

Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado

***Schinus terebinthifolius* Raddi: estudo de revisão e análise do
potencial cicatrizante do extrato hidroalcoólico em lesão na
mucosa oral de ratos**

VANESSA ROMANO UCHOA

São Luís

2021

VANESSA ROMANO UCHOA

***Schinus terebinthifolius* Raddi: estudo de revisão e análise do potencial cicatrizante do extrato hidroalcoólico em lesão na mucosa oral de ratos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Luiz Amaral Pereira

São Luís

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Romano Uchoa, Vanessa.

Schinus terebinthifolius Raddi: estudo de revisão e análise do potencial cicatrizante do extrato hidroalcoólico em lesão na mucosa oral de ratos / Vanessa Romano Uchoa. - 2021.

153 f.

Orientador(a): Antonio Luiz Amaral Pereira.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

1. Aroeira. 2. Bioprospecção. 3. Cicatrização. 4. In silico. 5. Úlcera oral. I. Amaral Pereira, Antonio Luiz. II. Título.

VANESSA ROMANO UCHOA

***Schinus terebinthifolius* Raddi: estudo de revisão e análise do
potencial cicatrizante do extrato hidroalcoólico em lesão na mucosa
oral de ratos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Luiz Amaral Pereira (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Joicy Cortez de Sá Sousa
Universidade CEUMA

Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Denise Fernandes Coutinho
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Flávia Maria Mendonça do Amaral
Universidade Federal do Maranhão

“Agora, portanto, permanecem estas três coisas, a fé, a esperança e o amor, mas o amor é o maior”

(1 Coríntios 13, 13)

Aos amores mais puros de minha vida, Maria e Thobias, por me fazerem sentir o amor em sua essência de reciprocidade.

À minha amada mãe, Marlene (*in memoria*), por ser o maior exemplo do amor verdadeiro, aquele que nada espera em troca.

AGRADECIMENTOS

À *minha querida mãe*, Marlene (*in memoria*), por todo amor, doação, apoio incondicional na vida e na realização deste trabalho. Por ter sido meu porto seguro nas horas mais difíceis, quando ainda estava presente neste plano terreno e mesmo agora no plano espiritual, sei que sempre estás por perto, guiando meus passos junto a Deus e Nossa Senhora. Nunca serei capaz de agradecer o suficiente tudo que fizeste e continua fazendo por mim.

Aos *meus amados filhos*, Maria e Thobias, por serem minha força diária, meu aconchego, minha alegria de viver, pela compreensão nos momentos de minha ausência física e, principalmente, por todo amor que me fazem sentir e retribuem e que enche minha vida de sentido.

Ao *meu pai*, João, *minha irmã*, Valéria, por todo incentivo, por acreditarem que sou capaz de ir cada vez mais longe, por todo suporte independente do motivo pelo qual eu precise, por me fazerem sentir amada e especial. Ao *meu filho de coração*, Gael, por ter trazido luz num dos momentos mais difíceis de nossas vidas e por nos fazer acreditar que é possível seguir adiante, mesmo em meio a tanta dor, por ter sido nossa certeza que um novo amor nos faz renascer.

Aos *queridos professores* Antonio Luiz e Marilene, primeiramente por terem me acolhido como filha, por terem segurado minha mão a cada provação durante esses anos do doutorado, por não terem desistido de mim, pelas palavras de incentivo, por diversas vezes terem me feito sentir como se estivesse no colo de minha mãe e de meu pai, pelos ensinamentos acadêmicos e exemplo do tipo de profissional que decidi ser. Meu eterno obrigada!

Às *minhas amigas e parceiras dessa jornada*, Andressa e Ellen, sem vocês não teria conseguido chegar até aqui. Meu reconhecimento, carinho, amizade se perpetuarão por toda a minha vida. Espero de alguma forma contribuir com tudo que fizeram por mim e por nosso projeto, vocês foram essenciais nessa caminhada e desejo que possamos continuar juntas, nos apoiando na academia e na vida. Meus sinceros agradecimentos.

Às *queridas professoras* Flávia, Luciana, Débora e Cláudia, ao *professor* Saulo, por todas as sugestões e apoio em algumas etapas que envolveram este estudo. Tenham certeza que vocês contribuíram grandemente para melhoria desta tese.

Às *minhas tias* Jucy, Mara, Mércia, Amparo e Marlene, e aos *meus primos*, Gabriel e Isabelle, por todas as vibrações positivas, dedicação, apoio e amor. Meu muito obrigada.

Às *minhas amigas*, Patrícia e Mirtes, e ao *amigo* Luiz Fernando, por terem estado ao meu lado durante essa e outras jornadas, por não medirem esforços para me ajudar a levantar diante de algumas dificuldades pelas quais passei, serei eternamente grata a vocês.

Ao *meu ex marido*, Thiago, por ter me incentivado à realização do seletivo do doutorado e por ter me acompanhado durante os anos que antecederam e foram essenciais para realização deste e de outros sonhos. Temos uma ligação eterna e que nos ajuda a cada dia sermos seres humanos melhores.

Ao *meu primo* Wladimir, pelo apoio na etapa de tradução de meu trabalho. À *colega* Elaine, pela ajuda em algumas etapas dos experimentos laboratoriais desta tese, obrigada.

À *querida* Bárbara, por todo suporte no meu lar, com os meus filhos, na minha vida, você é fundamental para que todas as minhas demandas profissionais aconteçam. Obrigada pela confiança que me faz sentir.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo auxílio financeiro.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, pela oportunidade de realização do doutorado, em especial, ao Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes e Fátima, meu muito obrigada.

Enfim, a todos que me acompanharam e apoiaram durante o doutorado.

SUMÁRIO

1	Introdução.....	1
2	Referencial teórico.....	4
2.1	Lesão, inflamação e reparo.....	4
2.2	Ulceração aftosa recorrente.....	12
2.2.1	<i>Aspectos gerais.....</i>	12
2.2.2	<i>Terapia alternativa e complementar com ênfase em espécies vegetais para UAR.....</i>	15
2.3	Modelos experimentais de cicatrização de feridas.....	24
2.3.1	<i>Estudos experimentais sobre potencial cicatrizante de S. terebinthifolius.....</i>	31
3	Objetivos.....	34
3.1	Objetivo geral.....	34
3.2	Objetivos específicos.....	34
4	CAPÍTULO I – Artigo I.....	35
5	CAPÍTULO II – Artigo II.....	71
	Referências Bibliográficas.....	110
	ANEXOS.....	136

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AChE -	<i>Acetylcholinesterase</i>
Ai -	Área inicial da ferida
Af -	Área final da ferida
ANVISA -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEUA -	Comissão de Ética no Uso de Animais
DAMP -	<i>Damage Associated Molecular Pattern</i>
DL50 -	Dose Letal média
FCs -	Fatores de Crescimento
FDA -	<i>Food and Drug Administration</i>
HBD -	Número de doadores de hidrogênio
HPLC-MS -	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Espectrômetro de massa
HSV-1 -	Herpes Simples tipo 1
LLLT -	<i>Low-Level Laser Therapy</i>
MCA -	Medicina Complementar e Alternativa
nRotB -	Número de ligações rotacionáveis
OMS -	Organização Mundial de Saúde
PAMP -	<i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i>
PASS -	<i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>
Pa -	Probabilidade de um composto ser ativo
Pi -	Probabilidade de um composto ser inativo
P&D -	Pesquisa e Desenvolvimento
RENAME -	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RENISUS -	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema único de Saúde
SBCAL -	Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório
SPF -	<i>Protection fator</i>
TGF- β -	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
UAR -	Ulceração Aftosa Recorrente
UFMA -	Universidade Federal do Maranhão
MV -	Volume Molecular
WHR -	<i>Wound Healing Rate</i>

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Referencial Teórico

Tabela 1 - Características dos processos inflamatórios agudos e crônicos

Capítulo I

Table 1 - Ethnomedicinal use of *Schinus terebinthifolius* Raddi

Table 2 - Chemical composition of *Schinus terebinthifolius* Raddi

Table 3 - Pharmacological properties of *Schinus terebinthifolius* Raddi

Capítulo II

Tabela 1 - Caracterização química do extrato hidroalcoólico das cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi

Tabela 2 - Total de publicação científicas disponíveis na base de dados Pubmed, referente a combinação das palavras-chaves “nome do composto químico identificado no extrato da casca do caule de *Schinus terebinthifolius*” AND “wound healing” e “nome do composto químico identificado no extrato da casca do caule de *Schinus terebinthifolius*” AND “anti-inflammatory activity”, busca realizada em junho de 2019

Tabela 3 - Identificação in silico das atividades cicatrizante e/ou anti-inflamatória de vicenin 1 e astaxanthin

Tabela 4 - Estimativa in silico da permeabilidade oral, efeitos tóxicos e parâmetros farmacocinéticos de vicenin 1 e astaxanthin

Tabela 5 - Média e desvio padrão dos parâmetros histológicos no 3º dia de tratamento das lesões da mucosa oral de *Rattus norvegicus*

Tabela 6 - Média e desvio padrão dos parâmetros histológicos no 7º dia de tratamento das lesões da mucosa oral de *Rattus norvegicus*

Tabela 7 - Média e desvio padrão dos parâmetros histológicos no 14º dia de tratamento das lesões da mucosa oral de *Rattus norvegicus*

Quadro 1 - Classificação e atribuição dos índices aos achados histológicos

Quadro 2 - Inflamação de acordo com escore final de cada grupo

LISTA DE FIGURAS

Referencial Teórico

- Figura 1 -** Fenômenos da inflamação e sua relação com os sinais cardinais
- Figura 2 -** Representação esquemática da especificidade celular imunológica correlacionada temporalmente com as fases da cicatrização
- Figura 3 -** Ulceração aftosa menor
- Figura 4 -** Ulceração aftosa maior
- Figura 5 -** Ulceração aftosa herpetiforme

Capítulo I

- Figure 1 -** Collection and analysis of data flowchart

Capítulo II

- Figura 1 -** Cromatograma de HPLC dos compostos detectados no extrato hidroalcoólico obtido por maceração, proporção fármaco/solvente 1:3 (m/v) das cascas de *S. terebinthifolius* Raddi
- Figura 2 -** Imagens macroscópicas representativas das lesões na mucosa jugal em *Rattus novergicus* dos grupos G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* Raddi 2%) durante o processo de cicatrização.
- Figura 3 -** Avaliação da área da lesão da mucosa jugal em *Rattus novergicus*. A) Apresentação da área da lesão de cada grupo pelo tempo de tratamento; B) Média e desvio padrão da área da lesão e valor de p. G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* 2%)
- Figura 4 -** Avaliação da taxa de contração da lesão da mucosa jugal em *Rattus novergicus*. A) Apresentação da taxa de contração da ferida de cada grupo pelo tempo de tratamento; B) Média e desvio padrão da taxa de contração da

lesão e valor de p. G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* 2%)

Figura 5 - Análises histológicas das lesões da mucosa jugal em *Rattus novergicus* dos grupos G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* 2%) durante o processo de cicatrização. Coloração por hematoxilina e eosina (H&E), ampliação de 100x

Figura 6 - Avaliação das médias dos escores histológicos das lesões da mucosa jugal em *Rattus novergicus*. Escores histológicos de cada animal: A) no tempo de 3 dias; B) no tempo de 7 dias; C) no tempo de 14 dias. D) Média e desvio padrão e valor de p por grupo: G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* 2%)

RESUMO

Dentre diversas doenças inflamatórias, ressalta-se a ulceração aftosa recorrente, que consiste em lesões na cavidade oral, comumente observada na população, cuja terapêutica é baseada principalmente em medicamentos sintéticos tópicos das classes dos corticosteroides, antissépticos, analgésicos e antibióticos. Se faz importante investir em pesquisas, que visem à descoberta de medicamentos para o tratamento de úlceras orais, com menos efeitos colaterais e custos-benefícios mais vantajosos do que as terapêuticas vigentes. A espécie vegetal *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) conhecida, no Brasil, como aroeira possui amplo espectro de atividades biológicas, destacando-se entre essas, atividades cicatrizante e anti-inflamatória. Este trabalho teve como objetivos realizar estudo de revisão de literatura sobre *S. terebinthifolius*, caracterizar os constituintes químicos do extrato hidroalcoólico da casca do caule da aroeira e, por fim, avaliar sua atividade cicatrizante em lesões da mucosa oral de ratos. Na revisão de literatura sobre *S. terebinthifolius* foram reportados dados sobre aspectos etnomedicinais, perfil fitoquímico e farmacológico deste vegetal. A pesquisa foi realizada nas bases de dados Science Direct, PubMed e Scielo, utilizando os descritores *Schinus terebinthifolius*, morfologia da planta, ecologia, planta medicinal, medicina tradicional, composição química e atividade farmacológica. Do total de 963 artigos encontrados, 64 compuseram a revisão. Essa espécie é empregada na medicina tradicional como anti-inflamatória, cicatrizante e no tratamento de úlceras e infecções. Foi demonstrado que seu perfil fitoquímico é constituído, em especial, por flavonoides e óleos essenciais. Vários ensaios *in vivo* confirmaram propriedades farmacológicas promissoras, tais como efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes. Enfatiza-se a necessidade de estudos que tenham como objetivo principal duas vertentes, a descrição etnomedicinal e a bioprospecção de *S. terebinthifolius*. Para o estudo de avaliação do efeito cicatrizante do extrato hidroalcoólico da casca do caule da aroeira, o material vegetal foi coletado no município de Chapadinha, estado do Maranhão, Brasil (3°42'44"S; 43°30'40"W), realizou-se classificação taxonômica, identificação dos compostos químicos por HPLC-MS e análise *in silico*. Logo após, seguiu-se com a etapa *in vivo*, onde foram utilizados 41 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), distribuídos em três grupos aleatoriamente: G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de aroeira 2%), os quais foram divididos em três subgrupos de acordo com o tempo de tratamento (3, 7 e 14 dias). Todos foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico de acordo com técnica padronizada para indução da lesão na mucosa oral de ratos e tratados de forma tópica, por via oral, a cada 24h. Os parâmetros avaliados foram: área da lesão, alterações macroscópicas e análise histopatológica. Foram identificados 14 compostos químicos, destes, vicenina 1 e astaxantina foram avaliados por ensaios *in silico*. A análise das prováveis atividades biológicas de vicenina 1 revelou probabilidade > 30% ($P_a > 0,3$) de apresentar 224 atividades, destas 15 eram cicatrizante e/ou anti-inflamatória e, astaxanthin, apresentou 259 atividades, das quais 20 eram cicatrizante e/ou anti-inflamatória. A etapa *in vivo* mostrou que aos 14 dias, a média da área da lesão (mm²) foi de $1,5 \pm 1,4$ para G1, $1,3 \pm 1,02$ para G2 e $0,9 \pm 0,85$ para G3, bem como a média do grau de contração apresentou valores de 98,6% para G1, 98,4% para G2 e 98,9% para G3. Quanto a análise histológica, foi possível evidenciar a seguinte relação, no que concerne o processo de cicatrização de feridas na mucosa oral de ratos abordado neste estudo, $G3 > G2 > G1$. Os resultados evidenciaram, que aroeira é uma espécie vegetal promissora para o tratamento de lesões orais, favorecendo o processo de cicatrização de feridas da mucosa oral de ratos, embora não tenha sido verificada diferenças estatísticas entre os grupos experimentais.

Palavra-chave: Aroeira; bioprospecção; cicatrização; *in silico*; úlcera oral.

ABSTRACT

As part of several inflammatory diseases, the recurrent aphthous ulceration stands out, which presents itself as lesions inside the oral cavity, being treated with topical corticosteroids, analgesic, and local antibiotics. The development of new treatments for such lesions, presenting less side effects and better costly ratio than the traditional allopathic approach is of paramount importance. The plant species *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), also known in Brazil as aroeira, has demonstrated a wide range of biological activities, being described among those, remarkable healing and anti-inflammatory properties. This assay was aimed to review the literature concerning *S. terebinthifolius*, describe and predict the biological effects from the peel of Aroeira stem's hydro alcoholic extract chemical components, and thus, evaluating its healing effects on the oral injuries of rats. On this literature review, data about the ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological profile aspects are reported. The research was carried out in Science Direct, PubMed and Scielo databases, using the descriptors *Schinus terebinthifolius*, plant morphology, ecology, medicinal plant, traditional medicine, chemical composition and pharmacological activity. Of the total of 963 articles found, 64 composed the review. This plant species has been widely used on traditional medicine as anti inflammatory, healing and for treatment of ulcers and infections. Its phytochemical profile has been proved to be composed specially by flavonoids and essential oils. *In vivo* several assays have confirmed promising pharmacological properties, such as anti inflammatory, antimicrobial and antioxidant effects. It has been pointed out the need of studies which aim two main streams: the ethnomedicinal characteristics and the *S. terebinthifolius* bioprospecting. For the assay on the healing effects evaluation of the Aroeira stem peel hydro alcoholic extract, the plant samples were collected at município de Chapadinha, estado do Maranhão, Brazil (3°42'44"S; 43°30'40"W), then these samples went through taxonomic classification, chemical analysis through HPLC-MS and *in silico* analysis of some chemical components. Following this, the *in vivo* stage was initiated, which used 41 rats, randomly distributed under 3 groups: G1 (saline solution 0,9%), G2 (chlorhexidine gluconate 0,12%), and G3 (*S. terebinthifolius* hydro alcoholic extract 2%); subsequently, these groups were rearranged according to the treatment duration (3, 7 and 14 days). All of the subjects were submitted to the same surgical procedure: a standardized provoked injury on their oral mucosa and treated topically, orally, every 24h. The evaluated parameters were as follows: macroscopic and microscopic changes (histopathological analysis). 14 chemical components were identified, of which, Vicenin 1 and astaxanthin were studied *in silico*. The results revealed that Vicenin 1 presents > 30% ($P > 0,3$) probability to have 224 activities, being 15 of those of healing and/or anti inflammatory effect. On the other hand, Astaxanthin revealed 259 properties, so that 20 of those were healing and /or anti inflammatory. The *in vivo* step showed that at 14 days, the mean lesion area (mm²) was 1.5 ± 1.4 for G1, 1.3 ± 1.02 for G2 and 0.9 ± 0.85 for G3, as well as the mean of the degree of contraction presented values of 98.6% for G1, 98.4% for G2 and 98.9% for G3, suggesting that in this period the repair of the lesion was already reestablished. As for the histological analysis, it was possible to evidence the following relationship, regarding the wound healing process in the oral mucosa of rats addressed in this study, $G3 > G2 > G1$. The results showed that aroeira is a promising plant species for the treatment of oral lesions. The hydroalcoholic extract of aroeira favored the wound healing process in the oral mucosa of rats, although no statistical differences were found between the experimental groups,

Keyword: Aroeira; bioprection; healing; *in silico*; oral ulcer.

1 Introdução

Algumas patologias, por apresentarem etiologia indefinida ou de difícil identificação, mostram-se desafiantes no que concerne ao tratamento farmacológico. Inclui-se nesse grupo a ulceração aftosa recorrente (UAR), uma das doenças mais comuns da cavidade oral, que acomete cerca de 25% da população geral (ŚLEBIODA et al., 2014). Os tratamentos disponíveis são para aliviar sintomas, acelerar a cicatrização e reduzir a frequência das lesões (AKINTOYE; GREENBERG, 2014).

A terapêutica para lesão aftosa recorrente é significativamente importante, já que esta é uma doença que interfere na qualidade de vida das pessoas, pois o paciente é acometido por dor e alteração das funções orais, tais como comer, deglutir e falar (SAMET et al., 2007). Em geral, o tratamento de doenças da cavidade oral ainda é um dilema. A severidade das lesões e seus efeitos devem ser avaliados e a terapêutica deve ser adaptada ao padrão de cada paciente (VIVEK; BINDU, 2011).

Várias alternativas de tratamento são empregadas, desde medicamentos sintéticos, homeopáticos e/ou produtos naturais (COSTA; CASTRO, 2013), administrados de forma tópica ou sistêmica. Comumente, os agentes tópicos são preferíveis por terem poucos efeitos adversos e menor chance de interações medicamentosas (HAMISHEHKAR et al., 2015; NAKAMURA et al., 2020). Além disso, a busca por terapias mais promissoras tem conduzido à realização de estudos com diversas espécies vegetais e alguns já apresentaram resultados clínicos significantes (ARMAS et al., 2005; MOGHADAMNIA et al., 2009; POURAHMAD et al., 2010; LIU et al., 2012; DESHMUKH; BAGEWADI, 2014).

De fato, os produtos naturais, com destaque para os de origem vegetal, apresentam um importante papel na descoberta de novas substâncias terapêuticas. Mais da metade de todos os medicamentos de pequenas moléculas, aprovados de 1981 a 2014 pelo *Food and Drug Administration* (FDA), se originaram de fontes naturais, incluindo compostos naturais inalterados, derivados quimicamente modificados e naturais sintéticos, miméticos derivados de um modelo de produto natural ou farmacóforo (NEWMAN; CRAGG, 2016; HIDALGO et al., 2018).

Os ensaios experimentais que tomam por base o conhecimento, como abordagens etnofarmacológica, filogenética, ecológica e computacional, funcionam como estratégias alternativas aos testes aleatórios, que sofrem intrinsecamente uma baixa taxa de acerto. A

abordagem clássica baseada no conhecimento é a abordagem etnofarmacológica, onde as espécies vegetais, utilizadas em práticas populares, constitui a base para a seleção do material de teste e do ensaio farmacológico, podendo ser aplicadas para aumentar a probabilidade de identificação de bioativos de plantas relevantes (ATANASOV et al., 2015).

A etnofarmacologia envolve a observação, descrição, investigação experimental e validação biológica de plantas tradicionalmente usadas e suas bioatividades. Apresenta-se como uma ferramenta dependente de características cognitivas, fatores ecológicos e história cultural (LEONTI, 2011). Todos esses fatores convergem para escolha do material vegetal candidato a ensaios biológicos. Tais ensaios influenciam diretamente no sucesso da descoberta de medicamentos a partir de plantas. Assim, a escolha dos bioensaios, determinada pelos objetivos do estudo, deve combinar de forma otimizada a simplicidade com boa sensibilidade e reprodutibilidade (ATANASOV et al., 2015).

Schinus terebinthifolius Raddi (aroeira), cujo sinonímia é *Schinus terebinthifolia*, é uma espécie vegetal amplamente distribuída na região nordeste do Brasil, que tem ganhado destaque, dentre outras, por suas propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes (NUNES JR et al., 2006; RIBAS et al., 2006; SANTOS et al., 2006; MARTORELLI et al., 2011; SCHEIBE et al., 2016). Enfatiza-se a aroeira como uma planta medicinal, que faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENISUS) e da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) do Ministério da Saúde do Brasil (TORRES et al., 2016; BRASIL, 2020) e que apresenta potencial para o tratamento de úlceras da cavidade oral, visto que essa espécie é amplamente empregada na medicina tradicional para o tratamento de várias patologias (LORENZI; MATOS, 2008; ESTEVÃO et al., 2015), inclusive para aftas (VIEIRA et al., 2014a) e também por ser uma planta já validada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para tratamento de infecções e inflamações da cavidade vaginal, com medicamentos industrializados registrados (KRONEL, 2018).

Aliado a isso, a problemática do tratamento das ulcerações aftosas recorrentes, nos faz refletir sobre o potencial terapêutico de *S. terebinthifolius* Raddi frente a essas manifestações clínicas. Considera-se que vale a pena investir em pesquisas que visem à descoberta de medicamentos com menos efeitos colaterais e custos-benefícios mais vantajosos do que os tratamentos vigentes (corticosteroides, antissépticos, analgésicos e antibióticos) e que, além de tudo, possam agregar valor à comunidade local. Muitas pesquisas sobre o potencial cicatrizante de *S. terebinthifolius* Raddi já foram realizadas. Contudo, foi verificado na literatura científica

apenas um estudo sobre o potencial cicatrizante dessa espécie na cavidade oral (RIBAS et al., 2006). Dessa forma, o presente estudo, realizado com o objetivo de colaborar com o conhecimento desta espécie vegetal, encontra-se organizado da seguinte maneira:

CAPÍTULO I: Trata-se de uma revisão de literatura sobre os aspectos etnomedicinais, fitoquímico e farmacológico de *S. terebinthifolius* Raddi, que será submetida a revista Plant Biology.

CAPÍTULO II: Apresenta os resultados dos estudos químicos, *in silico* e avaliação da atividade cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* Raddi em lesões na mucosa oral de ratos, que será submetido à revista BMC Complementary and Alternative Medicine.

2 Referencial teórico

2.1 Lesão, inflamação e reparo

Lesão ou processo patológico é o conjunto de alterações morfológicas, moleculares e/ou funcionais que surgem nas células e tecidos após agressões (PEREIRA, 2013a). Um processo de doença apresenta, de forma básica e geral, os seguintes aspectos que podem auxiliar na sua possível compreensão: sua causa (etiologia), os mecanismos bioquímicos e moleculares do seu desenvolvimento (patogenia ou patogênese), as alterações estruturais provocadas nas células e órgãos do corpo (alterações morfológicas) e as consequências funcionais dessas alterações (manifestações clínicas) (KUMAR et al., 2016).

As causas (agressões) das lesões e doenças são qualquer estímulo da natureza, dependendo da sua intensidade, do tempo de atuação e da capacidade de reação do organismo (que envolve também o patrimônio genético) (PEREIRA, 2013a). As agressões, de modo muito resumido, podem ocorrer como consequência de fatores exógenos e/ou endógeno. As causas exógenas são representadas por agentes físicos (SULZBACHER; FONTANA, 2013), químicos (BRASIL, 2020) e biológicos (PEREIRA, 2013b) e por desequilíbrios nutricionais (ALVAREZ-LEITE et al., 2013); as endógenas associam-se ao patrimônio genético, os mecanismos de defesa e os fatores emocionais. Contudo, nem toda lesão ou doença tem causa conhecida (PEREIRA, 2013b; KUMAR et al., 2016).

Os mecanismos pelos quais as agressões atuam causando lesões e/ou doenças (patogenia) são bastante variados, entre esses os mais relevantes são: hipóxia e anóxia celular (MIRANDA et al., 2004; ADSTAMONGKONKUL; HESS, 2017; LACERTE; MESFIN, 2019; MESSINA; MILLS, 2019), radicais livres (FAINSTEIN, 2008; MARTINS DA SILVA et al., 2011; MIYATA et al., 2019), reação imunitária (CRUVINEL et al., 2010; TORRES; FILIPE, 2014), anormalidades na expressão gênica (ZAGO; PINTO, 2007; LOPES-CENDES; RIBEIRO, 2013) e ação sobre enzimas, inibindo processos vitais das células (PEREIRA, 2013b).

O organismo, quando exposto a agentes agressores que acarretam lesões ou processos patológicos, manifestam nas células e tecidos alterações morfológicas, moleculares e/ou funcionais (PEREIRA, 2013a). As alterações morfológicas estão relacionadas tanto a alterações anatômicas macroscópicas quanto microscópicas, características de uma doença (PORTH,

2010). As alterações moleculares consistem em alterações genéticas e bioquímicas e, as anormalidades funcionais ocorrem devido alterações das funções de células, tecidos, órgãos ou sistemas (PEREIRA, 2013a; KUMAR et al., 2016).

Como resultado das alterações moleculares, estruturais e funcionais há manifestações clínicas (sinais e sintomas), bem como a progressão (curso clínico e consequências) das doenças (KUMAR et al., 2016). Assim, as doenças surgem e evoluem de maneira muito variada e de forma dependente de fatores extrínsecos (relacionados ao próprio organismo) ou intrínsecos a ela (associadas ao agente lesivo), tendo como consequência a evolução para cura ou cronicidade (PEREIRA, 2013a).

Se faz importante ressaltar que dentre os eventos que ocorrem diante de uma agressão patológica, a inflamação é algo indispensável de ser abordada. Sua relevância está no papel que desempenha, cujo o propósito básico é eliminar a lesão patogênica e remover os componentes do tecido lesado (MURPHY; WARD, 2006). Consiste no recrutamento de células e moléculas de defesa do hospedeiro da circulação para os locais onde são necessários, com a finalidade, já mencionada, de eliminar os agentes agressores (KUMAR et al., 2016).

A reação inflamatória e a resposta imunitária são indissociáveis e, embora a inflamação faça parte dos mecanismos defensivos contra grande número de agressões, em muitos casos ela própria pode causar danos ao corpo (PEREIRA, 2013c). Contudo, seu objetivo principal é livrar o organismo tanto da causa inicial da lesão celular quanto das respectivas consequências (KUMAR et al., 2016).

A reação inflamatória é conhecida há muito tempo, entre 42 a.C. e 37 d.C. por Cornelius Celsus, que descreveu os 4 sinais cardeais da inflamação "*Signa inflammationis quatuor sunt: Rubor et Tumor, cum Calor et Dolor*", que se traduzem em rubor, tumor, calor e dor, redescobertos em 1443 pelo Papa Nicolas V (Figura 1) (SILVERSTEIN, 1979; SILVERSTEIN; BIALASIEWICZ, 1980; SILVERSTEIN et al., 1981).

O processo inflamatório consiste numa resposta adaptativa, dinâmica e constituído por diversas fases evolutivas, inter-relacionadas entre si, dependendo uma da outra (DOUGLAS, 2000). Qualquer que seja sua causa, a reação inflamatória envolve uma série de eventos que se iniciam com o reconhecimento da agressão por meio de moléculas sinalizadoras, após o reconhecimento por receptores de células do sistema imunitário são liberados os mediadores inflamatórios que resultam em modificações na microcirculação e em estímulos para reparar os danos produzidos (BRANDT et al., 2007; PEREIRA, 2013c).

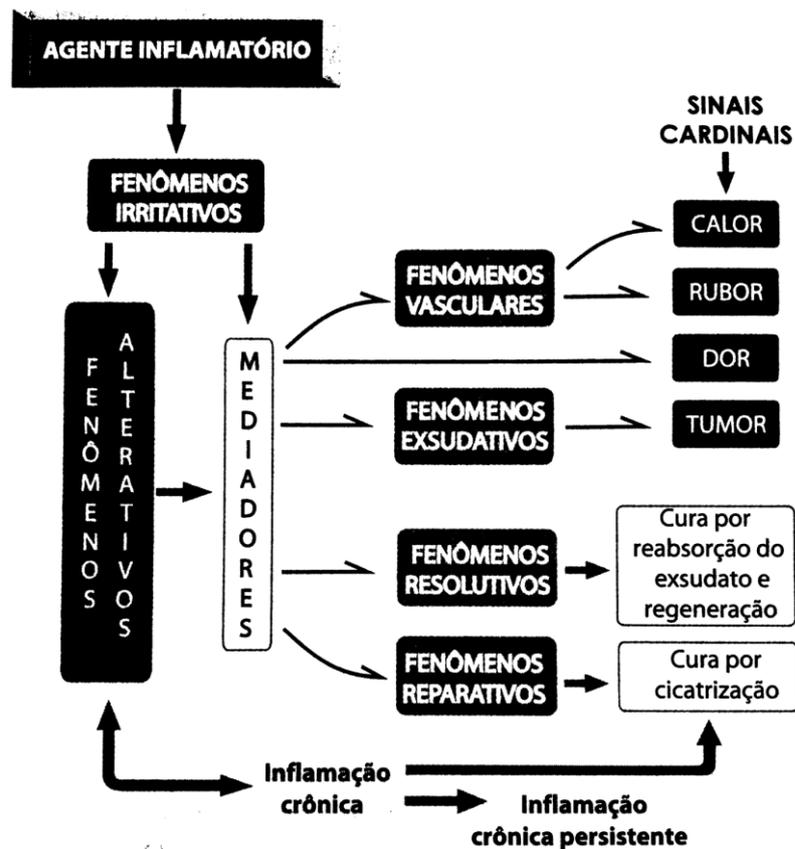


Figura 1. Fenômenos da inflamação e sua relação com os sinais cardinais (PEREIRA, 2013c)

Pode-se considerar a inflamação como uma resposta estereotipada dos tecidos sob a ação de estímulos nocivo (agentes flogogênicos). É uma resposta tissular que ocorre basicamente no tecido conjuntivo (fenômeno mesenquimático) com a participação dos seguintes componentes: células (mastócitos, fibroblastos, macrófagos e células leucocitárias fagocitárias provenientes do sangue), fibras e a substância amorfa (parte não celular do tecido conjuntivo) e vasos sanguíneos (DOUGLAS, 2000; ROCHA JÚNIOR et al., 2006).

Considerando as etapas e tecido alvo do processo inflamatório, se torna possível compreender os mecanismos envolvidos na reação flogística frente às lesões patológicas. O agente lesivo tem capacidade de interferir sobre determinadas células-alvo através de moléculas trazidas por ele próprio, *pathogen associated molecular pattern* (PAMP), ou geradas por ação em componentes do organismo, *damage associated molecular pattern* (DAMP). O conjunto de

PAMP e DAMP é denominado alarminas, moléculas de alarme ou moléculas sinalizadoras de agressão (TSUNG et al., 2014; NERY et al., 2015; MIRÓ et al., 2017).

