (n=20). Estes tratamentos foram avaliados nos períodos pós-operatórios de 3, 7, 14 e 21 dias. Foram utilizadas cinco repetições para cada recurso farmacológico por período, sendo considerado cada animal uma unidade experimental.

A análise estatística foi realizada através do software GraphPad Prism 6.0 com os dados obtidos das variáveis: contração das feridas, contagem de vasos sanguíneos e determinação da densidade de fibras colágenas, nos dias 3, 7, 14 e 21 de PO. Os dados foram submetidos à análise de variância, através do Two-way ANOVA complementada pelo teste de Tukey, com significância de 5% ( $p < 0,05$ ), conforme Guimarães e Sarsfield (2007).

**Aprovação da Comissão de Ética.** Este trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRPE para análise do projeto de pesquisa, licença de nº 123/2016. Ao término do experimento os animais foram submetidos à eutanásia, preparados, congelados e descartados segundo as diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA 2013), previsto na página da CEUA da UFRPE.

## RESULTADOS

### Rendimento e perfil químico dos óleos essenciais

O óleo essencial (OE) das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (*S. terebinthifolius* Raddi) foi obtido com  $0,12 \pm 0,001\%$  de rendimento. Foram identificados 68 compostos, representando 97,26% do óleo essencial. Os componentes identificados com maior percentual de concentração de acordo com seus índices de retenção (Adams 2007) foram:  $\rho$ -vinil-Guaiacol (7,70%);  $\alpha$ -Terpineol (5,62%);  $\beta$ -Cariofileno (5,03%) e  $\alpha$ -logipineno (5,50%).

O OE das folhas de *Lippia gracilis* Schauer (*L. gracilis* Schauer) foi obtido com  $0,45 \pm 0,03\%$  de rendimento. Foram identificados 19 compostos, representando 98,14% do óleo essencial. Os componentes identificados com maior percentual de concentração de acordo com seus índices de retenção (Adams 2007) foram: Carvacrol (51,15%), Timol (15,37%),  $p$ -Cimeno (11,24%) e  $\gamma$ -Terpineno (9,28%). Os índices de retenção e percentual estão apresentados no Quadro 1. Adicionalmente, um cromatograma representativo do OE das folhas de *S. terebinthifolius* Raddi e *L. gracilis* Schauer é mostrado nas Figuras 4 e 5.

### Análise macroscópica da ferida

Todos os animais analisados neste ensaio apresentaram comportamento normal para alimentação, assim como, na produção e excreção de fezes e urina durante todo o período experimental.

Em uma observação macroscópica, verificou-se uma contração progressiva do grupo 3 dias de pós-operatório (PO) ao grupo 21 dias PO (Figura 6). Com formação de crosta mais acentuada nos grupos iniciais: 3 e 7 dias PO e diminuição nos grupos 14 e 21 dias PO, chegando ao desaparecimento da crosta no grupo 21 dias PO. No entanto, alguns animais do grupo controle com 3 dias PO, apresentaram exsudato, camada fibrino leucocitária heterogênea, observações que não foram vistas no grupo tratado.

Com 7 dias PO, o Grupo Controle apresentou uma discreta hiperemia e exsudato na coloração amarelo claro e diminuição da camada fibrino leucocitária, enquanto o Grupo Tratado apresentou formação de crosta e ausência de exsudato.

No 14º dia PO, o Grupo Controle não apresentava exsudato e o tecido de granulação estava visível pela ausência de crosta. Resultado semelhante foi observado no Grupo Tratado, que possuía uma maior área de tecido de granulação com leve hiperemia. Aos 21 dias PO, foi observada total cicatrização, tanto no grupo controle como no grupo tratado.

### **Contração das feridas**

A contração das feridas ocorreu em todos os grupos a partir do 3º dia de pós-operatório, entretanto, percebeu-se que, apesar das diferenças macroscópicas aparentemente na área da ferida nos dias 3 e 7 PO, não houve significância estatística entre os grupos estudados conforme as Figuras 6 e 7.

### **Análise morfológica**

Na análise histológica com microscopia de luz, nas lâminas coradas pela Hematoxilina e Eosina, nos animais do 3º dia PO foi verificado ausência de reepitelização, com uma leve presença de tecido de granulação, acentuado processo de inflamação, bastante celularidade e presença de crosta superficial, sem diferenças significativas entre os grupos controle (GC) e tratado (GT) de acordo com a Figura 8.

Nos cortes histológicos das feridas cutâneas dos animais do 7º dia PO, observou-se reepitelização parcial com presença de língua epitelial em ambos os grupos; presença de crostas, pouco colágeno, formação de capilares e presença de tecido conjuntivo de granulação em toda ferida. Um intenso infiltrado por células inflamatórias foi observado nos animais do grupo tratado e uma ligeira diminuição nos animais do grupo controle (Figura 9).

No grupo 14º dia PO, a epiderme com epitélio estratificado pavimentoso encontrava-se mais proeminente, com presença de queratinização, tanto no grupo controle como no grupo tratado. A derme papilar bem diferenciada com tecido de granulação mais evidente no grupo tratado e menor quantidade no grupo controle e uma leve evidencia de processo inflamatório tanto nos grupos controle como no tratado (Figura 10).

Nos cortes histológicos dos animais de 21º dias PO, verificou-se reepitelização total, com reconstituição do epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, com presença de todas as camadas epidérmicas. Logo abaixo da epiderme, encontrou-se uma derme papilar, na qual verificou-se a presença de tecido de granulação maduro com menor celularidade. Pôde-se observar ainda, quantidade moderada de fibroblastos, fibras colágenas e vasos sanguíneos. Na derme reticular, foram encontradas grandes quantidades de fibroblastos, fibras colágenas com arranjos irregulares e uma diminuição vascular. Esse aspecto morfológico foi evidenciado tanto no grupo controle, quanto no grupo tratado, sem diferenças entre eles, conforme a Figura 11.

### **Análise morfométrica**

Na quantificação de vasos sanguíneos não houve diferença estatística entre os grupos tratado e controle nos períodos determinados, sendo o número de vasos neoformados suficiente para manter e favorecer o processo de cicatrização (Figura 12).

A determinação da densidade de fibras colágenas no 3º, 7º, 14º e 21º dia PO, não demonstrou significância estatística entre os grupos tratado e controle, conforme a Figura 13.

## **DISCUSSÃO**

Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças, quer de uma forma quer de outra tradicional, devido ao conhecimento das propriedades de determinada planta, que é passado de geração a geração, pela utilização de espécies vegetais, como fonte de moléculas ativas (Carvalho e Silveira 2010). A integração da etnobotânica e etnofarmacologia na pesquisa de plantas medicinais conduziu a um caminho promissor e eficaz para descobertas de novos medicamentos, pelo

estudo farmacológico de extratos, óleos essenciais e dos constituintes químicos isolados, dos mecanismos de ação, dos princípios ativos e a operação de formulações para a produção de fitoterápicos (Maciel, Pinto e Veiga Jr 2002). O óleo essencial (OE) da aroeira apresentou atividade antimicrobiana frente à *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* (Siddiqui et al. 1995), antifúngica (Siddiqui et al. 1996) e cicatrizante (Estevão et al. 2015) e o óleo essencial da *Lippia gracilis* Schauer demonstrou efeito cicatrizante no modelo experimental de feridas cutâneas em ratos (Bulhões 2018).

Analisando os resultados macroscópicos, morfológicos e morfométricos em feridas cutâneas tratadas a partir da associação do óleo essencial da aroeira com o óleo de alecrim da chapada, percebeu-se que a cinética cicatricial foi muito similar comparado ao GC, ocorrendo, sem intercorrências no tempo esperado fisiologicamente, após um ferimento deste porte. As análises foram parecidas entre GT e GC, demonstrando que a associação dos óleos não alterou positivamente o resultado cicatricial.

