

Caracterização química dos extratos *in natura* das folhas de *Arrabidaea chica* Verlot e avaliação do potencial regenerativo através de testes *in vitro* e *in vivo* em fibroblastos

Chemical characterization of *in natura* extracts from the leaves of *Arrabidaea chica* Verlot and evaluation of the regenerative potential through *in vitro* and *in vivo* tests in fibroblasts

DOI:10.34117/bjdv8n7-366

Recebimento dos originais: 23/05/2022

Aceitação para publicação: 30/06/2022

Nicole de Souza Farias

Acadêmica de Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

E-mail: nicky.farias03@gmail.com

Carolina Cavalcante Azevedo

Acadêmica de Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

E-mail: carolcca4@gmail.com

Lucas Alexandre da Silva

Acadêmico de Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

E-mail: al974493@gmail.com

Leilane de Sousa Mendonça

Mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

E-mail: leilane.smendonca@gmail.com

Cintha Iamile Frithz Brandão de Oliveira

Doutora em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará (UFC)

Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

E-mail. iamille@ufam.edu.br

Marne Carvalho de Vasconcellos

Doutorado em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará (UFC)
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
E-mail. marne@ufam.edu.br

Antônio Batista da Silva

Doutorado em Biotecnologia pela Universidade Estadual do Ceará (UECE - UFRPE)
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, Manaus – AM,
Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
E-mail: absilva6@hotmail.com

RESUMO

A biodiversidade da flora brasileira é bastante vasta e representa um imenso potencial de utilização econômica pela indústria farmacêutica e cosmética. Dentre as espécies vegetais catalogadas no Brasil, a *Arrabidaea chica* Verlot, pertencente à família Bignoniaceae, conhecida popularmente pelos nomes de pariri, cipó-pau ou crajiru, encontra-se listada na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) para estudo e viabilidade como cicatrizante e tratamento de ulcerações diabéticas. Este trabalho avaliou os extratos de folhas de *Arrabidaea chica* para fins de identificação de compostos ativos e demonstrou que o extrato foi capaz de reduzir as lesões na pele 13% em apenas dois dias de aplicação tópica, além de demonstrar mediante ensaio *in vitro* de indução de crescimento de fibroblastos. Com a caracterização química dos extratos, observou-se a possível presença de compostos do grupo de flavonoides e antocianinas como quercetina e 3-desoxiantocianidina, respectivamente. Nenhuma das amostras apresentou citotoxicidade nas concentrações testadas, assim como não teve diferença significativa na quantidade de células nos diferentes tratamentos no ensaio de proliferação celular.

Palavras-chave: *Arrabidaea chica*, plantas medicinais, atividade cicatrizante, regeneração tecidual.

ABSTRACT

The biodiversity of Brazilian flora is quite vast and represents an immense potential for economic use by the pharmaceutical and cosmetic industries. Among the plant species catalogued in Brazil, *Arrabidaea chica* Verlot, belonging to the Bignoniaceae family, popularly known as pariri, cipó-pau or crajiru, is listed in the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS (RENISUS) for study and viability as a cicatrizant and treatment of diabetic ulcerations. This work evaluated the extracts of *Arrabidaea chica* leaves for the identification of active compounds and demonstrated that the extract was able to reduce skin lesions by 13% in only two days of topical application, and demonstrated by *in vitro* assay of fibroblast growth induction. With the chemical characterization of the extracts, the possible presence of compounds from the group of flavonoids and anthocyanins such as quercetin and 3-deoxyanthocyanidin, respectively, was observed. None of the samples showed cytotoxicity at the concentrations tested, as well as no significant difference in the amount of cells in the different treatments in the cell proliferation assay.

Keywords: *Arrabidaea chica*, medicinal plants, healing activity, tissue regeneration.

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização é um processo muito complexo e dinâmico que tem como resultado a restauração da função e da continuidade anatômica. Este processo pode ser dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e remodelamento. Alterações em uma destas fases levam a uma lentidão no processo cicatrização ou até mesmo a não cicatrização (MAVIOSO, 2003).

O processo da cicatrização é o evento final da resposta inflamatória que, independentemente do agente lesivo, caracteriza-se por uma resposta com estereótipo, que tem sequência ordenada de fenômenos e possibilitam a restauração da área lesada, caso haja a interrupção do fator desencadeante, ou cronificação do processo, caso permaneça o fator irritante (MALDELBAUM et al., 2003).

A utilização de alguns medicamentos pode promover o desencadeamento do processo cicatricial, tais como glicocorticoides, anti-inflamatórios não esteroidais, colchicina, ciclosporina e penicilamina. Estas drogas atuam alterando o processo inflamatório e a atividade imune, revelando a interação entre o sistema imune e o sistema de cicatrização (DEODHAR et al., 1997).

O manuseio de plantas para fins medicinais é antiga e tem relatos sobre essa prática datando de 3.000 a.C. (ALVES et al., 2010). Grande parte das propriedades terapêuticas que se tem conhecimento foi com a observação e experimentação de algumas plantas pelos ancestrais, tendo como exemplo o preparo de chás, sendo assim difundida em várias culturas (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006; SANTOS et al., 2008). Dados da literatura indicam que cerca de 80% das pessoas utilizam plantas para tratamento de suas enfermidades, sendo que a maioria da população de baixa renda recorre às plantas medicinais como única fonte terapêutica (YUNES & CALIXTO, 2001).