Agressões aos tecidos pode também gerar produtos de quebra ou despolimerização de macromoléculas da matriz extracelular, como fragmentos de ácido hialurônico, sulfato de dermatano, sulfato de heparano, fibronectina, fibrinogênio e biglicano; ou liberar mediadores associados a moléculas da matriz, como exemplo algumas citocinas (PEREIRA et al., 2013c)

O reconhecimento de agentes agressores é o primeiro passo em todas as reações inflamatórias. Vários receptores celulares a proteínas circulatórias são capazes de reconhecer microrganismos (PAMP) e, produtos de dano celular (DAMP); provocando assim, a inflamação. Células epiteliais, macrófagos do tecido e células dendríticas, leucócitos e outras células expressam receptores de reconhecimento (PEREIRA, 2013c; KUMAR et al., 2016).

Os mediadores da resposta inflamatória são variados e derivam de precursores plasmáticos e celulares, podendo ser classificados de acordo com suas propriedades bioquímicas em: aminas vasoativas, peptídeos vasoativos, produtos de clivagem do sistema complemento, mediadores lipídicos, citocinas, quimiocinas e enzimas proteolíticas (CRUVINEL et al., 2010).

Mediadores inflamatórios específicos produzidos no local da lesão regulam a resposta vascular à lesão. Destacam-se as moléculas vasoativas que atuam diretamente sobre a vasculatura para aumentar a permeabilidade vascular. Associado à dilatação de vasos da microcirculação cita-se também o aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular, com extravasamento de líquido plasmático e formação de edema, diapedese de células para o meio extravascular, fagocitose, aumento da viscosidade do sangue e diminuição do fluxo sanguíneo, podendo ocorrer até uma estase (MURPHY; WARD, 2006). Embora independentes, em geral a exsudação plasmática precede a exsudação celular; a predominância de uma ou outra varia de acordo com os mediadores liberados. A exsudação de leucócitos é o elemento morfológico mais característico das inflamações (CRUVINEL et al., 2010).

Uma vez desenvolvida a reação inicial à injúria, a extensão da lesão local dependerá da intensidade, natureza e duração do estímulo lesivo. Assim, se este for de curta duração, ou rapidamente anulado pelos mecanismos de defesa do organismo, as alterações inflamatórias sofrerão rápida resolução ou deixarão tecido cicatricial na área lesada. Entretanto, se os estímulos nocivos forem de duração mais longa, a injúria tissular poderá continuar além do período necessário para o desenvolvimento completo dos estágios iniciais do processo

inflamatório. Dessa forma, a inflamação é dividida nos padrões agudo e crônico, segundo a idade, duração ou tempo de evolução do processo (MURPHY; WARD, 2006).

A inflamação aguda é de curta duração, de alguns minutos ou horas ou um a dois dias, e suas principais características são a exsudação de fluidos e proteínas do plasma e emigração predominantemente de neutrófilos e macrófagos. Qualquer que seja a natureza do agente injuriante, a inflamação aguda é mais ou menos estereotipada ou uniforme (Tabela 1) (MURPHY; WARD, 2006; KUMAR et al., 2016).

Na inflamação crônica, em geral ocasionada por persistência do estímulo nóxico, o processo inflamatório se mantém e sofre alterações qualitativas, o tecido apresenta caracteristicamente um infiltrado constituído por células mononucleares, sinais de angiogênese e fibrose. Esta, de duração mais longa, é associada histologicamente com a presença de linfócitos e macrófagos e com a proliferação de vasos sanguíneos (neoangiogênese) e do tecido conjuntivo (fibroplasia) (Tabela 1) (CRUVINEL et al., 2010).

Tabela 1. Características dos processos inflamatórios agudos e crônicos

	Inflamação	
	Aguda	Crônica
<i>Agente causal</i>	Patógenos orgânicos, ionizante, agentes mecânico	radiação, trauma
<i>Células envolvidas</i>	Neutrófilos, monócitos, mastócitos	macrófagos, Macrófagos, linfócitos, fibroblastos
<i>Mediadores primários</i>	Aminas vasoativas, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio	eicosanoides, reativas de IFN- γ , citocinas, fatores de crescimento, enzimas hidrolíticas
<i>Início</i>	Imediato	Tardio
<i>Duração</i>	Poucos dias	Meses ou anos
<i>Evolução</i>	Cicatrização com restituição <i>ad integrum</i> , formação de abscesso ou cronificação	Destruição tecidual e fibrose

Fonte: (CRUVINEL et al., 2010)

Uma inflamação pode provocar degenerações ou necrose, que devem ser reparadas por regeneração ou por cicatrização. Quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento liberados pelos tecidos inflamados, em especial pelas células do exsudato, orquestram os fenômenos de reparação e resolução (PEREIRA et al., 2013c).

O reparo, algumas vezes chamado de cura, refere-se à restauração da arquitetura e da função dos tecidos após a lesão. É um estado dinâmico que compreende diferentes processos, entre eles, inflamação, proliferação celular e síntese de elementos que constituem a matriz extracelular, como colágeno, elastina e fibras reticulares. O reparo de tecidos lesados ocorre por meio de dois tipos de reação: regeneração através da proliferação de células residuais (não lesadas) e da maturação das células-troncos teciduais, e deposição de tecido conjuntivo para formar uma cicatriz (ROCHA JÚNIOR et al., 2006; KUMAR et al., 2016).

Na regeneração, o tecido morto é substituído por outro morfofuncionalmente idêntico; na cicatrização, um tecido neoformado, originado do estroma, substitui o tecido perdido (PEREIRA, 2013d). A cicatrização de feridas é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportem de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração. Tem sido convenientemente dividido em três fases que se sobrepõem de forma contínua e temporal: inflamatória, proliferativa e de remodelação tissular (Figura 2) (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Na fase inflamatória, a agregação plaquetária e a coagulação sanguínea geram um tampão, rico em fibrina, que além de restabelecer a hemostasia e formar uma barreira contra a invasão de microrganismos, organiza matriz provisória necessária para a migração celular de fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009). As plaquetas secretam fatores de crescimento (FCs), citocinas e elementos da matriz extracelular. O coágulo formado atua na coaptação das bordas da ferida, minimizando a perda de sangue e fluidos, protegendo o organismo contra penetração de agentes exógenos e disponibilizando uma matriz provisória para o início da organização da ferida (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

É ainda na fase inflamatória da cicatrização que se verifica, além de inúmeros mediadores químicos, a presença de células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Após a saída das plaquetas de dentro do leito vascular, neutrófilos e monócitos, em resposta aos agentes quimiotáticos, migram em direção ao leito da ferida. Além da função de fagocitose, essas células inflamatórias produzem fatores de crescimento, que preparam a ferida para a fase proliferativa, quando fibroblastos e células endoteliais também serão recrutados (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

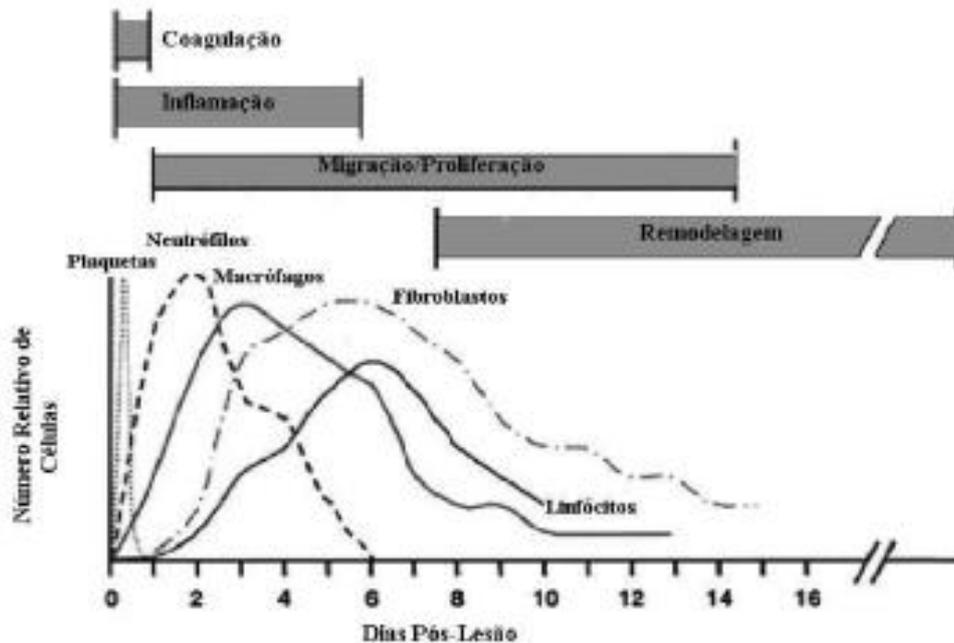


Figura 2. Representação esquemática da especificidade celular imunológica correlacionada temporalmente com as fases da cicatrização

Fonte: MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009

A proliferação é a fase responsável pelo fechamento da lesão propriamente dito. Compreende a reepitelização, fibroplasia e angiogênese (tecido de granulação). Na reepitelização, há a migração de queratinócitos não danificados das bordas da ferida e dos anexos epiteliais. Fatores de crescimento são os prováveis responsáveis pelos aumentos das mitoses e hiperplasia do epitélio. A fibroplasia e formação da nova matriz extracelular são extremamente importantes na formação do tecido de granulação. Este corresponde à coleção de elementos celulares, incluindo fibroblastos, células inflamatórias e componentes neovasculares e da matriz, como a fibronectina, as glicosaminoglicanas e o colágeno. A última fase da proliferação é a angiogênese, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes necessários ao metabolismo celular local para o processo de cicatrização (MANDELBAUM et al., 2003; MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

A fase de remodelação é a última fase de cicatrização, ocorre alterações na matriz extracelular, com o depósito de proteoglicanas e colágeno; dura meses e é responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema. Os elementos

reparativos da cicatrização são transformados para tecido maduro de características bem diferenciadas. A intensidade fenotípica, observada nas cicatrizes, reflete a intensidade dos fenômenos que ocorreram, bem como o grau de equilíbrio ou desequilíbrio entre eles (GABBIANI et al., 1972; OLIVEIRA; DIAS, 2012). Com o decorrer do processo de maturação e remodelação, a maioria dos vasos, fibroblastos e células inflamatórias desaparece do local da ferida mediante processos de emigração, apoptose ou outros mecanismos desconhecidos de morte celular e, além disso, há acentuada deposição de colágeno, formando finalmente o tecido cicatricial (BALBINO et al., 2005).

Várias são as doenças que interferem negativamente no processo de reparo tecidual, como diabetes, esclerose sistêmica, anemia, desnutrição, entre outras. Muitas também são as condições que tornam esse processo de difícil resolução, impedindo ou retardando a completa restauração dos tecidos (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO et al., 2009). Há situações onde a cura ocorre, mas de forma desorganizada (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Dentre os fatores locais, a infecção é a causa mais importante do retardo da cicatrização. O fluxo de sangue deficiente para a ferida aumenta o risco de infecção, retardando a taxa de cura (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005). Além disso, reduz a perfusão tecidual, aumentando a hipóxia, interferindo no metabolismo e no crescimento celular, prejudicando a cicatrização. Já os fatores sistêmicos, que dificultam a cicatrização, incluem estado nutricional, hipovolemia, hipotensão, hipóxia, hipotermia, infecção, trauma e uso de medicamentos anti-inflamatórios (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Tem sido verificado nas últimas décadas, grandes avanços na compreensão dos processos e fenômenos envolvidos nas diversas fases da reparação tissular e simultaneamente muito se tem investido em pesquisa e desenvolvimento de recursos e tecnologias com o objetivo de favorecer esses processos. Muito há que se pesquisar nesse campo não só para aperfeiçoar os recursos curativos existentes, como para torná-los acessíveis a maior número de pessoas, mediante o desenvolvimento de tecnologias mais simples e baratas, igualmente eficientes, que se aproveitem de matérias-primas encontradas em regiões menos desenvolvidas (MANDELBAUM et al., 2003; MENDONÇA; COUTINHO-NETTO et al., 2009)

2.2 Ulceração aftosa recorrente

2.2.1 Aspectos gerais

A ulceração aftosa recorrente (UAR) é uma afecção crônica da mucosa oral, de ocorrência comum e se caracteriza pelo aparecimento de lesões ulcerativas em qualquer região da mucosa jugal (ALTENBURG et al., 2014). A palavra “aftoso”, descrita pela primeira vez por Hipócrates em 400 a.C., origina-se da palavra grega "aphtha", significando uma úlcera de superfície da mucosa (SCHEMEL-SUÁREZ et al., 2015). A UAR apresenta como sinônimos "úlceras orais recorrentes" e "estomatite aftosa recorrente" (CUI et al., 2016).

A UAR tem incidência que varia de 5 a 66% da população, dependendo do grupo estudado. Estima-se que 20% da população em geral sofrerá de UAR em alguma época de sua vida (BRATEL; HAKEBERG, 2014; RUAN et al., 2018; CHIANG et al., 2019). A faixa etária mais acometida é a segunda década de vida e há uma ligeira predileção pelo gênero feminino. A prevalência tende a ser maior em profissionais e pessoas de grupos socioeconômicos mais elevados (ALTENBURG et al., 2014; ŚLEBIODA et al., 2014; CUI et al., 2016; SOUZA et al., 2017).

As estomatites aftosas recorrentes podem assumir três formas de apresentação: menores, maiores e herpetiformes (QUEIROZ et al., 2018). As diferenças são essencialmente clínicas e correspondem ao grau de severidade. Todas são consideradas como parte do mesmo espectro da doença, acreditando-se que tenham uma etiologia comum. Essas lesões apresentam-se como úlceras recidivantes dolorosas, que algumas vezes apresentam sintomas prodrômicos de formigamento ou ardência antes do aparecimento das lesões, podendo variar em tamanho, quantidade e localização. As úlceras não são precedidas por vesículas (ALTENBURG et al., 2014; ŚLEBIODA et al., 2014; TARAKJI et al., 2015).

A forma aftosa menor é a variedade mais comum, ocorre em aproximadamente 80% dos casos de UAR. São de forma circular, rasas, atingem 3 a 10 milímetros de diâmetro. Podem apresentar uma pseudomembrana branco acinzentada bordada por um halo eritematoso. Ocorre na mucosa labial e jugal, no assoalho da boca e raramente atinge a gengiva, o palato ou o dorso da língua. A sua evolução geralmente é para a cura espontânea num período que pode variar de 10 a 14 dias, sem deixar cicatriz (Figura 3) (ROGER III, 1977; CHIANG et al., 2019).

As UARs maiores, também conhecidas como periadenite mucosa necrótica recorrente ou doença de Sutton, perfazem cerca de 10% dos pacientes. Essas lesões são similares em aparência às menores, porém são maiores que 1 cm de diâmetro. Têm predileção pela mucosa labial e jugal, palato mole, assoalho da boca e fauces, mas qualquer região pode ser afetada (QUEIROZ et al.; 2018; NATAH et al., 2004; SCULLY; PORTER, 1991). As lesões são mais profundas, dolorosas e duram mais tempo que as menores, podendo levar até 6 semanas para regredir e, diferentemente das menores, geralmente se curam deixando cicatrizes. O seu desenvolvimento começa após a puberdade, e as recorrências podem ocorrer por 20 anos ou mais (Figura 4) (ALTENBURG et al., 2014; NEVILLE et al., 2004; VICENT; LILLY, 1992).



Figura 3. Ulceração aftosa menor
(COSTA; CASTRO, 2013).



Figura 4. Ulceração aftosa maior
(COSTA; CASTRO, 2013).

A outra variedade da UAR é a úlcera herpetiforme. É a forma menos comum e atinge 5 a 10% dos pacientes. Suas lesões caracterizam-se por serem múltiplas, pequenas e dolorosas. Em alguns casos podem ocorrer até 100 úlceras ao mesmo tempo. O tamanho é muito reduzido, variando de 1 a 3 milímetros de diâmetro. As pequenas lesões são agrupadas podendo confluir e tornarem-se maiores com bordos irregulares (Figura 5) (MACPHAIL, 1997; PORTER et al., 2000; QUEIROZ et al., 2018). Acometem qualquer região da cavidade oral, não tendo predileção por um sítio específico. Tem maior frequência no sexo feminino e pessoas com idade mais avançadas (SCULLY; PORTER, 1991; TARAKJI et al., 2015). Estas lesões levam de 10 a 14 dias para curar, não deixando cicatrizes (ŚLEBIODA et al., 2014) e podem ser confundidas com as da infecção pelo vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1) (CHIANG et al., 2019).



Figura 5. Ulceração aftosa herpetiforme (COSTA; CASTRO, 2013).

A etiologia da UAR, apesar de ser alvo de inúmeras pesquisas, ainda é desconhecida e classificada como multifatorial, sendo esses fatores causais de origem local ou sistêmica (JIANG et al., 2008; VALLE et al., 2011; SAIKALY et al., 2018). No entanto, quando se afirma que a causa é desconhecida, não se exclui que há sustentações científicas bem estabelecidas quanto à etiologia. Sabe-se que há correlação entre a UAR e a ocorrência de doença autoimune, deficiência nutricional, alergia a alimentos e traumas. Além de sua associação com a presença de hiperacidez bucal, história familiar pregressa da doença e estresse emocional ou fisiológico (BESU et al., 2012; COSTA; CASTRO, 2013; ALTENBURG et al., 2014; CUI et al., 2016).

Por a etiologia ainda ser considerada desconhecida, pela ausência de fatores histopatológicos específicos e/ou de alguma causa endógena ou exógena que tenha sido identificada reproduzidamente (CHERUBINI et al., 2006), não há um tratamento curativo. Todas as formas terapêuticas são voltadas para o alívio dos sintomas, cicatrização das úlceras e diminuição da recorrência das lesões (MENG et al., 2009; GIANNETTI et al., 2018; QUEIROZ et al., 2018). As terapias disponíveis são administradas de forma tópica e/ou sistêmica através do uso de medicamentos sintéticos, homeopáticos, produtos naturais ou aplicação de laser (ARMAS et al., 2005; LOFUTO et al., 2005; PAKFETRAT et al., 2010; ALTENBURG et al., 2014).

Dentre os recursos tópicos alopáticos utilizados no tratamento da lesão aftosa recorrente, citam-se os corticosteroides (acetato de triancinolona, fluocinonida e clobetasol), antissépticos (clorexidina), analgésicos (benzocaína ou lidocaína) e antibióticos locais (doxiciclina). A terapia sistêmica, em geral, é indicada para os casos de estomatite aftosa recorrente maior e herpetiforme, são empregados corticosteroides (prednisona), imunomoduladores (talidomida

ou levamisol), antibióticos (penicilina G) e anti-inflamatórios não esteroidais (diclofenaco de sódio) (BELENGUER-GUALLAR et al., 2014; TARAKJ et al., 2015; SAIKALY et al., 2018).

Apesar de existirem várias opções de tratamento para estomatite aftosa recorrente, os medicamentos utilizados atualmente, muitas vezes, apresentam efeitos adversos graves, possibilidade de interações medicamentosas e eficácia limitada (GORSKY et al., 2008). Dentre os efeitos adversos citam-se osteoporose, hiperglicemia, hipertensão, supressão adrenal e supressão do sistema imunológico (KHADEMI et al., 2014). Assim, é evidente a necessidade de descobertas de novas alternativas terapêuticas para o tratamento dessas lesões.

2.2.2 Terapia alternativa e complementar com ênfase em espécies vegetais para UAR

Terapias e práticas complementares e alternativas são frequentemente usadas em condições crônicas (ARMSTRONG et al., 2011). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), Medicina Complementar e Alternativa (MCA) engloba um amplo conjunto de práticas de saúde, abordagens, conhecimento, crenças e produtos que não fazem parte da tradição de saúde do próprio país e não estão integrados ao sistema de saúde dominante (WHO, 2013).

Na verdade, há diversas definições para MCA, discutidas amplamente em vários estudos, como nas publicações de Leckridge (2004) e Wieland et al. (2011), que sintetizam o fato de que essas práticas correspondem aquelas que não são, ou seja, não fazem parte do "ortodoxo", ou sistema "dominante" ou "convencional", reforçando o conceito da OMS. Contudo, enfatiza-se que os parâmetros das definições não são científicos, mas sim cultural, histórico e político, segundo os autores. Evidências científicas apontam que nos países em desenvolvimento cerca de 60 a 90% da população utiliza MCA como cuidado primário para seus problemas de saúde (ERNST, 2000; HARRIS; REES, 2000; WHO, 2011 2013; GYASI et al., 2018).

Essas práticas de saúde podem ser classificadas em domínios abrangentes, incluindo: terapias de base biológica, suplementos não fitoterápicos, terapias manipulativas e baseadas no corpo, terapias mente-corpo e medicina energética (FRASS et al., 2012). Estudos ressaltam o uso de produtos naturais, em especial os de origem vegetal, como medicina complementar e alternativa, quer seja através do uso de ervas da Medicina Tradicional Chinesa, quer seja como

medicamentos fitoterápicos, uso de plantas medicinais ou empiricamente (SHAWAHNA; JARADAT, 2017; ARRING et al., 2018).

Entre as terapias alternativas utilizadas para tratar UAR, aponta-se os tratamentos com diferentes tipos laser, que tem mostrado resultados promissores no alívio da dor e diminuição do tamanho das lesões (ALBREKTSON et al., 2014; NAJEEB et al., 2016). Os principais estudos foram conduzidos com laser de baixa intensidade (*Low-Level Laser Therapy* - LLLT) (AGGARWAL et al., 2014; LALABONOVA; DASKALOV, 2014) e laser CO2 (ZAND et al., 2009; PRASAD; PAI, 2013), mas ainda há estudos sobre laser Nd-Yan (ARABACI et al., 2009) e laser arseneto de gálio-alumínio (ALBREKTSON et al., 2014).

Podem ser realizadas técnicas de cauterização das úlceras. Estudos demonstraram que o uso tópico de solução de nitrato de prata a 1-2% reduziu significativamente a intensidade da dor após um dia, mas não aumentou a velocidade de cicatrização (ALIDAEI et al., 2005; SOYLU ÖZLER, 2014; RODRÍGUEZ-ARCHILLA; RAISSOUNI, 2017).

A homeopatia também consiste numa prática da MCA. Na literatura científica há somente uma publicação (MOUSAVI et al., 2009) sobre uso de medicações homeopáticas no tratamento de ulceração aftosa recorrente menor. Foi demonstrado que as preparações a base de *Borax*, *Mercurius solubilis* e *Natrum muriaticum* diminuíram significativamente a intensidade da dor e o tamanho das úlceras no grupo tratado quando comparados ao grupo placebo. Dessa forma, foi enfatizado que a homeopatia pode ser uma terapia complementar no tratamento UAR menor, mas há necessidade de realização de outros estudos com um número maior de pacientes e que apontem resultados mais seguros.

A utilização de produtos naturais como terapia complementar e alternativa para o tratamento de UAR tem sido amplamente estudada, em virtude desses produtos serem considerados uma fonte promissora para a inovação de agentes terapêuticos, pois possuem menos propriedades adversativas, bem como pela facilidade de obtenção. Nas últimas décadas, o produto apícola própolis tem despertado interesse de pesquisadores por suas propriedades biológicas, o que tem conduzido a exploração seu potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, entre esses, medicamentos para o tratamento de ulceração aftosa recorrente (SAMET et al., 2007; ARAFA et al., 2018).

A própolis é uma substância composta por resina, cera e óleos essenciais que é preparada por abelhas (*Apis mellifera* Linnaeus) dos exsudados de árvores e flores para preencher os buracos em suas colmeias (DAS NEVES et al., 2016). Seus principais efeitos farmacológicos

são antiinflamatórios, antimicrobianos, antioxidante, imunoestimulante e atividades de cicatrização de feridas. Como constituintes químicos apresenta terpenoides, esteroides, ácidos fenólicos, ésteres e flavonoides (BRAILO et al., 2006; WAGH et al., 2013; CASTRO et al., 2014; LI et al., 2016)

Recentemente foi desenvolvido estudo que utilizou nanotecnologia na elaboração de uma formulação oral mucoadesiva (filme niossômico), contendo 1,5% de extrato hidroalcoólico de própolis, para o tratamento de UAR. Participaram do estudo 24 pacientes que foram randomizados em dois grupos: o primeiro grupo foi tratado com o filme do extrato de própolis (grupo de tratamento) e o segundo grupo recebeu o filme sem o componente ativo (grupo placebo). Os resultados clínicos revelaram a duração da adesão ao filme de 2-4 horas nos dois grupos ($p = 0.7008$). O início da redução do tamanho da úlcera no grupo medicado foi alcançado no segundo e terceiro dia, a cura completa foi alcançada nos primeiros 10 dias de tratamento ($p < 0.0001$) e o alívio da dor durou mais de 4-5h ($p = 0.001$), em contraste com o grupo placebo. A formulação preparada teve o objetivo de oferecer controle e direcionar a distribuição de drogas no local de aplicação, sendo considerado pelos autores como uma nova estratégia terapêutica no tratamento de úlcera aftosa recorrente (ARAFÁ et al., 2018).

Outro estudo realizado por Samet et al. (2007) teve como propósito avaliar o potencial de um produto de própolis, para reduzir o número de surtos de úlceras orais recorrentes. Foi realizado um estudo piloto, duplo-cego, controlado por placebo. Os pacientes receberam 500mg de própolis ou uma cápsula de placebo, diariamente, por aproximadamente 6 meses. Os dados indicaram uma redução estatisticamente significativa de surtos no grupo própolis ($p = 0,04$), bem como autorreferiram melhora significativa na qualidade de vida ($p = 0,03$). Este estudo mostrou que a própolis é eficaz na redução do número de recorrências e melhora a qualidade de vida em pacientes que sofrem de UAR.

Em contrapartida o trabalho de Brailo et al. (2006) aponta sobre os riscos que alguns compostos sensibilizadores como ésteres do ácido cafeico (feniletilcafeato e cafeato de metilbutenilo) e os constituintes como ácidos aromáticos livres, isoferulados e flavonídeos podem desempenhar promovendo a alergia à própolis. Através de um estudo de caso, foi relatada sensibilidade de contato retardada, desenvolvida nos lábios e na mucosa oral como resultado de uso tópico de própolis para o tratamento de ulceração aftosa recorrente. Paciente do sexo feminino, 20 anos, afirmou automedicação durante três semanas, manifestando erupção das lesões após 10 dias do início de uso da solução. Foi recomendado que ela interrompesse o

uso de própolis e foi prescrito dipropionato de betametasona 0,05% em orabase três vezes ao dia, durante 14 dias. Foram realizados testes de sensibilidade que comprovaram a alergia a própolis. Os autores enfatizaram sobre o potencial antigênico da própolis e sugerem que a mesma deve ser usada com cuidado como agente tópico no tratamento de doenças bucais.

Como exemplo de produtos naturais de origem vegetal testado na UAR, cita-se extrato de *Rheum palmatum* L. (ruibarbo) que consiste numa erva tradicional chinesa frequentemente usadas como antibacteriano (LI et al., 2017; MENG et al., 2020), em tratamentos tópicos de doenças dermatológicas (HOFFMANN et al., 2020), bem como em afecções da cavidade oral. Apresenta como componentes químicos antraquinonas, antrona, diantronas, heterodiantronas, taninos e oxalato de cálcio. Essa erva está na composição de um medicamento fitoterápico, Iralvex gel, descrito na *Goldaru Herbal Pharmacopeia* - Esfahan, Iran (2012) com indicação para tratamento de inflamações causadas por úlceras na boca, sangramento gengival e estomatite aftosa.

O estudo de Khademi et al. (2014), testou o Iralvex gel, cuja formulação continha 170mg de extrato seco de ruibarbo (padronizado com base de 3,4-4,6mg de reína) e 10mg de ácido salicílico. Esse estudo de natureza clínica, duplo-cega, comparou dados do grupo placebo e do grupo que utilizou o Iralvex gel, de forma tópica diretamente sobre as úlceras. Foi observado que o grupo que utilizou a substância ativa obteve redução da dor e remissão das úlceras de forma mais rápida que o grupo placebo ($p < 0,001$). Assim, os autores concluíram que Iralvex gel é um remédio eficaz, barato e sem efeitos colaterais para o tratamento de UAR.

A eficácia de outro medicamento utilizado na medicina complementar e alternativa foi testada contra UAR. *Matricaria chamomilla* L. (camomila) é uma espécie vegetal utilizada na medicina tradicional devido suas propriedades anti-inflamatória, anti-séptica, antimicrobiana, antiespasmódica, dentre outras. Sesquiterpenos, flavonóides, cumarinas e poliacetilenos são considerados os constituintes químicos mais importantes dessa espécie (SINGH et al., 2011). Essa espécie é empregada na forma de enxaguante bucal (*Chamomilla tincture*, Matrica Mouthwash, Barij Essence Pharmaceutical, Iran) no controle da placa bacteriana dentária, em lesões inflamatórias e desinfecções de gengivas e cavidade oral e como antiviral (BARIJ, 2021).

Seyyedi et al. (2014) desenvolveu um estudo cujo objetivo foi avaliar a eficácia do enxaguante bucal de camomila citado acima, na redução dos sinais e sintomas de lesões aftosas em comparação com um enxágue bucal com placebo. Participaram desse ensaio randomizado, triplo-cego, 36 pacientes com UAR, que foram avaliados após 2, 4 e 6 dias de tratamento. O

número de úlceras, dor e queimação, quatro dias após o tratamento, mostrou redução significativa no grupo teste ($P < 0,001$). Os autores ressaltam que mesmo no grupo do placebo, as lesões ao final do estudo regrediram, mas no grupo da camomila o processo foi acelerado. Assim, os autores enfatizaram que a camomila é um agente eficaz no tratamento da UAR, mas sugerem que pesquisas futuras devem ter como objetivo realizar ensaios clínicos comparando camomila com corticosteroides.

Na medicina tradicional iraniana, *Myrtus communis* L. (murta) é uma planta muito empregada no tratamento de doenças. É extensamente utilizada como anti-inflamatória, antitussígena, cicatrizantes, antimicrobiana, antisséptica e para outras aplicações terapêuticas (MAHBOUBI, 2016). Suas folhas e frutos são usadas em enxaguatórios bucais para tratar condições clínicas orais como infecção e inflamação de úlceras orais (AMIRI; JOHARCHI, 2013). É uma planta aromática rica em óleos essenciais (CHERRAT et al., 2014; KOUTSAVITI et al., 2015), bem como em compostos fenólicos, incluindo ácido gálico, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido singárico e ácido vanílico, taninos e flavonóis (FUNATOGAWA et al., 2004; SHAN et al., 2007; ALEKSIC; KNEZEVIC, 2014).

Muitos ensaios clínicos (AZIMIHOSAINI; BADIIE, 1999; TAHERI; TAVAKOLI, 2002; KHAZAELI et al., 2005) avaliaram a eficácia de *M. communis* contra ulcerações aftosas recorrentes. Cita-se o estudo de Babae et al. (2010) que consistiu num ensaio randomizado, duplo-cego, e contou com a participação de 45 pacientes com UAR, tratados com pasta de placebo e pasta oral de murta 5%. A pasta foi aplicada pelos próprios sujeitos quatro vezes por dia durante 6 dias. Os dados indicaram uma redução estatisticamente significativa do tamanho da úlcera ($p < 0,001$), gravidade da dor ($p < 0,05$), eritema e nível de exsudação ($p < 0,001$), refletindo em melhora da saúde oral no grupo de tratamento ($p < 0,001$). Não foram relatados efeitos colaterais. Os autores afirmaram que a murta é eficaz na melhora da qualidade de vida de pacientes que sofrem de ulceração aftosa recorrente.

O estudo realizado por Rad et al. (2010) teve como objetivo comparar o efeito terapêutico da solução tópica de *M. communis* com a triancinolona tópica (Adcortyle) no tratamento da afta menor. Participaram do estudo 100 pacientes que foram divididos aleatoriamente em 2 grupos: grupo que recebeu solução tópica de murta e grupo que recebeu trimcinolona tópica (Adcortyle). Após o tratamento, ambos os grupos apresentaram resposta aos medicamentos tópicos sem diferença significativa entre eles ($p > 0,05$). Os resultados deste

estudo mostraram que a solução tópica de murta é eficaz no tratamento da estomatite aftosa menor e seu efeito terapêutico é comparável à triancinolona tópica (Adcortyle).

A espécie *Alhagi maurorum* Medik. (espinho de camelo) é usada como um medicamento popular para tratar dor de cabeça, dor de dente, gastroenterite, febre, úlcera, diarreia, distúrbios fígado, câncer, hipertensão, inflamação, dentre outros (NASERI; MARD, 2007; MUHAMMAD et al., 2015). O perfil químico do extrato metanolóco de suas raízes apresentou flavonóides, saponinas, terpenóides e derivados (SALEEM et al., 2020).

Espinho de camelo foi avaliada em 93 pacientes com UAR, através de um estudo randomizado, duplo cego, controlado por placebo. Os pacientes foram instruídos a usar 40 mL da solução (fazendo bochecho e depois engolindo), 4 vezes por dia durante 14 dias. O tempo necessário para a resolução completa dos sintomas (cicatrização da úlcera e diminuição da dor) variou de 3 a 7 dias no grupo de teste (média 4,02) e 7 a 14 dias no grupo de controle (média de 8,9, $p < 0,001$). Os autores concluíram que a eficácia do destilado de espinho de camelo é comparável à de outros medicamentos usados para tratar úlceras aftosas orais e que seu efeito terapêutico pode ser devido a flavanonas (alagitina e alagidina) que estão presentes nesta planta (POURAHMAD et al., 2010).