Conforme Williams e Moores (2013), os neutrófilos (polimorfonucleares), são as primeiras células a entrarem na ferida e o tipo celular predominante, durante os três primeiros dias. Devido ao processo de quimiotaxia, induzido pelos fibrino peptídios liberados pela conversão do fibrinogênio em fibrina durante a hemostasia. Segundo Mandelbaum et al. (2003), os leucócitos chegam no momento da injúria tissular e permanecem por um período de três a cinco dias, com a função principal de eliminação de possíveis microrganismos pela fagocitose. A reação inflamatória inicial com o recrutamento de neutrófilos para o local ocorreu similarmente nos GT e GC, como esperado nesta fase.

Segundo Kumar, Abbas e Fausto (2010), a ferida causa rápida ativação das vias de coagulação, que resultam na formação de um coagulo sanguíneo na superfície da ferida. O coagulo detém o sangramento e funciona como arcabouço para as células em migração, que são atraídas pelos fatores de crescimentos, citocinas e quimiocinas liberadas na área. A liberação de VEGF leva ao aumento da permeabilidade dos vasos e ao edema. Ocorrendo desidratação na superfície externa do coagulo, formando uma crosta que cobre a ferida. Com a precipitação das proteínas dos tecidos lesados, forma-se um revestimento protetor que favorece a sua reparação (Jorge Neto et al. 1996), diminuindo a permeabilidade e exsudação da ferida (Brown e Dattner 1998, Bedi e Shenefelt 2002). Neste experimento, verificou-se a formação de crosta superficial e formação de tecido de granulação, bastante vascularizado já no 3º dia PO. Resultados que ratificam as referências supracitadas. No entanto, verificou-se também que não ocorreu diferenças significativas entre os grupos tratado e controle.

Vários autores trabalharam com fitoterápicos e utilizaram o mesmo modelo experimental que o presente estudo, como por exemplo, Estevão et al. (2015) avaliaram o efeito do óleo essencial da folha de aroeira a 5% em pomada, na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Analisando a média dos resultados percentuais, as feridas do grupo tratado (GT), contraíram mais que as do grupo controle (GC) nos dias 7 e 14 de PO. Enquanto Bulhões (2018), ao avaliar a atividade cicatrizante e o perfil fitoterápico do óleo essencial das folhas de *Lippia gracilis* Schauer em forma de pomada a 10% também verificou que o grau de contração das feridas foi significativamente maior no grupo tratado (GT). Neto Junior et al. (2017) ao estudarem o extrato hidroalcoólico a *Ximenia americana* na concentração de 10% em feridas cutâneas em ratos, avaliaram a evolução da reepitelização e verificaram que nos dias 7 e 14 de pós-operatório, seu grupo tratado também apresentou um significativo aumento na contração das feridas em relação ao grupo controle. Neste experimento, utilizando-se a associação de aroeira e alecrim da chapada com o mesmo modelo experimental, não foi observado diferença estatística na contração das feridas entre os grupos em nenhum dos tempos avaliados, com todas as feridas apresentando reepitelização total aos 21 dias nos cortes histológicos analisados.

Ao analisar os cortes histológicos das feridas cutâneas tratadas com pomada contendo a associação da aroeira e alecrim da chapada em ratos, no 21º dia PO, assim como, seus

respectivos grupos controles corados pela Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Gômori, verificou-se total reconstituição da epiderme, com as camadas do epitélio estratificado pavimentoso presentes, inclusive a camada córnea. Adjacente à epiderme, encontrou-se a derme papilar, caracterizada com tecido conjuntivo frouxo, rica em vasos sanguíneos, células e com poucas fibras na MEC. Mais profundamente a derme reticular apresentou-se, com sua caracterização propriamente dita, rica em fibras colágenas, dispostas de forma irregulares e com forte presença de fibroblastos. Portanto, uma evidencia de que houvera reepitelização total e reestabelecimento do tecido dérmico e consequente, cicatrização do reparo cutâneo (Junqueira e Carneiro 2017).

Segundo Robbins et al. (2010) e Williams e Moores (2013), os colágenos fibrilares principalmente colágeno tipo I, formam a principal porção do tecido conjuntivo nos locais de reparo e são essenciais para o desenvolvimento da força tênsil nas feridas em cicatrização. A remodelação é um equilíbrio entre a expressão de MMP e TIMP, sobre o qual a MEC exerce papel-chave. Analisando a quantificação da densidade de fibras colágenas através do programa GIMP, foi verificada uma proximidade entre os grupos tratado e controle.

Na avaliação morfométrica pela quantificação de vasos sanguíneos, não houve diferença entre as médias dos Grupos Tratado e Controle nos períodos estudados. Contudo, o número de vasos neoformados foi suficiente para manter o processo de cicatrização (Figura 12). Diferindo dos achados de Estevão et al. (2013b, 2013c e 2015), que observaram maior frequência de vasos neoformados em feridas cutâneas tratadas com a pomada composta pelo óleo de aroeira em duas concentrações diferentes, 5% e 10% e, Bulhões et al. (2019), quando trabalhou com óleo de alecrim da chapada a 10%.

Conforme De Nardi et al. (2004), a granulação é a formação de um tecido composto de capilares, colágeno e proteoglicanos. Nesta fase, a formação capilar resulta da liberação de fatores angiogênicos secretados pelos macrófagos que estimulam a proliferação de células endoteliais dos vasos sanguíneos. Sabe-se que os vasos sanguíneos são formados durante o desenvolvimento embrionário através da vasculogênese, a partir de angioblastos ou de células percussoras hemopoiéticas/endoteliais, chamadas de hemangioblastos.

Segundo Kumar, Abbas e Fausto (2010), nos animais adultos, a formação de novos vasos sanguíneos, ocorre por um processo denominado angiogênese ou neovascularização, que envolve a ramificação e extensão de vasos preexistentes, mas pode ocorrer também por recrutamento de células progenitoras endoteliais da medula óssea. Nesse tipo de angiogênese, ha vasodilatação e aumento da permeabilidade dos vasos existentes, degradação da MEC e migração das células endoteliais. Apesar da diversidade de fatores que participam da angiogênese, o VEGF é o fator mais importante que ocorre no processo de inflamação e cura das feridas.

Os resultados encontrados neste experimento, após a utilização da associação dos óleos essenciais de aroeira e alecrim da chapada a 5% em pomada aplicada em feridas cutâneas de ratos sugere um possível antagonismo entre os componentes químicos dos óleos essenciais usados ou o uso insuficiente do percentual utilizado na formulação. Novas pesquisas serão realizadas com o intuito de responder estes questionamentos uma vez que, os óleos essenciais testados individualmente são eficientes na cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos conclui-se que a pomada composta por óleos essenciais das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e *Lippia gracilis* Schauer a 5% no tratamento de feridas cutâneas em ratos não favoreceu o processo cicatricial. No entanto, salientamos que são necessárias maiores pesquisas sobre o uso associado desses dois fitoterápicos, assim como, sua ação no processo cicatricial.