O gênero *Arrabidaea* tem ocorrência na América e é conhecida por ser uma fonte de antocianinas, flavonóides e taninos, que foram identificadas em alguns estudos (ZORN et al., 2001; DEVIA et al., 2002; PAULETTI et al., 2003). As espécies pertencentes a esse gênero têm sido utilizadas na medicina tradicional como antioxidante, anti-inflamatório, adstringente, antimicrobiano e antitumoral (ROCHA et al., 2011).

Dentre as espécies, encontra-se a *Arrabidaea chica*, uma planta trepadeira popularmente conhecida como pariri, cipó-pau, cipó-cruz, carajuru, carapiranga, carajiru, crajiru, carajeru, crejer, entre outras (JORGE, 2008; MAGALHÃES, et al.

2009; FIGUEIRA, et al. 2010; GEMELLI, et al. 2015) e pertence à família Bignoniaceae, sendo amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, observando que no Brasil, sua ocorrência se estende da Amazônia até o Rio Grande do Sul, de modo que não apresenta um habitat específico (PAULETTI et al., 2003).

Em 2009 teve uma publicação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) composta por 71 plantas nativas e dentre elas encontra-se a *Arrabidaea chica* Verlot. (Crajiru), que apresenta um histórico de utilização pela população brasileira e evidências para sua indicação na atenção básica de saúde.

Na medicina tradicional é atribuído para essa espécie um vasto conhecimento de propriedades, tais como: antioxidantes, anti-inflamatórias, cicatrizante, também demonstrando eficiência no tratamento de câncer (TAFARELLO, 2008; TAFARELLO et al., 2013). Além disso, suas folhas são usadas para o tratamento de cólicas intestinais, diarreias, anemias, hemorragias, impigens, micose e lavagem de ferimentos na pele e também em atividade antifúngica (BARBOSA; QUIGNARD, 1998; FIGUEIRA, et al. 2010; MEDEIROS, et al. 2011).

As formas de consumo do Crajiru encontradas na cultura popular são geralmente por meio do preparo de chás, como por infusão, maceração, decocção ou por tintura, sendo sua administração por via oral e/ou por lavagens vaginais (BORRÁS, 2003).

De acordo com seu uso tradicional, a extração dos compostos ativos das folhas de *Arrabidaea chica* começaram a ser realizados e foram utilizados em formulações de xampus e sabonetes, por indústrias cosméticas principalmente da região norte do Brasil (SCHIOZER et al., 2006).

Dessa maneira, a utilização dessa espécie por populações nativas levou vários pesquisadores buscarem comprovações em bases científicas e avaliarem suas propriedades medicinais, encontrando diversos efeitos biológicos e farmacológicos em diferentes extratos e frações de *Arrabidaea chica* que contribuem para sua validação no uso medicinal e que têm sido descritos na literatura (MAFIOLETI, et al. 2013)

Dessa maneira, considerando também o crescimento do uso de substâncias de origem natural e sua importância na região Amazônica, este trabalho teve como objetivo avaliar a caracterização físico-química dos extratos obtidos das folhas de *Arrabidaea chica* Verlot, para identificação de compostos ativos através de técnicas cromatográficas, além de avaliar o potencial regenerativo através da influência na fisiologia celular in vitro e in vivo de fibroblastos dérmicos e queratinócitos humanos.

2 METODOLOGIA

2.1 COLETA DO MATERIAL

O material botânico foi coletado no campus da Universidade Federal do Amazonas - UFAM e foram submetidas a desidratação em uma estufa de circulação de ar sob temperatura controlada em 45 C°. No momento que estiveram totalmente secas, o material foi levado para trituração no moinho de facas, pesada em balança e em seguida foram acondicionadas em potes para a etapa de extração.

2.2 EXTRAÇÃO

As amostras, previamente desidratadas e trituradas, foram submetidas a extração em solvente de acetato de etila pelo método de percolação, que consiste em uma extração realizada pelo arrastamento do princípio ativo através da passagem contínua do solvente escolhido.

Foram utilizados três tipos de amostras: a primeira foi coletada na UFAM no período de verão (Lote 1), a segunda amostra já se encontrava no laboratório, que foi coletada no período de chuva (Lote 2) e a terceira amostra já estava pronta, sendo preparada com etanol (Lote 3). Em seguida, os extratos foram levados para rotaevaporação para eliminar o solvente e calcular o rendimento de cada amostra.

2.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS COMPOSTOS POR CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

O extrato das folhas de *Arrabidaea chica* obtido foram resuspenso em solvente orgânico para as análises em Cromatografia de Camada Delgada (CCD). As amostras foram preparadas a 10% e as análises em CCD foram desenvolvidas em placas pré-elaboradas de gel de sílica (cromatofolha Merck, gel de sílica 60 F254, 0,2 mm) (COLLINS, 2010). Como fase móvel, foi utilizado uma mistura de hexano:acetato de etila:éter etílico, na proporção de 9:1:2. Os spots foram observados na câmara UV e revelados com anisaldeído.

2.4 TESTES IN VITRO COM EXTRATO DE A. CHICA A (2%)

As células foram obtidas para testes in vitro. Para isolamento e propagação de fibroblastos, foram incubadas por 2 a 3 semanas em frascos de cultura de células em meio de crescimento de fibroblastos (MEM alta glicose, FCS (10%) e L-glutamina (1%), (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Áustria). As células foram isoladas e

utilizadas para outras passagens. A cultura permanente de queratinócitos HaCaT foi realizada em meio DMEM de alta glicose suplementado com FCS (10%), penicilina/estreptomicina (1%), glutamina (1%) e ácidos não essenciais (1%) (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Áustria).