Yunnan Baiyao é uma formulação patenteada extensamente empregada na Medicina Tradicional Chinesa. Consiste num pó que é composto pela combinação de várias plantas medicinais indígenas, mas os componentes exatos são desconhecidos porque é um segredo da medicina chinesa. Estudo evidenciou que *Paris rizoma* é uma das principais matérias-primas e radix rotoginseng (*Panax pseudoginseng* Wall. Var. *notoginseng*) é um dos principais ingredientes. Os botânicos extraíram panaxadiol e várias saponinas de Yunnan Baiyao (TANG et al., 2009).

Liu et al. (2012) avaliaram a eficácia e segurança de uma formulação, pasta de dente a base do extrato Yunnan Baiyao, como uma terapia alternativa para UAR menor. Um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo foi conduzido em uma coorte de 227 pacientes. A pasta de dente contendo Yunnan Baiyao foi usada duas vezes ao dia como parte da rotina de higiene oral do paciente por 5 dias. Foi verificado que a formulação contendo Yunnan Baiyao apresentou eficácia na cicatrização da úlcera (tamanho da úlcera) no dia 3 (27,5% versus 15,8%, $P < 0,05$), que melhorou ainda mais no dia 5, quando comparado com o placebo (66,4% versus 50,0%, $P = 0,01$). Uma diferença significativa no alívio da dor foi observada no dia 5 para aqueles que usaram o creme dental (66,4% versus 51,8%, $P < 0,05$).

Nenhum efeito colateral foi observado. Dessa forma, os autores afirmam que produtos contendo Yunnan Baiyao podem ser empregados como prática alternativa no tratamento de UAR menor.

A espécie vegetal “*Licorice*” (alcaçuz), cujo nome científico é *Glycyrrhiza glabra* L., é utilizada na medicina tradicional assíria, egípcia, chinesa e indiana. Seu emprego popular consiste no tratamento de doenças do sistema cardiorrespiratório, hepáticos, úlceras orais e gástricas, como antiinflamatório, antimicrobiano, cicatrizante, dentre outros (FIORE et al., 2005; CHIGURUPATI et al., 2016; NAZARI; et al., 2017). Como componentes químicos apresenta saponinas, flavonoides (ISBRUCKER; BARDANA, 2006) e cumarinas (KINOSHITA et al., 2005).

Uma formulação bioadesivas de alcaçuz a 1% foi testada para controlar a dor e reduzir o tempo de cicatrização da úlcera aftosa recorrente. O estudo foi conduzido de forma cega para o observador e controlado por placebo. Houve uma redução significativa na dor após a aplicação dos adesivos de alcaçuz em comparação ao grupo sem tratamento ($p < 0,001$). O tratamento também causou uma redução significativa no diâmetro do halo inflamatório e centro necrótico em comparação com o grupo placebo ($p = 0,03$) (MOGHADAMNIA et al., 2009).

Uma revisão sistemática realizada por Zhou et al. (2017) descreveu vários estudos que avaliaram a eficácia e segurança de medicamentos chineses patenteados, no tratamento de estomatite aftosa recorrente. Entre esses medicamentos citam-se: Liuwei Dihuang, Chaihu, Zhibai Dihuang, Bergamot ulcer, Yiqing, Licorzinc, entre outros. De maneira geral, os resultados mostraram que os medicamentos chineses foram benéficos para pacientes com UAR no alívio da dor da úlcera e reduzindo a duração e frequência das lesões. Como efeitos colaterais foram citados dor de estômago, distensão abdominal, diarreia, náuseas leves e desconforto gastrointestinal, que eram ou autolimitado ou aliviados por cessação do tratamento.

Outros estudos que avaliaram a eficácia de plantas no tratamento de ulceração aftosa recorrente foram desenvolvidos. Entre esses, cita-se o trabalho de Armas et al. (2005) que avaliou a eficácia do extrato aquoso da casca *Rizophora mangle* L. (mangue-vermelho) no tratamento de úlceras aftosas orais, através de um estudo randomizado, simples-cego, com a utilização de placebo como controle e tratamento durante 14 dias. A casca do mangue-vermelho é utilizada tradicionalmente como adstringente, anti-séptica, antifúngico e antiulcerogênico. Contém polifenóis, taninos e taninos hidrolisáveis como compostos químicos.

A partir do estudo citado acima (ARMAS et al., 2005), foi observado que o tempo necessário para os sinais e sintomas das úlceras diminuírem foi maior no placebo do que no

grupo de tratamento (eritema: placebo $10,54 \pm 1,24$, teste $4,94 \pm 0,72$ dias, $p = 0,0003$; ardor: placebo $7,00 \pm 0,76$, teste $2,93 \pm 0,49$ dias, $p = 0,0001$; e dor: placebo $7,43 \pm 1,21$, teste $2,92 \pm 0,23$ dias, $p = 0,0011$). Não foram relatados efeitos adversos. O estudo de Armas et al. (2005) foi o primeiro a relatar propriedades cicatrizantes de *Rizophora mangle* L. na mucosa bucal.

Curcuma (açafrão) é uma especiaria que vem da raiz *Curcuma longa* L. Na Ayurveda (medicina tradicional indiana), tem sido usada por suas propriedades medicinais para várias indicações e por diferentes vias de administração, incluindo tópica, oral e por inalação. Tópicamente é utilizada para tratamento de feridas na pele, herpes zoster, para infecções parasitárias e acne. Por via oral é utilizada para resfriado comum, doenças do fígado, doenças do trato urinário e como purificador do sangue. O uso por inalação é feito como terapia para rinite crônica e coriza (CHAINANI-WU, 2003). Tem ações antioxidante, anti-inflamatória, antiviral e antifúngica. Os constituintes ativos do açafrão são os flavonoides (diferuloilmetano) e vários óleos voláteis, apresentando em sua composição turumona, atlantone e zingiberone (AKRAM et al., 2010).

Dentre os estudos realizados com *C. longa* para o tratamento de ulceração aftosa recorrente, ressalta-se o estudo de Deshmukh e Bagewadi (2014) que teve como objetivo comparar a eficácia da curcumina com o acetinado de triancinolona na forma de gel no tratamento de UAR menor. Consistiu num ensaio clínico randomizado, que contou com a participação de 60 pacientes divididos aleatoriamente em 2 grupos: grupo de gel de curcumina (Grupo I) e grupo de gel de triancinolona acetinada (Grupo II). Os pacientes foram solicitados a aplicar o gel três vezes ao dia em cada úlcera, durante 7 dias. Os resultados mostraram diferença significativa no tamanho, dor, número e duração das úlceras em relação ao tempo de tratamento (intragrupo), em ambos os grupos. No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos. Assim, os autores concluíram que curcumina pode ser utilizada como eficaz alternativa aos corticosteróides no tratamento da UAR.

Por sua vez, o trabalho de Manifar et al. (2012) avaliou o efeito da aplicação local, via oral, de gel de curcumina a 2% sobre UAR menor, através de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Os pacientes ($n = 57$) foram avaliados durante 14 dias. Os resultados mostraram diferença significativa entre os grupos nos seguintes parâmetros avaliados: satisfação geral ($p \leq 0,01$), dor após 4 dias de tratamento ($p < 0,05$) e diâmetro da úlcera após 4 e 7 dias ($p < 0,05$). Apresentando dessa forma, vantagens no uso de curcumina quando comparada ao placebo, tendo sido considerado pelos autores do estudo, as evidências

de que o gel de curcumina a 2% é uma eficaz e tolerada modalidade de tratamento para UAR menor.

O estudo de Al-Saffar (2006) apontou ainda mais, evidências científicas sobre a utilização da espécie *C. longa* em formulações farmacêuticas para o tratamento alternativo de aftas. Foi avaliada duas formulações (solução viscosa (glicerina) de curcumina a 10 e 50%). Um total de 83 pacientes com UAR foram divididos em quatro grupos: Grupo A: 30 pacientes receberam solução viscosa de curcumina 10%; Grupo B: 33 pacientes receberam solução viscosa de curcumina 50%; Grupo C: 10 pacientes sem tratamento (controle negativo); e Grupo D: 10 pacientes receberam tratamento com glicerina (controle positivo). Os pacientes foram observados durante 11 dias. Houve uma diferença significativa em porcentagem de cura completa entre grupo C e grupos A e B ($p < 0,05$), bem como entre o grupo D e grupos A e B ($p < 0,05$). Contudo, não foi observada diferença significativa entre os grupos A e B ($p > 0,05$). Os autores concluíram que a aplicação tópica de solução viscosa de curcumina (10% e 50%) mostrou um bom percentual de cicatrização em pacientes com UAR quando comparada aos pacientes que não receberam tratamento e aqueles que receberam tratamento com glicerina.

O trabalho de Rodríguez-Archilla e Raissouni (2017), comparou a eficácia clínica e segurança de quatro tratamentos alternativos para ulceração aftosa recorrente. Compuseram a amostra do estudo 125 pacientes, divididos igualmente nos seguintes grupos: nitrato de prata, 50 mg aplicada diretamente na lesão em consultório odontológico; própolis 18% dispensado em aerossol; extrato de ruibarbo (*Rheum palmatum* L.) 5% dispensado como uma solução com um pincel aplicador; extrato de casca de noz (*Juglans regia* L.) 5% dispensado como uma solução; placebo, composto por água destilada aromatizada dispensada em aerossol. Os pacientes foram orientados a utilizarem as substâncias 3 vezes por dia.

Seguindo os protocolos indicados no estudo acima e após avaliação dos resultados, foi verificado que nenhum paciente manifestou efeitos adversos relacionados aos tratamentos. Existiram diferenças significativas ($p < 0,001$) em geral no tempo do desaparecimento dos sintomas. O mais rápido foi o nitrato de prata (1,16 dias), depois os 3 tratamentos alternativos (1,60 dias com própolis, 1,84 com ruibarbo e 2,00 com nozes, sem diferenças entre eles) e por fim o placebo (4,64 dias). Em relação ao tempo médio de cicatrização das lesões, foi estatisticamente maior (8,96 dias) para o placebo do que para os 4 tratamentos: nitrato de prata (7,32 dias), própolis (6,80), ruibarbo (7,72) e noz (8,00).

Após apontar evidências científicas da eficácia de várias terapias complementares e alternativas para o tratamento de UAR, foi ressaltado que tais estudos muitas vezes consideram a abordagem etnofarmacológica na escolha do material e ensaios clínicos. De fato, a população utiliza MCA como terapêutica para aftas, realidade esta mostrada através do estudo de Sawair (2010).

O trabalho citado acima, consistiu num estudo transversal que teve como objetivo determinar a prevalência e os tipos de tratamentos usados por 530 estudantes com histórico de estomatite aftosa recorrente e que estudavam na Universidade da Jordânia, em Amã. Como resultado observou-se que 86 (32,2%) usaram tratamentos alternativos (tahini, sal, limão, água morna, camomila e bicarbonato de sódio) e estes foram significativamente mais utilizados por alunos que viviam em áreas rurais. Os parentes foram a fonte de informação mais citada sobre o tratamento alternativo (44,6%), seguidos pelos médicos (22,9%), e apenas 9,4% procuraram dentistas. Curiosamente, 7% dos medicamentos alternativos foram recomendados por profissionais de saúde e 38,7% dos tratamentos convencionais foram recomendados por não profissionais de saúde.

Enfatizando-se as premissas das abordagens etnodirigidas e um estudo realizado na cidade de São Luís – MA (VIEIRA et al., 2014a), onde algumas plantas foram referidas pela população para tratamento de aftas, parte-se do princípio de que *Anacardium occidentale* L., *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Melissa officinalis* L., *Eucalyptus globulus* Labill, *Psidium guajava* L. e *Punica granatum* L. são potenciais espécies vegetais para o desenvolvimento de um medicamento para tratamento da úlcera aftosa recorrente.

A hipótese de que as espécies citadas acima podem ter propriedades farmacológicas que devem ser consideradas no tratamento das lesões aftosas recorrentes, sustenta-se ainda mais através de outros estudos etnobotânicos (SANTOS et al., 2009; VIEIRA et al., 2014b) e que demonstram o potencial de cicatrização de *A. occidentale* (SCHIRATO et al., 2006) e *S. terebinthifolius* Raddi (NUNES JR et al., 2006; SANTOS et al., 2006), atividade antimicrobiana de *M. officinalis* (MIMICA-DUKIC et al., 2004), *P. guajava* (ARIMA; DANNO, 2002) e *E. globulus* Labill (ROCHA; SANTOS, 2007) e propriedade anti-inflamatória de *P. granatum* (JURENKA, 2008).

Até o momento nenhuma terapia precisa foi demonstrada, e não há evidências conclusivas de uma predisposição genética para UAR na maioria dos pacientes. As lesões

surtem como consequência imunológica, citotoxicidade mediada por células epiteliais. Nenhum tratamento pode garantir que não haja recorrência de úlceras (TARAKJI et al., 2015).

2.3 Modelos experimentais de cicatrização de feridas

Modelos experimentais de cicatrização de feridas foram desenvolvidos ao longo de muitas décadas. Através do estudo da fisiopatologia da cicatrização de feridas e o desenvolvimento de novas ferramentas e protocolos para monitorar o processo de cicatrização, é possível contribuir para otimizar um tratamento e obter melhores resultados do paciente (ROMANELLI et al., 2013). Esses estudos são intrincados, principalmente por causa da natureza multifacetada do ambiente da ferida e a complexidade do processo de cicatrização, que integra uma variedade de células e fases de reparo, incluindo inflamação, proliferação, reepitelização e remodelação (MASSON-MEYERS, 2020), como já citado no tópico anterior.

Uma combinação de vários métodos de avaliação de feridas pode aumentar a confiabilidade e validade dos resultados e fornecer uma compreensão mais aprofundada de mecanismos envolvidos na reparação de tecidos. Além disso, os pesquisadores devem considerar várias questões como os objetivos do estudo, tipo de ferida, características da amostra e acessibilidade, custos, prazo e instalações disponíveis (KOSCHWANEZ; BROADBENT, 2011). Os modelos *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* e/ou *in vivo*, auxiliam na investigação da patogênese da cicatrização (UD-DIN; BAYAT, 2017).

Apesar das vantagens claras dos modelos de cicatrização de feridas, permanece uma falta de padronização no desenho, avaliação e acompanhamento, para situações de feridas e cicatrizes agudas/crônicas, em todos os modelos. Os modelos de pesquisa de cicatrização de feridas ideais são desejáveis e deve mimetizar não apenas a estrutura mais as interações celulares e moleculares e os tipos de feridas (UD-DIN; BAYAT, 2017).

Dificuldades de aprovação do uso de animais vivos por conselhos de ética, o custo elevado para compra e manutenção de cada cobaia, disponibilização de área adequada para a sua acomodação (temperatura ideal e controle de agentes estressores) e a forte opinião pública demonstrando resistência com relação ao uso de métodos cruéis em experimentos, levou ao uso de métodos distintos (ANDERSEN, WINTER, 2017; ALVES et al., 2018).

Métodos alternativos e testes *in vitro* são aqueles métodos ou técnicas que podem substituir ou diminuir o uso de animais na experimentação. Esses testes identificam bem o princípio dos 3Rs que são a substituição (*replacement*), experimentos que utilizam animais por outro que não necessite, a redução (*reduction*), redução do número de animais, e o refinamento (*refinement*), com a diminuição da severidade dos processos (BEDNARCZUK et al., 2010).

Modelos matemáticos e computacionais fornecem novas ferramentas para melhorar o processo de cura. Na verdade, nos últimos trinta anos, modelos *in silico* têm sido continuamente formulados para descrever o efeito de vários fatores biológicos e biomecânicos no processo de cicatrização de feridas, em escala molecular, celular e tecidual. A primeira etapa ao simular um processo biológico é criar um modelo matemático (conjunto de equações) adequado para abordar a característica biológica em estudo. Esta metodologia, conhecida como discretização, permite simular fenômenos biológicos em vários graus de complexidade (GUERRA et al., 2018).

Algoritmos descritivos e técnicas matemáticas de correlação são ferramentas importantes no entendimento e predição de interações que unem química e biologia. Os modelos *in silico* apresentam a clara vantagem de poderem ser usados em várias etapas do processo de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de fármacos, atendendo a demanda de larga escala da indústria farmacêutica, simplificando os custos e o tempo do processo (MODI, 2004; SEGALL et al., 2009). Modelos computacionais podem ser usados de muitas maneiras diferentes para reduzir, refinar e substituir parcialmente a experimentação animal e humana (PAPPALARDO et al., 2018).

No contexto da medicina *in silico*, o termo "ensaios clínicos *in silico*" refere-se ao desenvolvimento de modelos específicos de pacientes para formar coortes virtuais para testar a segurança e/ou eficácia de novos medicamentos e de novos dispositivos médicos. Além disso, pode-se imaginar que um conjunto virtual de pacientes poderia complementar um ensaio clínico (reduzindo o número de pacientes inscritos e melhorando a significância estatística) e/ou aconselhar decisões clínicas (PAPPALARDO et al., 2018).

No contexto da cicatrização de feridas, citam-se duas abordagens matemáticas disponíveis: modelos contínuos e modelos discretos. No mundo físico, as substâncias podem variar suavemente em um determinado domínio (campo contínuo). Os campos contínuos são a representação básica dos modelos contínuos e, no caso da cicatrização de feridas, esses são as concentrações de mediadores químicos, como *transforming growth factor beta* (TGF- β). Esses

tipos de modelos são boas abordagens para estudar variações espaciais de concentrações químicas e deformações mecânicas ou estresse (BUGANZA TEPOLE; KUHL et al., 2013).

Modelos baseados em células (modelos discretos) são frequentemente usados para modular populações de células que permitem aos pesquisadores estudar o comportamento de células individuais, como fibroblastos e macrófagos. Na biologia dos sistemas, diferentes tipos de componentes de interação têm que ser representado por meio do modelo matemático, ou como campos contínuos ou como entidades discretas. A escolha entre modelos contínuos e discretos dependem fortemente da escala de interesse. Geralmente, pode-se dizer que componentes em nível molecular ou celular podem ser modulados usando modelos discretos e, em tecidos, órgãos ou níveis de sistema, os modelos contínuos representam a abordagem mais apropriada (BUGANZA TEPOLE; KUHL et al., 2013).

Um modelo *multifield* é aquele que consiste em vários campos de interação. Fenômenos de múltiplos campos típicos em modelos de cicatrização de feridas são várias vias de sinalização química em interação, como o TGF- β e vias do fator de crescimento endotelial vascular. Assim, existem três tipos básicos de representações: puramente contínuo, puramente discreto e híbrido contínuo/discreto. Além disso, um modelo matemático para cada um dessas representações pode abranger várias escalas espaciais, desde o nível celular, passando pelos níveis dos tecidos e órgãos, até o nível do sistema, sendo caracterizados como modelos multiescala (BUGANZA TEPOLE; KUHL et al., 2013). Modelos *in silico* podem ser úteis teoricamente e em combinação com outros modelos, mas carecem das características físicas humanas (MATHES et al., 2014).

Os estudos realizados com animais de laboratório (modelos de animais) têm sido empregados convencionalmente para avaliar a farmacologia, toxicologia, mecanismos de ação terapêutica, bem como proporcionar conhecimentos sobre a segurança e eficácia *in vivo* (SIBBALD, 2000), devido a suposição de que os modelos de animais são razoavelmente previsíveis de resultados humanos (HEYWOOD, 1987; KNIGHT, 2007). Testes realizados através de modelos *in vivo* vêm sendo reconhecidos como um elo indispensável entre a demonstração da atividade *in vitro* e ensaios clínicos em pacientes. O desenvolvimento de um novo medicamento tem sido quase inconcebível sem prova conclusiva da segurança e eficácia em animais de laboratório (ÁVILA, 2014).

Modelos *in vivo* de cicatrização envolvem ferir um animal de laboratório e observar o fechamento da ferida ao longo do tempo. Testes físico, químico ou modificações biológicas do

ambiente da ferida também podem ser incorporados. Modelos animais permitem uma representação realista do ambiente da ferida, incluindo vários tipos de células e interações parácrinas (MASSON-MEYERS et al., 2018). Entretanto, é de extrema relevância que essas investigações sigam os princípios dos 3Rs para certificar-se de que haverá tratamento ético e humano dos animais, respeitando o bem-estar dos mesmos (GOLDENBERG, 2000; BRATCHER et al., 2015).

Há uma variedade de modelos pré-clínicos possíveis, através da utilização de roedores (camundongos/ratos), coelhos e porcos, que podem ser usados para simular cicatrizações agudas ou crônicas. As espécies mais utilizadas são ratos e camundongos, pela facilidade de alojar, manusear e manter. Apesar de existirem diferenças documentadas entre a estrutura e fisiologia de animais de laboratórios e humanos, estudos de cicatrização de feridas projetado com essas diferenças em mente pode fornecer valiosas informações translacionais. Estes podem ser induzidos por muitas técnicas, sendo a excisão ou incisão as mais comuns (MASSON-MEYERS et al., 2018).

Modelos de incisão são frequentemente utilizados na investigação de materiais de incisão cirúrgica (degradação de fios de suturas e/ou avaliação de resistência à tração) (SHAO et al., 2016). Se as feridas são fechadas/suturadas imediatamente após a incisão, são ditas primárias, caso o fechamento não ocorra após a incisão, são denominadas de secundárias. O fechamento primário (primeira intenção) é um excelente modelo para análise biomecânica da resistência da ferida e menos adequado para avaliação histológica de cura, avaliação bioquímica do tecido ou epitelização. O modelo de fechamento secundário (segunda intenção) de feridas incisionais pode ser valioso para investigar cicatrizes em momentos tardios (PEPLOW et al., 2010).

As feridas excisionais são os mais comumente modelos de cicatrização de feridas utilizados e são considerados semelhantes a feridas clínicas agudas, que requerem cicatrização por segundo intenção (não são suturadas). Há a remoção cirúrgica de todas camadas da pele (epiderme, derme e gordura subcutânea) do animal. O material e as técnicas necessárias são relativamente simples e práticos. Este modelo permite a investigação de hemorragia, inflamação, formação de tecido de granulação, reepitelização, angiogênese e remodelação. Além disso, o leito da ferida pode ser facilmente acessado para aplicar agentes tópicos (por exemplo, produtos farmacêuticos, células, biomateriais, curativos para feridas) e investigar seu efeito no processo de reparo (MASSON-MEYERS et al., 2018).

Mudanças progressivas nas feridas durante o processo de cicatrização podem ser avaliados por várias técnicas através de métodos qualitativos e quantitativos (MASSON-MEYERS et al., 2018). Os parâmetros que podem ser avaliados a partir do modelo de cicatrização de feridas excisionais são: área da ferida, que pode ser fotografada regularmente ao longo do tempo, e o fechamento da ferida pode ser calculado com base no tamanho relativo da ferida às dimensões originais (taxa de cicatrização de feridas); análise histológica, os animais podem ser sacrificados ou anestesiados localmente e biópsias coletadas, processadas e examinadas tanto para o epitélio *gap* (a distância quantificável entre o epitélio margens da ferida), características do leito de granulação (populações de células, vascularidade e alterações da matriz) e organização do colágeno (PEPLOW et al., 2010; KOSCHWANEZ; BROADBENT, 2011; WONG et al., 2011).

O sucesso de um tratamento tem como consequência o completo e permanente fechamento da ferida. Na prática clínica, a taxa de cicatrização de feridas é a melhor forma de quantificar o progresso da cicatrização, uma vez que o marcador clínico mais estabelecido durante o acompanhamento de uma ferida é o seu tamanho (WILLIAMS, 2000; PAPAZOGLU et al., 2010).

Várias são as maneiras de medir a área de superfície de uma ferida como através da medição de comprimento e largura. Um filme transparente é colocado sobre a superfície da ferida e o perímetro da ferida traçado com um marcador permanente. Esse é um método barato, acessível e convencional. Embora seja relativamente não invasivo, existe o risco de desconforto do paciente, contaminação da ferida e danos no leito da ferida ao fazer as medições (MASSON-MEYERS et al., 2018). Como alternativa, as fotografias digitais das superfícies das feridas podem ser realizadas e os parâmetros calculados usando diferentes *softwares* de imagem (WILLIAMS, 2000; PEREIRA et al., 2013e).

Para avaliar a reepitelização da ferida clínica e experimentalmente (*in vivo* e *in vitro*, por exemplo, ensaio de raspagem), pode ser utilizado o cálculo da taxa de cicatrização de feridas (*wound healing rate* - WHR) através da equação: $[(A_i - A_f) / A_i]$, onde A_i representa a área inicial da ferida e A_f representa a área final área. Os resultados da WHR podem ser expressos em unidades arbitrárias, geralmente variando de -1,0 a 1,0 ou em porcentagem de desfecho (multiplicando a equação por 100). WHR igual a 1 ou 100% significa completo reepitelização, enquanto WHR igual a 0 ou 0% significa que não houve sinais de reepitelização; $WHR > 0$ ou

0% significa uma diminuição em área $WHR < 0$ ou 0% um aumento (CAETANO et al., 2009; DE AVILA SANTANA et al., 2013; MASSON-MEYERS et al., 2013).

A fotografia é uma ferramenta valiosa na medicina. Uma imagem pode fornecer informações que muitas vezes é sinônimo de diagnóstico. É não invasiva e pode ajudar com a documentação e acompanhamento do caso, fornecendo dados sobre mudanças morfológicas, variações de cor e assim por diante, durante a progressão da cicatrização da ferida, em situações clínicas e experimentais (PAPIER et al., 2000; GOLDMAN; SALCIDO, 2002).

Imagens de alta resolução podem identificar claramente o crescimento epitelial nas margens da ferida melhorando confiabilidade dos resultados. Cuidados especiais devem ser tomado durante a captura de imagens como a padronização da distância onde a câmera é posicionada; a iluminação não deve focar diretamente no leito da ferida; o uso de flash da câmera não é recomendado; uma pinça ou régua deve ser colocada ao lado da ferida. Através de *software* pode-se converter o número de pixels em cm^2 , permitindo que a área da ferida seja quantificada (KOSCHWANEZ; BROADBENT, 2011).

Um exemplo de *software* de análise de imagem é o ImageJ. Esse *software* permite quantificar o perímetro e superfície da área de imagens digitais e realizar análises de cores. ImageJ é amplamente utilizado em pesquisa e prática clínica e tem sido usado para avaliar as alterações nas úlceras do pé diabético, úlceras de perna diabéticas crônicas (MINATAEL et al., 2009), úlceras venosas crônicas (CAETANO et al., 2009; KOSCHWANEZ; BROADBENT, 2011) e em muitas outras aplicações (ANDRADE et al., 2011; DE AVILA SANTANA et al., 2013; MASSON-MEYERS et al., 2013; CAETANO et al., 2015).

Outras metodologias podem ser necessárias para avaliar o processo de cicatrização em feridas clínicas e /ou experimentais. Esses métodos são invasivos e requerem biópsias. No entanto, eles fornecerão informações mais completas sobre a progressão da cicatrização a nível histológico, imunológico, níveis moleculares e bioquímicos (MASSON-MEYERS et al., 2018).

A histopatologia de feridas é uma ferramenta muito útil para excluir uma causa de malignidade, auxiliar na observação do progresso da cicatrização durante o tratamento, avaliar as alterações morfológicas e ajudar no diagnóstico (ROMANELLI et al., 2013; PLANZ et al., 2015). Essa análise geralmente inclui quantificação de leucócitos para avaliar o estágio do processo inflamatório; vasos sanguíneos para avaliar a angiogênese; fibroblastos e colágeno (MASSON-MEYERS et al., 2018).

Para análise histopatológica experimental, uma biópsia que abrange toda a ferida é coletada (MASSON-MEYERS et al., 2018), logo após a amostra de tecido deve ser colocada em soluções fixadoras, como formaldeído tamponado a 10%, que mantem a integridade do material sem alterações na estrutura celular. O tecido então irá ser submetido às várias etapas do processamento histológico, incluindo incorporação, corte e coloração (THAVARAJAH et al., 2012). A coloração amplamente utilizada na patologia de feridas é hematoxilina e eosina (H&E) (ROMANELLI et al., 2013).

Dessa forma, enfatiza-se que a escolha do modelo de cicatrização deve considerar características como a reprodutibilidade precisa da lesão, a possibilidade de múltiplas investigações, a capacidade de obter várias amostras de biópsia, a compatibilidade com as instalações dos animais, a facilidade de manuseio e o tempo necessários para obter resultados valiosos (GOTTRUP et al., 2000). O modelo ideal é aquele que representa certos aspectos da fisiologia humana, mas faz não requer voluntários humanos para experimentos (GEER et al., 2004).

Entre os diversos modelos experimentais *in vivo* utilizados para avaliar o processo de cicatrização, enfatiza-se um modelo experimental de úlcera traumática em mucosa jugal de ratos para utilização em testes de terapias alternativas. O modelo sugere a utilização de ratos adultos, machos, pesando entre 250 a 300 g. A ulceração na mucosa jugal esquerda deve ser provocada por meio da abrasão desta com uma lâmina de bisturi número 15. Os animais devem ser observados por um período de 10 dias, sendo estes pesados e suas escoriações mensuradas. As características histológicas devem ser analisadas e descritas adotando escores para comparação dos estágios da fase da úlcera. O modelo de úlcera na mucosa jugal de ratos proposto pode ser considerado eficaz, apresentando reprodutibilidade confiável e baixo custo (CAVALCANTE et al., 2011).

Assim, a busca por substâncias que possam servir como ponto de partida para o desenvolvimento de novos fármacos tem aumentado o interesse da indústria farmacêutica e das instituições de pesquisa pelos produtos naturais. Nesse sentido, os testes *in vitro* e *in vivo* (modelos animais) permitem fazer inferências acerca das atividades biológicas de tais produtos. Conjuntamente esses ensaios fornecem informações fundamentais nas pesquisas sobre o processo de cicatrização e de plantas medicinais que possam apresentar atividade cicatrizante (BEDNARCZUK et al., 2010)

Nos últimos anos, algumas espécies vegetais têm ganhado destaque no que diz respeito a realização de protocolos experimentais para testar o potencial cicatrizante e/ou anti-inflamatório. Cita-se entre essas, *Schinus terebinthifolius* Raddi, cujo emprego etnomedicinal tem servido como base para realização de pesquisas, que tem como objetivo confirmar a atividade biológica observada empiricamente. Assim, descrevemos no subtópico a seguir alguns estudos que testaram o potencial de cicatrização desta espécie, conhecida popularmente como aroeira.

2.3.1 Estudos experimentais sobre potencial cicatrizante de *S. terebinthifolius*

Somente no ano de 2006, quatro estudos experimentais foram realizados para testar o potencial cicatrizante de *S. terebinthifolius* em diferentes modelos *in vivo*. A seguir apresentaremos um resumo sobre esses estudos.

O estudo de Castelo Branco Neto et al. (2006), teve como objetivo avaliar o efeito cicatrizante da administração tópica do extrato hidroalcoólico de aroeira (100 mg/mL) em feridas abertas na região dorsocostal de ratos. Foram utilizados 60 ratos Wistar, machos, que tiveram retirados fragmentos de pele com dois centímetros de diâmetro, sob anestesia inalatória com éter etílico. Foram divididos em dois grupos de 30 animais: o grupo aroeira, que recebeu aplicação do extrato hidroalcoólico da planta, e o grupo controle, que recebeu aplicação de solução salina a 0,9%. Cada grupo foi subdividido em 3 com 10 animais cada para serem observados aos 7, 14 e 21 dias. As áreas das lesões foram analisadas pelo aspecto macroscópico e por planimetria digital. Os espécimes ressecados das feridas foram analisados por microscopia óptica em colorações de hematoxilina-eosina e tricrômio de Masson.

Os achados macroscópicos do estudo de Castelo Branco Neto et al. (2006) demonstraram reepitelização completa mais precoce no grupo controle aos 14 dias. Pela planimetria digital as áreas médias das feridas dos ratos do grupo controle (0,5278 cm²) foram menores que as das feridas dos ratos do grupo aroeira (0,6897 cm²) (p=0,036). O estudo histológico demonstrou diferença estatística (p=0,023) em relação às células mononucleares no 14º dia de avaliação, com maior número no grupo aroeira. Dessa forma, os autores concluíram que o extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* retardou a reepitelização das feridas da pele dos ratos.

Santos et al. (2006) realizou um estudo cujo objetivo foi avaliar a cicatrização de ferida provocada no estômago de ratos com uso do extrato hidroalcoólico de aroeira. Foram utilizados 40 ratos, adultos, machos, divididos em dois grupos: grupo aroeira e grupo controle, cada grupo foi dividido em dois subgrupos de dez animais conforme o momento das mortes (três e sete dias). Em cada animal foi realizado procedimento cirúrgico, lesão do estômago e rafia com fio polipropileno (Prolene®) 6-0, diferindo apenas que os animais do grupo aroeira receberam dose única de 100 mg/kg do extrato hidroalcoólico via intraperitoneal no dia do procedimento e aqueles do grupo controle a mesma quantidade em mililitros de solução salina isotônica. Os parâmetros avaliados foram: alterações macroscópicas, teste de resistência à insuflação de ar atmosférico e alterações microscópicas durante a evolução pós-operatória.