**Agradecimentos** – Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e a UFRPE.

**Declaração de conflito de interesse** - Os autores declaram não ter conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

- Adams R.P. 2007. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4rd ed. Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream.
- Albuquerque U.P., Medeiros P.M., Almeida A.L.S., Monteiro J.M., Lins Neto E.M.F., Melo J.G. & Santo J.P., 2007. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology* 114:325–354.
- Branco-Neto M.L.C., Ribas Filho J.M., Malafaia O., Oliveira Filho M.A., Czczeko N.G., Aoki S., Cunha R., Fonseca V.R., Teixeira H.M., Aguiar L.R.F. 2006. Avaliação do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas de pele em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira* 21:17-21.
- Bulhões A.A.V.C. 2018. Efeitos da atividade cicatrizante de alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer) em lesões cutâneas de ratos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 80f.
- Cardoso-Júnior G.S. 2017. Óleo essencial de *Lippia gracilis* SHAUER (alecrim da chapada) em dietas de codornas japonesas em crescimento. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE. 48p.
- Carvalho A.C.B. & Silveira D. 2010. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. *Brasília Médica* 48(2):219-237.
- Clark R.A.F. 1985. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. *Journal of the American Academy of Dermatology* 13:701-725.
- CONCEA. 2013. Resolução Normativa N<sup>o</sup> - 13, de 20 de setembro de 2013: diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Disponível em: <<http://www.ceua.ufrpe.br/sites/ceua.ufrpe.br/files/Resolu%C3%A7%C3%A3o%20Normativa%20n%C2%BA%2013%20CONCEA.pdf>>. Acesso em 28 jan. 2017.
- Dealey C. 1996. Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras. São Paulo: Atheneu, p. 1-21.
- De Nardi A.B., Rodaski S., Souza R.S., Baudi D.L.K. & Castro J.H.T. 2004. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácidos graxos essenciais, vitamina A e E, lecitina de soja e iodo polivinilpirrolidona em cães. *Archives of Veterinary Science* 9(1):1-16.
- Ferraz R.P.C., Bomfim D.S., Carvalho N.C., Soares M.B.P., Silva T.B., Machado W.J., Prata A.P.N., Costa E.V., Moraes V.R.S., Nogueira P.C.L. & Bezerra D.P. 2013. Cytotoxic effect of leaf essential oil of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). *Phytomedicine* 20: 615– 621.
- Guilhon C.C., Raymundo L.J.R.P., Alviano D.S., Blank A.F., Arrigoni-Blank M.F., Matheus M.E., Cavalcanti S.C.H., Alviano C.S. & Fernandes P.D. 2011. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. *Journal of Ethnopharmacology* 135:406–413.
- Guimarães A.G., Gomes S.V.F., Moraes V.R.S., Nogueira P.C.L., Ferreira A.G., Blank A.F., Santos A.D.C., Viana M.D., Silva G.H. & Quintans-Júnior L.J. 2012. Phytochemical characterization and antinociceptive effect of *Lippia gracilis* Schauer. *J. Nat. Med.* 66:428–434.
- Ennigrou A., Casabianca H., Vulliet E., Hanchi B. & Hosni K. 2018. Assessing the fatty acid, essential oil composition, their radical scavenging and antibacterial activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves and twigs. *J. Food Sci. Technol.* 55(4):1582-1590,
- Estevão L.R.M., Medeiros J.P., Scognomillo-Zsabó M.V.R., Baratella-Evêncio L., Guimarães E.C., Câmara C.A.G. & Evêncio-Neto J. 2009. Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(4):406-412.

- Estevão L.R.M., Medeiros J.P., Baratella-Evêncio L., Simões R.S., Mendonça F.S. & Evêncio-Neto J. 2013a. Effects of the topical administration of copaiba oil ointment (*Copaifera langsdorffii*) in skin flaps viability of rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 28(12):863-869.
- Estevão L.R.M., Neto Júnior J.C.S., Canesso M.C.C., Almeida C.P., Pinto P.V.A., Rachid M.A. & Evêncio-Neto J. 2013c. Avaliação do fluxo sanguíneo de feridas cutâneas em camundongos tratadas com pomadas contendo óleo essencial de aroeira a 10%. In: XIV Simpósio de Pós-Graduação (SIMPÓS), 2013, Recife. *Anais...Recife: XIII JEPEX-UFRPE*,
- Estevão L.R.M., Mendonça F.S., Baratella-Evêncio L., Simões R.S., Barros M.E.G., Arantes R.M.E., Rachid M.A. & Evêncio-Neto J. 2013b. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. *Acta Cir. Bras.* 28(3):202-209.
- Estevão L.R.M., Medeiros J.P., Simões R.S., Arantes R.M.E., Rachid M.A., Silva R.M.G., Mendonça F.S. & Evêncio-Neto J. 2015. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Acta Cir. Bras.* 30(4):289-295.
- Estevão L.R.M., Simões R.S., Cassini-Vieiral P., Canesso M.C.C., Barcelos L.S., Rachid M.A., Câmara C.A.G. & Evêncio-Neto J. 2017. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. *Acta Cir. Bras.* 32(9):726-735.
- Fernandes L.C.B., Albuquerque C.C., Sales Júnior R., Oliveira F.F.M., Gurgel E.P., Mesquita M.V. & Silva M.D.S. 2015. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. *Summa Phytopathologica* 41(2):153-155.
- Ferreira A.O. 2002. Guia Prático da Farmácia Magistral. Excipientes e Veículos. Juiz de Fora, p. 344-345.
- Guimarães R.C. & Sarsfield Cabral J.A. 2007. Estatística. 2. ed. McGraw-Hill, 2007. 1-13 p. Disponível em: <<http://www.mat.uc.pt/~cmtm/ECwww/ANOVA.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2017.
- Kumar V., Abbas A.K. & Fausto N. 2010. Robbins & Cotran Patologia - Bases patológicas das doenças. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.1464 p. Disponível em <<https://farmatecaunicatolica.files.wordpress.com/2017/12/robbins-cotran-patologia-bases-patolc3b3gicas-das-doenc3a7as-8ed.pdf>> Acesso em 13 fev. 2019.
- Maciel M.A.M., Pinto A.C. & Veiga Jr V.F. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 25(3):429-438.
- Mandelbaum S.H., Di Santis E.P. & Mandelbaum M.H.S. 2003. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *Anais Brasileiros de Dermatol.* 78(4):393-410,
- Martins J.D.L. 2017. Efeito gastroprotetor do óleo essencial da *Lippia gracilis* Schauer (VERBENACEAE). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE. 57p. Disponível em <[https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/4002/1/JOSE\\_DIOGO\\_LIMA\\_MARTINS.pdf](https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/4002/1/JOSE_DIOGO_LIMA_MARTINS.pdf)> Acesso em 30 jan. 2019.
- Mendonça F.A.S., Passarini Júnior J.R., Esquisatto M.A.M., Mendonça J.S., Franchini C.C. & Santos G.M.T. dos. 2009. Effects of the application of *Aloe vera* (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 24(2): 150-155,
- Neto-Júnior J.C.S., Estevão L.R.M., Baratella-Evêncio L., Vieira M.G.F., Simões R.S., Florencio-Silva R., Evêncio- Luz L. & Evêncio-Neto J. 2017. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with *Ximenia americana* L. *Acta Cir. Bras.* 32(2):148-156.
- Ragagnin R.C.G. 2013. Efeito do estresse salino no crescimento e na qualidade do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró, RN. 46p. Disponível em