O cultivo de queratinócitos primários (pNHEK) e fibroblastos primários (pNHDF) foi realizado a 37 ° C, 5% de CO₂. Os queratinócitos HaCaT foram cultivados a 35 ° C, 5% CO₂. Testes in vitro foram realizados em relação à atividade mitocondrial pelo teste de MTT, ensaio de incorporação de BrdU e ensaio de diferenciação.

2.5 CITOTOXICIDADE E ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO IN VITRO COM EXTRATO DE *A. CHICA* A (2%)

No ensaio de exclusão por azul de tripan, as células foram colocadas em placas de 24 poços na concentração de 2×10^4 células por poço e incubadas em estufa a 37° C com atmosfera de 5% de CO₂ por 24h para aderência celular. Após esse período, as células receberam o tratamento com o extrato etanólico e acetato nas concentrações de 12,5 µg/mL e 100 µg/mL.

Após 72 horas de tratamento, as células foram colhidas e centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o concentrado de células foi resuspenso com 1000 µL de meio DMEM completo. Deste foram retirados 10 µL aos quais foram adicionados 10µL de Tripán Blue. Decorridos 2 minutos, 10µL da suspensão de células coradas foi aplicado em uma câmara de Neubauer e foram contadas as células viáveis e as não-viáveis. Os resultados foram analisados por ANOVA two-way seguido de Bonferroni posttests. Considerou-se estatisticamente significativos * $p < 0,05$ comparando com o controle negativo.

2.6 MIGRAÇÃO DE CÉLULA MRC5

Foram utilizados insertos de 8 µm em placas de 12 poços (Becton Dickinson) e as células utilizadas (MRC5), que estavam em cerca de 70% de confluência, foram tripsinizadas e ressuspensas em DMEM ou RPMI sem soro. Foram adicionadas à parte superior do inserto 1.10^5 células, contendo DisBa-01 nas concentrações de 10, 100, 500 e 1000 nM, enquanto meio contendo 10% de soro foi adicionado ao compartimento inferior (TIAN et al., 2007).

2.7 TESTE IN VIVO COM SEMISSÓLIDO A BASE DE EXTRATO DE *A. CHICA* A (3%)

Foram utilizados 9 camundongos da espécie Swiss. Esses animais foram ambientados e climatizados por 10 dias, para adaptação, recebendo água e ração balanceada. O experimento seguiu as normas do Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Amazonas, sob o número de protocolo N. 017/2019. Os animais foram alojados em gaiolas individuais, forradas com maravalha. A maravalha foi trocada a cada três dias. O laboratório para alojamento dos animais apresentava-se arejado e com temperatura média de 21°C, com sistema de ventilação de ciclo claro-escuro.

2.8 ANESTESIA, TRICOTOMIA, EXCISÃO DA PELE E APLICAÇÃO DO SEMISSÓLIDO COM EXTRATO DE *A. CHICA* A (3%)

Os animais foram anestesiados com isoflurano 100% (240mL) por via inalatória. Em seguida, os camundongos foram posicionados em decúbito ventral e submetidos a tricotomia na região dorsal com auxílio de lâmina específica para o procedimento. A excisão foi realizada utilizando um molde do tamanho quadrado de 1,0 x 1,0 cm para retirada do fragmento constituído por pele e tecido subcutâneo.

Os animais foram identificados de 1 a 9 com pincel permanente na cauda juntamente com as gaiolas que os animais foram alojados. Foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos: GC (grupo controle) e GSS (grupo no qual se aplicou o semissólido). Em todos os grupos foram realizados curativos diários com a aplicação do semissólido a base de *A. chica* a (3%) no grupo GSS e aplicação de soro fisiológico a 0,9% no grupo GC para lavar a excisão. Para os animais do GSS, foram aplicadas mais ou menos 1mL do semissólido na excisão com auxílio de espátula.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. COLETA E EXTRAÇÃO

As folhas de *Arrabidaea chica* foram submetidas a desidratação e trituração em um moinho de facas. O material foi levado para pesagem em que se obteve 2,97 kg de amostra para a etapa de extração. O extrato foi pesado em balança analítica para obter o rendimento de cada amostra (Tabela 1) e, posteriormente, foi armazenado na geladeira.

Na tabela 1 mostra o rendimento de extrato seco obtido das amostras extraídas com acetato de etila, tanto lote 1 quanto lote 2, adquiridas pelo método da percolação.

Observa-se que esse método apresentou um bom rendimento de extrato mesmo com pouca quantidade de amostra utilizada.

Tabela 1 – Rendimento das extrações de cada amostra adquirida.

Amostra	Quantidade (g)	Extrato seco (g)	Rendimento (%)
Lote 1	300g	29,208g	9,73%
Lote 2	300g	34,295g	11,43%

Fonte: Elaborado pelos autores.

3.2 ANÁLISE NA CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)

Foram detectados nove spots no extrato do lote 1, oito spots no extrato do lote 2 e seis spots no extrato etanólico considerado como lote 3, considerando tanto a leitura no UV quanto na revelação com anisaldeído. Cada spot corresponde a um componente, para o qual a relação de retenção (Rf) foi calculada. Os resultados estão demonstrados na tabela 2.

Tabela 2 – Relação de retenção (Rf) de cada amostra de *Arrabidaea chica*.