Foi mostrado a partir do trabalho de Santos et al. (2006) que todos os animais demonstraram boa cicatrização da parede abdominal, sem sinais clínicos de infecção ou deiscência, isentos de complicações como abscessos e peritonites; ambos os grupos apresentaram aderências à superfície das gastrorrafias com órgãos vizinhos, principalmente com fígado, intestino delgado e parede abdominal. A análise microscópica evidenciou somente a inflamação crônica como possuidora de diferença significativa entre os grupos aroeira e controle no 3º dia de observação. O extrato hidroalcoólico de aroeira não alterou o processo de cicatrização do estômago quanto à avaliação macroscópica, tensiométrica e microscópica.

Outro estudo sobre o potencial cicatrizante de *S. terebinthifolius* foi realizado por Lucena et al. (2006), que teve como objetivo avaliar a ação cicatrizante do extrato hidroalcoólico da aroeira em bexigas de ratos. Foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Wistar, divididos em dois grupos de 20, grupo aroeira (GA) e grupo controle (GC). Todos foram submetidos à incisão abdominal mediana com cistotomia de 1 cm, seguida de cistorrafia em plano único com pontos separados de poliglactina 910 5-0 (Vicryl®). Após este procedimento, nos animais GA injetou-se 100 mg/kg de peso de extrato hidroalcoólico da aroeira na cavidade peritoneal e nos GC injetou-se 1 mL por quilo de peso de solução salina a 0,9%. Cada grupo foi dividido em dois sub-grupos de 10 animais de acordo com a data da morte no 3º e 7º dia. A parede, a cavidade abdominal e a sutura da bexiga foram avaliadas macroscopicamente. Amostras de tecido da bexiga foram retiradas e analisadas histologicamente, utilizando a coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) e tricrômio de Masson.

Na análise macroscópica foi observada infecção na incisão cirúrgica em alguns ratos dos dois grupos. A avaliação microscópica mostrou processo inflamatório agudo mais severo

no 3º (p=0,045) e no 7º dia (p=0,002). Evidenciou-se ainda diferença estatística nos parâmetros utilizados para a avaliação histológica da cicatrização da bexiga nas variáveis colagenização (p = 0.001), reepitelização (p = 0,046) e neoformação (p = 0) nos subgrupos GC e GA no 3º dia e na variável neoformação vascular (p=0,001) no subgrupo do 7º dia. Os autores concluíram que o extrato hidroalcoólico de aroeira mostrou efeito cicatrizante favorável nas cistotomias em ratos (LUCENA et al., 2006).

Ressalta-se o estudo de Ribas et al. (2006) que teve como objetivo estudar a ação e os efeitos terapêuticos da aroeira no combate ao processo inflamatório, no processo de reparo do tecido sobre as lesões ulceradas da mucosa bucal do rato. Foram utilizados 50 *Rattus norvegicus* albinus, machos, os quais foram divididos em 2 grupos: grupo experimental e controle com 25 animais cada. Em seguida foram induzidas na língua dos animais as lesões ulceradas através da aplicação tópica diária de hidróxido de sódio a 40%. As lesões foram tratadas pela aplicação tópica do extrato da aroeira e foram sacrificados com a anestesia inalatória, utilizando éter etílico a 97% no 2º, 7º, 14º, 21º e 42º dias após o início do tratamento. Os grupos controles não receberam nenhum tipo de tratamento e os grupos experimentais foram tratados com o extrato da folha de *S. terebinthifolius*. Os resultados apontaram que no grupo tratado com aroeira, as úlceras mostraram fechamento epitelial acelerado, maior proliferação vascular e fibroblástica quando comparado ao grupo controle. Os autores concluíram que *S. terebinthifolius* mostrou ter efeito positivo no processo de reparo tecidual de lesões na mucosa oral de ratos.

E, por fim, cita-se o estudo de Scheibe et al. (2016) que avaliou o efeito de *S. terebinthifolius* e *Orbignya phalerata* Mart. (babaçu) na cicatrização de processo de cecorrafia em ratos. Foram utilizados 54 ratos, distribuídos em três grupos aleatoriamente: aroeira, babaçu e controle, os quais foram divididos em três subgrupos (seis animais) de acordo com o tempo das mortes (7, 14, 21 dias). Todos foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, cecotomia e cecorrafia. Os animais do grupo aroeira e babaçu receberam dose diária de 100 mg / kg de extrato hidroalcoólico e 50 mg / kg de extrato aquoso respectivamente, por gavagem. O grupo controle recebeu apenas solução salina. Os parâmetros avaliados foram: alterações macroscópicas, teste de resistência à insuflação de ar e alterações histológicas.

O estudo de Scheibe et al. (2016) mostrou que todos os animais apresentaram boa cicatrização sem infecção. Todos os grupos apresentaram aderências entre o ceco e órgãos vizinhos. A microscopia mostrou diferença significativa no padrão polimorfonuclear, hiperemia, angiogênese, proliferação de fibroblastos e variáveis histológicas do colágeno no

14º dia. Assim, os autores apontaram que o extrato hidroalcoólico de aroeira e o extrato aquoso de babaçu favoreceram o processo de cicatrização na cecorrafia em ratos.

Considerando a importância de *Schinus terebinthifolius* como uma espécie vegetal promissora para contribuir com o processo de cicatrização, apresenta-se no Capítulo I desta tese, uma revisão de literatura que aborda características químicas, etnomedicinais e atividades farmacológicas, a fim de justificar a escolha dessa espécie em vários estudos experimentais que visam a descoberta de novas substâncias ativas com atividade cicatrizante.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo de revisão de literatura da espécie vegetal *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) e avaliar a atividade cicatrizante em lesões da mucosa oral de ratos.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar um estudo de revisão de literatura sobre os aspectos etnomedicinais, perfil fitoquímico e farmacológico de *S. terebinthifolius*;
- Caracterizar quimicamente o extrato hidroalcoólico da casca do caule da aroeira;
- Testar através de estudo *in silico* constituintes químicos identificados no extrato hidroalcoólico da casca do caule de *S. terebinthifolius*;
- Avaliar a atividade cicatrizante do extrato hidroalcoólico da casca do caule de aroeira em lesões da mucosa oral de ratos.

4. CAPÍTULO I

Artigo que será submetido a Plant Biology

**Ethnomedicinal uses, phytochemical and pharmacological profile of
Schinus terebinthifolius Raddi**

Ethnomedicinal uses, phytochemical and pharmacological profile of *Schinus terebinthifolius* Raddi

Vanessa Romano Uchoa^{a,*}, Marilene Oliveira da Rocha Borges^b Ellen Caroline da Silva Moura^b, Andressa Grazielle Simões Silva^b, Antonio Luiz Amaral Pereira^a

^a *Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil*

^b *Laboratory of Research in Pharmacology, Department of Physiology, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil*

*Corresponding author at: Avenida Daniel de La Touche, Apartamento 611, Bloco 04, Ilha Parque, Cohama, São Luís, Maranhão, Brasil, CEP: 65074-115. Tel.: +55 098 99936775. *E-mail address*: uchoa.vanessa@hotmail.com (V.R. Uchoa).

Abstract

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae) is a plant widely distributed on the American continent that can be also found in Europe, Asia, Africa, and Oceania. This plant has great potential for exploration and commercial use because of its ornamental and nutritional value and health-promoting properties. In traditional medicine, the plant is used mainly as an anti-inflammatory and healing agent and to treat ulcers and infections. Characterization of its phytochemical profile showed a predominance of flavonoids and essential oils. *Schinus terebinthifolius* is a species that manifests promising pharmacological properties such as anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant effects. This review surveys the use of *S. terebinthifolius* in traditional medicine, as well as its pharmacological activity and chemical components. The results showed an extensive range of experimental studies verifying already documented pharmacological properties of *S. terebinthifolius* and determining its phytochemical profile. There is a need for studies addressing two main aspects, ethnomedicinal description and bioprospection, of the plant species investigated in this literature review.

Keywords: *Schinus terebinthifolius*. Traditional medicine. Chemical composition. Pharmacological properties

1. Introduction

Schinus terebinthifolius Raddi is a species of the family Anacardiaceae, commonly known as the Brazilian pepper tree (aroeira), aroeira-vermelha, aroeira-negra, aroeira-da-praia, aroeira de Minas (Brazil), Christmas-berry (Hawaii, Guam), false pepper or faux poivrier (French Riviera), chichita (Argentina), copal (Cuba), and Brazilian pepper (Puerto Rico) (Estevão et al., 2013; Morton, 1978). The scientific literature indicates that all parts of this species are used for the benefit of humans or of nature itself. The plant is widely used in traditional medicine for the treatment of diseases of the genitourinary system and respiratory tract, gastrointestinal disorders, skin and mucosal wounds, inflammation, pain, and fever. Phytochemical profiling identified the presence of flavonoids, tannins, essential oils, and saponins. Furthermore, studies have demonstrated anti-inflammatory, healing, antimicrobial, antifungal, antiparasitic, antioxidant, antiulcerogenic, anticancer, and antiallergic activities of this plant species. This aim of this review is to survey scientific data on the morphological, ecological, ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of *S. terebinthifolius* Raddi.

2. Methodology

For this review, the Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>), PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) and Scielo (<http://www.scielo.org/php/index.php>) databases were searched using a combination of the descriptors: (*Schinus terebinthifolius*) AND (plant morphology), (*Schinus terebinthifolius*) AND (ecology), (*Schinus terebinthifolius*) AND (medicinal plant), (*Schinus terebinthifolius*) AND (traditional medicine), (*Schinus terebinthifolius*) AND (chemical composition), (*Schinus terebinthifolius*) AND (pharmacological activity). The search of all databases retrieved 963 articles (first stage of the search). In the second stage, the inclusion and exclusion criteria were applied. The inclusion criteria adopted were: articles published in a complete, in the Portuguese, English and Spanish languages,

containing the name of the studied species (*Schinus terebinthifolius*) in the title, in accordance with the proposed objective and the descriptors and/or keywords listed in the previously validated protocol. Articles that were in more than one database were considered duplicates and automatically deleted, such as were excluded the articles that did not report as objectives the description of chemical components or morphological, geographic, medicinal and pharmacological characteristics of the plant studied. After reading the abstracts, 64 articles that met the initially proposed criteria were selected for full-text reading and these articles contained relevant information to compose this review (Figure 1). No restrictions regarding the publication date were established.

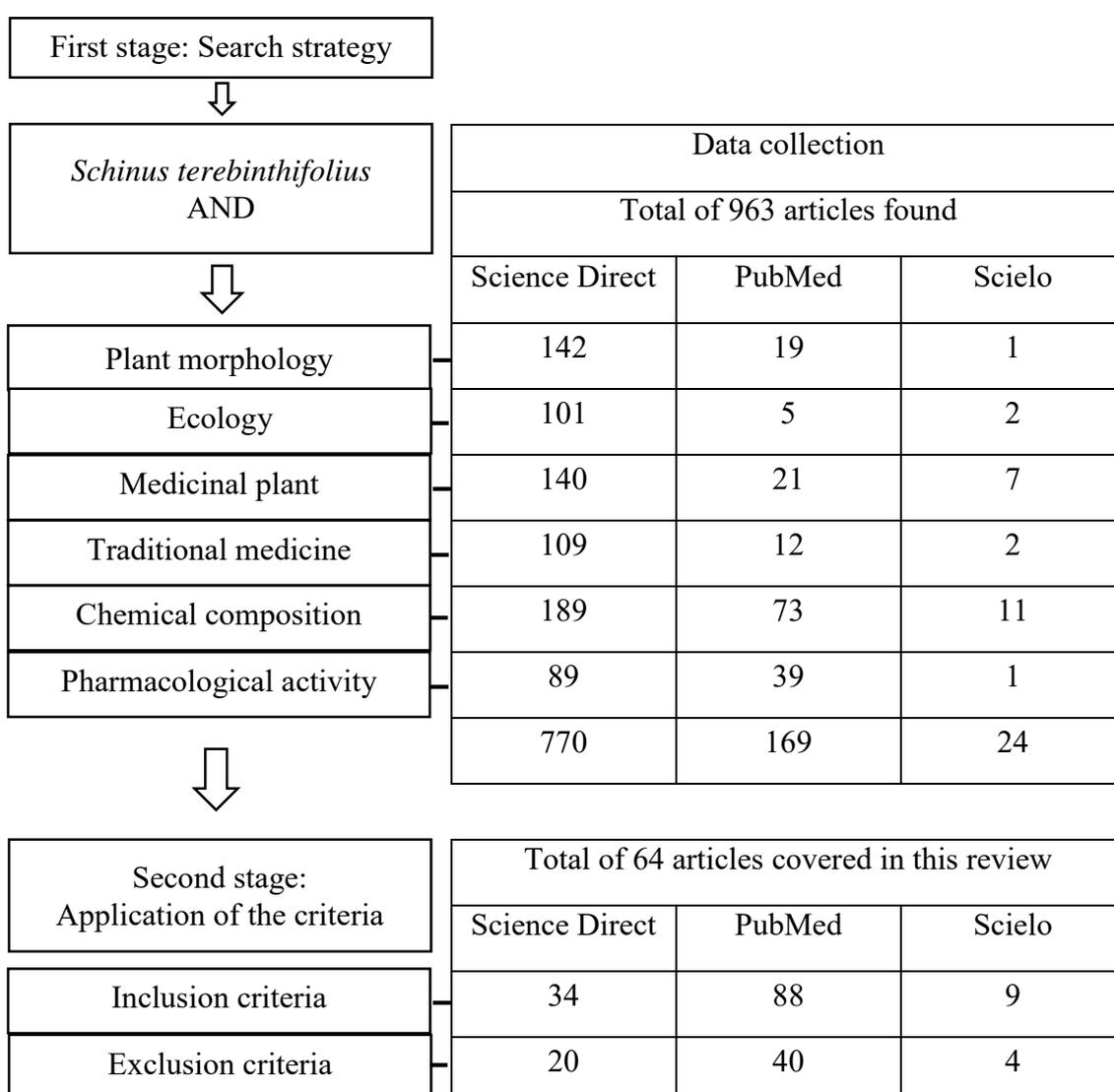


Figure 1 - Collection and analysis of data flowchart

3. Taxonomic, morphological, and eco-geographical features

Schinus terebinthifolius belongs to the kingdom Plantae, division Tracheophyta, class Magnoliopsida, order Sapindales, and family Anacardiaceae (Alves et al., 2013). It is a tall and dioecious tree with a thin and scaly bark that can reach a height of 4 to 10 m. The leaves are composed of lanceolate leaflets pointed at each end. The plant develops numerous, small, white or yellow-green flowers arranged in pedicles. The fruits are red, fleshy drupes that hang in clusters and whose smell resembles that of pepper (Bendaoud et al., 2010; Coutinho et al., 2006; Queires et al., 2006).

The plant is native to Brazil and is widely distributed in the northeast, mid-west, southeast and southern regions of the country (Estevão et al., 2015; Santos et al., 2012). It also occurs naturally in Paraguay and Argentina (Cole et al., 2014). In addition to the American continent, *S. terebinthifolius* can also be found in Europe, Asia, Africa, and Oceania (Coutinho et al., 2006; Santos et al., 2012).

Schinus terebinthifolius is used as an ornamental plant (Bendaoud et al., 2010) and for environmental reforestation and restoration and repair of riparian vegetation (Bulla et al., 2015). The fruits have a spicy taste and are used in syrups, vinegar and beverages in Peru, as well as in Chilean wines. They are also used as a pepper substitute or as an adulterant of black pepper (*Piper nigrum*) (El-Massry et al., 2009).

This plant has a great potential for exploration and commercial use (B. G. da Silva et al., 2017) because of its ornamental and nutritional value and health-promoting properties (Cavalher-Machado et al., 2008).

4. Ethnomedicinal uses

Thirty-nine (60.9%) of the 64 articles retrieved in this review reported information about the traditional use of the pepper tree. It should be noted that none of the included articles had as an objective to investigate the use of *S. terebinthifolius* in traditional medicine. The data collected were available in the introduction section of the articles. The same article cited more than one type of traditional therapeutic application (Table 1).

The literature reports data on the use of all parts of *S. terebinthifolius* in traditional medicine, particularly the bark, leaves and fruits (Affonso et al., 2012; El-Massry et al., 2009; Martínez Guerra et al., 2000; Piccinelli et al., 2015), for the treatment of different diseases (Dannenberget al., 2016; Santos et al., 2012; Silva et al., 2017). The main

traditional indications of Brazilian pepper tree include its use as anti-inflammatory and healing agent, as shown in Table 1. This application was cited in 29 (45.3%) of the articles included in this study. The plant is commonly used by the population for the care of skin wounds and ulcers, reported in 20 (31.5%) of the articles analyzed, and to treat respiratory disorders and infectious diseases, cited in 18 (28.1%) and 17 (26.6%) publications, respectively. In addition, the plant is also frequently used in traditional medicine to treat gastrointestinal (gastritis, diarrhea) (Rosas et al., 2015), genitourinary (uterine hemorrhage, cervicitis, and genital discharge) (Carvalho et al., 2013). These applications were cited in at least 16 (25.0%) of the studies included in this review. The pepper tree is also used in traditional medicine to treat fever, pain, hemostatic disorders, rheumatic diseases, arthritis, and tumors (Table 1).

In general, traditional medicine uses the leaves, bark and flowers of *S. terebinthifolius* administered in the form of teas (infusion or decoction) and oils are extracted from the bark and fruits (Carvalho et al., 2013; El-Massry et al., 2009; Estevão et al., 2017; Gomes et al., 2012; Rosas et al., 2015; Santos et al., 2013; M. M. da Silva et al., 2017).

The way plant species are used in traditional medicine determines the execution of laboratory studies, either to identify and/or isolate chemical compounds or to test the therapeutic potential reported/used by the population. Within this context, as can be seen in Table 2, phytochemical studies focus on plant parts and on the substances obtained by popular practices (extracts and oils in the case of the Brazilian pepper tree). Thus, further studies whose main objective is the ethnomedicinal use of *S. terebinthifolius* are needed since this important approach for science was not addressed in the articles included in this review.

5. Correlation phytochemical profile and biological activity

The therapeutic potential of medicinal plants is based on the presence of active principles that are able to produce different pharmacological effects (Scheibe et al., 2016). It should be emphasized that many medicinal properties of the Brazilian pepper tree can be attributed to different polyphenols that are not evenly distributed across the diverse organs of the plant (Santos et al., 2012).

The present review showed that the identification/isolation of the chemical compounds of *S. terebinthifolius* was an objective of a large number of studies, with 38

(59.4%) articles describing the phytochemical profile of the plant. Regarding the plant material analyzed, 17 (26.6%) articles used leaves, 17 (26.6%) used fruits/berries, and 5 (7.8%) used the bark/stem. Three studies analyzed more than one plant part, fruits and leaves (dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Gomes et al., 2020) and leaves and stem (Johann et al., 2010) (Table 2).

Analysis of the phytochemical profile of *S. terebinthifolius* revealed the presence of simple phenolic compounds, flavonoids, and tannins (Bernardes et al., 2014; El-Massry et al., 2009; Linden et al., 2020; V. S. Oliveira et al., 2020b; Sereniki et al., 2016; Uliana et al., 2016), essential oils (Affonso et al., 2012; Santos et al., 2013; Silva et al., 2010), and steroids, triterpenes, anthraquinones and saponins (Barbieri et al., 2014; Morais et al., 2014; Nunes-Neto et al., 2017; Vieira et al., 2015). The Brazilian Pharmacopoeia (1988) indicates the use of the pepper tree bark, but studies reveal that other parts of the plant such as leaves and fruits can also be a source of biologically active substances (Carvalho et al., 2013; El-Massry et al., 2009). This information is given in Table 2.

Tannins, one of the main compounds found in the pepper tree bark, exhibit diverse biological activities, such as anti-inflammatory, antimicrobial and anticancer activity. These effects are explained by the ability of these compounds to chelate metal ions and to form complexes with macromolecules such as proteins and polysaccharides, as well as by their antioxidant effects (Alves et al., 2012; Carvalho et al., 2013; Gomes et al., 2012).

Flavonoids, chemical compounds found in large amounts in the leaves of *S. terebinthifolius*, are effective antioxidants because of their free radical-scavenging and metal ion-chelating properties (R. F. Oliveira et al., 2020; V. S. Oliveira et al., 2020b). In addition, flavonoids exert antiallergic/antihistaminic activity whose probable mechanism of action is the direct interaction with histamine H1 receptors (Bernardes et al., 2014; El-Massry et al., 2009; Nunes-Neto et al., 2017; Rocha et al., 2018; M. M. da Silva et al., 2017), and anti-inflammatory effects by acting as competitive inhibitors of phospholipase (Alves et al., 2012; Ceruks et al., 2007; Jain et al., 1995; Uliana et al., 2016), and help control oxidative stress, postprandial hyperglycemia and the main symptoms of diabetes, by anti-glycation activity of the extracts of aroeira was shown by the decreased glycation via fructose and glyoxal and inhibited α -glycosidase activity (Rocha et al., 2019). The substances isolated from ethanolic extracts of *S. terebinthifolius* that exhibit these properties include gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, methyl gallate, ethyl gallate,

myricetin, myricitrin, quercetin, catechin, and epi-catechin (Cavalher-Machado et al., 2008; Ceruks et al., 2007; Sereniki et al., 2016; Rocha et al., 2019; Uliana et al., 2016).

Essential oils were the main compounds identified in pepper tree fruits (dos Santos Cavalcanti et al., 2015). These compounds exhibit antimicrobial and anti-inflammatory activities (Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2016; Estevão et al., 2017), as well as promising antioxidant, anticancer (Bendaoud et al., 2010; Dannenberg et al., 2016), antihyperalgesic and antidepressant effects (Piccinelli et al., 2015). Some substances associated with these effects are (R)-(+)- and (R)-(+)-limonene, α -phellandrene, δ -3-carene, α -pinene, and germacrene-D (dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; B. G. da Silva et al., 2017; Uliana et al., 2016). A recent study identified the presence of phenolic compounds, gallic acid, catechin, epicatechin, p-coumaric acid, resveratrol, in the peel of the fruit and in its entirety (M. B. S Oliveira et al., 2020) (Table 2).

Substances found in pepper tree extracts that exhibit antimicrobial activity include *cis*- β -terpineol, citronellal, neo-3-thujanol, neo-3-thujyl acetate, methyl citronellate, caryophyllene alcohol (El-Massry et al., 2009), 3 β -masticadienolic acid, masticadienonic acid, E- and Z-masticadienoic, schinol, 4'-ethyl-4-methyl-2,2',6,6'-tetrahydroxy[1,1'-biphenyl]-4-4'-dicarboxylate (Johann et al., 2010; Morais et al., 2014; Vieira et al., 2015), p-cymen-7-ol, 9-epi-(E)-caryophyllene, carvone, verbenone (Silva et al., 2010), quercetin (Uliana et al., 2016), and δ -3-carene (Cole et al., 2014) (Table 2).

It is important to note that flavonoids isolated from the pepper tree stem bark have genotoxic properties since they are able to generate reactive oxygen species that can damage DNA (Dantas De Carvalho et al., 2003; Varela-Barca et al., 2007). In contrast, no genotoxic but important chemopreventive activity was found for the methanolic extract of *S. terebinthifolius* leaves, which is indirectly correlated with the prevention and/or treatment of degenerative diseases such as cancer (Fedel-Miyasato et al., 2014a). One study showed that α -pinene isolated from *S. terebinthifolius* was able to induce apoptosis and to confer antimetastatic protection against melanoma (Matsuo et al., 2011). The antiproliferative effect of polyphenols purified from the Brazilian pepper tree was demonstrated by the inhibition of DU145 cell proliferation (Queires et al., 2006).

S. terebinthifolius has shown photoprotective activity probably related to the presence of substances such as phenolic gallic acid, catechin, epicatechin, p-coumaric acid and resveratrol, so that this last one has been described for the first time in this species (M. B. S Oliveira et al., 2020).

6. Pharmacology activity

S. terebinthifolius many pharmacological properties have been studied. As its demonstrated usage as empirical form (Table 1), it is possible to corroborate that many parts of this plant species (bark, leaves, fruits) are being used under scientific research in order to confirm its own pharmacological effects. Among the articles displayed on this review, studies about anti-inflammatory, healing, antimicrobial and antioxidant activities, photoprotective and antiviral potential have been verified (Table 3).

6.1 Anti-Inflammatory and healing activities

Among the diverse medicinal properties of *S. terebinthifolius*, its anti-inflammatory and healing activities are possibly the most extensively studied (Castelo Branco Neto et al., 2006; Estevão et al., 2017, 2013; Fedel-Miyasato et al., 2014b; Jain et al., 1995; Lucena et al., 2006; Nunes Jr. et al., 2006). Many studies on this species have tested its antiphlogistic potential in a range of models. For example, the healing process of gastric (Santos et al., 2012) and bladder sutures (Lucena et al., 2006) was studied in rats, in which application of a hydroalcoholic extract of the pepper tree favored the healing of the stomach and bladder of the animals, respectively. Another study observed improvement in the healing of colon anastomoses in rats (Coutinho et al., 2006).

The methanolic extract of *S. terebinthifolius* exhibited an anti-inflammatory effect similar to that of dexamethasone on edema reduction (M. M. da Silva et al., 2017) and healing activity similar to that observed for collagenase in skin wounds of rats (Fedel-Miyasato et al., 2014b). An ointment containing 5% pepper tree essential oils favored tissue repair in cutaneous wounds of rats. Wound contraction was observed on postoperative day 14 in the treated group. During this period, three wounds were re-epithelized and two were almost completely re-epithelized (Estevão et al., 2013). In addition, there was an increase in the concentration of mast cells (Estevão et al., 2015).

A significant anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of *S. terebinthifolius* leaves was demonstrated in an experimental model of zymosan-induced inflammation (Rosas et al., 2015). The anti-inflammatory potential of the methanolic extract of pepper tree was also evaluated *in vitro* focusing on two important aspects: the inhibition of nitric oxide production by macrophages and the ability to eliminate free radicals. The authors observed the inhibition of nitric oxide production by LPS-stimulated

macrophages and high antioxidant activity. The combination of these activities may contribute to the anti-inflammatory activity described for *S. terebinthifolius* (Bernardes et al., 2014).

6.2 Antimicrobial activities

The antibacterial potential of *S. terebinthifolius* was tested by several researchers who found *in vitro* activity against *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc cremoris*, *Listeria innocua*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium sporogenes*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Escherichia coli*, *Beneckea natriegens*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus intermedius*, *Shigella dysenteriae*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium* sp., *Bacillus* sp., *Nocardia* sp., *Gardnerella*, and *Mobiluncus* (Barbieri et al., 2014; Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2019; El-Massry et al., 2009; Gomes et al., 2012; Gomes et al., 2020; Leite et al., 2011; Linden et al., 2020).

The antifungal activity of *S. terebinthifolius* was demonstrated by some studies that identified fungistatic and/or fungicidal effects, particularly against the genera *Candida* (*Candida tropicalis*, *Candida albicans*) and *Aspergillus* (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*). This activity is probably due to the inhibition of fungal cell wall formation (Alves et al., 2013, 2012; Barbieri et al., 2014; Johann et al., 2010; Martínez Guerra et al., 2000). In addition to antibacterial and antifungal activity, *S. terebinthifolius* also exerts antiparasitic activity against *Leishmania (L.) infantum* and *Trypanosoma cruzi* (Morais et al., 2014). The results of a study investigating the use of an alcoholic extract prepared from the inner bark of Brazilian pepper tree as natural local antiseptic against severe peritonitis in Wistar rats were very promising (Melo et al., 2014).

6.3 Photoprotective and antiviral potential

A study investigating the crude extract of *S. terebinthifolius* leaves showed UV absorption capacity of the extract, with photoprotective potential in the UVB region (Bulla et al., 2015). Furthermore, the pepper tree extract was found to reduce tyrosinase activity *in vitro* and the combination of this extract with linoleic acid decreased the level

of melanin produced by B16 cells cultured with melanocyte-stimulating hormone (Jorge et al., 2012).

Lately, it was discovered that the ethanolic extracts of the peel and whole fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi represents a low or absent toxicity to the placenta. Moreover, these extracts have demonstrated good inhibitory effects on the infection of the trophoblastic cells by Zika virus, thus being considered a therapeutic alternative for pregnant women. This research also shows relevant data concerning photo protector potential by the mentioned plant extracts. The essences which were composed by the extracts low concentrations have presented a protection factor (SPF) that matches the benzophenone 3 standards, the same used for sun protector commercial brands (M. B. S Oliveira et al., 2020).

6.4 Antioxidant activities

Concerning the pink pepper fruit, during the last year, studies have been conducted (R. F. Oliveira et al., 2020; V. S. Oliveira et al., 2020b), showing this plant's remarkable role as a natural antioxidant, besides a promising future for its use as an asset for the catering sector, because of its properties in reducing or prevent lipid oxidation (V. S. Oliveira et al., 2020a).

Aroeira fruit's antioxidant property has already been tested and corroborated by various assays, as mentioned above. More recently, written studies have presented *in vitro* and *in vivo* experimental data about these *S. Terebinthifolius* biological properties. Different antioxidant assays (DPPH, oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and β -carotene/linoleic acid) were performed and demonstrated the redox potential of the materia tested by different methods. Furthermore, *in vivo* experiments that used *Saccharomyces cerevisiae* strain have pointed out that although cells were extremely sensitive to H_2O_2 stress, Aroeira fruit greatly increased *S. cerevisiae* survival. These results confirm the ability of aroeira extracts to decrease the damage caused by oxidative stress promoted by hydrogen peroxide (V. S. Oliveira et al., 2020a).

Through fresh frozen pork sausage experiments added to 1% aqueous extract of *S. terebinthifolius* seeds, taking into account the length of freezing time as a factor, it was possible to prove the effectiveness to retard lipid per-oxidation, thus keeping the studied product quality intact (R. F. Oliveira et al., 2020). Another assay that took into account the aroeira following preparations: fish oil with ground Aroeira fruit 0,2%, and fish oil

with ground aroeira fruit 0,5%, after heating temperatures from 150 to 180 degrees Celsius, found evidence that fatty acid degradation was much higher in control samples than in the presence of butylated hydroxitoluene (BHT) and aroeira fruit, demonstrating that both antioxidants provided a protective effect. Besides that, this research indicates the potential application of aroeira fruit as a natural inhibitor of cholesterol and polyunsaturated fatty acids thermo-oxidation by the food industry (V. S. Oliveira et al., 2020b).

Recent literature still presents an assay which has evaluated the anti-amnestic and antioxidant effects presented by the *S. terebinthifolius* fruit essential oil extract under a deficit model induced by scopolamine on the zebrafish (*Danio rerio*). Through this experiment, it has been observed an improvement on the cholinergic memory modulation, acetylcholinesterase activity inhibition (AChE), on the antioxidant properties, reduction of oxidative stress on the fish brain (Todirascu-Ciornea et al., 2019).

Overall, the data showed that *S. terebinthifolius* extracts are microbiologically safe and these extracts, particularly the MESL, help control oxidative stress, postprandial hyperglycemia and the main symptoms of diabetes. This action is most likely mediated by their chemical constituents, such as gallic acid, gallotannins and glycosylated flavonols.

7. Bioprospection of *S. terebinthifolius*

Due to its various biological properties, aroeira has presented a high potential for its usage under research for pharmaceutical bioprospecting. Among those quoted, there is one recently conducted study, which has analyzed the elaboration of a healing formulation using PLDLA-TMC (L-co-D,L-lactic acid-cotrimethylene carbonate) added to *S. terebinthifolius* Raddi extract (S.T.R.) under 5, 10, 20 and 50% concentrations. Many previous tests were conducted, which has led to the *in vivo* evaluation of the PLD-LA-TMC + 50% S.T.R. on Wistar rats provoked burns. Throughout this analyzes, the study suggests that the *in vivo* tested formulation is efficient to be utilized in therapeutics for treating the injured skin by suppressing inflammation, stimulating reepitheliazation and dermal recovery, and subsequently reducing the wound healing period (Komatsu et al., 2019).

As demonstrated, *S. terebinthifolius* exhibits a range of pharmacological effects that are associated, in particular, with flavonoids and essential oils found in the bark,

leaves and fruits of this species. The Brazilian pepper tree is part of the National List of Medicinal Plants of Interest to the National Health System (RENISUS) and of the National List of Herbal Medicines (RENAFITO) published by the Brazilian Ministry of Health. A gel containing the aqueous extract of the Brazilian pepper tree as active principle, marketed by Hebron Laboratory under the commercial name Kronel[®], has been available since 1999 for the treatment of cervicitis, vaginitis, and cervicovaginitis (Torres et al., 2016).

8. Conclusion and perspectives

The phytochemical aspects and biological activities of the Brazilian pepper tree have been extensively studied. However, most studies have focused on flavonoids and essential oils identified in extracts prepared from the bark, leaves, and fruits. We highlight the need for studies addressing other previously identified chemical compounds such as tannins and saponins, as well as those determining the phytochemical composition and pharmacological effects of the flowers of this species. The current scientific literature also lacks studies whose main objective is the ethnomedicinal application of *S. terebinthifolius* as this species is known to be widely used in traditional medicine. Another important aspect is the need to further explore the bioprospection potential of this species in order to increase the availability of commercial phytotherapeutic pharmaceuticals of *S. terebinthifolius*.