- <[http://www.uern.br/controladepaginas/mestrado-dissertacoes-andamento/arquivos/2211roberto\\_carlos\\_grillo\\_ragagnin.pdf](http://www.uern.br/controladepaginas/mestrado-dissertacoes-andamento/arquivos/2211roberto_carlos_grillo_ragagnin.pdf)> Acesso em: 19 ago. 2017.
- Ribas M.O., Souza M.H., Sartoretto J.T.A., Noronha L., Acra L.A. 2006. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. Rev. Odonto Ciên. 21(53):245-252.
- Salem M.Z.M., El-Hefny M., Ali H.M., Elansary H.O., Nasser R.A., EL-Settawy A.A.A., El Shanhorey N., Ashmawy N.A., Salem A.Z.M. 2018. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. Microb Pathog. 120:119-127.
- Santos M.M., Peixoto A.R., Pessoa E. de S., Nepa H.B.S., Paz C.D. & Souza A.V.V. 2014a. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. viticola "in vitro". Summa Phytopathol. 40(3):277-280.
- Santos I.T.B.F. dos, Santos T.S., Silva F.L.S. da, Gagliardi P.R., Oliveira Júnior L.F.G., Blank A.F. 2014b. Óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi como controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, fungos fitopatogênicos de pós-colheita. Revista GEINTEC 4(4):1409-1416.
- Siddiqui R., Zafar U., Chaudhry S.S., Ahmad H. 1995. Antimicrobial activity of essential oils from *Schinus terebinthifolius*, *Cypress sempervireus*, *Citrus lemon*, *Ferula assafoetida*. Part I. Pakistan J. Sci. Ind. Res. 38(9-10):358-361.
- Siddiqui R., Ahmada H., Sultans S., Ehteshamuddin A.F.M., Shirrem S. 1996. Antimicrobial activity of essential oils. Part II. Pakistan Journal of Scientific and Research 39(1-4):43-47.
- Silva A.G. da, Oliveira C.A.M. de, Silva A.P.S. da, Silva C.M.A. da, Matos V.P., Correia M.T.S. & Silva M.V. 2013. Composição química e atividade anti-*candida* do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 7., 2013. Santarém-PA. **Anais...** Santarém: SBOE,
- Ugulino A.L.N., Mendonça-Júnior A.F., Rodrigues A.P.M.S., Santos A.B., França K.R.S., Cardoso T.A.L. & Prado-Júnior L.S. 2018. Inhibition effect of vegetable oils on the mycelial growth of *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid. J. Agric. Sci. 10(6):49-56.
- Van Den Doll H. & Kratz P.D. 1963. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr. 11:463-471.
- Williams J. & Moores A. 2013. Manual de feridas em cães e gatos. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 276.

### Legendas das Figuras

Fig.1. Procedimento pós-anestesia. A: animal posicionado em decúbito ventral; B: antissepsia com Clorexidina a 2% das regiões torácicas dorsolateral direita e esquerda; C: tricotomia do campo cirúrgico.

Fig.2. A: *punch* dermatológico descartável; B: incisões da pele e tela subcutânea no antímero direito e esquerdo; C: Retiragem da pele incisionada; D: Exposição da fáscia muscular adjacente.

Fig.3. Mensuração da área das feridas.

Fig.4. Cromatograma CG-EM do óleo essencial das folhas de *S. terebinthifolius* Raddi.

Fig.5. Cromatograma CG-EM do óleo essencial das folhas de *L. gracilis* Schauer.

Fig.6. Aspectos macroscópicos das lesões dos grupos (GC e GT), nos diferentes períodos avaliados: 3º, 7º, 14º e 21º dia PO.

Fig.7. Contração da ferida nos grupos tratados com composto alecrim da chapada e aroeira em pomada, e grupo controle (apenas tratados com o veículo da pomada). Os resultados do fechamento da ferida foram expressos como contração percentual em relação ao tamanho original ( $[\text{área da ferida inicial}] - [\text{área da ferida final}] / [\text{área da ferida inicial}] \times 100$ ). Os dados representam a média  $\pm$  DP, n=10 feridas para cada tempo pós-operatório e grupo. (Two-way ANOVA).

Fig.8. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 3º dia de pós-operatório, grupo controle (A) e grupo tratado (B). Observar a crosta superficial (seta amarela) e tecido de granulação adjacente (\*). Coloração: H.E. obj. 40x.

Fig.9. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 7º dia de pós-operatório, grupo controle (A) e grupo tratado (B). Observar a língua epitelial (seta vermelha) com crosta superficial (seta amarela), abaixo tecido de granulação (\*). Coloração: H.E. obj. 40x.

Fig.10. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 14º dia de pós-operatório, GC (A) e GT (B). Observar a epiderme com camada córnea superficial (seta amarela), abaixo tecido de granulação (\*). Coloração: H.E. obj. 40x.

Fig. 11. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 21º dia de pós-operatório, GC (A) e GT (B). Observar a epiderme (seta vermelha) com camada córnea superficial (seta amarela), abaixo derme papilar (seta verde) e derme reticular (\*). Coloração: H.E. obj. 40x.

Fig. 12. Cinética do número de vasos sanguíneos em feridas cutâneas de ratos nos grupos controle (apenas veículo da pomada) e tratado com pomada composta por alecrim da chapada e aroeira nos dias 3, 7, 14 e 21 de pós-operatório. Os dados representam a média  $\pm$  DP, n=5 feridas para cada tempo pós-operatório e grupo (Two-way ANOVA).

Fig. 13. Gráfico da determinação da densidade de fibras colágenas nos grupos tratado (GT) e grupo controle (GC) nos dias 3, 7, 14 e 21 de pós-operatório (Two-way ANOVA).

Fig.14. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 3º dia pós-operatório, GC (A) e GT (B). Observar tecido de granulação com colágeno – Coloração: Tricrômico de Gomori. Obj. 40x.

Fig. 15. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 7º dia pós-operatório, GC (A) e GT (B). Observar tecido de granulação com colágeno – Coloração: Tricrômico de Gomori. Obj. 40x.

Fig.16. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 14º dia pós-operatório, GC (A) e GT (B). Observar a derme reticular com fibras colágenas (\*) e fibroblastos (seta preta). Coloração: Tricrômico de Gomori. Obj. 40x.

Fig.17. Fotomicrografia de secção de feridas cutâneas de ratos no 21º dia pós-operatório, GC (A) e GT (B). Observar a derme reticular com fibras colágenas (\*) e fibroblastos (seta preta). Coloração: Tricrômico de Gomori. Obj. 40x.

### Legendas dos Quadros

Quadro 1. Composição química dos óleos essenciais de *S. terebinthifolius* Raddi e *L. gracilis* Schauer.

Figura 1.

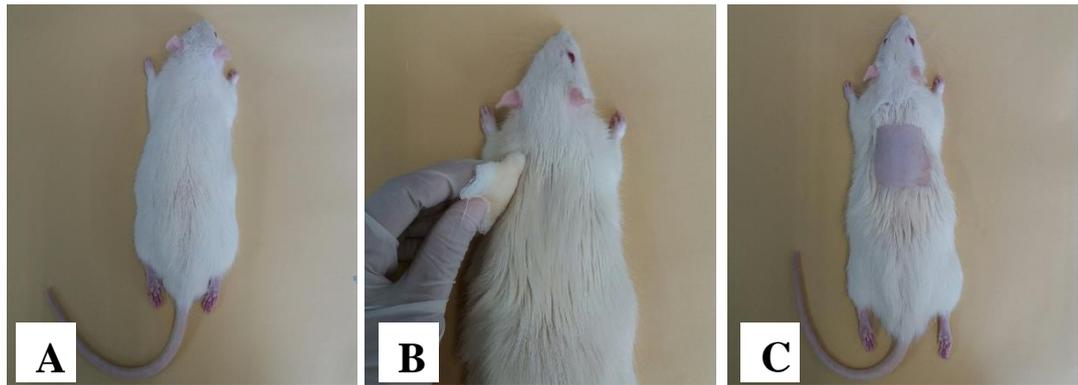


Figura 2.