Lote 1	Lote 2	Lote 3
Rf ₁ = 0,083	-----	-----
Rf ₂ = 0,15	Rf ₁ = 0,11	-----
Rf ₃ = 0,2	Rf ₂ = 0,2	Rf ₁ = 0,2
Rf ₄ = 0,26	Rf ₃ = 0,35	Rf ₂ = 0,25
Rf ₅ = 0,31	Rf ₄ = 0,416	Rf ₃ = 0,283
Rf ₆ = 0,4	Rf ₅ = 0,53	Rf ₄ = 0,53
Rf ₇ = 0,65	Rf ₆ = 0,8	-----
Rf ₈ = 0,95	Rf ₇ = 0,95	Rf ₅ = 0,95
Rf ₉ = 1	Rf ₈ = 1	Rf ₆ = 1

Fonte: Elaborado pelos autores

De acordo com o trabalho de Berla (2008), é possível que o composto que apresentou Rf₁ = 0,11 no lote 2 seja um polifenol (taninos, flavonóides) ou saponina, pois são os componentes mais polares. Já no estudo de Schiozer (2017), as técnicas cromatográficas empregadas permitiram identificar três picos no cromatograma da HPLC que apresentaram os mesmos perfis, indicando ser a mesma substância. A substância identificada foi a 3-desoxiantocianidina que na CCD teve um Rf de 0,35 e 0,25, uma vez que esses valores também foram encontrados no presente estudo sendo Rf₃ = 0,35 (Lote 2) e Rf₂ = 0,25 (Lote 3).

Tafarello (2008) e Tafarello et al. (2013) sugerem que a ação cicatrizante dos extratos brutos da *Arrabidaea chica* pode ter relação à presença das antocianinas, e ainda, demonstraram que a atividade cicatrizante é inversamente proporcional ao aumento da concentração de uma das 3-desoxiantocianidinas presente. Assim, esses compostos podem ser de grande importância para o processo de cicatrização.

Conforme o trabalho de Alves (2008), em que foi realizado uma caracterização da composição do extrato de *Arrabidaea chica*, os compostos com $Rf_2 = 0,15$, $Rf_4 = 0,26$ e $Rf_5 = 0,31$ (Lote 1); $Rf_5 = 0,53$ (Lote 2); $Rf_2 = 0,25$ e $Rf_4 = 0,53$ (Lote 3) indicam tratar-se de substâncias flavonoides.

Além disso, observa-se que o Rf de valor 1 encontra-se nos três extratos avaliados. No estudo de Montanha et al. (2010) foi feita uma padronização de extratos obtidos das folhas da *Arrabidaea chica* para a produção de um fotoprotetor solar e confirmou a presença de quercetina em CCD que apresentou um Rf de 1,0, assim como no presente estudo. A quercetina é um flavonoide natural que apresenta propriedades farmacológicas, tais como anti-inflamatória, anticarcinogênica, antiviral, anti-histamínicas (antialérgicas), cardiovascular, entre outras atividades (LOPES et al., 2019).

No estudo de Amaral et al. (2006) foi confirmado a presença de luteolina nas folhas de *Arrabidaea chica*, utilizando a relação de retenção (Rf), parâmetro frequentemente utilizado nessa técnica. Silva-Silva et al. (2021) obteve uma fração rica em flavonas e identificou, a partir de técnicas cromatográficas, observando a presença da luteolina e apigenina. Entretanto o Rf obtido não é citado nos dois estudos.

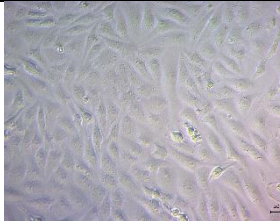
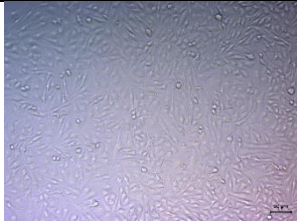

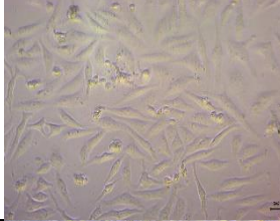
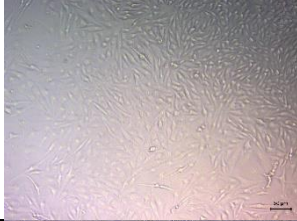
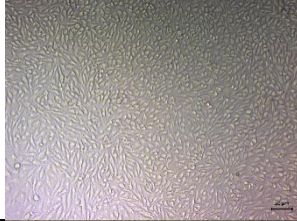
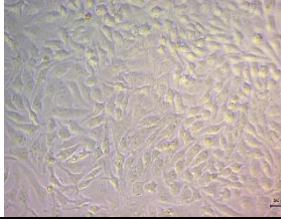

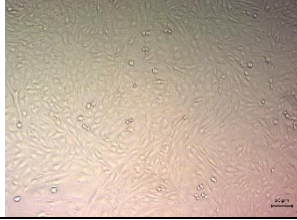
A quercetina e a luteolina já demonstraram atividade na ativação do sistema complemento, diminuindo a chamada das células inflamatórias ao endotélio e conseqüentemente, reduzindo a resposta inflamatória (SANDHAR et al., 2011).

Um dos principais grupos fenólicos encontrados em plantas são os flavonoides. Esse grupo apresenta potencial bioativo como potencial antioxidante, anti-inflamatório, proteção contra doenças cardiovasculares, entre outros (MARTENS; MITOFER, 2005). Dessa forma, a luteolina, quercetina e apigenina que fazem parte desse grupo fenólico, são de grande interesse para o presente estudo devido sua possível atividade cicatrizante e anti-inflamatória.