Table 1Ethnomedicinal use of *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Therapeutic indication	No. of citations	References
Anti-inflammatory, healing	29	Affonso et al., 2012; Alves et al., 2013, 2012; Barbieri et al., 2014; Bendaoud et al., 2010; Bernardes et al., 2014; Bulla et al., 2015; Carvalho et al., 2013; Cavalher-Machado et al., 2008; Dantas De Carvalho et al., 2003; Ennigrou et al., 2017; Estevão et al., 2017, 2015; Fedel-Miyasato et al., 2014a,b; Feuereisen et al., 2017; Gomes et al., 2020; Jorge et al., 2012; Morais et al., 2014; Nunes-Neto et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; R. F. Oliveira et al., 2020; Richter et al., 2010; Rocha et al., 2018; Rosas et al., 2015; Santos et al., 2012; Sereniki et al., 2016; M. M. da Silva et al., 2017; Uliana et al., 2016
Ulcers, wounds	20	Affonso et al., 2012; Alves et al., 2013; Barbieri et al., 2014; Carvalho et al., 2013; Estevão et al., 2013; Fedel-Miyasato et al., 2014a,b; Gomes et al., 2012; Lima et al., 2009; Martínez Guerra et al., 2000; Morais et al., 2014; V. S. Oliveira et al., 2020a; Piccinelli et al., 2015; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Rosas et al., 2015; Sereniki et al., 2016; M. M. da Silva et al., 2017; Uliana et al., 2016; Vieira et al., 2015
Respiratory disorders	18	Bendaoud et al., 2010; Bulla et al., 2015; Carvalho et al., 2013; Ennigrou et al., 2017; Estevão et al., 2015, 2013; Fedel-Miyasato et al., 2014a; Gomes et al., 2012; Lima et al., 2009; Morais et al., 2014; R. F. Oliveira et al., 2020; V. S. Oliveira et al., 2020a; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Santos et al., 2013; Sereniki et al., 2016; Silva et al., 2010; Uliana et al., 2016

Infections	17	Affonso et al., 2012; Alves et al., 2013, 2012; Barbieri et al., 2014; Carvalho et al., 2013; Dannenberg et al., 2019; Estevão et al., 2015, 2013; Fedel-Miyasato et al., 2014a,b; Gomes et al., 2020; Lima et al., 2009; Morais et al., 2014; Nunes-Neto et al., 2017; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Sereniki et al., 2016
Gastrointestinal problems	16	Affonso et al., 2012; Alves et al., 2013; Carvalho et al., 2013; Estevão et al., 2013, 2015, 2017; Fedel-Miyasato et al., 2014a; Gomes et al., 2012; Jorge et al., 2012; Martínez Guerra et al., 2000; Morais et al., 2014; Nunes-Neto et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Rosas et al., 2015
Genitourinary tract problems	16	Affonso et al., 2012; Alves et al., 2013; Carvalho et al., 2013; Cavalher-Machado et al., 2008; Ennigrou et al., 2017; Estevão et al., 2017, 2013; Fedel-Miyasato et al., 2014a; Gomes et al., 2012; Martínez Guerra et al., 2000; V. S. Oliveira et al., 2020a; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Rosas et al., 2015; Santos et al., 2013; Uliana et al., 2016
Fever	10	Affonso et al., 2012; Bernardes et al., 2014; Carvalho et al., 2013; Cavalher-Machado et al., 2008; Ennigrou et al., 2017; Estevão et al., 2017; Feuereisen et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; Rosas et al., 2015; Santos et al., 2013
Pain	8	Affonso et al., 2012; Carvalho et al., 2013; Cavalher-Machado et al., 2008; Ennigrou et al., 2017; Estevão et al., 2017; Feuereisen et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; Rosas et al., 2015
Hemostatic disorders	7	Affonso et al., 2012; Lima et al., 2009; Nunes-Neto et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; Santos et al., 2012; Sereniki et al., 2016; Uliana et al., 2016

Rheumatic diseases	7	Affonso et al., 2012; El-Massry et al., 2009; Gomes et al., 2012; Lima et al., 2009; Morais et al., 2014; V. S. Oliveira et al., 2020a; Uliana et al., 2016
Arthritis	6	Fedel-Miyasato et al., 2014a; Lima et al., 2009; Morais et al., 2014; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Sereniki et al., 2016; Vieira et al., 2015
Tumors	5	Fedel-Miyasato et al., 2014a; Lima et al., 2009; Morais et al., 2014; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019; Santos et al., 2013

Table 2Chemical composition of *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Part used	Chemical composition	References
Bark/stem	<i>Phenolic compounds</i> catechin; gallic acid Flavonoids ellagic acid; epicatechin 4'-ethyl-4-methyl-2,2',6,6'-tetrahydroxy[1,1'-biphenyl]- 4,4'-dicarboxylate; kaempferol; quercetin cinnamic acid derivates; saponins; triterpenoids/steroids; monoterpenes/sesquiterpenes amentoflavone; dihydroamentoflavone; tetrahydroamentoflavone	Lima et al., 2009; Nunes-Neto et al., 2017; Sereniki et al., 2016 Lima et al., 2009; Rocha et al., 2019; Varela-Barca et al., 2007 Nunes-Neto et al., 2017; Sereniki et al., 2016 Johann et al., 2010 Lima et al., 2009 Varela-Barca et al., 2007
Leaves	<i>Phenolic compounds</i> gallic acid methyl gallate 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose coumaric acid caffeic acid quercetin apigenin	Bulla et al., 2015; Cavalher-Machado et al., 2008; El-Massry et al., 2009; Jorge et al., 2012; Rocha et al., 2019; Rosas et al., 2015; Uliana et al., 2016 Cavalher-Machado et al., 2008; Rosas et al., 2015; M. M. da Silva et al., 2017 Cavalher-Machado et al., 2008; Rosas et al., 2015 El-Massry et al., 2009; Fedel-Miyasato et al., 2014b El-Massry et al., 2009; Queires et al., 2006; Fedel-Miyasato et al., 2014b; Uliana et al., 2016 Fedel-Miyasato et al., 2014b; Morais et al., 2014; Queires et al., 2006; Rosas et al., 2015; M. M. da Silva et al., 2017; Uliana et al., 2016 Fedel-Miyasato et al., 2014b; Queires et al., 2006; Uliana et al., 2016

luteolin	Fedel-Miyasato et al., 2014b; Rosas et al., 2015; M. M. da Silva et al., 2017
tannins	Gomes et al., 2012; Jorge et al., 2012; Rocha et al., 2018
kaempferol	Johann et al., 2010; Queires et al., 2006; Rosas et al., 2015
ethyl gallate	Bulla et al., 2015
catechin; ellagic acid; syringic acid	El-Massry et al., 2009
citric acid; quinic acid; eriodictyol; isoquercitrin; quercitrin;	Queires et al., 2006
resveratrol; rutin	
4- <i>O</i> -methyl gallic acid; tri- <i>O</i> -galloyl hexoside; myricetin <i>O</i> -hexoside; myricetin <i>O</i> -hexosyldeoxyhexoside; myricetin <i>O</i> -hexosyldeoxyhexoside; myricetin <i>O</i> -pentoside; tetra- <i>O</i> -galloyl hexoside; myricetin <i>O</i> -deoxyhexoside; quercetin <i>O</i> -hexoside; methyl digallate; quercetin <i>O</i> -pentoside; kaempferol <i>O</i> -hexoside; penta- <i>O</i> -galloyl hexoside; quercetin <i>O</i> -deoxyhexoside; kaempferol <i>O</i> -pentoside; hexa- <i>O</i> -galloyl hexoside; myricetin <i>O</i> -galloyl <i>O</i> -deoxyhexoside; kaempferol <i>O</i> -deoxyhexoside	Rocha et al., 2019
agathisflavone; α -amyrin; β -amyrin; epicatechin; lupeol	Rosas et al., 2015
1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -gallooyl- β -glucopyranoside; quercetrin;	M. M. da Silva et al., 2017
robustaflavone	
chlorogenic acid; ferulic acid; rosmarinic acid	Uliana et al., 2016
<i>Essential oils</i>	
schinol	Johann et al., 2010; Morais et al., 2014
α -humulene	Richter et al., 2010; Santos et al., 2013
β -bourbonene; δ -3-carene; β -cubebene; β -selinene	Santos et al., 2013; Uliana et al., 2016
α -cubebene; α -terpineol	Santos et al., 2013; Silva et al., 2010
α -pinene	dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Santos et al., 2013; Uliana et al., 2016
germacrene-D; β -pinene	dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Santos et al., 2013

caryophyllene oxide; limonene (E)-masticadienoic acid; (Z)-masticadienoic acid β-caryophyllene; eucalyptol; tricyclene bornyl acetate; alloaromadendrene; aromadendrene; bomeol; γ-calacorene; α-cadinene; (E)-β-caryophyllene; caryophyllene oxide; α-cymene; curzerenone; β-elemene; δ- elemene; spathulenol; α-phellandrene; β-myrcene; (E)- ocimene; (Z)-ocimene; 3-octanol; 1-octen-3-ol; sabinene; α- terpinene; γ-terpinene	Silva et al., 2010; Uliana et al., 2016 Morais et al., 2014 dos Santos Cavalcanti et al., 2015 Santos et al., 2013
aristolone; α-bulnesene; α-cadinol; 9-epi-(E)-caryophyllene; β-chamigrene; α-campholenal; carvone; <i>p</i> -cymen-7-ol; <i>m</i> - cymen-8-ol; <i>p</i> -cymen-8-ol; <i>m</i> -cymenene; <i>o</i> -cymene; β- dehydro-Eelsholtzione; neo-dihydro carveol acetate; 2,5- dimethyl styrene; β-eudesmol; γ-himachalene; iso- longifolene; <i>trans</i> -limonene oxide; myrcenol; <i>cis</i> -muurola- 4(14),5-diene; γ-muurolene; perillene; spathulenol; α- terpinen-7-ol; <i>cis</i> -verbenol; <i>trans</i> -verbenol; verbenone	Silva et al., 2010
amorpha-4,11-diene α-humulene; γ-amorphene; γ-cadinene; cariolan-8-ol; <i>E</i> -caryophyllene; cyclosativene; α-copaene; γ-cuprenene; 7-epi-α-selinene; dauca-5,8-diene; α-guaiene; <i>cis</i> -β-guaiene; γ-gurjunene; myrcene; <i>cis</i> -limonene oxide; β-himachalene oxide; linalool; <i>p</i> -mentha-1,5-dien-8-ol; β- ocimene; piperitone; sabina dihydro ketone; β-selinene; <i>g</i> - terpinene; terpinolene; zonarene	Uliana et al., 2016
<i>Steroid</i> sitosterol-3-O-β-glucopyranoside	M. M. da Silva et al., 2017

γ -terpinene	Affonso et al., 2012; Bernardes et al., 2014; Ennigrou et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
elemol	Affonso et al., 2012; Bendaoud et al., 2010
β -pinene	Affonso et al., 2012; Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Todirascu-Ciornea et al., 2019
terpinolene	Affonso et al., 2012; Ennigrou et al., 2017; B. G. da Silva et al., 2017
<i>p</i> -cymene; α -thujene	Affonso et al., 2012; Bendaoud et al., 2010; Ennigrou et al., 2017
γ -cadinene	Affonso et al., 2012; Bendaoud et al., 2010; Dannenberg et al., 2019; Ennigrou et al., 2017
camphene; α -terpinene	Affonso et al., 2012; Ennigrou et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
β -myrcene	Affonso et al., 2012; Dannenberg et al., 2019; Ennigrou et al., 2017
α -phellandrene	Affonso et al., 2012; Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010; B. G. da Silva et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
germacrene-D	Affonso et al., 2012; Bendaoud et al., 2010; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010; B. G. da Silva et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
limonene	Affonso et al., 2012; Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Piccinelli et al., 2015; Richter et al., 2010; B. G. da Silva et al., 2017
<i>E</i> -caryophyllene; terpineol-4	Affonso et al., 2012; Cole et al., 2014
α -pinene	Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Matsuo

sabinene	et al., 2011; Richter et al., 2010; B. G. da Silva et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
α -terpineol; terpinen-4-ol	Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; B. G. da Silva et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
α -copaene	Bendaoud et al., 2010; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Santos et al., 2013
β -caryophyllene	Bendaoud et al., 2010; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010
γ -muurolene	Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Santos et al., 2013
α -muurolene	Bendaoud et al., 2010; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015
δ -cadinene	Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; Dannenberg et al., 2019; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010
germacrene-B	Bendaoud et al., 2010; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010; Todirascu-Ciornea et al., 2019
spathulenol	Bendaoud et al., 2010; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017
δ -3-carene	Bendaoud et al., 2010; Cole et al., 2014; Ennigrou et al., 2017; B. G. da Silva et al., 2017
α -cadinol	Bendaoud et al., 2010; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017
β -elemene	Bendaoud et al., 2010; Dannenberg et al., 2019; Richter et al., 2010

alloaromadendrene; aromadendrene; α -cadinene; caryophyllene oxide; cubenol; α -cubebene; p-cymen-8-ol; γ -elemene; linalool; β -patchoulene; piperitone; α -ylangene β -cubebene	Bendaoud et al., 2010; Ennigrou et al., 2017
β -phellandrene	Bendaoud et al., 2010; Dannenberg et al., 2019; Ennigrou et al., 2017 Bernardes et al., 2014; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010; Todirascu-Ciornea et al., 2019 Jain et al., 1995; Vieira et al., 2015
masticadienonic acid; 3 β -masticadienolic acid; oleanolic acid copaene; γ -caryophyllene; α -caryophyllene; β -farnesene; δ - cadinol T-cadinol α -gurjunene α -humulene	Dannenberg et al., 2019 Dannenberg et al., 2019; Ennigrou et al., 2017; Dannenberg et al., 2019; Richter et al., 2010 dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2017; Richter et al., 2010 Affonso et al., 2012
α -fenchene; α -humullene; β -isosylvestrene; mentha-1(7),8- diene<meta> β -bisabolene; β -bourbonene; carveol; α -cedrene; α - chamigrene; p-cymen-7-ol; dihydrocarveol; E, E-farnesal; Z, E-farnesal; grandisol; gurjunene; β -gurjunene; α - himachalene; lineatin; longifolene; methyl octanoate; ocatne; (Z)- β -ocimene; platambin; pinocarvone; α -santalol; 10-undecenal; verbenone α -terpinolene borneol; epi- α -cadinol; E, E- α -farnesene; isoterpinolene; myrcene o-cymene fusidic acid; ganoderic acid; helvolic acid; ursolic acid (E)-bisabol-ol-11; cis-cadinen-4-em-7-ol; tau-cadinol; tau- muurolol	Bendaoud et al., 2010 Bendaoud et al., 2010 Bendaoud et al., 2010; Todirascu-Ciornea et al., 2019 Cole et al., 2014 Cole et al., 2014; Todirascu-Ciornea et al., 2019 Jain et al., 1995 dos Santos Cavalcanti et al., 2015

caryophyllene; β -myrcene
 alloaromadendrene
 thujene; α -myrcene; decane; *dl*-limonene; α -ocimene; *cis*-sabinene hydrate; undecane; *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol; *trans*-1-methyl-4-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-ol; isoborneol; α -terpinyl acetate; 10-*epi*-*c*-eudesmol
 moronic acid
 β -atlantol; bicyclogermacrene; bulnesol; *trans*-cadina-1,4-diene; carvone; carvotanacetone; citronellyl acetate; citronellol; α -copaene; β -copaene; δ -cuprenene; cryptone; *p*-cymenene; daucene; 10-*epi*- γ -eudesmol; ethyl benzoate; eudesm-4(15).7-dien-1- β -ol; α -eudesmol; γ -eudesmol; fokienol; geranyl acetate; globulol; guaiol; isodene; isospathulenol; humulene epoxide; juniper camphor; ledol; methyl citronellate; methyl geronate; *cis*-*para*-menth-2-em-1-ol; 3-methyl-3-buthenyl valerate; *cis*-*para*-menth-1-(7).8-dien-2-ol; *trans*-*para*-menth-2-en-1-ol; T-muurolol; neomenthol; *trans*- β -ocimene; γ -patchoulene; α -phellandrene epoxide; *cis*-piperitol; α -selinene; β -selinene; δ -selinene; tetradecanal; thujyl alcohol; thymol; valencene; valerianol; viridiflorol; β -ylangene; zonarene
trans-piperitol
 masticadienoic acid
 schinol

Phenolic compounds

apigenin
 II-2.3-dihydro-I3',II6-biapigenin; 7-*O*-methylcyanidin 3-*O*-galactoside
 amentoflavone

B. G. da Silva et al., 2017
 Richter et al., 2010
 Todirascu-Ciornea et al., 2019

Vieira et al., 2015
 Ennigrou et al., 2017

Ennigrou et al., 2017; Todirascu-Ciornea et al., 2019
 V. S. Oliveira et al., 2020b
 Jain et al., 1995; V. S. Oliveira et al., 2020b

Bernardes et al., 2014
 Feuereisen et al., 2017

Feuereisen et al., 2017; Linden et al., 2020

	agathisflavone	Feuereisen et al., 2017; Linden et al., 2020; V. S. Oliveira et al., 2020a,b
	pelargonidin 3- <i>O</i> -galactoside	Feuereisen et al., 2017; V. S. Oliveira et al., 2020b
	hinokiflavone; 7- <i>O</i> -methylpelargonidin 3- <i>O</i> -galactopyranoside	Feuereisen et al., 2017; V. S. Oliveira et al., 2020a,b
	dihydroamentoflavone	Linden et al., 2020
	tetrahydroamentoflavone	Linden et al., 2020; V. S. Oliveira et al., 2020a,b
	gallic acid; catechin; epicatechin; <i>p</i> -coumaric acid; resveratrol	M. B. S Oliveira et al., 2020b
	gallotanin; 3 α -hydroxymasticadienolic acid	V. S. Oliveira et al., 2020a
	<i>Fatty acids</i>	
	arachidic acid; behenic acid; gadoleic acid; heptadecanoic acid; lignoceric acid; linolenic acid myristic acid; oleic acid; palmitic acid; palmitoleic acid	Ennigrou et al., 2017
	linoleic acid; stearic acid	Ennigrou et al., 2017; V. S. Oliveira et al., 2020b
Residues (leaves and fruits)	<i>Phenolic compounds</i>	Gomes et al., 2020
	Monoterpenes: α -pinene; 3-carene; <i>p</i> -cymene; limonene; α -terpineol; thymol	
	Sesquiterpenes: δ -elemene; α -copaene; β -elemene; β -caryophyllene; γ -elemene; aromadendrene; humulene; γ -muurolene; germacrene D; β -selinene; α -selinene; α -muurolene; γ -cadinene; δ -cadinene; elemol; spathulenol; caryophyllene oxide; rosifoliol; γ -eudesmol; α -muurolol; β -eudesmol; α -eudesmol	
	Triterpenes/Steroids/Others: phytol; squalene; octacosane; α -tocopherol; β -sitosterol; olean-12-en-3-one; 28-norolean-	

17-en-3-one; lupenone; lupeol; lupeol acetate; ursonic aldehyde 3-acetate

Flavonoids: quercetin; quercitrin; myricetin; myricitrin; quercitrin *O*-gallate; myricitrin *O*-gallate; agathisflavone; amentoflavone; tetrahydroamentoflavone; tetrahydrorobustaflavone
gallic acid, gallotannins

Fatty acids

methyl tetradecanoate; methyl hexadecanoate; methyl linoleate; methyl linolenate; methyl stearate; myristic acid; pentadecanoic acid; palmitic acid; heptadecanoic acid; linolenic acid; oleic acid; stearic acid; eicosanoic acid; behenic acid; masticadienoic acid; schinol; triterpene acid; triterpene glycoside

Table 3Pharmacological properties of *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Pharmacological properties	Plant part used / material	References
Anti-Inflammatory and healing	Bark / hydroalcoholic extract	Santos et al., 2012; Castelo Branco Neto et al., 2006; Lucena et al., 2006; Nunes Jr. et al., 2006; Coutinho et al., 2006
	Berries / ethyl acetate extract	Jain et al., 1995
	Fruits / methanolic extract	Bernardes et al., 2014
	Leaves / hydroalcoholic extract	Rosas et al., 2015
	Leaves / methanolic extract	M. M. da Silva et al., 2017; Fedel-Miyasato et al., 2014b;
	Leaves / ointment formulation	Estevão et al., 2017, 2013
Antimicrobial activities	Bark / hydroalcoholic extract	Melo et al., 2014
	Bark / tintura	Alves et al., 2013, 2012
	Fruits / essential oil extract	Dannenberg et al., 2019; Cole et al., 2014;
	Fruits / hydroalcoholic extract	Linden et al., 2020
	Fruits, leaves / hydroethanolic extract	Gomes et al., 2020
	Leaves / crude extract	Gomes et al., 2012
	Leaves / essential oil extract	El-Massry et al., 2009
	Leaves / hydroalcoholic extract	Morais et al., 2014; Johann et al., 2010; Martínez Guerra et al., 2000
	Leaves / methanolic extract	Barbieri et al., 2014
	Pepper tree hydroalcoholic extract gel	Leite et al., 2011

Photoprotective	Fruits / ethanolic extracts	M. B. S Oliveira et al., 2020
	Leaves / hydroalcoholic extract	Jorge et al., 2012
	Leaves / gel of crude extract	Bulla et al., 2015;
Antiviral	Fruits / ethanolic extracts	M. B. S Oliveira et al., 2020
Antioxidant	Fruits / aqueous extract	R. F. Oliveira et al., 2020
	Fruits / essential oil extract	Todirascu-Ciornea et al., 2019
	Fruits / methanolic extract	V. S. Oliveira et al., 2020a, b

References

- Affonso, C.R.G., Fernandes, R.M., Oliveira, J.M.G. de, Martins, M. do C. de C. e, Lima, S.G. de, Sousa Júnior, G.R. de, Fernandes, M.Z. de L.C.M., Zanini, S.F., 2012. Effects of the essential oil from fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) on reproductive functions in male rats. *J. Braz. Chem. Soc.* 23, 180–185.
<https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000100025>
- Alves, L.A., Freires, I. de A., de Souza, T.M.P.A., de Castro, R.D., 2012. In vitro activity of *Schinus terebinthifolius* (Brazilian pepper tree) on *Candida tropicalis* growth and cell wall formation. *Acta Odontol. Latinoam.* 25, 287–92.
- Alves, L.A., Freires, I.D.A., Pereira, T.M., Souza, A. De, Lima, E.D.O., Castro, R.D. De, 2013. Effect of *Schinus terebinthifolius* on *Candida albicans* growth kinetics, cell wall formation and micromorphology. *Acta Odontol. Scand.* 71, 965–971.
<https://doi.org/10.3109/00016357.2012.741694>
- Barbieri, D.S. V, Tonial, F., Lopez, P.V.A., Sales Maia, B.H.L.N., Santos, G.D., Ribas, M.O., Glienke, C., Vicente, V.A., 2014. Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.05.006>
- Bendaoud, H., Romdhane, M., Souchard, J.P., Cazaux, S., Bouajila, J., 2010. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. *J. Food Sci.* <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01711.x>
- Bernardes, N.R., Heggdorne-Araújo, M., Borges, I.F.J.C., Almeida, F.M., Amaral, E.P., Lasunskiaia, E.B., Muzitano, M.F., Oliveira, D.B., 2014. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. *Brazilian J. Pharmacogn.*
<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.10.012>
- Bulla, M.K., Hernandez, L., Baesso, M.L., Nogueira, A.C., Bento, A.C., Bortoluzzi, B.B., Serra, L.Z., Cortez, D.A.G., 2015. Evaluation of Photoprotective Potential and Percutaneous Penetration by Photoacoustic Spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius* Raddi Extract. *Photochem. Photobiol.* 91, 558–566. <https://doi.org/10.1111/php.12419>
- Carvalho, M., Melo, A., Aragão, C., Raffin, F.N., Moura, T.F. a. L., 2013. *Schinus*

- terebinthifolius Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. *Rev. Bras. Plantas Med.* 15, 158–169. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100022>
- Castelo Branco Neto, M.L., Ribas Filho, J.M., Malafaia, O., Oliveira Filho, M.A. de, Czeckzo, N.G., Aoki, S., Cunha, R., Fonseca, V.R., Teixeira, H.M., Aguiar, L.R.F. De, 2006. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. *Acta Cir. Bras.* 21, 17–22. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000800004>
- Cavalher-Machado, S.C., Rosas, E.C., Brito, F. de A., Heringe, A.P., de Oliveira, R.R., Kaplan, M.A.C., Figueiredo, M.R., Henriques, M. das G.M. de O., 2008. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. *Int. Immunopharmacol.* 8, 1552–1560. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.06.012>
- Ceruks, M., Romoff, P., Fávero, O.A., Lago, J.H.G., 2007. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius raddi* (Anacardiaceae). *Quim. Nova.* <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300018>
- Cole, E.R., Santos, R.B. dos, Lacerda Júnior, V., Martins, J.D.L., Greco, S.J., Cunha Neto, A., 2014. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. *Brazilian J. Microbiol.* 45, 821–828. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000300009>
- Coutinho, I.H.I.L.S., Torres, O.J.M., Matias, J.E.F., Coelho, J.C.U., Stahlke Júnior, H.J., Agulham, M.A., Bachle, E., Camargo, P.A.M., Pimentel, S.K., de Freitas, A.C.T., 2006. [Schinus terebinthifolius Raddi and its influence in the healing process of colonic anastomosis: experimental study in rats]. *Acta Cir. Bras.* 21 Suppl 3, 49–54.
- Dannenberg, G.S, Funck, G.D., Mattei, F.J., Da Silva, W.P., Fiorentini, Â.M., 2016. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.009>
- Dannenberg, G.S., Funck, G.D., Silva, W.P., Fiorentini, AM., 2019. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. *Food Control* 95, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.034>

- Dantas De Carvalho, M.C.R., Varela Barca, F.N.T., Agnez-Lima, L.F., Batistuzzo De Medeiros, S.R., 2003. Evaluation of Mutagenic Activity in an Extract of Pepper Tree Stem Bark (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Environ. Mol. Mutagen.*
<https://doi.org/10.1002/em.10183>
- dos Santos Cavalcanti, A., de Souza Alves, M., da Silva, L.C.P., dos Santos Patrocínio, D., Sanches, M.N., Chaves, D.S. de A., de Souza, M.A.A., 2015. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. *Rev. Bras. Farmacogn.* 25, 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.003>
- El-Massry, K.F.; El-Ghorab A.H.; Shaaban, H.A.; Shibamoto, T., 2009. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. *J. Agric. Food Chem.* 57, 5265–5270.
- Ennigrou, A., Casabianca, H., Laarif, A., Hanchi, B., Hosni, K., 2017. Maturation-related changes in phytochemicals and biological activities of the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruits. *South African J. Bot.*
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.09.005>
- Estevão, L.R.M., Medeiros, J.P. de, Simões, R.S., Arantes, R.M.E., Rachid, M.A., Silva, R.M.G. da, Mendonça, F. de 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, 289–295. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020150040000008>
- Estevão, L.R.M., Mendonça, F.D.S., Baratella-Evêncio, L., Simões, R.S., Barros, M.E.G. De, Arantes, R.M.E., Rachid, M.A., Evêncio-Neto, J., 2013. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. *Acta Cir. Bras.* 28, 202–209. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502013000300008>
- Estevão, L.R.M., Simões, R.S., Cassini-Vieira, P., Canesso, M.C.C., Barcelos, L. da S., Rachid, M.A., Câmara, C.A.G. da, Evêncio-Neto, J., 2017. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. *Acta Cir. Bras.* 32, 726–735. <https://doi.org/10.1590/s0102-8650201700900000005>
- Fedel-Miyasato, L.E.S., Formagio, A.S.N., Auharek, S.A., Kassuya, C.A.L., Navarro, S.D., Cunha-Laura, A.L., Monreal, A.C.D., Vieira, M.C., Oliveira, R.J., 2014a. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss

- mice: A comparative study. *Genet. Mol. Res.* <https://doi.org/10.4238/2014.April.30.2>
- Fedel-Miyasato, L.E.S., Kassuya, C.A.L., Auharek, S.A., Formagio, A.S.N., Cardoso, C.A.L., Mauro, M.O., Cunha-Laura, A.L., Monreal, A.C.D., Vieira, M.C., Oliveira, R.J., 2014b. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolius* methanolic extract. *Rev. Bras. Farmacogn.* 24, 565–575. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.08.004>
- Feuereisen, M.M., Gamero Barraza, M., Zimmermann, B.F., Schieber, A., Schulze-Kaysers, N., 2017. Pressurized liquid extraction of anthocyanins and biflavonoids from *Schinus terebinthifolius* Raddi: A multivariate optimization. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.002>
- Gomes, F.S., Procópio, T.F., Napoleão, T.H., Coelho, L.C.B.B., Paiva, P.M.G., 2012. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. *J. Appl. Microbiol.* 114, 672–679. <https://doi.org/10.1111/jam.12086>
- Gomes, R.B.A., Souza, E.S., Barraqui, N.S.G., Tosta, C.L., Nunes, A.P.F., Schuenck, R.P., Ruas, F.G., Ventura, J.A., Filgueiras, P.R., Kuster, R.M., 2020. Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. *Industrial Crops & Products* 143, 111430. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.079>
- Jain, M.K., Bao-Zhu Yu, Rogers, J.M., Smith, A.E., Boger, E.T.A., Ostrander, R.L., Rheingold, A.L., 1995. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry.* [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00960-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00960-2)
- Johann, S., Sá, N.P., Lima, L.A.R.S., Cisalpino, P.S., Cota, B.B., Alves, T.M.A., Siqueira, E.P., Zani, C.L., 2010. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* <https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-30>
- Jorge, A.T.S., Arroiteia, K.F., Santos, Í.A., Andres, E., Medina, S.P.H., Ferrari, C.R., Lourenço, C.B., Biaggio, R.M.T.T., Moreira, P.L., 2012. *Schinus terebinthifolius* Raddi extract and linoleic acid from *Passiflora edulis* synergistically decrease melanin synthesis in B16 cells and reconstituted epidermis. *Int. J. Cosmet. Sci.* 34, 435–440. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2012.00736.x>
- Komatsu, D., Hausen, M.A., Eri, R.Y., Leal, V., Pedrini, F., Yaksic, C., Alves, T.F.R., Chaud,

- M.V., Fanelli, C., Noronha, I, Duek, E.A.R., 2019. Alternative Cutaneous Substitutes Based on Poly(L-co-D,L-lactic acid-co-trimethylene carbonate) with *Schinus terebinthifolius* Raddi Extract Designed for Skin Healing. *ACS Omega* 4, 18317–18326. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02427>
- Leite, S.R.R.F., Amorim, M.M.R., Sereno, P.F.B., Leite, T.N.F., Ferreira, J.A.C., Ximenes, R.A.A., 2011. Randomized clinical trial comparing the efficacy of the vaginal use of metronidazole with a Brazilian pepper tree (*Schinus*) extract for the treatment of bacterial vaginosis. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 44, 245–252. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2011007500003>
- Lima, L.B., Vasconcelos, C.F.B., Maranhão, H.M.L., Leite, V.R., Ferreira, P.A., Andrade, B.A., Araújo, E.L., Xavier, H.S., Lafayette, S.S.L., Wanderley, A.G., 2009. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. *J. Ethnopharmacol.* <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.013>
- Linden, M., Brinckmann, C., Feuereisen, M.M, Schieber, A., 2020. Effects of structural differences on the antibacterial activity of biflavonoids from fruits of the Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Food Research International* 133, 109134. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109134>
- Lucena, P.L. de H., Filho, J.M.R., Mazza, M., Czeckzo, N.G., Dietz, U.A., Neto, M.A.C., Henriques, G.S., Santos, O.J. dos, Ceschim, Á.P., Thiele, E.S., 2006. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. *Acta Cir. Bras.* <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000800008>
- Martínez Guerra, M.J., López Barreiro, M., Morejón Rodríguez, Z., Rubalcaba, Y., 2000. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). *Rev. Cuba. Plantas Med.* 5, 23-5.
- Matsuo, A.L., Figueiredo, C.R., Arruda, D.C., Pereira, F. V., Borin Scutti, J.A., Massaoka, M.H., Travassos, L.R., Sartorelli, P., Lago, J.H.G., 2011. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.176>
- Melo, M.C.S.C., Gadelha, D.N.B., Oliveira, T.K.B., Brandt, C.T., 2014. Alcohol extract of *Schinu sterebinthifolius raddi* (anacardiaceae) as a local antimicrobial agent in severe autogenously fecal peritonitis in rats. *Acta Cir. Bras.* <https://doi.org/10.1590/S0102->