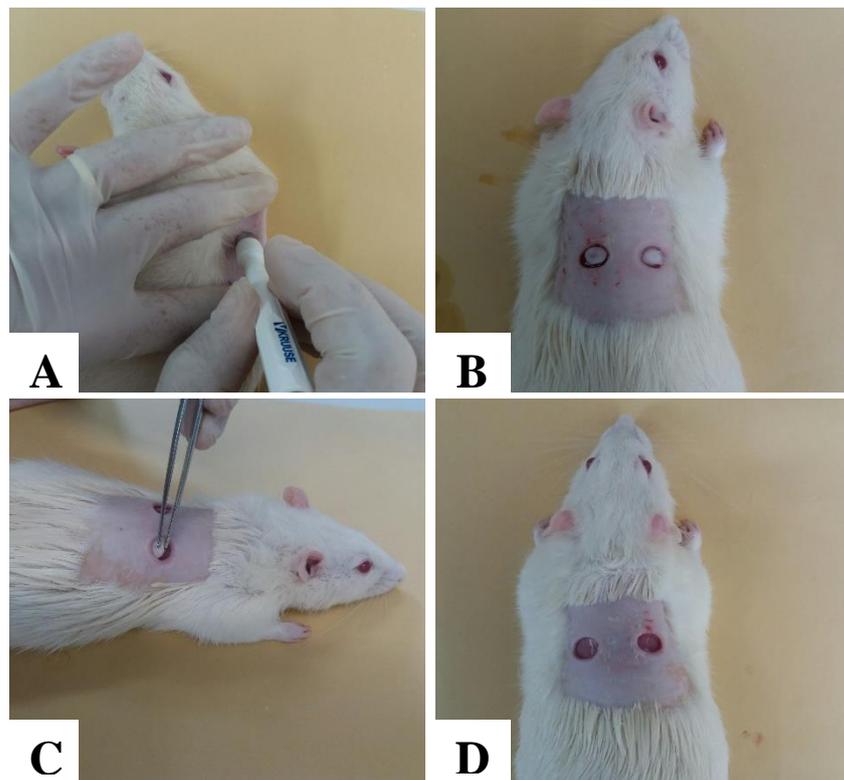


Figura 3.



Figura 4.

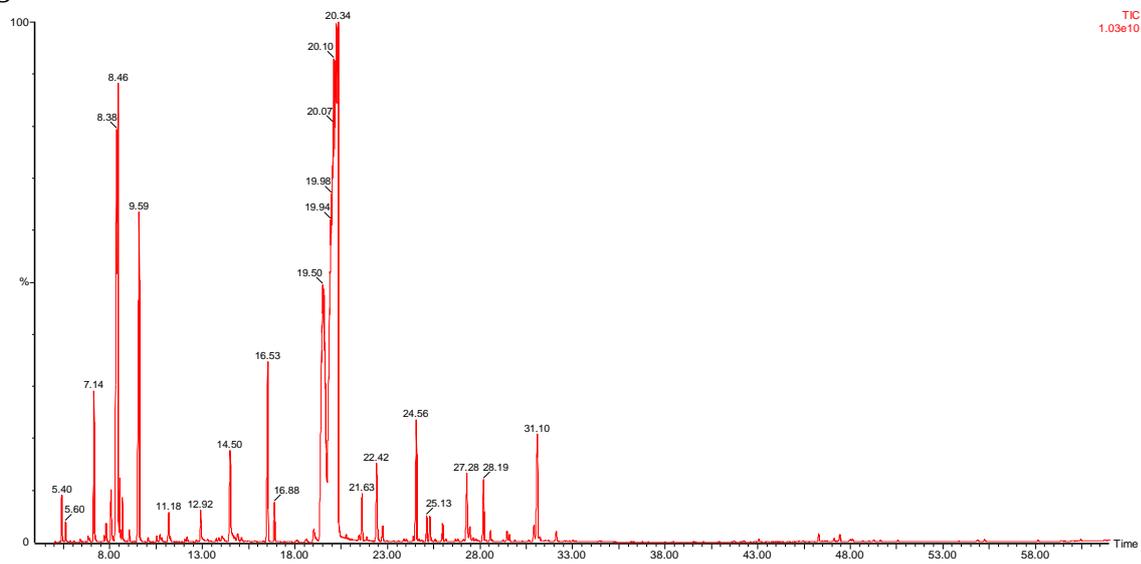


Figura 5.

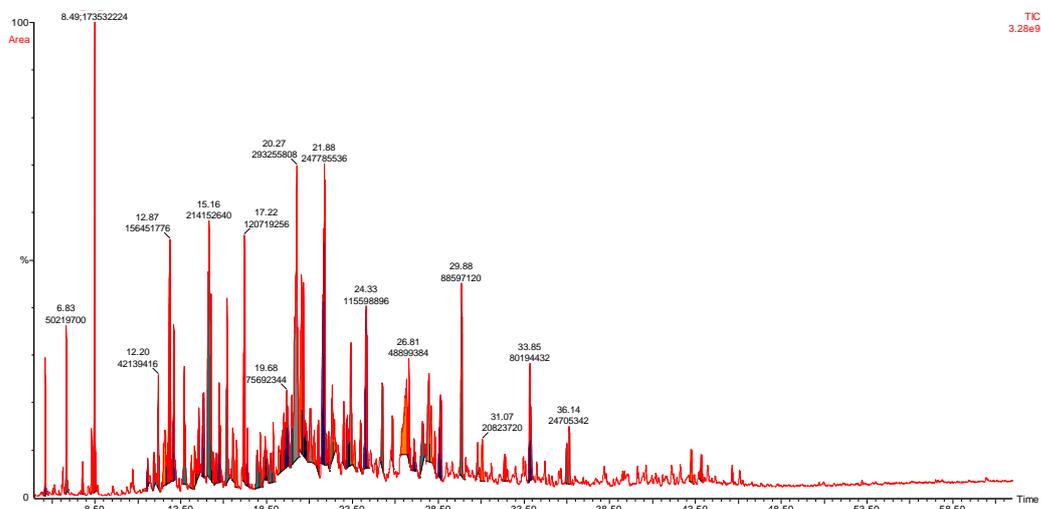


Figura 6.

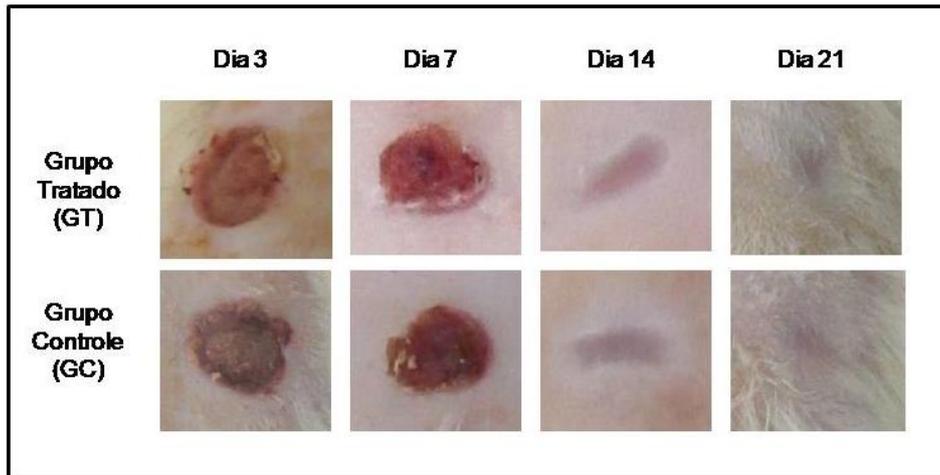


Figura 7.

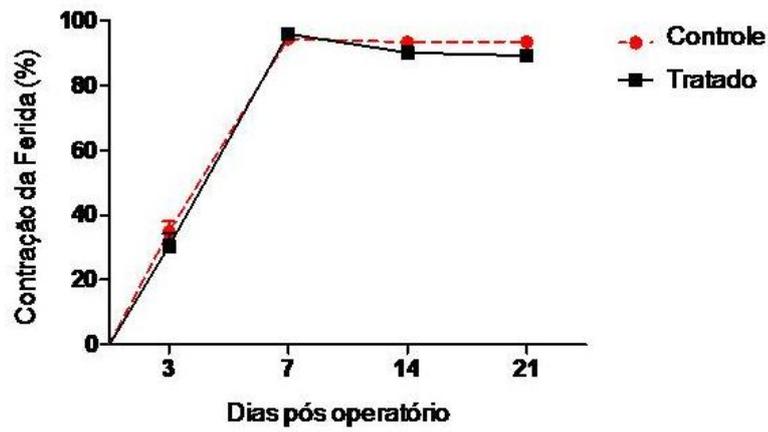


Figura 8.