3.3. TESTES IN VITRO COM EXTRATO DE *A. CHICA* A (2%)

Nos resultados analisados observou-se que os fibroblastos tiveram um crescimento significativo como pode ser visto na tabela 3, nela encontra-se resultados de fibroblastos que foram submetidos ao tratamento em 24, 48 e 72 horas. Os resultados mais satisfatórios foram observados com a aplicação do extrato em solvente Acetato de Etila no intervalo de 24 à 48.

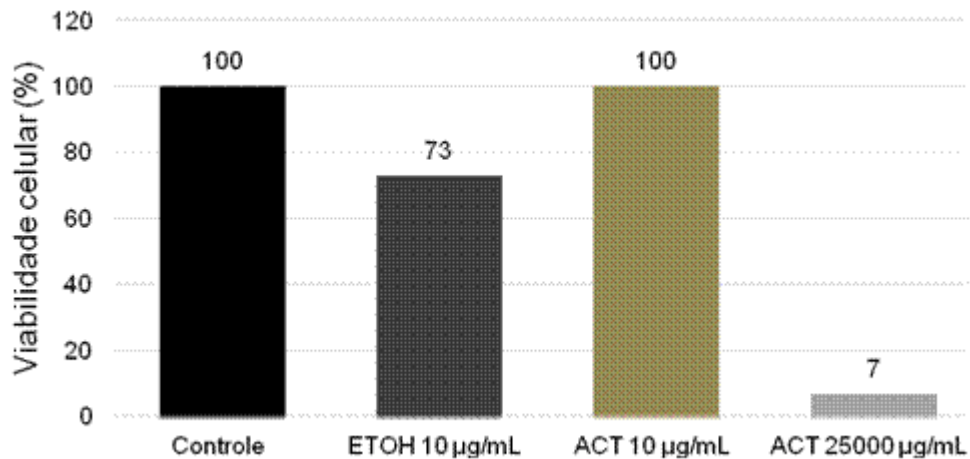
Tabela 3 – Células de Fibroblastos humanos (MRC5) tratados com os extratos etanólico e acetato de *Arrabidaea chica* a 10 µg/mL após 24, 48 e 72 horas de tratamento. Escala 50 µm.

Substância	Tempo de tratamento		
	24 horas	48 horas	72 horas
Controle negativo			
Extrato etanólico de <i>A. chica</i>			
Extrato acetato de <i>A. chica</i>			

Fonte: Elaborado pelos autores

As concentrações a 10% e que foram diluídas com DMSO foram as que tiveram os resultados positivos se tratando de viabilidade celular, pois as porcentagens foram adequadas, entretanto, o extrato solubilizado em Etanol obteve uma viabilidade muito diminuta como mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 – Viabilidade celular da linhagem de Fibroblasto Humano (MRC5) após tratamento de 72 horas com os extratos etanólico (ETOH) e acetato (ACT) de *Arrabidaea chica*.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Os maiores valores encontrados foram nas concentrações de 2,5 µg/mL com viabilidade de 164% em Acetato e de 1,25µm/mL com viabilidade de 153% em Etanol, como mostram as tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Leitura do tratamento do extrato solubilizado em Acetato de etila.

ACT 10,3 72H											
ug/mL	BRANCO			LEITURA			LEITURA -BRANCO			MÉDIA	VIAB%
DMSO	3611	3771	3681	1363421	1077547	1221784	1359810	1073776	1218103	1217230	100
0,15625	3687	3594	3539	1289602	1500129	2506614	1285915	1496535	2503075	1761842	145
0,3125	3892	3838	4020	1245824	1399011	1311727	1241932	1395173	1307707	1314937	108
0,625	3569	3703	3921	1188167	2544732	1594532	1184598	2541029	1590611	1772079	146
1,25	3530	3615	3976	1381261	2200404	2078176	1377731	2196789	2074200	1882907	155
2,5	3762	3969	3633	1258751	2316857	2426073	1254989	2312888	2422440	1996772	164
5	3766	3762	3909	1592355	1664427	2190420	1588589	1660665	2186511	1811922	149
10	3749	3922	3897	1523658	1415241	1502788	1519909	1411319	1498891	1476706	121

Fonte: Elaborado pelos autores.

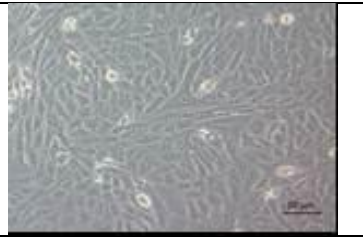
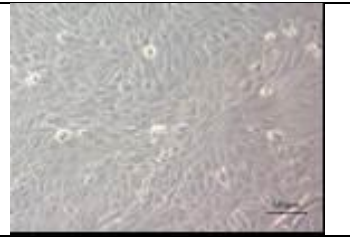
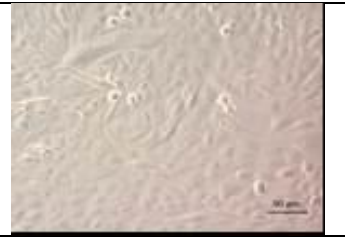


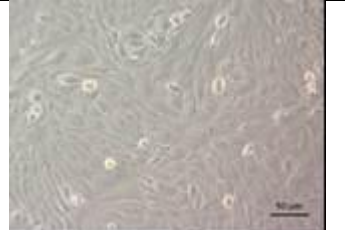
Tabela 5 – Leitura do tratamento do extrato solubilizado em Etanol.