86502014001300010

- Morais, T.R., Da Costa-Silva, T.A., Tempone, A.G., Borborema, S.E.T., Scotti, M.T., De Sousa, R.M.F., Araujo, A.C.C., De Oliveira, A., De Moraes, S.A.L., Sartorelli, P., Lago, J.H.G., 2014. Antiparasitic activity of natural and semi-synthetic tirucallane triterpenoids from *Schinus terebinthifolius* (anacardiaceae): Structure/activity relationships. *Molecules*. 19, 5761–5776. <https://doi.org/10.3390/molecules19055761>
- Morton, J.F., 1978. Brazilian pepper—Its impact on people, animals and the environment. *Econ. Bot.* 32, 353–359. <https://doi.org/10.1007/BF02907927>
- Nunes-Neto, P.A., Peixoto-Sobrinho, T.J.D.S., Da Silva Júnior, E.D., Leopoldina Da Silva, J., Rodrigo Da Silva Oliveira, A., Pupo, A.S., Araújo, A.V., Costa-Silva, J.H. Da, Wanderley, A.G., 2017. The Effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) Bark Extract on Histamine-Induced Paw Edema and Ileum Smooth Muscle Contraction. Evidence-based Complement. *Altern. Med.* <https://doi.org/10.1155/2017/1416375>
- Nunes Jr., J.A., Ribas-Filho, J.M., Malafaia, O., Czezczko, N.G., Inacio, C.M., Negro, A.W., Lucena, P.L., Moreira, H., Wagenfuhr Jr., J., Cruz Jde, J., 2006. [Evaluation of the hydro-alcoholic *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) extract in the healing process of the alba linea in rats]. *Acta Cir Bras.*
- Oliveira, M.B.S., Valetim, I.B., Rocha, T.S., Santos, J.C., Pires, K.S.N., Tanabe, E.L.L., Borbely, K.S.C.Borbely, A.U., Goulart, M.O.F., 2020. *Schinus terebinthifolius* Raddi extracts: From sunscreen activity toward protection of the placenta to Zika virus infection, new uses for a well-known medicinal plant. *Industrial Crops and Products* 152, 112503. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112503>
- Oliveira, R.F., Henry, F.C., Valle, F., Oliveira, D.B., Santos Junior, A.C., Resende, E.D., Maia Junior, J.A., Martins, M.L.L., 2020. Effect of the fruit aqueous extract of Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) on selected quality parameters of frozen fresh pork sausage. *Journal of Agriculture and Food Research* 2, 100055. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100055>
- Oliveira, V.S., Augusta, I.M., Braz, M.V.C., Riger, C.J., Prudêncio, E.R., Sawaya, A.C.H.F., Sampaio, G.R., Torres, E.A.F.S., Saldanha, T., 2020a. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. *Food Chemistry* 315, 126274. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126274>

- Oliveira, V.S., Cháves, D.W.H., Gamallo, O.D., Sawaya, A.C.H.F., Sampaio, G.R., Castro, Torres, R.N. E.A.F.S., Saldanha, T., 2020b. Effect of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruit against polyunsaturated fatty acids and cholesterol thermo-oxidation in model systems containing sardine oil (*Sardinella brasiliensis*). *Food Research International* 132, 109091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109091>
- Piccinelli, A.C., Santos, J.A., Konkiewitz, E.C., Oesterreich, S.A., Formagio, A.S.N., Croda, J., Ziff, E.B., Kassuya, C.A.L., 2015. Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene, α -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a neuropathic pain model. *Nutr. Neurosci.* 18, 217–224. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000119>
- Queires, L.C.S., Fauvel-Lafêve, F., Terry, S., De la Taille, A., Kouyoumdjian, J.C., Chopin, D.K., Vacherot, F., Rodrigues, L.E.A., Crépin, M., 2006. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. *Anticancer Res.* 26, 379–87.
- Richter, R., von Reuss, S.H., König, W.A., 2010. Spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Phytochemistry*. 71, 1371-4. doi: 10.1016/j.phytochem.2010.05.003.
- Rocha, P. dos S. da, Campos, J.F., Nunes-Souza, V., Vieira, M. do C., Boleti, A.P. de A., Rabelo, L.A., dos Santos, E.L., de Picoli Souza, K., 2018. Antioxidant and Protective Effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi Against Doxorubicin-Induced Toxicity. *Appl. Biochem. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2589-y>
- Rocha, P.S., Boleti, A.P.A., Vieira, M.C., Carollo, C.A., Silva, D.B, Estevinho, L.M., Santos, E.L., Souza, K.P., 2019. Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 220, 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.02.007>
- Rosas, E.C., Correa, L.B., Pádua, T.D.A., Costa, T.E.M.M., Luiz Mazzei, J., Heringer, A.P., Bizarro, C.A., Kaplan, M.A.C., Figueiredo, M.R., Henriques, M.G., 2015. Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis. *J. Ethnopharmacol.* <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.014>
- Santos, O.J. Dos, Barros-Filho, A.K.D., Malafaia, O., Ribas-Filho, J.M., Santos, R.H.P., Santos, R.A.P., 2012. *Schinus terebinthifolius* raddi (anacardiaceae) no processo de

- cicatrização de gastrorrafias em ratos. ABCD. Arq. Bras. Cir. Dig. (São Paulo) 25, 140–146. <https://doi.org/10.1590/S0102-67202012000300002>
- Santos, M.R.A., Lima, R.A., Silva, A., Lima, D.K.S., Sallet, L.A.P., Teixeira, C.A.D., Facundo, V.A., 2013. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. Rev. Bras. Plantas Med. 15, 757–762. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500017>
- Scheibe, C.L., Ribas-Filho, J.M., Czezko, N.G., Malafaia, O., Barboza, L.E.D., Ribas, F.M., Wendler, E., Torres, O., Lovato, F.C., Scapini, J.G.S., 2016. *Schinus terebinthifolius* raddi (Aroeira) and *Orbignya phalerata* mart. (Babassu) effect in cecorrhaphy healing in rats. Acta Cir. Bras. 31, 402–410. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020160060000007>
- Sereniki, A., Linard-Medeiros, C.F.B., Silva, S.N., Silva, J.B.R., Peixoto Sobrinho, T.J.S., da Silva, J.R., Alves, L.D.S., Smailic, S.S., Wanderley, A.G., Lafayette, S.S.L., 2016. *Schinus terebinthifolius* administration prevented behavioral and biochemical alterations in a rotenone model of Parkinson's disease. Brazilian J. Pharmacogn. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.005>
- Silva, A.B., Silva, T., Franco, E.S., Rabelo, S.A., Mota, R.A., Da Câmara, C.A.G., Pontes-Filho, N.T., Lima-Filho, J. V., 2010. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi). Brazilian J. Microbiol. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000100023>
- Silva, B.G. da, Fileti, A.M.F., Foglio, M.A., Ruiz, A.L.T.G., Rosa, P. de T.V. e., 2017. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds from *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits: Effects of operating conditions on global yield, volatile compounds, and antiproliferative activity against human tumor cell lines. J. Supercrit. Fluids. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.07.006>
- Silva, M.M. da, Iriguchi, E.K.K., Kassuya, C.A.L., Vieira, M. do C., Foglio, M.A., Carvalho, J.E. de, Ruiz, A.L.T.G., Souza, K. de P., Formagio, A.S.N., 2017. *Schinus terebinthifolius* : phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. Rev. Bras. Farmacogn. 27, 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.12.007>
- Todirascu-Ciornea, E., El-Nashar, H.A.S., Mostafa, N.M., Eldahshan, O.A., Boiangiu, R.S., Dumitru, G., Hritcu, L., Singab, A.N.B., 2019. *Schinus terebinthifolius* Essential Oil

- Attenuates Scopolamine-Induced Memory Deficits via Cholinergic Modulation and Antioxidant Properties in a Zebrafish Model. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. <https://doi.org/10.1155/2019/5256781>
- Torres, Katia Andrea de Menezes; Lima, Sonia Maria Rolim Rosa; Ueda, S.M.Y., 2016. Activity of the aqueous extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi on strains of the *Candida* genus. *Rev Bras Ginecol Obs.* 38, 593–599.
- Uliana, M.P., Fronza, M., da Silva, A.G., Vargas, T.S., de Andrade, T.U., Scherer, R., 2016. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. *Ind. Crops Prod.* <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.077>
- Varela-Barca, F.N.T., Agnez-Lima, L.F., De Medeiros, S.R.B., 2007. Base excision repair pathway is involved in the repair of lesions generated by flavonoid-enriched fractions of pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) stem bark. *Environ. Mol. Mutagen.* <https://doi.org/10.1002/em.20334>
- Vieira, M.N., Costa, F. das N., Leitão, G.G., Garrard, I., Hewitson, P., Ignatova, S., Winterhalter, P., Jerz, G., 2015. *Schinus terebinthifolius* scale-up countercurrent chromatography (Part I): HIGH performance countercurrent chromatography fractionation of triterpene acids with off-line detection using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.005>

4. CAPÍTULO II

Artigo que será submetido a BMC Complementary and Alternative Medicine

Potencial cicatrizante de *Schinus terebinthifolius* Raddi em feridas da mucosa oral de ratos: ensaios químicos, *in silico* e *in vivo*

Resumo

Introdução: *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardeaceae) é uma espécie vegetal que apresenta potencial cicatrizante e/ou anti-inflamatório. A ulceração aftosa recorrente é um problema de saúde bucal que acomete boa parte da população e cuja terapêutica serve apenas para aliviar os sintomas e/ou acelerar a cicatrização. A busca por novas alternativas terapêuticas para tratar aftas tem conduzido a estudo com diversas espécies vegetais. **Objetivo:** Avaliar o potencial cicatrizante do extrato hidroalcoólico das cascas do caule de *Schinus terebinthifolius* Raddi em lesões da mucosa oral induzidas em ratos. **Método:** O material vegetal foi coletado no Município de Chapadinha, Estado do Maranhão, Brasil (3°42'44"S; 43°30'40"W), passou por análise para classificação taxonômica, identificação dos compostos químicos por HPLC-MS e análise *in silico* de alguns constituintes químicos identificados. Nos testes *in vivo* foram utilizados 41 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos, distribuídos em três grupos aleatoriamente: G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* 2%), os quais foram divididos em três subgrupos de acordo com a duração do tempo de tratamento (3, 7 e 14 dias). Todos os animais foram submetidos ao mesmo procedimento de indução da lesão na mucosa oral, de forma padronizada. Os parâmetros avaliados nas lesões foram: mensuração e contração da área, alterações macroscópicas e análise histopatológica das lesões. **Resultados:** Foram identificados 14 compostos químicos, destes, vicenin 1 e astaxanthin, que apresentaram maior número de citações como cicatrizantes e/ou anti-inflamatórios, foram avaliados por ensaios *in silico*. A análise das prováveis atividades biológicas de vicenin 1 revelou que este composto tem > 30% (Pa > 0,3) de probabilidade de apresentar 224 atividades, destas 15 eram cicatrizante e/ou anti-inflamatória. Por sua vez, astaxanthin apresentou 259 atividades, das quais 20 eram cicatrizante e/ou anti-inflamatória. A etapa *in vivo* mostrou que aos 14 dias, a média da área da lesão (mm²) foi de 1,5 ± 1,4 para G1, 1,3 ± 1,02 para G2 e 0,9 ± 0,85 para G3, bem como a média do grau de contração apresentou valores de 98,6% para G1, 98,4% para G2 e 98,9% para G3. Quanto a análise histológica, foi possível evidenciar a seguinte relação, no que concerne o processo de cicatrização de feridas na mucosa oral de ratos abordado neste estudo, G3 > G2 > G1. **Conclusão:** Os resultados evidenciaram, que aroeira é uma espécie vegetal promissora para o tratamento de lesões orais, favorecendo o processo de cicatrização de feridas da mucosa oral de ratos, embora não tenha sido verificada diferenças estatísticas entre os grupos experimentais.

Palavras-chave: Aroeira. *in silico*. Lesão. Mucosa oral. Cicatrização. Inflamação.

1. Introdução

Schinus terebinthifolius Raddi consiste numa espécie vegetal extensamente estudada, já tendo sido caracterizada a sua composição química (Migues et al., 2020; Lloyd et al., 1977), várias propriedades biológicas (de Melo et al., 2002; Oliveira et al., 2020), além de relatos sobre seu uso na medicina tradicional (Morton, 1978; Vieira et al., 2014), sendo que muitos benefícios de seu emprego empírico têm sido comprovados cientificamente. É possível constatar na literatura científica, numerosas publicações que demonstram atividades biológicas da raiz (Rocha et al., 2019), caule (Nunes Neto et al., 2017), casca do caule (Nocchi et al., 2016), folhas (Uliana et al., 2016), frutos (Todirascu-Ciornea et al., 2019) e sementes (Bendaoud et al., 2010) dessa espécie.

S. terebinthifolius é conhecida popularmente como aroeira, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-da-praia, dentre outros (Estevão et al., 2013; Morton, 1978), apresenta potencial antimicrobiano (Dannenbergh et al., 2019), antioxidante (Rocha et al., 2019), antialérgico/anti-histamínico (Nunes-Neto et al., 2017), anticancerígeno (Matsuo et al., 2011), cicatrizante e anti-inflamatório. Dentre essas propriedades, seus efeitos cicatrizantes e anti-inflamatórios são vastamente estudados, em diferentes modelos *in vivo* pré-clínicos (Estevão et al., 2017; Fedel-Miyasato et al., 2014; Jain et al., 1995; Lucena et al., 2006; Rosas et al., 2015; Santos et al., 2012; Silva et al., 2017).

A caracterização fitoquímica de *S. terebinthifolius* mostra a presença de flavonoides e ácidos fenólicos (Linden et al., 2020; Sereniki et al., 2016), taninos (Feuereisen et al., 2017; Rocha et al., 2018), óleos essenciais (Affonso et al., 2012; Santos et al., 2013; Silva et al., 2010), esteroides, triterpenos, antraquinonas e saponinas (Barbieri et al., 2014; Morais et al., 2014; Nunes-Neto et al., 2017; Vieira et al., 2015). Esses metabólitos secundários, em especial os compostos fenólicos, são os responsáveis pelas propriedades farmacológicas da aroeira (Santos et al., 2012; Scheibe et al., 2016).

Além disso, essa espécie foi incluída na lista, elaborada pelo Ministério da Saúde do Brasil, de plantas medicinais com potencial para gerar produtos funcionais e farmacológicos. Nesse sentido, considerando as indicações medicinais de *S. terebinthifolius* descritas nesta lista, cicatrizante, anti-inflamatória e anti-séptica tópica (Santos; Carvalho, 2018), ressalta-se a possibilidade de sua utilização em formulações farmacêuticas tópicas para tratamento de lesões na mucosa oral.

Entre as lesões orais mais comuns da cavidade oral, cita-se a ulceração aftosa recorrente (UAR), que acomete cerca de 25% da população geral e consiste numa doença inflamatória benigna caracterizada por lesões principalmente na mucosa oral não-queratinizada (Akintoye; Greenberg, 2014; Weckx et al., 2009).

Apesar de atualmente serem conhecidos vários aspectos associados à essa patologia, como manifestações clínicas, grupos de indivíduos mais acometidos e fatores de riscos (Akintoye; Greenberg, 2014), a etiologia dessa doença ainda é considerada desconhecida (Cherubini et al., 2006). Dentre os fatores desencadeantes podem ser citados problemas locais (Huling et al., 2012), sistêmicos (Keogan, 2009; Kerr; Ship, 2003) e genéticos (Miller et al., 1980).

A terapêutica para UAR é significativamente importante, já que esta é uma doença comumente verificada em boa parte da população e que interfere na qualidade de vida das pessoas, pois o paciente é acometido por dor e alteração das funções orais, tais como comer, deglutir e falar (Samet et al., 2007). Todos os tratamentos disponíveis são apenas para aliviar sintomas, acelerar a cicatrização e reduzir a frequência das lesões (Weckx et al., 2009). Além disso, não há disponível no mercado farmacêutico, formulações fitoterápicas específicas para o tratamento de aftas. Dessa forma, o objetivo desse estudo consistiu em testar o potencial cicatrizante do extrato hidroalcoólico das cascas do caule de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente a lesões da mucosa oral, induzidas em ratos.

2. Material e Métodos

2.1 Coleta e identificação botânica

As cascas do caule de *Schinus terebinthifolius* Raddi foram coletadas no Povoado Barroca da Vaca (3°42'44"S; 43°30'40"W), situado no Município de Chapadinha, Estado do Maranhão, Brasil, em agosto de 2019. A exsicata do espécime foi depositada no Herbário Ático Seabra, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), e autenticada por Ana Zélia Silva, sob número 1507.

2.2 Preparação do extrato de *S. terebinthifolius*

As cascas do caule de *S. terebinthifolius* foram secas ao ar livre e, posteriormente, submetida a um processo de moagem. O pó obtido (200 g) foi submetido à maceração com álcool 70% (600 mL), na proporção de 1:3 m/v. Esta solução foi agitada manualmente 3 vezes ao dia, durante um período de 72 horas, com o extrato recolhido em frasco âmbar e o solvente renovado por mais duas vezes, repetindo-se o processo de maceração. Os volumes foram reunidos e filtrados em papel filtro.

Parte do extrato passou pelo processo de liofilização para a realização da análise fitoquímica e a outra foi concentrada em rotaevaporador (marca: Heidolph) sob 90 rpm e em temperatura aproximada de 45 – 50 °C, para posterior realização de peso seco em balança analítica de precisão e cálculo de rendimento, que foi de 6,7%. O extrato foi armazenado sob refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), em vidro âmbar.

2.3 Caracterização do extrato de *S. terebinthifolius* por Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa (HPLC-MS)

Para a identificação dos compostos, o material foi enviado ao Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo. O extrato da casca *S. terebinthifolius* foi analisado usando um sistema de cromatografia líquida Shimadzu Prominence com duas bombas injetoras automáticas Shimadzu LC-20AD (SIL-20A HT). Uma coluna Phenomenex Luna C18 (250x4.6mm- 5 μm) foi usada nas análises. O solvente A consistiu de água acidificada (2.0 % de ácido acético) e B, metanol grau HPLC, também acidificado (2.0 % 2.0 % de ácido acético), a uma taxa de fluxo de 0,6 mL / min.). A amostra foi eluída de acordo com o seguinte gradiente de metanol: 0 à 2 min (5% de B), 2 à 10 min (5 à 25% de B), 10 à 20 min (24 à 40% de B), 20 à 30 min (40 à 50 % de B), 30 à 40 min (50 à 60 % de B), 40 à 50 min (60 à 70 % de B), e de 50 à 80 min (70 à 100 % de B). O volume de injeção foi de 50,0 μL . O LC foi acoplado a um espectrômetro de massa (Amazon X, Bruker, Massachusetts, EUA) equipado com ionização por eletrospray (ESI) e um analisador do tipo ion-trap (IT) em modo negativo, nas seguintes condições: tensão capilar de 4.5 kV, capilar temperatura 325 ° C, fluxo de gás de arrastamento (N₂) 12 L / min, pressão do nebulizador de nitrogênio a 10 psi. O intervalo de aquisição foi de M/Z 50–1500, com dois ou mais eventos. Posteriormente foram analisados os espectros das

moléculas e comparados com dados de artigos científicos para identificação das substâncias.

2.4 Análise *in silico*

Para realização dos testes *in silico*, elegeu-se entre os compostos químicos identificados no material vegetal, aqueles que apresentavam maior número de publicações científicas demonstrando seu potencial na cicatrização de feridas e/ou atividade anti-inflamatória. Para isso, realizou-se uma busca na base de dados Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) através das seguintes combinações de palavras-chave: “nome dos compostos químicos identificados no extrato da casca do caule de *S. terebinthifolius*” AND “*wound healing*” e nome do composto químico identificado no extrato da casca do caule de *Schinus terebinthifolius*” AND “*anti-inflammatory activity*”. As buscas foram realizadas em junho de 2019.

2.4.1 Predição de atividades biológicas

Para avaliar as atividades biológicas dos compostos químicos, identificados e eleitos para essa análise, foi usado o programa Online *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS). Esta ferramenta computacional calcula a probabilidade de uma determinada molécula orgânica apresentar uma atividade biológica, comparando a estrutura da molécula a um banco de dados (www.way2drug.com/passonline) composta por outras moléculas orgânicas com atividades biológicas definidas (Ferreira et al., 2018; Khurana et al., 2011). Assim, o programa online PASS dá a probabilidade de um composto ser ativo (Pa) ou inativo (Pi) em um alvo biológico.

2.4.2 Estimativa da permeabilidade pela cavidade bucal, das características farmacocinéticas e de efeitos tóxicos

Para estimar a permeabilidade oral dos compostos químicos presentes no extrato da casca do caule de *S. terebinthifolius*, foram analisados os descritores de Volume Molecular (MV), número de doadores de hidrogênio (HBD) e número de ligações rotacionáveis (nRotB), todas as análises foram realizadas utilizando *software* Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/>). Por definição, para apresentar uma boa estimativa de

permeabilidade oral, uma molécula precisa atender o maior número de requisitos avaliados. Assim, seguem os valores de referências: i) MV entre 258 a 371g/mol, ii) HBD entre 0 a 5 e iii) nRotB com variação de 0 a 10 (Kokate et al., 2009).

Para análise dos possíveis efeitos tóxicos e dos parâmetros farmacocinéticos teóricos (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) dos compostos químicos de *S. terebinthifolius*, foram usados os programas Osiris (www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html) (Ferreira et al., 2018) e SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php#>) (Daina; Michielin; Zoete, 2017). Esses parâmetros e a toxicidade foram previstos pela comparação das estruturas químicas avaliadas com um banco de dados contendo medicamentos e compostos disponíveis comercialmente. Os efeitos tóxicos foram classificados como carcinogênico, imunotoxicidade, citotoxicidade, hepatotoxicidade e efeitos no sistema reprodutor (Ferreira et al., 2018).

Os valores de LD50 em miligramas por quilograma (mg/kg) foram estimados usando o programa PROTOX (http://tox.charite.de/prottox_II/index.php?site=compound_input) (Drwal et al., 2014), classificando a toxicidade dos compostos químicos de *S. terebinthifolius* da seguinte forma: classe i - fatal se ingerido quando $LD50 \leq 5$, classe ii - fatal se ingerido quando $5 < LD50 \leq 50$, classe iii - tóxico se ingerido quando $50 < LD50 \leq 300$, classe iv - nocivo se ingerido quando $300 < LD50 \leq 2000$, classe v - nocivo se ingerido quando $2000 < LD50 \leq 5000$, e classe vi - não tóxico quando $LD50 > 5000$. Estimativas de absorção gastrointestinal, permeabilidade através da barreira hematoencefálica e permeação da pele (log Kp em centímetros (cm)/s) foram avaliados pelo programa SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php#>) (Daina; Michielin; Zoete, 2017). Digno de nota, quanto mais negativo o log Kp, menos permeável à pele é a molécula.

2.5 Animais

Os animais utilizados foram ratos da linhagem Wistar e espécie *Rattus norvegicus*, machos, com peso médio de 300 g e idade entre 60 - 90 dias, fornecidos pelo Biotério Central da UFMA. Os ratos foram adaptados no Biotério Setorial da Farmacologia até o início dos experimentos. Durante todo o período que permaneceram no Biotério, os animais receberam água e ração comercial *ad libitum*. Todos os protocolos foram realizados de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL). Este projeto

foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA, sob o protocolo nº 23115.002991/2018-19 (ANEXO I).

Para a realização dos experimentos os animais foram divididos nos seguintes grupos: grupo 1 (G1) formado por 14 animais que receberam solução salina 0,9% na lesão da mucosa; grupo 2 (G2) constituído por 13 animais que receberam na lesão tratamento com gluconato de clorhexidina a 0,12%; grupo 3 (G3) composto por 14 animais que tiveram a lesão tratada com extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* a 2%.

2.6 Protocolo experimental

Os animais foram anestesiados com composto anestésico constituído por xilazina (10 mg/kg) e quetamina (80 mg/kg), por via intraperitoneal. O processo cirúrgico teve início quando observados que o reflexo palpebral e o ritmo de respiração se tornaram constantes e lentos. Anestesiados, cada animal foi colocado em uma mesa cirúrgica em decúbito dorsal e imobilizado com fita adesiva. A ulceração foi feita sobre a mucosa jugal direita através de raspagem utilizando uma lâmina de bisturi nº 15. A técnica foi padronizada para todos os animais e realizada pelo mesmo examinador de acordo com protocolo de Cavalcante et al. (2011) com algumas modificações.

Após indução de lesão oral, os animais foram divididos em seus respectivos subgrupos e iniciado imediatamente o tratamento, no qual foi aplicado 0,2 ml das soluções, no local das lesões, conforme tratamentos descritos na composição dos grupos experimentais no item 2.5.

Os subgrupos foram organizados da seguinte forma: Tratamento da lesão durante 3 dias - G1 (5 animais), G2 (4 animais) e G3 (5 animais); tratamento durante 7 dias – G1 (4 animais), G2 (5 animais) e G3 (5 animais); Tratamento durante 14 dias – G1 (5 animais) G2 (4 animais) e G3 (4 animais).

Depois de finalizado o período de tratamento, os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂ para as coletas das áreas das lesões da mucosa oral e, posteriormente, realização da análise histopatológica. As peças foram colocadas e identificadas em cassetes e acondicionados em solução de formaldeído a 10% até a realização da análise dos tecidos.

2.7 Taxa de contração da lesão

As lesões foram avaliadas diariamente e nos dias 0, 3, 7 e 14 pós-ferimento, usando fotografia digital. Para garantir a consistência da ampliação da ferida, a câmera digital (marca: SAMSUNG, modelo: Galaxy S8, megapixel: 12Mp, resolução: 4290 x 2800 pixel) foi colocada a uma distância constante de 30 cm perpendicularmente acima de cada ferida. As fotos das úlceras foram transferidas para um computador para medição da área total em mm² usando o software ImageJ (1.52a, Java 1.8.0_112 [64-bit]). A seguinte fórmula foi então usada para calcular as taxas de contrações de feridas (WHR): $WHR = (A_0 - A_n) / A_0$, onde: A₀: área da lesão no dia 0; n = dia 3, 7 ou 14 (Masson-Meyers et al., 2013).

2.8 Análise histopatológica

Os fragmentos de mucosa jugal biopsiados foram identificados e fixados em formol a 10%, p.H 7,4, em seguida submetidos à desidratação em série alcoólica crescente, diafanizados em xilol, impregnados em parafina e fundido a 60%. Os fragmentos foram seccionados a 5µm de espessura com a utilização de um micrótomo e a coloração realizada por hematoxilina-eosina (H.E) (Nunes; Cinsa, 2016). A análise histológica foi realizada no Laboratório de Patologia do Departamento de Odontologia da UFMA, com o auxílio de um microscópio óptico, de forma cega por um único examinador, e, a partir disso, as características histológicas da úlcera juntamente com suas correspondentes fases do processo inflamatório foram descritas como demonstrados nos Quadros 1 e 2 (Vizzotto et al., 2003). Em seguida, os fragmentos histológicos foram fotografados em 100x e 400x com um Microscópio Olympus® BX41 equipado com Olympus® DP70 câmera (Olympus America Inc., Melville, NY. EUA).

Quadro 1 – Classificação e atribuição dos índices aos achados histológicos (Vizzotto et al., 2003).

PARÂMETRO	INTENSIDADE/ESCORES			
	Acentuado	Moderado	Discreto	Ausente
Células polimorfonucleares	-3	-2	-1	0
Edema	-3	-2	-1	0
Congestão vascular	-3	-2	-1	0
Células mononucleares	3	2	1	0
Tecido de granulação	3	2	1	0
Fibrose	3	2	1	0

Quadro 2 - Inflamação de acordo com escore final de cada grupo (Vizzotto et al., 2003).

Fase do Processo Inflamatório	Escore Final
Agudo	-9 a -3
Subagudo	-3,1 a 3
Crônico	3,1 a 9

Ressalta-se que o ponto de corte para os achados histológicos (Quadro 1) seguiu o seguinte padrão: médias com números decimais $\geq 0,5$ foram classificadas no escore superior ao considerar o número inteiro e médias com números decimais $< 0,5$ corresponderam a classificação inferior à do número inteiro. Segue exemplo: média de 1,5, o parâmetro foi considerado como moderado, enquanto uma média de 0,25 classificou o parâmetro como ausente.

2.9 Análise estatística

Todos os dados foram analisados utilizando GraphPad Prism versão 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os dados foram apresentados em gráfico e figuras como média \pm SEM. As diferenças entre os grupos para as análises da área da lesão e taxa de contração das feridas foram realizadas utilizando-se os testes de análise de variância (one-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Os escores histológicos, por sua vez, foram comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguidos por pós-teste Dunn, considerando-se significativas quando $p < 0,05$ para todas as análises.

3. Resultados

3.1 Perfil fitoquímico

A composição química da amostra foi analisada por HPLC-MS/MS, a identificação foi baseada em íons fragmentos m/z em comparação com aqueles descritos na literatura. Neste estudo, foi possível identificar 16 picos (Figura 1 e Tabela 1), sendo que 14 desses, foi possível definir a estrutura. O tempo de retenção, íon molecular $[M - H]^-$ e íons produtos obtidos por

HPLC-MS / MS para cada pico do extrato hidroalcoólico das cascas de *S. terebinthifolius* estão apresentados na Tabela 1.

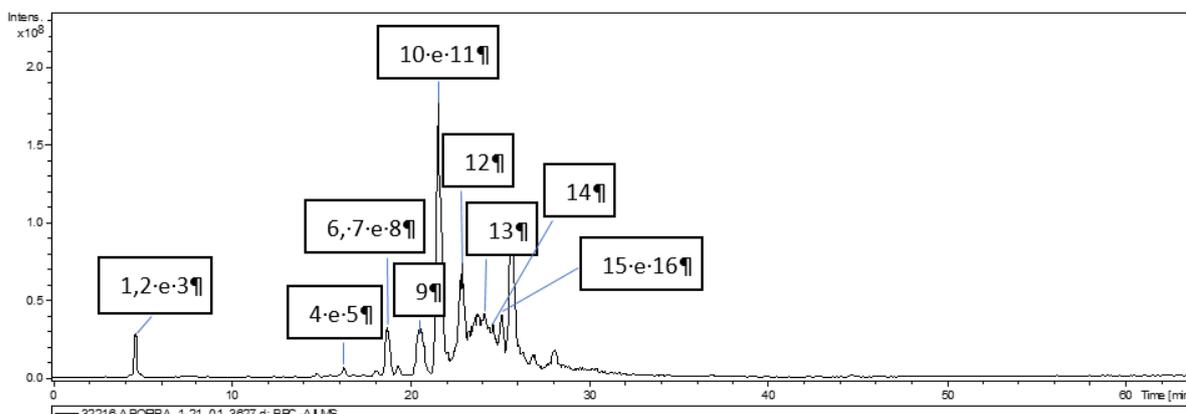


Figura 1. Cromatograma de HPLC dos compostos detectados no extrato hidroalcoólico obtido por maceração, 1:3 (m/v), das cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Tabela 1. Caracterização química do extrato hidroalcoólico das cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi

Nº	TR (min)	[M _H] ⁻	MS/MS	Proposta
1	5	725	665	apigenin 6-C-pentosyl 8-C-(2''-O-hydroxyferuloyl)-pentoside
2	5,1	573	511; 415; 283	Ganoderic acid K
3	5,1	563	503; 353	Vicenin 1
4	16,3	833	663;543;289	B-type (epi)afzelechin (epi)afzelechin-(epi)catechin
5	16,4	543	451; 289	(epi)afzelechin-(epi)afzelechin
6	18,8	561	543; 451; 409; 391	proanthocyanidin dimer
7	18,8	597	561; 483	Astaxanthin
8	18,8	565	431; 279	Isoginkgetin
9	20,5	561	409; 289	proanthocyanidin dimer
10	21,6	1123	561; 409	proanthocyanidin tetramer
11	21,6	597	561	Astaxanthin derivative
12	22,7	561	543; 451; 409; 289	proanthocyanidin dimer
13	24,1	675	561	feruloyl- <i>O-p</i> -coumaroyl- <i>O</i> -caffeoylshikimic acid
14	24,7	833	681; 529; 289	B-type (epi)afzelechin-(epi)afzelechin-(epi)catechin
15	25,2	561	409; 289	proanthocyanidin dimer
16	25,2	597	561	Astaxanthin derivative

TR - tempo de retenção; MW - peso molecular; [M - H]⁻ - íon molecular; MS/MS - Espectrometria de massa

A identificação dos constituintes químicos do extrato da casca de *S. terebinthifolius*, revelou a presença de taninos condensados (B-type (epi)afzelechin (epi)afzelechin-(epi)catechin), flavonoides (apigenin 6-C-pentosyl 8-C-(2"-O-hydroxyferuloyl)-pentoside; vicenin 1; (epi)afzelechin-(epi)afzelechin; proanthocyanidin dimer; proanthocyanidin tetramer; isoginkgetin), triterpenóides (ganoderic acid K), carotenoides (astaxanthin; astaxanthin derivative) e hidroxicinamatos (feruloyl-O-p-coumaroyl-O-caffeoylshikimic acid).

3.2 Análise in silico

A partir da realização de buscas no banco de dados Pubmed, verificou-se que astaxanthin e vicenin 1 apresentaram maior número de publicações que relacionavam esses compostos a atividades cicatrizante e/ou anti-inflamatória. Dessa forma, elegeu-se tais compostos, identificados no extrato da casca do caule *S. terebinthifolius*, para a análise *in silico* (Tabela 2).