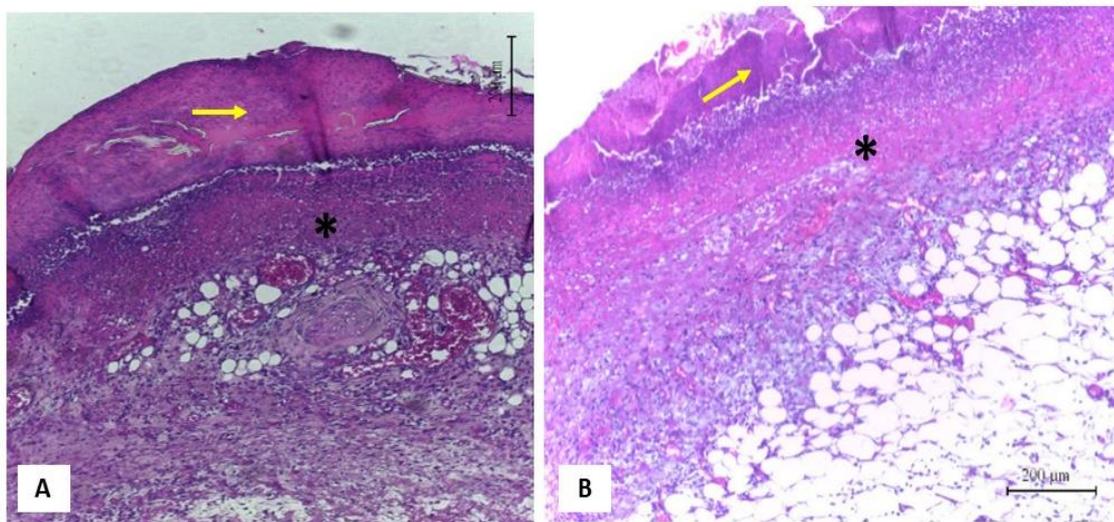


Figura 9.

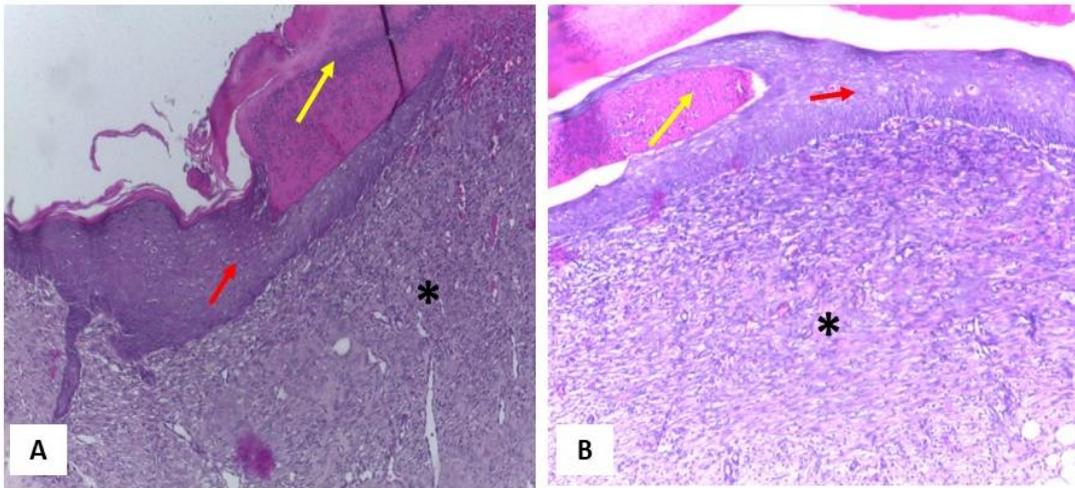


Figura 10.

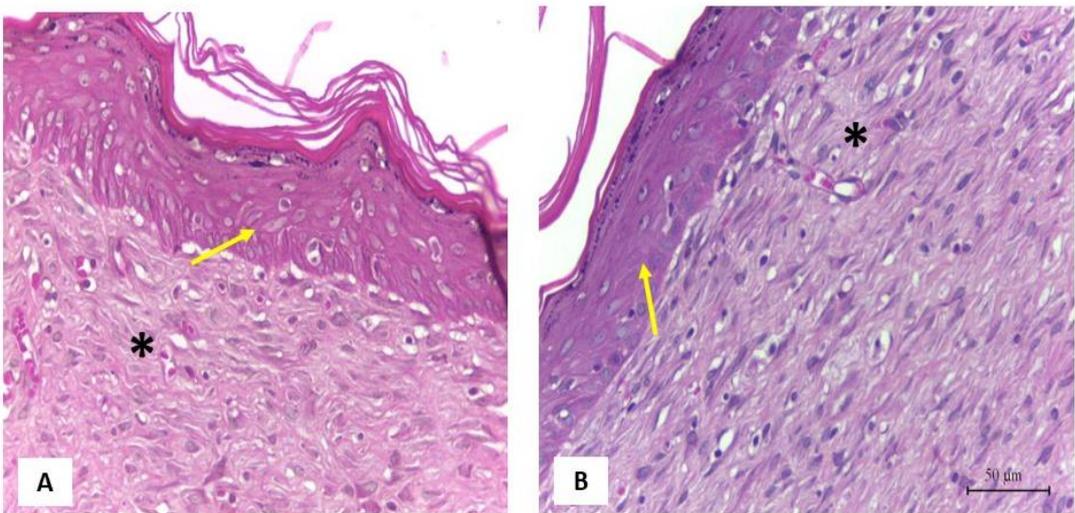


Figura 11.

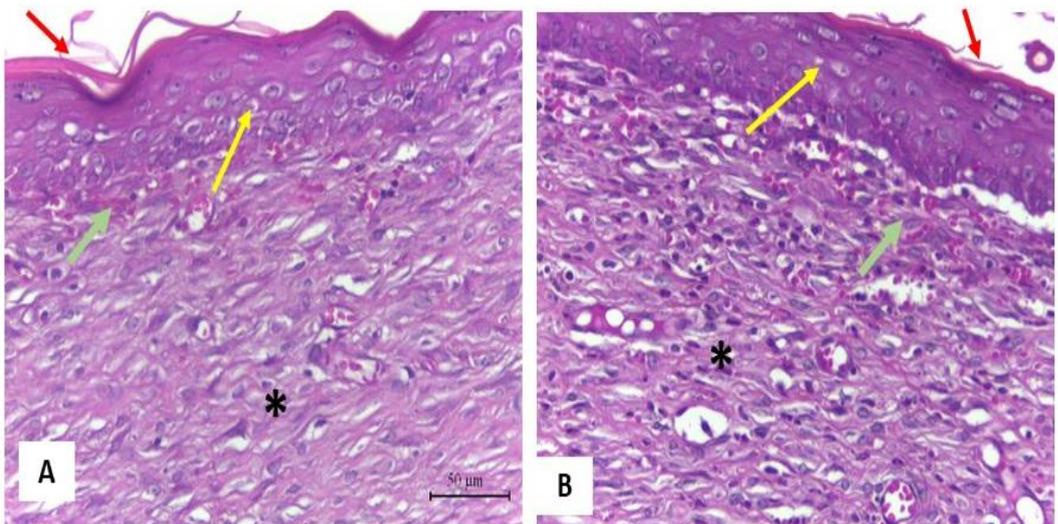


Figura 12.