ETOH 9,5 72H											
ug/mL	BRANCO			LEITURA			LEITURA -BRANCO			MÉDIA	VIAB%
DMSO	4048	3865	3934	1137007	1070014	1140766	1132959	1066149	1136832	1111980	100
0,15625	3955	3940	3842	1466010	1613720	1558536	1462055	1609780	1554694	1542176	139
0,3125	3521	3877	4029	1451301	1242888	1350270	1447780	1239011	1346241	1344344	121
0,625	3768	3545	3886	1526063	1294493	1619237	1522295	1290948	1615351	1476198	133
1,25	3807	3684	3683	1616195	1408000	2090956	1612388	1404316	2087273	1701326	153
2,5	3950	3816	3604	1930636	1334406	1481818	1926686	1330590	1478214	1578497	142
5	4255	3840	3785	1610091	1386713	1080475	1605836	1382873	1076690	1355133	122
10	4075	4189	4333	834444	961958	667500	830369	957769	663167	817101,7	73

Fonte: Elaborado pelos autores.

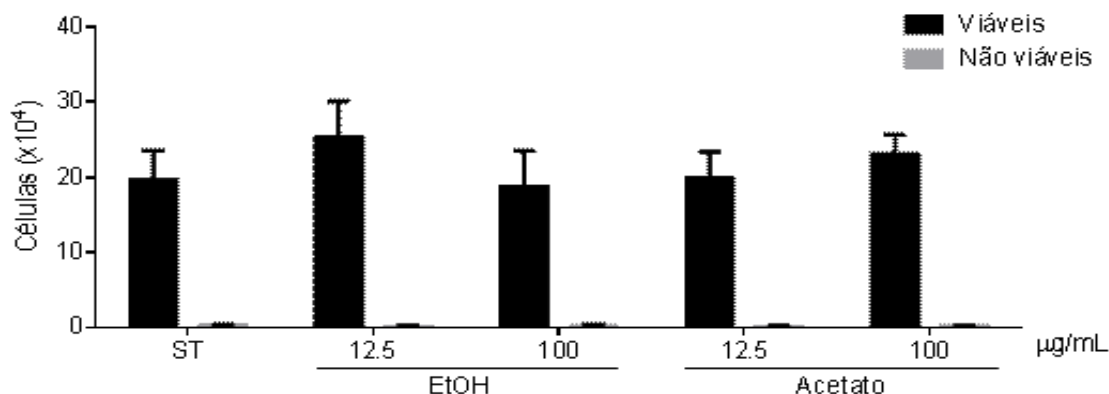
3.4 CITOTOXICIDADE E ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO *IN VITRO*

Quadro 1 – Ensaio de toxicidade in vivo. ETOH – Extrato etanol; ACTH – Extrato acetato de etila.

A	ST	ETOH 12,5 µg/mL	
			
B		ACTH 12,5 µg/mL	
			

Fonte: Elaborado pelos autores.

Gráfico 2 – Resultados do ensaio de viabilidade e proliferação de fibroblastos humanos (MRC5)















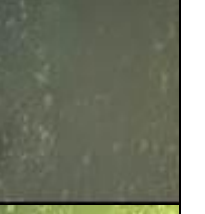
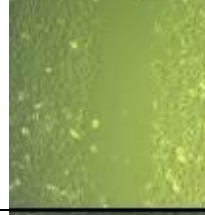
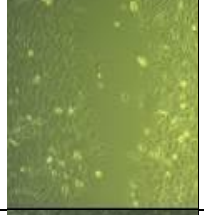

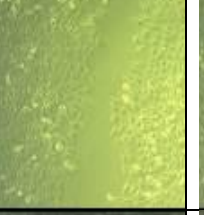
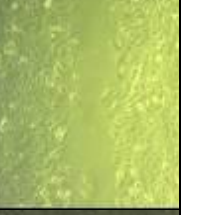







Fonte: Elaborado pelos autores.

Após 72 horas de tratamento com extratos etanólico e acetato de *Arrabidea chica*. Observou-se através de imagens a proliferação de fibroblastos humanos nas concentrações de 12,5 µg/mL e 100 µg/mL. e quantitativo de fibroblastos humanos após 72 horas de tratamento com extratos etanólico e acetato de *Arrabidea chica* (Crajiurú) nas concentrações de 12,5 µg/mL e 100 µg/mL, conforme Gráfico 2.

3.5 MIGRAÇÃO DE CÉLULA MRC5

Quadro 2 – Evolução da migração das células de linhagem MRC5 em contato com o extrato de acetato e etanólico de *Arrabidaea chica*.

TEMPO HORAS	DMSO	ETOH		ACTH	
		12,5 µg/mL	100 µg/mL	12,5 µg/mL	100 µg/mL
0					
6					
12					
24					
48					

Fonte: Elaborado pelos autores.

Observa-se no Quadro 2 a migração de células MRC5 de acordo com determinadas concentrações de extrato em etanol e acetato. É possível observar processo de cicatrização no ensaio de migração in vitro nas placas tratadas nos tempos registrados de 0, 6, 12, 24 e 48 horas. Observou-se que os extratos de *A. chica* tem efeito na proliferação dos fibroblastos na concentração 100 e no extrato de acetato de concentração 100 µg/ML.

3.6 TESTE *IN VIVO*

Após a realização da excisão da pele de todos os animais, eles se recuperam satisfatoriamente da anestesia. Durante 28 dias foi observado o processo de cicatrização, com registros fotográficos nos dias 1, 7, 14, 21 e 28; os curativos foram feitos diariamente. A avaliação macroscópica permitiu o acompanhamento de todo o processo de cicatrização da lesão, em que foi avaliada a presença da formação de crosta. Durante o experimento nenhum camundongo apresentou hemorragia e exsudato, porém houve a formação de crostas entre o terceiro e o sétimo dia, assim como a presença de uma pequena camada de fibrina entre o sétimo e o décimo dia.