Tabela 2. Total de publicação científicas disponíveis na base de dados Pubmed, referente a combinação das palavras-chaves “nome do composto químico identificado no extrato da casca do caule de *Schinus terebinthifolius*” AND “wound healing” e “nome do composto químico identificado no extrato da casca do caule de *Schinus terebinthifolius*” AND “anti-inflammatory activity”, busca realizada em junho de 2019

Composto químico AND	Total de estudos encontrados		
	Wound healing	Anti-inflammatory activity	Total
apigenin 6-C-pentosyl 8-C-(2"-O-hydroxyferuloyl)-pentoside	0	0	0
Ganoderic acid K	0	0	0
vicenin 1	5	32	37
B-type (epi)afzelechin (epi)afzelechin-(epi)catechin	0	0	0
(epi)afzelechin-(epi)afzelechin	0	0	0
proanthocyanidin dimer	4	25	29
Astaxanthin	13	182	195
Isoginkgetin	0	5	5
proanthocyanidin tetramer	2	4	6
feruloyl-O-p-coumaroyl-O-caffeoylshikimic acid	0	0	0

3.2.1 Atividades biológicas identificadas

A análise das prováveis atividades biológicas de vicenin 1 revelou que este composto tem > 30% ($P_a > 0,3$) de probabilidade de apresentar 224 atividades. Destes, 78 têm probabilidade moderada ($P_a > 0,5$) de ocorrência e 31 alta probabilidade de ocorrência ($P_a > 0,7$). Do total de atividades identificadas, 15 eram cicatrizante e/ou anti-inflamatória (Tabela 3).

Por sua vez, o composto químico astaxanthin tem > 30% ($P_a > 0,3$) de probabilidade de apresentar 259 atividades. Destes, 114 têm probabilidade moderada ($P_a > 0,5$) de ocorrência e 57 alta probabilidade de ocorrência ($P_a > 0,7$). Do total de atividades identificadas, 20 eram cicatrizante e/ou anti-inflamatória (Tabela 3).

Tabela 3. Identificação *in silico* das atividades cicatrizante e/ou anti-inflamatória de vicenin 1 e astaxanthin

Atividade cicatrizante e/ou anti-inflamatória	valor de P_a	valor de P_i
<i>Vicenin 1</i>		
Inibidor da expressão de HIF1A	0,887	0,006
Eliminador de radicais livres	0,873	0,002
Antagonista do receptor de anafilatoxina	0,866	0,006
Antioxidante	0,829	0,003
Vasodilatador	0,717	0,007
Vasoprotetor	0,615	0,018
Inibidor da liberação de histamina	0,555	0,018
Estimulante do fator de transcrição NF kappa B	0,532	0,017
Anti-inflamatório	0,530	0,048
Inibidor de adesão plaquetária	0,524	0,047
Estimulante de liberação de histamina	0,517	0,024
Estimulante da angiogênese	0,464	0,013
Imunoestimulante	0,401	0,053
Hemostático	0,381	0,013
Antagonista do óxido nítrico	0,354	0,009
Inibidor da liberação do mediador	0,322	0,077
<i>Astaxanthin</i>		
Inibidor de expressão de TNF	0,81	0,004
Dermatológico	0,805	0,004

Estimulante de fator XIIIa	0,785	0
Antioxidante	0,758	0,004
Antiulcerativo	0,67	0,006
Anti-inflamatório	0,538	0,046
Eliminador de radicais livres	0,535	0,008
Vasoprotetor	0,523	0,034
Estimulante do fator de transcrição NF kappa B	0,475	0,028
Vasodilatador periférico	0,457	0,055
Agente de cicatrização de feridas	0,443	0,017
Imunoestimulante	0,38	0,057
Inibidor de liberação de histamina	0,362	0,113
Agonista do fator estimulador de colônias de macrófagos	0,357	0,156
Inibidor da expressão de HIF1A	0,331	0,15
Anti-inflamatório oftálmico	0,312	0,063
Antagonista do receptor de anafilatoxina	0,312	0,179
Inibidor da síntese de leucotrieno-C4	0,308	0,099
Eliminador de óxido nítrico	0,307	0,006
Inibidor do fator D do complemento	0,302	0,215

Pa: probabilidade de um composto ser ativo; Pi: probabilidade de um composto ser inativo

3.2.2 Estimativa da permeabilidade pela cavidade bucal, das características farmacocinéticas e de efeitos tóxicos

Para prever a permeabilidade oral de vicenin 1 e astaxanthin, seus valores de MV, HBD e nRotB foram analisados. A Tabela 4 demonstra que astaxanthin apresentou melhor estimativa para permeabilidade oral, atendendo a dois dos três critérios avaliados (HBD = 2 e nRotB = 10), quando comparado ao vicenin 1 que atendeu a um dos parâmetros avaliados (nRotB = 4).

Informações sobre as estimativas de absorção gastrointestinal, permeabilidade através da barreira hematoencefálica e permeação na pele (Log Kp em centímetros (cm)/s) são mostradas na Tabela 4. Tanto o vicenin 1 quanto astaxanthin foram considerados de baixa absorção no trato gastrointestinal; os dois compostos químicos avaliados não foram previstos para atravessar a barreira hematoencefálica. Os valores estimados de Log Kp foram de -11,30

e de -2,65 cm/s para vicenin 1 e astaxanthin, respectivamente. Assim, ressalta-se que astaxanthin apresenta melhor permeação cutânea.

A tabela 4 descreve também os efeitos tóxicos previstos do vicenin 1 e astaxanthin. O vicenin 1 foi sugerido como imunotóxico e prejudicial à reprodução. Por outro lado, astaxanthin não apresentou nenhum efeito tóxico. O LD50 estimado foi 536 e 4600 mg/kg para vicenin 1 e astaxanthin, respectivamente. Classificando dessa forma, vicenin 1 e astaxanthin como (classe 4 (nocivo se ingerido quando $300 < LD50 \leq 2000$) e 5 (nocivo se ingerido quando $2000 < LD50 \leq 5000$), respectivamente.

Tabela 4. Estimativa *in silico* da permeabilidade oral, efeitos tóxicos e parâmetros farmacocinéticos de vicenin 1 e astaxanthin

Parâmetros avaliados	Vicenin 1	Astaxanthin
<i>Estimativa da permeabilidade oral</i>		
MV (g/mol)	564,50	596,84
HBD	10	2
NRotB	4	10
<i>Predição de efeitos tóxicos</i>		
Carcinogênico	Inativo	Inativo
Imunotoxicidade	Ativo	Inativo
Citotoxicidade	Inativo	Inativo
Hepatotoxicidade	Inativo	Inativo
Efeitos sobre reprodução	Médio	Inativo
LD50 (mg/kg)	536	4600
Classe de toxicidade	4	5
<i>Estimativa de absorção</i>		
Absorção gastrointestinal	Baixo	Baixo
Barreira hematoencefálica	Não	Não
log Kp (cm/s)	-11,30	-2,65

MV: volume molecular; HBD: número de doadores de hidrogênio; nRotB: número de ligações rotacionáveis; LD50: dose letal 50%; log Kp: índice de permeação cutânea.

3.3 Análise da cicatrização da lesão

3.3.1 Avaliação macroscópica

As representações fotográficas (macroscópicas) das lesões orais de todos os grupos testados (G1, G2 e G3) são mostradas na Figura 2. Foi observado, por meio das imagens, que

as lesões iniciais (tempo 0) apresentam características visualmente semelhantes, no que diz respeito ao tamanho da área lesionada e profundidade da lesão (observada através das características das camadas teciduais atingidas).

Após 3 dias de tratamento das lesões, observou-se que todos os grupos exibiram processo padrão de reparação tecidual em fase inflamatória, com formação de crosta e bordas elevadas, com centro avermelhado, devido à presença de irrigação sanguínea na área. No 7º dia, notou-se contração parcial da ferida (estreitamento das lesões), bem como redução de crosta em todos grupos. Já no 14º dia de tratamento, foi possível verificar um processo de reepitelização avançada com fechamento completo em todos grupos, embora tenham sido observados visualmente diferenças nas características teciduais, indicando possivelmente o seguinte grau de reepitelização: $G2 > G1 > G3$ (Figura 2).

3.3.2 Mensuração da lesão

Outro parâmetro macroscópico analisado foi a área da lesão. A mesma foi medida por meio das fotografias digitais com auxílio do programa ImageJ e serviu de base para o cálculo da taxa de contração das feridas.

De acordo com o gráfico 1, é possível verificar que as medidas de áreas (mm^2) das lesões foram diminuindo de forma gradual ao longo do período avaliado, demonstrando que não houveram fatores que retardassem a cicatrização e/ou fechamento da ferida. Embora não tenha sido observada diferença estatística entre os grupos ($p = 0,9988$), ressalta-se que no 14º dia a média da área da lesão foi menor no grupo G3 (Figura 3).

A contração da ferida constitui uma etapa importante para o fechamento da lesão. A figura 4 ilustra o grau de contração das feridas durante o período de tratamento. Aos 14 dias, a média do grau de contração apresentou valores de 98,6% para G1, 98,4% para G2 e 98,9% para G3, sugerindo que nesse período o reparo da lesão já estava reestabelecido. Não foram verificadas diferenças estatísticas entre os grupos controles (G1 e G2) e tratado (G3) quanto ao grau de contração das feridas.

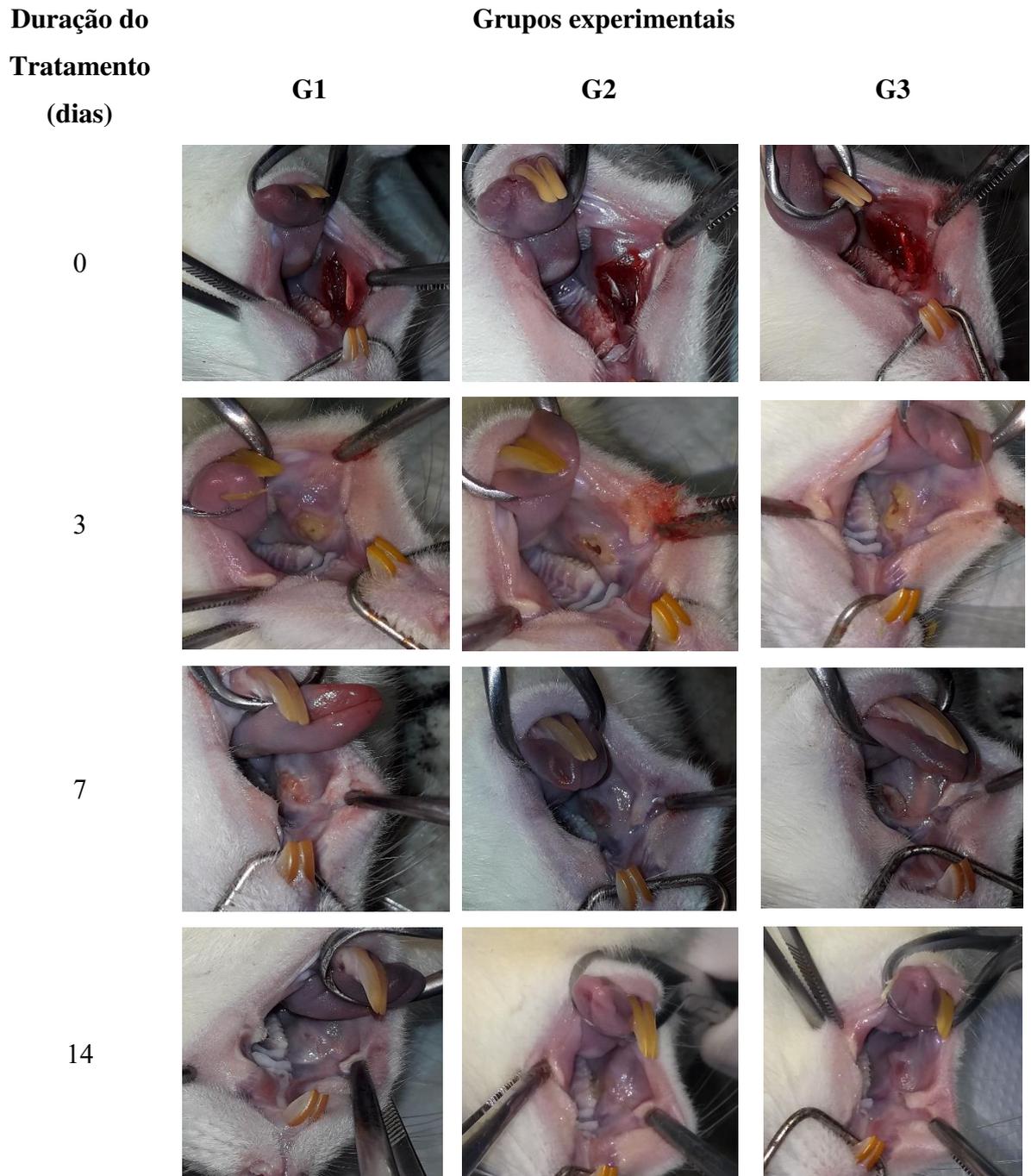


Figura 2. Imagens macroscópicas representativas das lesões na mucosa jugal em *Rattus norvegicus* dos grupos G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* Raddi 2%) durante o processo de cicatrização.

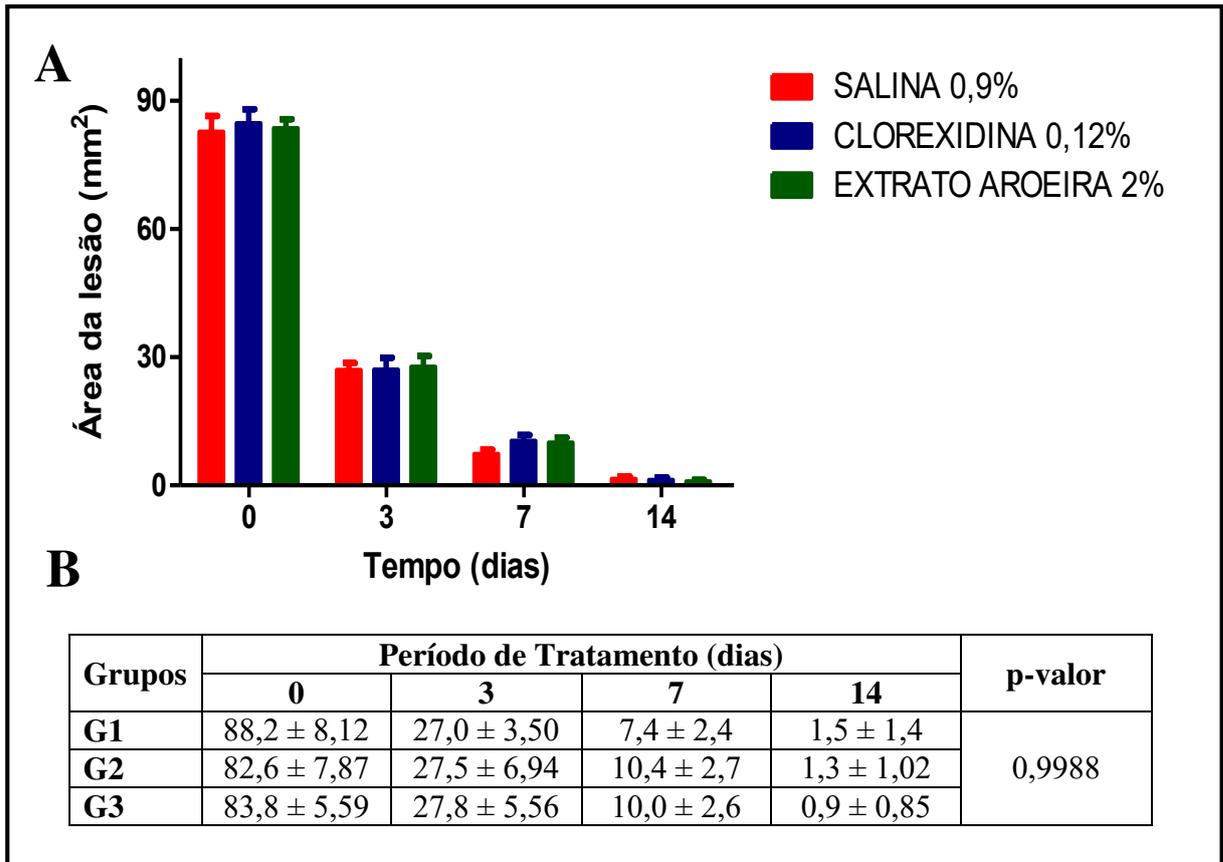


Figura 3. Avaliação da área da lesão da mucosa jugal em *Rattus norvegicus*. A) Apresentação da área da lesão de cada grupo pelo tempo de tratamento; B) Média e desvio padrão da área da lesão e valor de p. G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* 2%)

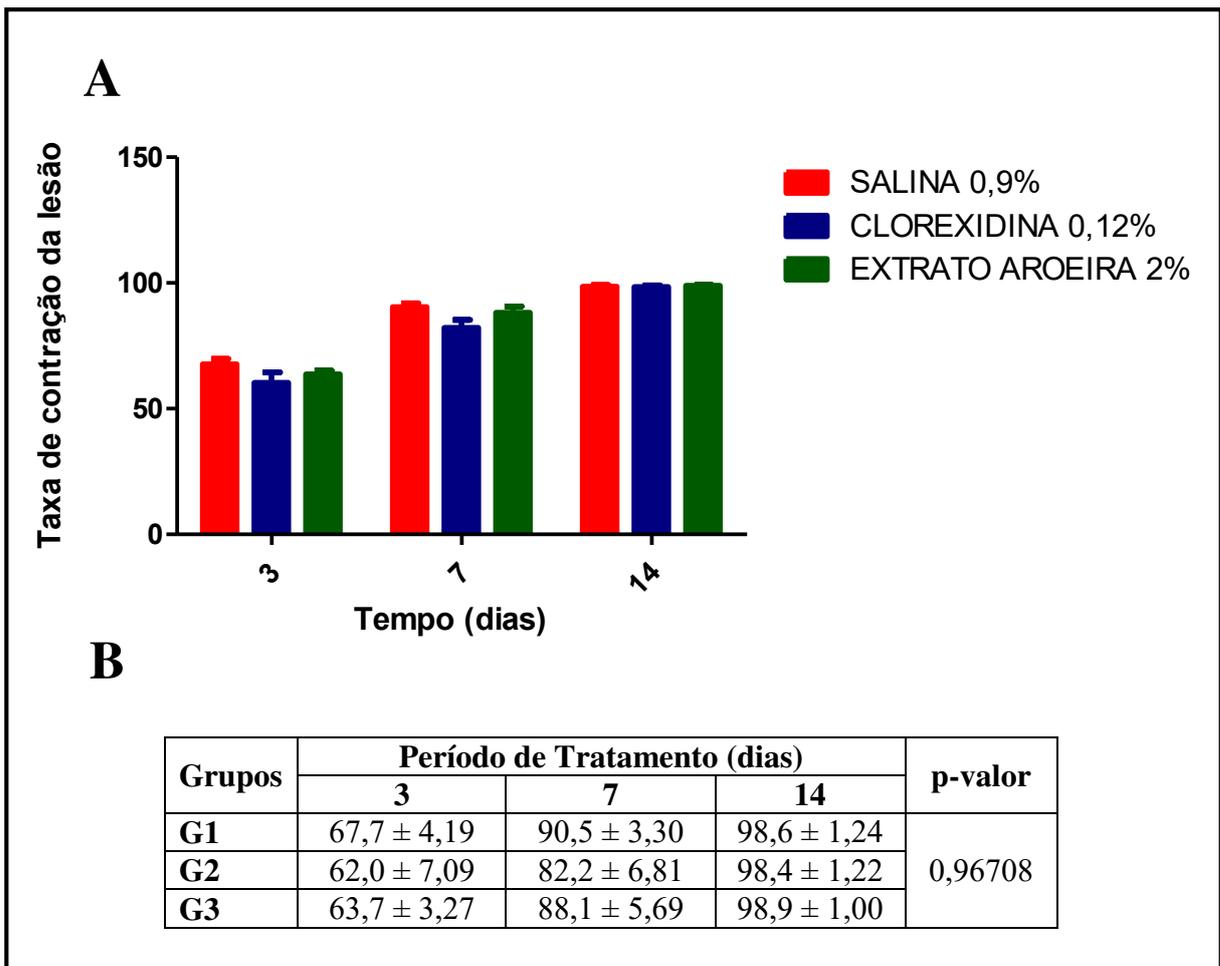


Figura 4. Avaliação da taxa de contração da lesão da mucosa jugal em *Rattus norvegicus*. A) Apresentação da taxa de contração da ferida de cada grupo pelo tempo de tratamento; B) Média e desvio padrão da taxa de contração da lesão e valor de p. G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* 2%)

3.3.3 Avaliação microscópica

A Figura 5 mostra a fotomicrografia representativa de seções da mucosa oral coradas com H&E de todos os grupos. Uma comparação dos fatores envolvidos no processo inflamatório e de reepitelização por tempo de tratamento entre todos os grupos experimentais são apresentados na Figura 5 e Figura 6.

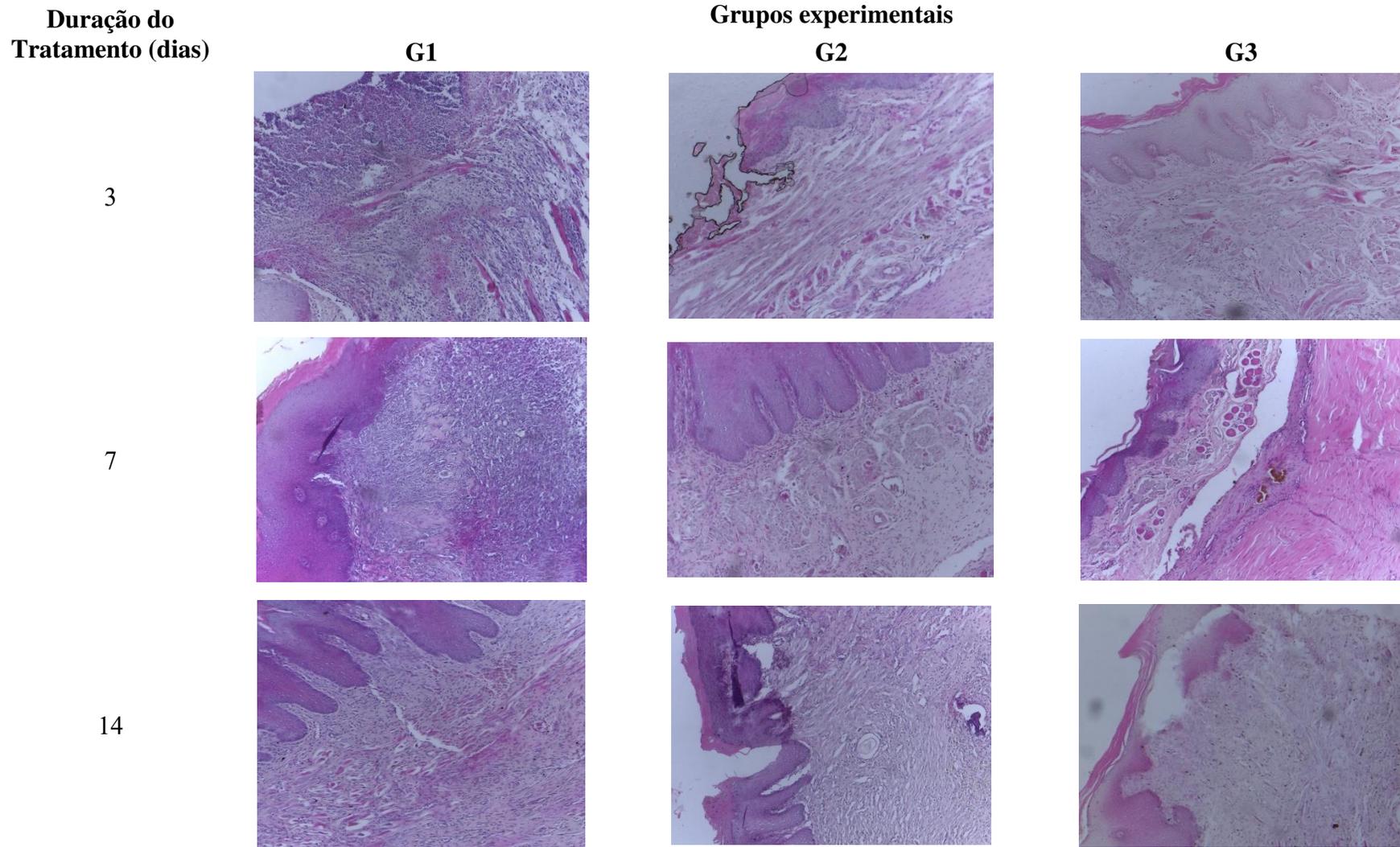


Figura 5. Análises histológicas das lesões da mucosa jugal em *Rattus norvegicus* dos grupos G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* 2%) durante o processo de cicatrização. Coloração por hematoxilina e eosina (H&E), ampliação de 100x.

No dia 3, foram observadas presença de células polimorfonucleares moderada para os grupos G1 e G3 e discreta para o grupo G2, quanto a manifestação de edema verificou-se que G1 e G3 apresentaram manifestação moderada e G2 discreta. Houve diferença estatística ($p = 0,0169$) na análise da presença de edema entre os grupos G2 e G3. O processo de congestão vascular foi moderado para G1 e G3 e discreto para G2. A presença de células mononucleares foi moderada para todos os grupos. Já tecido de granulação foi observado de forma moderada para os grupos G1 e G3 e de forma discreta para G2. Notou-se discreta fibrose para G1 e moderada para G2 e G3 (Figura 5 e Tabela 5).

Tabela 5. Média e desvio padrão dos parâmetros histológicos no 3º dia de tratamento das lesões da mucosa oral de *Rattus norvegicus*

PARÂMETRO INFLAMATÓRIO	3 DIAS			p-valor
	G1	G2	G3	
Células polimorfonucleares	-1,5 ± 1,00	-0,5 ± 0,58	-1,5 ± 0,89	0,1136
Edema	-1,5 ± 0,58	-0,25 ± 0,50*	-2,4 ± 0,89*	0,0169
Congestão vascular	-1,5 ± 1,29	-0,5 ± 1,00	-2,2 ± 1,09	0,1094
Células mononucleares	2,0 ± 0,82	2,0 ± 1,15	2,2 ± 0,84	0,9265
Tecido de granulação	2,0 ± 0,82	0,75 ± 1,50	2,2 ± 0,84	0,2337
Fibrose	1,25 ± 0,50	1,75 ± 1,26	1,6 ± 0,89	0,7437

G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* 2%)

Após 7 dias de tratamento, a presença de células polimorfonucleares, edema e fibrose foram discretas em todos os grupos avaliados. Congestão vascular apresentou-se de forma discreta para G1 e G3 e ausente em G2. Células mononucleares encontraram-se de forma moderadas em todos os grupos. Tecido de granulação estava de forma moderada para G1 e G3 e discreta para G2. Fibrose apresentou-se de forma discreta em todos os grupos (Figura 5; Tabela 6).

Tabela 6. Média e desvio padrão dos parâmetros histológicos no 7º dia de tratamento das lesões da mucosa oral de *Rattus norvegicus*

PARÂMETRO INFLAMATÓRIO	7 DIAS			p-valor
	G1	G2	G3	
Células polimorfonucleares	-1,0 ± 0,84	-1,0 ± 0,84	-0,5 ± 0,55	0,4576
Edema	-1,2 ± 1,09	-0,6 ± 0,89	-0,6 ± 0,89	0,5539
Congestão vascular	-1,2 ± 1,09	-0,2 ± 0,44	-1,0 ± 1,22	0,1717
Células mononucleares	2,2 ± 0,84	1,8 ± 0,84	1,8 ± 0,84	0,6598
Tecido de granulação	2,0 ± 1,22	1,2 ± 1,30	1,6 ± 1,14	0,5660
Fibrose	0,8 ± 1,30	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,41	0,9282

G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* 2%)

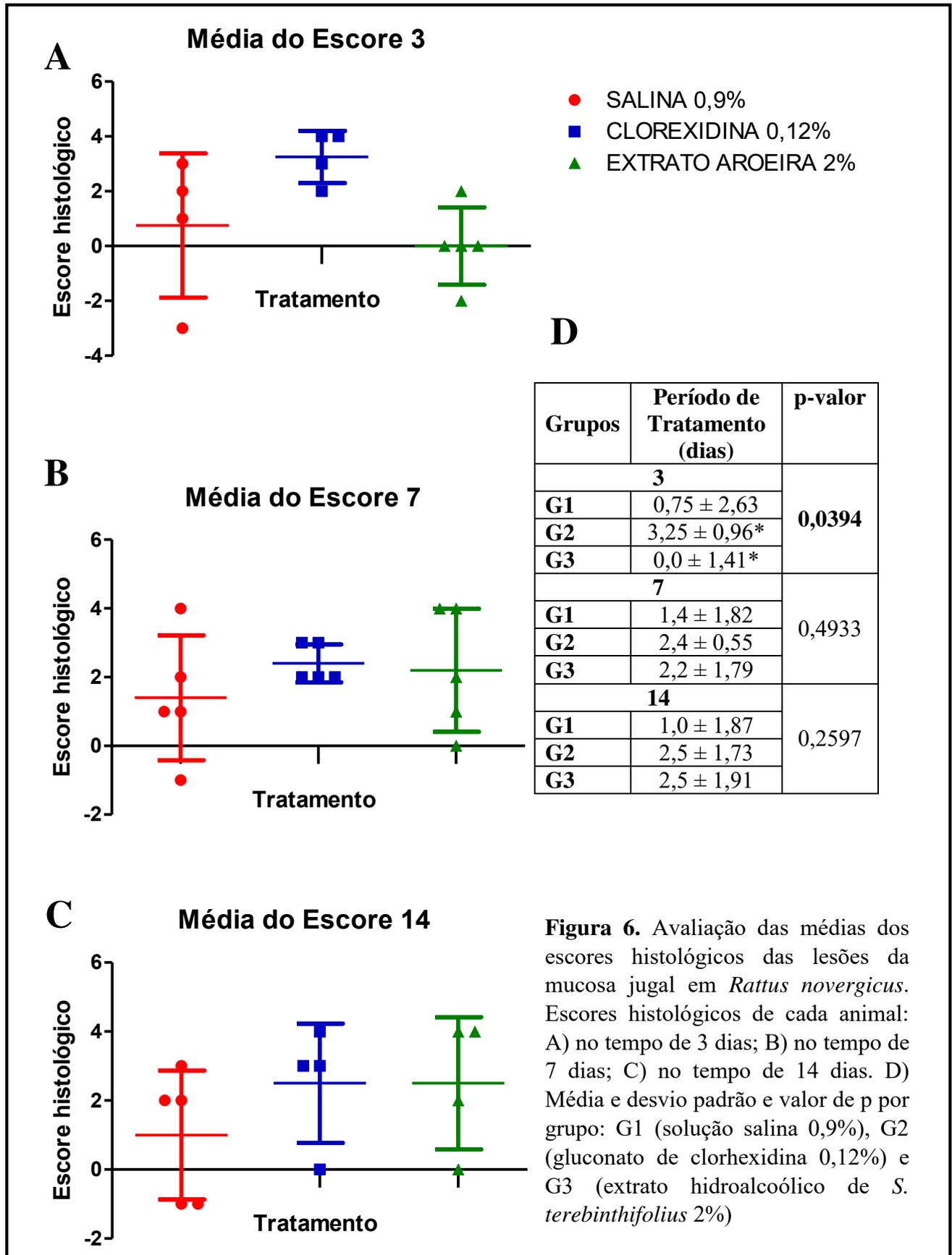
No 14º dia constatou-se discreta manifestação de células polimorfonucleares e mononucleares em G1 e ausência em G2 e G3. Edema discreto em G1 e G2 e ausente em G3. Congestão vascular moderada em G1 e discreta em G2 e G3. Presença de células mononucleares de forma moderada em G1 e discreta em G2 e G3. Tecido de granulação discreto em G1 e G2 e ausente em G3. Fibrose acentuada em G3, moderada em G2 e discreta em G1 (Figura 5 e Tabela 7).

Tabela 7. Média e desvio padrão dos parâmetros histológicos no 14º dia de tratamento das lesões da mucosa oral de *Rattus norvegicus*

PARÂMETRO INFLAMATÓRIO	14 DIAS			p-valor
	G1	G2	G3	
Células polimorfonucleares	-0,75 ± 0,89	-0,25 ± 0,50	-0,25 ± 0,50	0,7711
Edema	-0,6 ± 0,89	-0,75 ± 0,95	-0,0 ± 0,00	0,3034
Congestão vascular	-1,6 ± 1,34	-1,0 ± 0,81	-0,5 ± 0,57	0,3568
Células mononucleares	1,6 ± 0,89	1,25 ± 0,50	0,75 ± 0,50	0,2053
Tecido de granulação	1,0 ± 1,41	1,25 ± 1,26	0,0 ± 0,00	0,1646
Fibrose	1,2 ± 1,09	2,0 ± 1,41	2,5 ± 0,57	0,1766

G1 (solução salina 0,9%), G2 (gluconato de clorhexidina 0,12%) e G3 (extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* 2%)

Por meio da avaliação da média dos escores histológicos nota-se que no tempo 3, o grupo G1 e G3 apresentaram um padrão inflamatório subagudo e G2 crônico, com diferença estatística entre G2 e G3 ($p = 0,0394$). Já no 7º e 14º dia de tratamento todos os grupos apresentaram padrão inflamatório subagudo, sem diferença estatística entre os grupos experimentais (Figura 6).