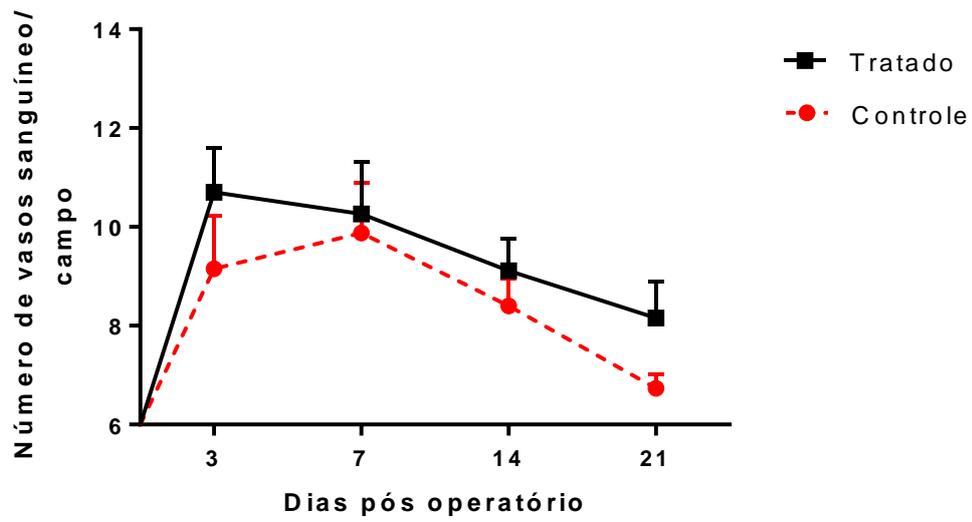


Figura 13.

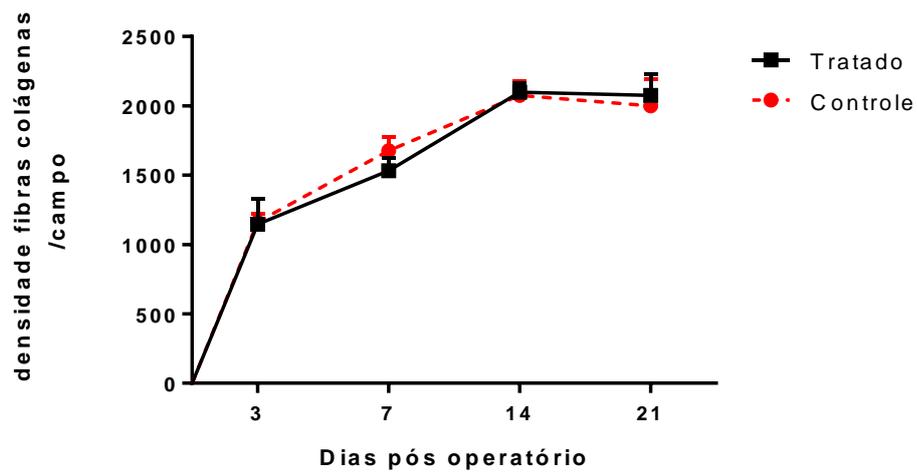


Figura 14.

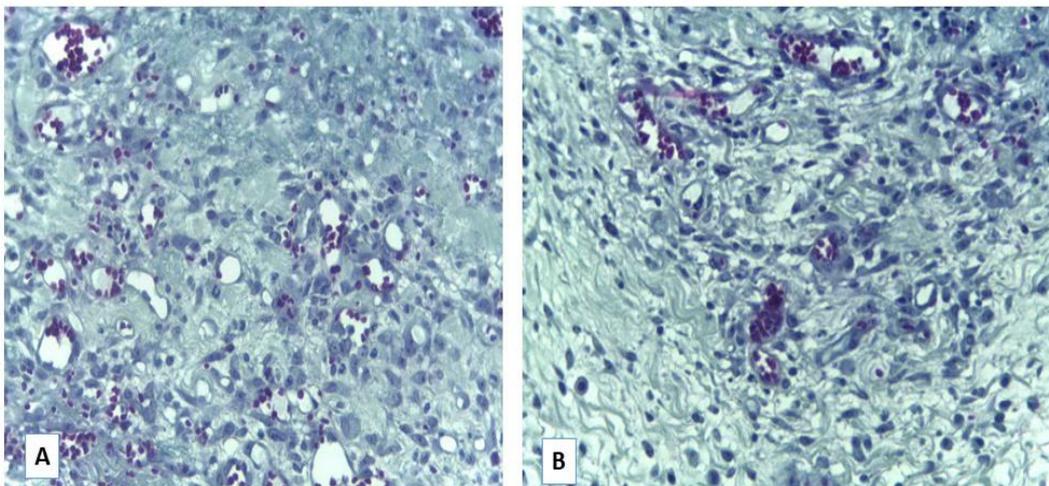


Figura 15.

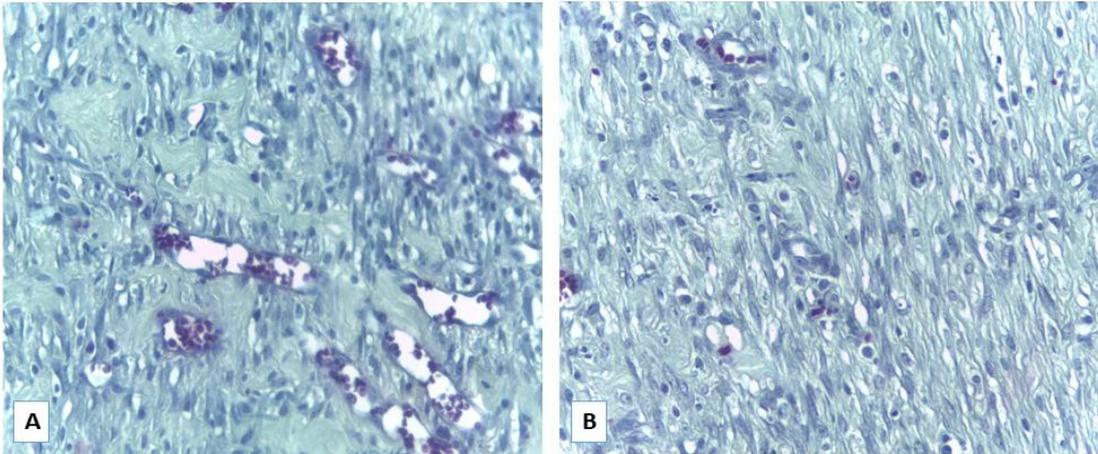


Figura 16.