O grupo GSS foi tratado com semissólido em base não iônica na concentração de extrato de *A. chica* em solvente acetato de etila a 3%. O mesmo apresentou maior velocidade no fechamento das feridas em relação ao grupo GC. A área da ferida diminuiu gradativamente da periferia para o centro (Quadro 3). A diminuição das lesões pôde ser observada no grupo com o semissólido a partir do sétimo dia iniciando-se da margem para o centro.

No 21º dia, 100% camundongos do grupo GSS já apresentavam cicatrização quase total da lesão, enquanto o grupo GC ainda apresentava cicatrização parcial. Deste modo verificou-se que o tempo de cicatrização do grupo GSS foi maior em relação ao grupo GC. No 28º dia do experimento, o fechamento total das lesões foi verificado em 100% dos camundongos do grupo GC e GSS. Durante todo procedimento de tratamento tanto do GC quanto do grupo GSS as fissuras não apresentaram áreas hiperemiadas ou processo de inflação local.

Trabalho realizado por Sousa (2013) demonstrou que formulações semissólidas, avaliadas em modelos experimentais de cicatrização *in vivo* foram capazes de reduzir entre 80 a 70% a área cutânea ulcerada em 10 dias de tratamento, enquanto que o grupo controle apresentou redução de 37% no mesmo período. O extrato encorpado na formulação do GSS não apresentou atividade anti-inflamatória (JORGE et al., 2008).

Os testes *in vivo* realizados por Jorge et al., (2008) avaliaram a eficácia do extrato metanólico das folhas de *A. chica* em modelo de cicatrização de feridas cirúrgicas de ratos Wistar. Este estudo demonstrou que extrato foi capaz de reduzir a lesões na pele 13% em apenas dois dias de aplicação tópica. Taffarello (2009), entretanto, demonstrou mediante ensaio *in vitro* de indução de crescimento de fibroblastos, que o maior teor da aglicona carajurina é inversamente proporcional à ação cicatrizante.

Quadro 3 – Demonstração da velocidade de cicatrização de cada grupo. GC (grupo controle) GSS (grupo de aplicação do semissólido).

Dias	GC	GSS
1		
7		
14		
21		
28		

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, a partir de análises realizadas para a caracterização química dos extratos de acetato de etila e etanol de folhas de *Arrabidaea chica*, observamos a possível presença de compostos do grupo de flavonoides e antocianinas, que são conhecidos por suas diversas atividades biológicas como antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante, entre outros. Esses compostos são de interesse e essenciais para o presente estudo. Entretanto, se faz necessário mais análises para melhor precisão e identificação dos mesmos.

De acordo com a viabilidade observada do extrato em solvente Acetato de Etila e em Etanol, verificou-se que não somente ocorre processo de preservação dos fibroblastos, mas também um aumento dos mesmos. Nenhuma das amostras apresentou citotoxicidade nas concentrações testadas, assim como não há diferença significativa na quantidade de células nos diferentes tratamentos no ensaio de proliferação celular. A partir dos métodos e das condições empregadas neste estudo, os resultados permitiram concluir que o semissólido produzido com extrato de *Arrabidaea chica* apresentou um processo de cicatrização mais rápido que o grupo controle. Desse modo, infere-se que o extrato bruto de *A. chica* incorporado a uma base semissólida desempenhou potencial de cicatrização no tratamento de úlceras provocada em camundongos Swiss, sendo necessários mais estudos para identificação dos possíveis componentes que tem a finalidade de ativar a proliferação de fibroblastos no tecido lesado.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. S. M. **Caracterização farmacognóstica, química, físico-química e estudos preliminares de pré-formulação da Arrabidaea chica (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.** Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal do Pará. Pará, p.116, 2008.
- ALVES, M.S.M. et al. Análise farmacognóstica das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., Bignoniaceae. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.20, p.215-221, 2010.
- AMARAL, R.R. et al. Biological activities of *Arrabidaea chica* (Bonpl.) B. Verlot leaves. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.31, p.451-455, 2012.
- AMARAL, R. R. et al. Estudo fitoquímico e atividade antioxidante em extratos de folhas de *Arrabidaea chica*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29., Águas de Lindóia, 2006, Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/29ra/>>. Acesso em: 25/07/2021.
- BARBOSA, W.L.R., QUINARD, E. Projeto Integrado – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Relatório Final de Atividades. Belém – PA, 1998.
- BERLA, S. M. C. **Atividade inibitória in vitro de extratos de Arrabidaea chica (Verlot.) sobre Candida albicans.** Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade de Taubaté. São Paulo, p.64, 2008.
- BORRÁS, M.R.L. **Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas** – Plantas comercializadas no Mercado Municipal Adolpho Lisboa. Manaus: Ed. Valer, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. RENISUS – Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
- COLLINS, C.H. O Desenvolvimento da Cromatografia em Camada Delgada. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. **Scientia Chromatographica**. v.2, n.1, p.5-12, 2010.
- DEODHAR, A.K., RANA, R.E. Surgical Physiology of wound healing: a review. **Journal Postgrad Med**, v. 43, p. 52 – 56, 1997.
- DEVIA, B., et al. New 3-deoxyanthocyanidins from leaves of *Arrabidaea chica*. **Phytochemical Analysis**, v.13, p.114-1120, 2002.
- FIGUEIRA, G. M. et al. A set of microsatellite markers for *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae), a medical liana from the neotropics. **American Journal of Botany**, v.97, n.7, p. 63-64, 2010.
- GEMELLI, T. F. et al. Evaluation of Safety of *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoniaceae), a Plant with Healing Properties. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.78, n.18, p. 1170-1180, 2015.
- JORGE, M.P. et al. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.118, p.361-366, 2008.