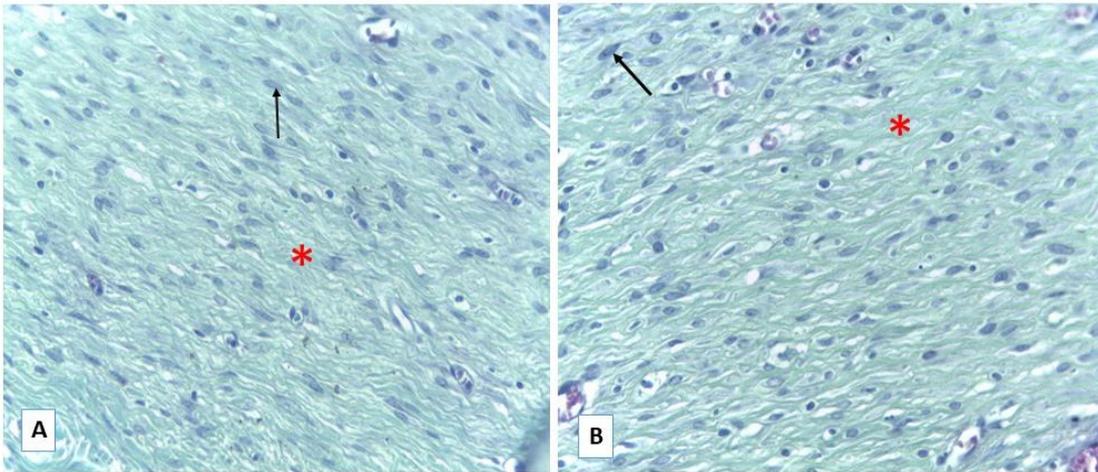
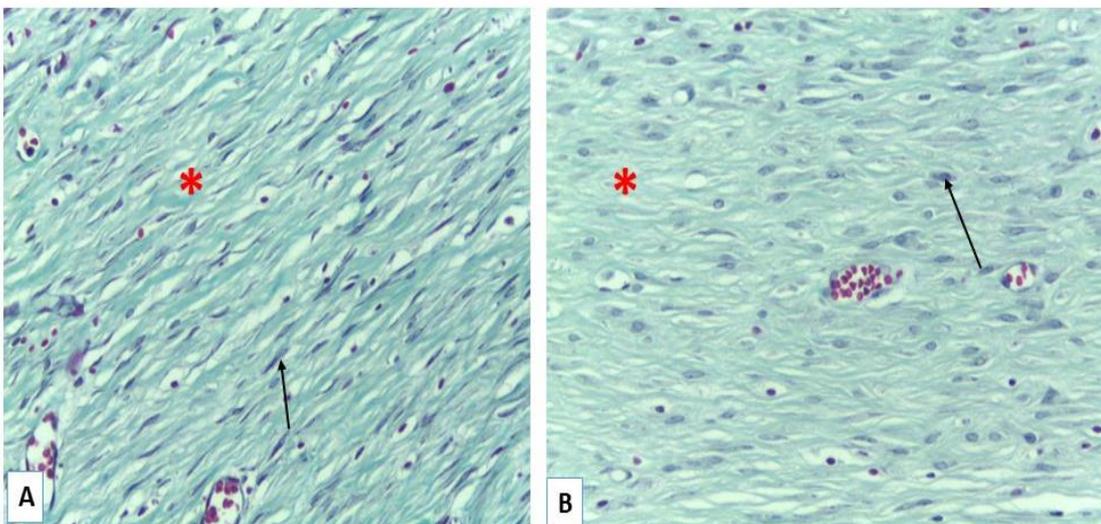


Figura 17.



Quadro 1.

Compostos	IR <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	<i>L. gracilis</i>
$\alpha$ -Pinene*	929	932	1.82	0.10
$\alpha$ -Fenchene	940	945	-	0.08
Verbenene	966	961	-	0.09
$\beta$ -Pinene*	971	974	-	1.02
$\delta$ -3-Carene	1008	1008	0.27	0.21
$\alpha$ -Terpinene*	1012	1014	-	1.65
$\rho$ -Cymene	1022	1020	0.58	11.24
Limonene*	1023	1024	-	0.13
Sylvestrene*	1028	1025	4.55	-
$\gamma$ -Terpinene*	1050	1054	-	9.38
1,3,8- $\rho$ -Menthatriene	1111	1108	0.32	-
<i>endo</i> -Fenchol	1120	1114	0.43	-
$\alpha$ -Campholenal	1126	1122	1.11	-
Nopinone	1135	1135	1.32	-
Ipsdienol	1138	1140	-	0.73
<i>neo</i> -3-Thujanol	1142	1149	4.11	-
$\beta$ -Pinene oxide	1147	1154	1.89	-
Pinocarvone	1162	1160	1.59	-
Rosefuran epoxide	1172	1173	0.42	-
Terpinen-4-ol	1177	1174	0.47	0.58
<i>m</i> -Cymen-8-ol	1182	1176	1.16	-
$\rho$ -Cymen-8-ol	1189	1179	1.32	-
$\alpha$ -Terpineol	1197	1186	5.62	-
Myrtenol	1199	1194	1.68	-
Verbenone	1202	1205	0.30	-
trans-Piperitol	1206	1207	0.44	-
4-methylene-Isophorone	1211	1216	1.49	-
<i>cis</i> - $\rho$ -Mentha-1(7),8-dien-2-ol	1221	1227	2.30	-
Pulegone	1229	1233	0.73	-
Ascaridole	1234	1234	0.55	-
Carvone	1245	1239	3.17	-
Car-3-em-2-one	1249	1244	0.76	-
<i>cis</i> -Carvone oxide	1262	1259	0.79	-
Geranial*	1266	1264	0.66	-
Neo- 3-Thujanol acetate	1272	1273	0.48	-
Verbenyl acetate	1280	1280	0.65	-
Neoiso-3-Thujanol acetate	1283	1281	0.68	-
Thymol*	1285	1289	-	15.37
<i>trans</i> -Verbenyl acetate	1291	1291	0.57	-
3-Thujanol acetate	1298	1295	1.72	-
Carvacrol*	1300	1298	-	51.15
<i>trans</i> -Pinocarvyl acetate	1302	1298	1.99	-
Dihydro carveol acetate	1308	1306	1.20	-
$\rho$ -vinyl-Guaiacol	1315	1309	7.70	-

$\delta$ -Terpenyl acetate	1320	1316	3.00	-
$\rho$ -Mentha-1,4-dien-7-ol	1324	1322	2.09	-
<i>iso</i> -dihydro carveol	1327	1326		-
acetate			0.62	
$\delta$ -elemene	1333	1335	1.18	-
$\alpha$ -terpinyl acetate	1345	1346	0.65	-
$\alpha$ -logipinene	1353	1350	5.50	-
Silphiperfol-4,7(14)-diene	1358	1358		-
			0.30	
<i>cis</i> -Carvyl acetate	1364	1365	1.07	-
Longicyclene	1366	1371	0.48	-
8- <i>epi</i> -dictaminol	1380	1379	0.65	-
$\beta$ -Patchoulene	1384	1379	0.64	-
$\beta$ -parnasiene	1386	1381	0.41	-
$\beta$ -cubebene	1389	1388	1.35	-
$\beta$ -elemene	1394	1389	0.46	-
$\beta$ -longipinene	1402	1400	0.62	-
$\beta$ -caryophyllene*	1411	1417	5.03	4.60
$\alpha$ -humulene*	1433	1436	1.10	0.23
Aromadendrene*	1447	1439	0.47	0.30
9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-cariofilene	1468	1464	2.10	-
$\beta$ -acoradiene	1471	1469	1.28	0.14
10- <i>epi</i> - $\beta$ -acoradiene	1478	1474	0.59	-
Germacrene D	1490	1485	1.04	0.73
Yalencene	1499	1496	1.65	-
Bicyclogermacrene*	1502	1500	0.97	0.41
$\beta$ -Himachalene	1508	1500	0.42	-
$\delta$ -Cadinene	1517	1522	1.80	-
Elemol	1548	1548	2.33	-
Longipinanol	1572	1567	0.39	-
Caryophyllene oxide *	1588	1590	0.55	-
Carotol	1600	1594	0.47	-
$\beta$ -eudesmol	1651	1649	2.10	-
Caryophyllene acetate	1705	1701	0.46	-
14-hydrosy- $\alpha$ -Humulene	1713	1713	0.65	-
Total			97.26	98.14
Monoterpenes			60.55	91.73
Sesquiterpenes			36.71	6.41

RI<sup>a</sup> = Índices de retenção calculados a partir dos tempos de retenção em relação aos da série C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub> de *n*-alcanos em uma coluna capilar DB-5 de 30 m. RI<sup>b</sup> = Índices de retenção da literatura. IR = índice de retenção; MS = espectroscopia de massa; CI: Co-injeção com compostos autênticos. Método de identificação: IR, EM e \* IR, EM, IC