JORGE, M. P. **Atividade cicatrizante do extrato bruto de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot.** 2008. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Faculdade de Ciências Médicas, Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP.

LOPES, B. R. P. et al. Quercetin pentaacetate inhibits in Vitro Human Respiratory Syncytial Virus adhesion. **Virus Research**, v.276, p.1-23, 197805, 2019.

MAGALHÃES, I. R. S. et al. Determination of Cu, Fe, Mn, and Zn in the Leaves and Tea of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) Verl. **Humana Press**, v. 132, p. 239-246, 2009.

MAFIOLETI, L. et al. Evaluation of the toxicity and antimicrobial activity of hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, I. 2, p.576-582, 2013.

MALDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MALDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares-Parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.5, p.525-40, 2003.

MARTENS, S., MITHOFER, A. A Flavones and flavone synthases, **Phytochemistry**, Oxon, v.66, p.2399-2407, 2005.

MAVIOSO, C. Noções básicas sobre feridas e cicatrização. 2003. Disponível em: <<http://www.gaif.net/artigos/feridasecicatriz.pdf>>. Acesso em: 30 de jul. 2019.

MEDEIROS, B. J. L. et al. Liver protective activity of a hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. and Bonpl.) B. Verl. (pariri). **Pharmacognosy Research**, v. 3, n. 2, p. 79-84, 2011.

MONTANHA, M. C. et al. Padronização de extratos obtidos das folhas da *Arrabidaea chica* para a produção de um fotoprotetor solar. In: XIX Encontro Annual de Iniciação Científica, 2010, Guarapuava –PR. **Anais...** Paraná: Unicentro, 2010, p.1-4.

PAULA, J. T.; LOSIANE, C. P.; FOGGIO, M. A.; SOUSA, I. M. O.; CABRAL, F. A. Extraction of anthocyanins from *Arrabidaea chica* in fixed bed using CO₂ and CO₂/ethanol/water mixtures as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.81, p. 33-41, 2013.

PAULETTI, P. M.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 641-643, 2003.

PAULETTI, P.M.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D.H.S.; YOUNG, M.C.M.; TOMAZELA, D.M.; EBERLIN, M.N.; BOLZANI, V.S. New antioxidant C-Glucosylxanthenes from stems of *Arrabidaea samydoides*. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1384-1387, 2003.

ROCHA, C. Q.; VILELA, F. C.; CAVALCANTE, G. P.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; SANTOS-E-SILVA, L.; SANTOS, M. H.; GIUSTI-PAIVA, A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 396-401, 2011.

SOUSA, I. M. O. Avaliação da estabilidade do extrato seco e formulações de bases semi sólidas, contendo *Arrabidaea chica* Verlot, para uso em cicatrização. 2013. 123 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/317644>>. Acesso em: 30 de jul. 2019.

SANDHAR, H.K., KUMAR, B., PRASHER, S., TIWARI, P., SALHAN, M., SHARMA, P. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1, n.1, p. 25 – 41, 2011.

SANTOS, R. L. et al. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica Aplicada**, v. 34, n. 2, 2008.

SCHIOZER, A.L, SILVA, J.C.T, PEREIRA, R., BARATA, L.E.S. Extrações de desoxiantocianidinas do Carajiru (*Arrabidaea chica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS. 2006, Salvador, 2006. **Anais**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais.

SCHIOZER, A. L. **Caracterização química, estudo da estabilidade e atividade biológica de extratos das folhas de *Arrabidaea chica* Verlot**. Dissertação (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, p.158, 2017.

SILVA-SILVA, J. V. et al. Antileishmanial Activity of Flavones-Rich Fraction From *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoniaceae). **Front. Pharmacol.**, v.12, 2021.

SOUSA, I.M.O. **Avaliação da estabilidade do extrato seco e formulações de bases semissólidas, contendo *Arrabidaea chica* (humb.&bonpl.) Verlot, para uso em cicatrização**. Dissertação. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2013.

TAFFARELLO, D. **Extratos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot obtidos por processos biotecnológicos: otimização da extração e avaliação farmacológica**. 2008. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós- graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

TAFFARELLO, D.; JORGE, M.P.; SOUSA, I.M.O.; DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G. M.; QUEIROZ, N. C. A.; RODRIGUES, R.A.F.; CARVALHO, J.E.; RUIZ, G. A.L. T.; FOGLIO, M. A. Atividade de Extratos de *Arrabidaea Chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot Obtidos por Processos Biotecnológicos sobre a Proliferação de Fibroblastos e Células Tumerais Humanas. **Química Nova**, v.36, n.3, p.431-436, 2013.

TIAN, J. et al. Inhibition of melanoma cell motility by the snakevenom disintegrin eristostatin. **Toxicon**, v.49, n.7, p.899-908, 2007.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.42, p.125-131, 2006.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas Mediciniais sob a ótica da Química Medicinal moderna**. Chapecó: Ed. Argos, parte II, cap. 8, p. 297-315, 2001.

ZORN, B.; GARCIA-PINERES, A.J.; CASTRO, V.; MURILLO, R.; MORA, G.; MERFORT, I. 3-Desoxyanthocianidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v.56, p831-835, 2001.