4. Discussão

4.1 Perfil fitoquímico

Estudos anteriores a este, também identificaram a presença de taninos condensados (catequinas e epicatequinas), flavonoides e triterpenoides, além de ácido gálico, ácido elágico, saponinas e derivados do ácido cinâmico, na casca de *S. terebinthifolius* (Nunes-Neto et al., 2017; Sereniki et al., 2016; Lima et al., 2009; Varela-Barca et al., 2007). Enfatiza-se que muitas propriedades medicinais da aroeira podem ser atribuídas aos diferentes polifenóis que estão distribuídos de modo desigual nos seus diversos órgãos (Santos et al., 2012).

Ressalta-se ainda que, neste estudo foram identificados compostos químicos diferentes (Tabela 3), embora as classes químicas (taninos, flavonoides, triterpenoides) sejam semelhantes, a encontradas em outros estudos (Nunes-Neto et al., 2017; Sereniki et al., 2016; Lima et al., 2009; Varela-Barca et al., 2007). Isso possivelmente se deve a interface química entre as plantas e o ambiente na produção dos metabólitos secundários (Morais, 2009), uma vez que a planta utilizada neste estudo é proveniente de um local diferente das utilizadas nos trabalhos citados acima.

4.2 Análise *in silico*

Estudos com extratos da casca do caule de *S. terebinthifolius* indicaram seu potencial cicatrizante e anti-inflamatório. Contudo, enfatiza-se que nesses estudos não foram evidenciados os compostos químicos presentes nos extratos avaliados (Scheibe et al., 2016; Lucena et al., 2006; Santos et al., 2006). Em nosso estudo, por meio da análise cromatográfica, foi possível prevê a presença de determinados compostos químicos presentes no extrato hidroalcoólico da casca de *S. terebinthifolius* (Tabela 1) e, a partir disto, selecionar os compostos que já haviam manifestado algum resultado como cicatrizante e anti-inflamatório (Tabela 2) para análise *in silico*.

A avaliação *in silico* confirmou atividades biológicas dos compostos analisados, vicenin 1 e astaxanthin, e, entre essas atividades, o potencial cicatrizante e anti-inflamatório desses compostos (Davinelli; Nielsen; Scapagnini, 2018; Fang et al., 2017; Uma; Satyamitra, 2004; Vrinda; Uma, 2001; Uma et al., 2000). Como visto na Tabela 3, a manifestação do potencial

cicatrizante e anti-inflamatório dos compostos, possivelmente, pode ocorrer por mecanismos de ação direta e/ou indiretamente nas etapas envolvidas no processo de cicatrização (Smigiel; Parks, 2018; Childs; Murthy, 2017; Kasuya; Tokura, 2014).

A análise da permeabilidade pela cavidade oral de vicenin 1 e astaxanthin, estimou que esses compostos apresentam potencial para atravessar a barreira da mucosa bucal, pois atenderam a pelo menos um dos três critérios avaliados (MV, HBD e nRotB) (Kokate et al., 2009). O astaxanthin apresentou melhor permeabilidade oral por atender a dois critérios. Além disso, associa-se a esse fato que a previsão de permeação na pele ($\log K_p$) indicou que astaxanthin é mais provável de ser absorvível pelas camadas da pele do que o vicenin 1, pois esse composto apresentou maior valor de $\log K_p$ (Daina; Michielin; Zoete, 2017; Potts; Guy, 1992) mostrando assim possibilidades de uso tópico desse composto presente no extrato da casca de *S. terebinthifolius* utilizado nesse estudo.

A avaliação *in silico* também revelou que, vicenin 1 e astaxanthin, apresentam baixa absorção pelo trato gastrointestinal, o que reforça ainda mais, de acordo com os resultados dos parâmetros para permeabilidade oral e $\log K_p$, a possível utilização desses compostos de forma tópica quando comparada ao uso por via sistêmica. Digno de nota, estes compostos não foram sugeridos para serem capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (Kumar; Sharma; Tiwari, 2013), ou seja, se utilizados por via sistêmica, provavelmente não há riscos de efeitos indesejáveis no sistema nervoso (Zlokovic, 2008). Contudo, doses $>536\text{mg/kg}$ de vicenin 1 e $>4600\text{mg/kg}$ de astaxanthin seriam letais para os mamíferos, pois esses compostos foram classificados como nocivos se ingeridos nesta DL50 (classe de toxicidade igual a 4,0 e 5,0, respectivamente) (Moore et al., 2013).

4.3 Análise da cicatrização da lesão

A análise morfológica macroscópica demonstrou que o grupo gluconato de clorhexidina 0,12% apresentou melhor processo de reepitelização visual (Figura 2). Contudo, através da avaliação das médias das áreas (mm^2) das lesões e das taxas de contrações de feridas (Figura 3 e 4) verificou-se que o extrato hidroalcoólico da casca de *S. terebinthifolius* possibilitou, mesmo que minimamente, uma melhor cicatrização. Enfatiza-se que as fotografias das lesões que constam nesse estudo (Figura 2) correspondem a imagens de um único animal por grupo e que, portanto, embora representativas, não devem ser consideradas como principal parâmetro para

análise do processo de cicatrização de cada grupo. Já as áreas e taxas de contrações de feridas apresentadas constituem a média dos valores de todos os animais por cada grupo e, assim, demonstram resultados mais fidedignos quanto a avaliação macroscópica das lesões. Dessa forma, o grupo tratado com *S. terebinthifolius* aponta que essa espécie vegetal pode ter um futuro promissor no tratamento alternativo de lesões orais.

No presente estudo, observamos que após a conclusão da cicatrização de feridas, um pouco de tecido de cicatriz permaneceu em todos os ratos tratados (Figura 2). Formação de cicatriz em todos os tipos de cicatrização de feridas são normais (Rahman et al., 2019) e existem mesmo após a cura completa. Isso ocorre porque a contração da ferida raramente é capaz de levar à sua forma permanente com o fechamento, que é devido, em especial, pela presença de fibroblastos encontrado no tecido de granulação que posteriormente se diferenciam em miofibroblastos (Pereira et al., 2012).

Em suma, o objetivo do processo de cicatrização, após uma lesão nos tecidos, é o de restaurar a continuidade entre as margens da lesão e restabelecer a função dos tecidos lesados (Kasuya; Tokura, 2014; Balbino; Perira; Curi, 2005). A rápida proliferação e constante renovação da mucosa bucal permitem o rápido restabelecimento da sua integridade, após lesões (Nikoloudaki; Creber; Hamilton, 2020; Iglesias-Bartolome et al., 2018).

A análise macroscópica das feridas mostrou que ao 3º dia de tratamento, as feridas em todos grupos estavam com aspectos amarelado (Figura 2), demonstrando assim, uma ferida com aspecto fibrinoso, assim como observou-se que no 14º dia houve um estreitamento em todos os grupos e reepitelização, ou seja, todas as feridas seguiram o curso normal do padrão de uma ferida em processo de cicatrização, estando de acordo com os resultados de diversos autores (Medeiros, 2016; Szwed, 2016; Oliveira, 2012).

Alguns estudos demonstraram, *in vivo*, o potencial cicatrizante da casca do caule de *S. terebinthifolius* frente a feridas pós-cirúrgicas, cecorrafia (Scheibe et al., 2016) e cistotomia (Lucena et al, 2006). Também foi testado como cicatrizante em gastrorrafias, mas não foram observadas alterações no processo de cicatrização. Por sua vez, o estudo de Castelo Branco Neto (2006) mostrou que o extrato hidroalcoólico da casca do caule de *S. terebinthifolius* retardou o processo de cicatrização de feridas de pele de ratos.

Dentre os estudos realizados com extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius*, destaca-se o trabalho de Ribas et al. (2006), uma vez que teve o mesmo objetivo do nosso estudo, avaliar o potencial cicatrizante de *S. terebinthifolius* em lesões na mucosa oral de *Rattus norvegicus*

albinus, linhagem Wistar. Contudo, enfatiza-se que o estudo de Ribas et al. apresentou alguns fatores diferentes do nosso estudo como: a parte vegetal utilizada foram as folhas, o efeito cicatrizante da espécie vegetal foi testado em lesões ulceradas na mucosa que reveste o dorso da língua e o processo de indução das feridas foi através da aplicação tópica diária de hidróxido de sódio a 40%. Este trabalho demonstrou que o extrato hidroalcoólico das folhas de *S. terebinthifolius* atuou acelerando o processo de reparo do tecido epitelial, estimulando a queratinização e atuou também no reparo do tecido conjuntivo, diminuindo rapidamente a intensidade do processo inflamatório crônico e a angiogênese e acelerando a maturação do colágeno (Ribas et al., 2006).

Embora em nosso estudo não tenha sido verificado diferenças estatísticas entre os grupos avaliados, se faz importante salientar que, o extrato hidroalcoólico da casca do caule de *S. terebinthifolius* a 2%, mostrou um processo de diminuição da área da lesão, bem como da taxa de contração das feridas, ligeiramente mais promissores do que os controles negativo (solução salina 0,9%) e positivo (gluconato de clorhexidina 0,12%). Além disso, aponta-se que este consiste num estudo inédito, onde as condições metodológicas tentaram simular o máximo de semelhança a ulcerações aftosas menores como os locais mais comuns de aparecimento (mucosa jugal) e o tempo de duração dessas lesões (14 dias) (Chiang et al., 2019; Roger III, 1977).

Outro fator relevante de nosso trabalho corresponde a concentração do extrato utilizada, a escolha do extrato a 2% ocorreu devido a constatação na literatura científica que *S. terebinthifolius* tem sido testado em baixas concentrações 5% em feridas de pele, mostrando resultados positivos no processo de cicatrização (Estevão et al., 2015) e por ter sido verificado que certos produtos naturais podem causar alergia quando utilizado no tratamento de ulcerações aftosas (Brailo et al., 2006). Soma-se a isso, o fato que muitos medicamentos utilizados na medicina convencional para o tratamento de aftas são encontrados em baixas concentrações nas formulações tais como: acetato de triancinolona 1%, dexpanthenol 5%, clorexidina 2% (Martorelli et al., 2011) e dipropionato de betametasona 0,05% (Brailo et al., 2006).

A análise microscópica dos tecidos das mucosas orais de ratos revelou que o tratamento com o extrato hidroalcoólico da casca do caule de *S. terebinthifolius* a 2%, favoreceu alguns eventos presentes no processo de cicatrização, como fase inicial ou inflamatória (presença de células polimorfonucleares, edema e congestão vascular de forma moderada no 3º dia), fase

proliferativa ou de fibroplasia (células polimorfonucleares edema e congestão discretos e tecido de granulação e células mononucleares moderados no 7º dia) e fase de remodelação ou maturação (células polimorfonucleares e edema ausentes, congestão vascular e células mononucleares discretas, fibrose acentuada no 14º dia) (Balbino; Perira; Curi, 2005).

O grupo tratado com solução salina 0,9% apresentou no 3º dia, características da fase inflamatória (presença de células polimorfonucleares, edema e congestão vascular moderados), fase proliferativa exatamente com o mesmo padrão observado para o grupo tratado com *S. terebinthifolius*, mas a fase de remodelação foi marcada por discreta fibrose.

Já o grupo que recebeu gluconato de clorhexidina 0,12%, na fase inflamatória apresentou discreta presença de células polimorfonucleares e congestão vascular, ausência de edema (3º dia), na fase proliferativa manifestou moderada presença de células mononucleares e discreto aparecimento de tecido de granulação (7º dia) e na fase de remodelação, a fibrose apresentou-se de forma moderada (14º dia).

Dessa forma, considerando a avaliação histopatológica é possível evidenciar a seguinte relação, no que concerne o processo de cicatrização de feridas na mucosa oral de ratos abordado neste estudo, $G3 > G2 > G1$. Além disso, cita-se que um padrão inflamatório subagudo foi observado em todos os grupos experimentais e em todos os tempos, com exceção do grupo G2 no 3º dia de tratamento que manifestou padrão inflamatório crônico. Isso talvez possa ser explicado pela natureza da mucosa oral, por que embora os tecidos cutâneos e orais sigam um processo de cura macroscópico semelhante, foi demonstrado que eles exibem muitas variações a nível celular e molecular em relação aos processos celulares subjacentes à restauração da arquitetura e função do tecido (Nikoloudaki; Creber; Hamilton, 2020).

Ferimentos na mucosa oral curam significativamente mais rápido, com formação mínima de cicatriz em comparação com feridas na pele. Esta observação é concomitante com uma redução da resposta inflamatória; atribuído principalmente ao recrutamento reduzido de neutrófilos, macrófagos e células T pós-lesão. Vários outros fatores contribuintes foram propostos para desempenhar um papel na velocidade de cicatrização, incluindo a presença de saliva na cavidade oral, leucócitos, fatores de crescimento, diferenças fenotípicas entre fibroblastos orais e cutâneos, como bem como a presença de bactérias que estimulam a cicatrização de feridas. No entanto, muitos dos processos moleculares subjacentes à cura mais rápida de lesões na mucosa oral em comparação com a pele permanecem não caracterizados (Häkkinen; Uitto; Larjava, 2020; Nikoloudaki; Creber; Hamilton, 2020; Lepekhn et al., 2002).

Faz-se importante relatar que, além das características associadas ao processo de cicatrização na mucosa oral de seres humanos mencionadas acima, o modelo experimental utilizado nesse estudo, embora tenhamos seguido protocolos descritos na literatura como o tipo de animal e método de raspagem da mucosa utilizados (Cavalcante et al., 2011; Salum; Cherubini; Amenábar, 2011), pode ter influenciado nos resultados observados, levando-se em consideração os fatores fisiopatológicos das úlceras orais, mais especificamente as aftas orais, que tem um padrão de cicatrização em torno de 14 dias. Sendo assim, observa-se a necessidade de verificação deste protocolo em outros modelos animais e/ou diferentes métodos de indução de úlceras orais, nos quais as mesmas apresentem padrão de cicatrização mais semelhante ao que ocorre na cavidade oral humana.

Sugere-se que sejam observados com mais detalhes os caracteres histológicos da mucosa jugal do animal utilizado nos experimentos. *Rattus norvegicus* apresentam uma mucosa jugal constituída por epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado, subjacente ao qual se observam faixa de tecido conjuntivo fibroso e feixes de fibras musculares estriadas dispostas longitudinalmente. A espessura epitelial varia de 40 a 80 μ m, dos quais 7 a 20 μ m são ocupados pela faixa de ceratina (Salum; Cherubini; Amenábar, 2011). O fato de serem utilizados ratos em experimentos que avaliem a cicatrização na cavidade oral, deve-se assim como em outros tipos de estudos, a facilidade de manuseio e manutenção dos mesmos. Contudo, para avaliação de um padrão de úlceras orais que simulem aftas orais menores, é importante pensar em modelos de maior porte e que apresentem uma constituição tecidual mais próxima, inclusive em espessura, da cavidade oral humana.

Assim, mais estudos, referentes ao processo de cicatrização de feridas orais, precisam ser realizados, quer para entender essa dinâmica inflamação/cicatrização, quer para testar o potencial cicatrizante e/ou anti-inflamatório de novas alternativas terapêuticas, em especial, as de uso tópico oral em diferentes modelos experimentais, para que se possa alcançar um padrão de simulação o mais próximo possível do que ocorre na mucosa oral de seres humanos.

5. Conclusão

Os dados mostraram que o extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius* Raddi pode favorecer o processo de cicatrização de feridas na mucosa oral de ratos, embora, pelo modelo experimental utilizado, não tenha sido possível observar o efeito cicatrizante da espécie

estudada. Contudo, o composto químico identificado, astaxanthin, pode ser útil como uma terapia anti-inflamatória e cicatrizante adjuvante de uso tópico. Ressalta-se que esta pesquisa é inédita, no que diz respeito, a utilização de *Schinus terebinthifolius* no tratamento de lesões da mucosa jugal de ratos (modelo padronizado) e, portanto, demanda novos estudos, em virtude da importância de descobertas de alternativas terapêuticas, para tratar o problema propulsor aqui apresentado, a ulceração aftosa recorrente.

Referências

Affonso, C.R.G., Fernandes, R.M., Oliveira, J.M.G. de, Martins, M. do C. de C. e, Lima, S.G. de, Sousa Júnior, G.R. de, Fernandes, M.Z. de L.C.M., Zanini, S.F., 2012. Effects of the essential oil from fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) on reproductive functions in male rats. *J. Braz. Chem. Soc.* 23, 180–185. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000100025>

Akintoye, S.O, Greenberg, M.S. Recurrent Aphthous Stomatitis. *Dent Clin North Am.* 58(2): 281–297, 2014. doi:10.1016/j.cden.2013.12.002.

Balbino, C.A., Pereira, L.M.; Curi, R., 2005. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* [online]. 41(1): 27-51. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100004>

Barbieri, D.S. V, Tonial, F., Lopez, P.V.A., Sales Maia, B.H.L.N., Santos, G.D., Ribas, M.O., Glienke, C., Vicente, V.A., 2014. Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.05.006>

Bendaoud, H., Romdhane, M., Souchard, J.P., Cazaux, S., Bouajila, J., 2010. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. *J. Food Sci.* <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01711.x>

Brailo, V., Boras, V.V., Alajbeg, I., Juras, V., 2006. Delayed contact sensitivity on the lips and oral mucosa due to propolis-case report. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 1;11(4):E303-4. PMID: 16816812.

Branco Neto, M.L., 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., 2006. Avaliação do

extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos [Evaluation of hydroalcoholic extract of Aroeira (*Shinus Terebinthifolius* Raddi) in the healing process of wound skin in rats]. *Acta Cir Bras. Suppl* 2:17-22. Portuguese. doi: 10.1590/s0102-86502006000800004. PMID: 17117273.

Cavalcante, G. M., Paula, R.J.S., Souza, L.P., Sousa, F.B., Mota, M.R.L, Alves, A.P.N. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. *Acta Cirúrgica Brasileira, São Paulo*, 26(3):227-234, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502011000300012>

Cherubini, K., Lorandi, C.S.A., Krapf, S.M.R., Sousa, F.R., Yurgel, L.S., Figueiredo, M.A., Salum, F.G. Association between recurrent aphthous stomatitis and salivary thiocyanate levels. *J. Oral Sci.*, 48(3), 153-156, 2006. <https://doi.org/10.2334/josnusd.48.153>

Chiang, C-P., Chang, J. Y-F; Wang, Y-P.; Wu, Y-H; Wu, Y-C; Sun, A., 2019. Recurrent aphthous stomatitis - Etiology, serum autoantibodies, anemia, hematinic deficiencies, and management. *Journal of the Formosan Medical Association*, 118(9):1279-1289. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.10.023>

Childs, D. R.; Murthy, A. S., 2017. Overview of Wound Healing and Management. *Surgical Clinics of North America*, 97(1), 189–207. doi:10.1016/j.suc.2016.08.013

Daina, A., Michielin, O., Zoete, V., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 7: 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717> PMID: 28256516

Dannenberg, G.S., Funck, G.D., Silva, W.P., Fiorentini, AM., 2019. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. *Food Control* 95, 115–120.

Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G., 2018. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. *Nutrients*. 22;10(4):522. doi: 10.3390/nu10040522. PMID: 29690549; PMCID: PMC5946307.

De Melo, E.J.M., Junior, M.J., Raposo, J.A., Lisboa Neto, M.F.A., Diniz, Marcelino Junior, C.A.C., Sant'Ana, A.E.G. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology*, 9(2):109-116, 2002.

Drwal, M.N., Banerjee, P.; Dunkel, M.; Wettig, M.R., Preissner, R. ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res*. 42: W53–58, 2014. <https://doi.org/10.1093/nar/gku401>. PMID: 24838562

Estevão, L.R.M., Mendonça, F.D.S., Baratella-Evêncio, L., Simões, R.S., Barros, M.E.G. De, Arantes, R.M.E., Rachid, M.A., Evêncio-Neto, J. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. *Acta Cir. Bras.* 28, 202–209, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502013000300008>

Estevão, L.R.M., Simões, R.S., Cassini-Vieira, P., Canesso, M.C.C., Barcelos, L. da S., Rachid, M.A., Câmara, C.A.G. da, Evêncio-Neto, J. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. *Acta Cir. Bras.* 32, 726–735, 2017. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020170090000005>

Fang Q, Guo S, Zhou H, Han R, Wu P, Han C. Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis. *Sci Rep.* 27;7:41440, 2017. doi: 10.1038/srep41440. PMID: 28128352; PMCID: PMC5269753.

Fedel-Miyasato, L.E.S., Kassuya, C.A.L., Auharek, S.A., Formagio, A.S.N., Cardoso, C.A.L., Mauro, M.O., Cunha-Laura, A.L., Monreal, A.C.D., Vieira, M.C., Oliveira, R.J. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolius* methanolic extract. *Rev. Bras. Farmacogn.* 24, 565–575, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.08.004>

Ferreira, S.B., Dantas, T.B., de Figueredo Silva, D., Ferreira, P.B., de Melo, T.R., de Oliveira Lima, E. In silico and in vitro investigation of the antifungal activity of isoeugenol against *Penicillium citrinum*. *Curr Top Med Chem.* 18: 2186–2196, 2018. <https://doi.org/10.2174/1568026619666181130141818>

Feuereisen, M.M., Gamero Barraza, M., Zimmermann, B.F., Schieber, A., Schulze-Kaysers, N., 2017. Pressurized liquid extraction of anthocyanins and biflavonoids from *Schinus terebinthifolius* Raddi: A multivariate optimization. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.002>

Häkkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol.* 24:127-52, 2020. PMID: 11276865.

Huling LB, Baccaglioni L, Choquette L, Feinn RS, Lalla RV. Effect of stressful life events on the onset and duration of recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med.*, 41(2):149–152, 2012. [PubMed: 22077475]

Iglesias-Bartolome R, Uchiyama A, Molinolo AA, Abusleme L, Brooks SR, Callejas-Valera JL, Edwards D, Doci C, Asselin-Labat ML, Onaitis MW, Moutsopoulos NM, Gutkind

JS, Morasso MI. Transcriptional signature primes human oral mucosa for rapid wound healing. *Sci Transl Med.*10(451):eaap8798, 2018. doi: 10.1126/scitranslmed.aap8798. PMID: 30045979; PMCID: PMC6598699.

Jain, M.K., Bao-Zhu Yu, Rogers, J.M., Smith, A.E., Boger, E.T.A., Ostrander, R.L., Rheingold, A.L. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry.*, 1995. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00960-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00960-2)

Kasuya, A.; Tokura, Y. Attempts to accelerate wound healing. *Journal of Dermatological Science*, 76(3), 169–172, 2014. doi:10.1016/j.jdermsci.2014.11.001

Keogan MT. Clinical Immunology Review Series: an approach to the patient with recurrent orogenital ulceration, including Behcet's syndrome. *Clin Exp Immunol.*, 156(1):1–11, 2009. [PubMed: 19210521]

Kerr AR, Ship JA. Management strategies for HIV-associated aphthous stomatitis. *Am J Clin Dermatol*, 4(10):669–680, 2013. [PubMed: 14507229]

Khurana, N., Ishar, M.P., Gajbhiye, A., Goel, R.K. PASS assisted prediction and pharmacological evaluation of novel nicotinic analogs for nootropic activity in mice. *Eur J Pharmacol.* 662: 22–30, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.04.048> PMID: 21554868

Kokate, A., Li, X., Williams, P. J., Singh, P., Jasti, B. R. In Silico Prediction of Drug Permeability Across Buccal Mucosa. *Pharmaceutical Research*, 26(5), 1130–1139, 2009. doi:10.1007/s11095-009-9831-4

Kumar, R., Sharma, A., Tiwari, R.K. Can we predict blood brain barrier permeability of ligands using computational approaches?. *Interdiscip Sci Comput Life Sci.* 5:95–101, 2013. <https://doi.org/10.1007/s12539-013-0158-9>

Lepekhin E, Grøn B, Berezin V, Bock E, Dabelsteen E. Differences in motility pattern between human buccal fibroblasts and periodontal and skin fibroblasts. *Eur J Oral Sci.* 110(1):13-20, 2002. doi: 10.1034/j.1600-0722.2002.00139.x. PMID: 11878755.

Lima, L.B., Vasconcelos, C.F.B., Maranhão, H.M.L., Leite, V.R., Ferreira, P.A., Andrade, B.A., Araújo, E.L., Xavier, H.S., Lafayette, S.S.L., Wanderley, A.G. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. *J. Ethnopharmacol.*, 126(3):468-73, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.013>

Linden, M., Brinckmann, C., Feuereisen, M.M, Schieber, A. Effects of structural differences on the antibacterial activity of biflavonoids from fruits of the Brazilian peppertree

(*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Food Research International* 133, 109134, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109134>

Lipinski, C.A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution, *Drug Discov Today Technol.* 1:337-41, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007> PMID: 24981612

Lloyd, H.A., Jaouni, T.M, Evans, S.L., Morton, J.F. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry*, 16(8), 1977, pp.1301-1302.

Lucena, P.L. de H., Filho, J.M.R., Mazza, M., Czezko, N.G., Dietz, U.A., Neto, M.A.C., Henriques, G.S., Santos, O.J. dos, Ceschim, Á.P., Thiele, E.S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. *Acta Cir. Bras.*, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000800008>

Martorelli, S.B.F., Pinheiro, A.L.B., Souza, I.A., Higino, J.S., Bravo, F. Efeito anti-inflamatório e cicatrizante do extrato de hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) a 30% em orabase - Estudo "In vivo". *Int J Dent*, 10(2):80-90, 2011.

Masson-Meyers, D., Enwemeka, C.S., Bumah, V., Andrade, T.; Frade, M.A. Topical treatment with *Copaifera langsdorffii* oleoresin improves wound healing in rats. *International Journal of Phytomedicine*, 5(3): 378-386, 2013.

Matsuo, A.L., Figueiredo, C.R., Arruda, D.C., Pereira, F. V., Borin Scutti, J.A., Massaoka, M.H., Travassos, L.R., Sartorelli, P., Lago, J.H.G. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.176>

Medeiros, F. Cicatrização das feridas cirúrgicas. *Journal of Surgery and Clinical Research*, 7(2):87-102, 2016.

Migues, V.H., David, J.M., David, J.P. Determination of polyphenols in *Schinus terebinthifolius* Raddi bark extracts and chemometric analysis. *Analytical Methods*, 12(11): 1478-1485, 2020.

Miller MF, Garfunkel AA, Ram CA, Ship. The inheritance of recurrent aphthous stomatitis. Observations on susceptibility. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*, 49(5):409-412, 1980. [PubMed: 6929465]

Moore, N. P., Andrew, D. J., Bjerke, D. L., Creton, S., Dreher, D., Holmes, T., Prieto, P., Seidle, T., Rowan, T. G. Can acute dermal systemic toxicity tests be replaced with oral tests? A comparison of route-specific systemic toxicity and hazard classifications under the Globally

Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 66(1), 30–37, 2013. doi:10.1016/j.yrtph.2013.02.005

Morais, T.R., Da Costa-Silva, T.A., Tempone, A.G., Borborema, S.E.T., Scotti, M.T., De Sousa, R.M.F., Araujo, A.C.C., De Oliveira, A., De Moraes, S.A.L., Sartorelli, P., Lago, J.H.G. Antiparasitic activity of natural and semi-synthetic tirucallane triterpenoids from *Schinus terebinthifolius* (anacardiaceae): Structure/activity relationships. *Molecules*, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules19055761>

Morais, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira* 27: S4050-S4063, 2009.

Morton, J.F. Brazilian pepper: Its impact on people, animals and the environment. *Economic Botany*, 32(4):353-359, 1978.

Nikoloudaki G, Creber K, Hamilton DW. Wound healing and fibrosis: a contrasting role for periostin in skin and the oral mucosa. *Am J Physiol Cell Physiol*. 1;318(6):C1065-C1077, 2020. doi: 10.1152/ajpcell.00035.2020. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32267719; PMCID: PMC7311745.

Nocchi, S., De Moura-Costa, G.F., Novello, C.R., Rodrigues, J., Longhini, R., De Mello, J.C.P., Dias Filho, B.P., Nakamura, C.V., Ueda-Nakamura, T. In vitro cytotoxicity and anti-herpes simplex virus type 1 activity of hydroethanolic extract, fractions, and isolated compounds from stem bark of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Pharmacognosy Magazine*, 12(46), p.160-164, 2016. doi: 10.4103/0973-1296.177903

Nunes, C.S., Cinsa, L.A. Princípios do processamento histológico de retina. *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais*, 8: 31-40, 2016.

Nunes-Neto, P.A., Peixoto-Sobrinho, T.J.D.S., Da Silva Júnior, E.D., Leopoldina Da Silva, J., Rodrigo Da Silva Oliveira, A., Pupo, A.S., Araújo, A.V., Costa-Silva, J.H. Da, Wanderley, A.G. The Effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) Bark Extract on Histamine-Induced Paw Edema and Ileum Smooth Muscle Contraction. *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1416375>

Oliveira, M.B.S., Valentim, I.B., Rocha, T.S., Santos, J.C., Pires, K.S.N; Tanabe, E.L.L, Borbely, K.S.C., Borbely, A.U., Goulart, M.O.F. *Schinus terebinthifolius* Raddi extracts: From sunscreen activity toward protection of the placenta to Zika virus infection, new uses for a well-known medicinal plant. *Industrial crops and products*, 152:112503, 2020. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112503

Oliveira, D. Wound healing: stages and influencing factors. *Acta Veterinaria Brasília*, 6(4): 267-271, 2012.

Pereira, Ddos S., Lima-Ribeiro, M. H., Santos-Oliveira, R., Cavalcanti, Cde L., de Pontes-Filho, N.T., Coelho, L.C., Carneiro-Leão, A.M., Correia, M.T. Topical application effect of the isolectin hydrogel (Cramoll 1,4) on second-degree burns: experimental model. *J Biomed Biotechnol.* 2012:184538, 2012. doi: 10.1155/2012/184538. Epub 2012 Feb 14. PMID: 22500079; PMCID: PMC3303890.

Potts, R.O.; Guy, R.H. *Pharmaceutical Research*, 09(5), 663–669, 1992. doi:10.1023/a:1015810312465

Rahman, M.S., Islam, R., Rana, M.M., Spitzhorn, L.S., Rahman, M.S., Adjaye, J., Asaduzzaman, S.M.. Characterization of burn wound healing gel prepared from human amniotic membrane and Aloe vera extract. *BMC Complement Altern Med.* 3;19(1):115, 2019. doi: 10.1186/s12906-019-2525-5. PMID: 31159783; PMCID: PMC6547555.

Ribas, M.O., Sousa, M.H., Sartoretto, J., Lanzoni, T.A., Noronha, L., Acra, L.A. [Effect of the *Schinus terebinthifolius raddi* in the process of tissular repair in ulcers induced in mucosa oral of the rat]. Efeito da *Schinus terebinthifolius raddi* sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. *Rev. odonto ciênc.* 21(53): 245-252, 2006.

Rocha, P. dos S. da, Campos, J.F., Nunes-Souza, V., Vieira, M. do C., Boleti, A.P. de A., Rabelo, L.A., dos Santos, E.L., de Picoli Souza, K. Antioxidant and Protective Effects of *Schinus terebinthifolius Raddi* Against Doxorubicin-Induced Toxicity. *Appl. Biochem. Biotechnol*, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2589-y>

Rocha, P.S., Boleti, A.P.A., Vieira, M.C., Carollo, C.A., Silva, D.B, Estevinho, L.M., Santos, E.L., Souza, K.P. Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebinthifolius Raddi*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 220, 36–46, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.02.007>

Rogers III, R.S. Recurrent aphthous stomatitis: clinical characteristics and evidence for an immunopathogenesis. *The Journal of Investigative Dermatology*, 69:499-509, 1977.

Rosas, E.C., Correa, L.B., Pádua, T.A., Costa, T.E.M.M., Mazzei, J.L., Heringer, A.P., Bizarro, C.A., Kaplan, M.A.C., Figueiredo, M.R., Henriques, M.G. Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolius Raddi* hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis. *Journal of ethnopharmacology*, 175:490-498, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.014>

Salum, F.G., Cherubini, K., Amenábar, J.M. Modelos animais empregados em pesquisas que testam o efeito da aplicação de agentes químicos na mucosa bucal. *Revista da Faculdade de Odontologia*, 9(2): 7-12, 2011.

Samet, N., Laurent, C., Susarla, S.M., Samet-Rubinsteen, N. The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: a pilot study. *Clin. Oral Invest.*, 11(2), 143-147, 2007. doi: 10.1007/s00784-006-0090-z.

Santos, M.G., Carvalho, A.C.B. Plantas medicinais: saberes tradicionais e o sistema de saúde. In: Santos, M.G., Quintero, M., comps. *Saberes tradicionais e locais: reflexões etnobiológicas* [online]. Rio de Janeiro: EDUERJ, pp. 72-99, 2018. ISBN: 978-85-7511-485-8. <https://doi.org/10.7476/9788575114858.0006>.

Santos, O.J. Dos, Barros-Filho, A.K.D., Malafaia, O., Ribas-Filho, J.M., Santos, R.H.P., Santos, R.A.P. *Schinus terebinthifolius raddi* (anacardiaceae) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. *ABCD. Arq. Bras. Cir. Dig. (São Paulo)* 25, 140–146, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-67202012000300002>

Santos, M.R.A., Lima, R.A., Silva, A., Lima, D.K.S., Sallet, L.A.P., Teixeira, C.A.D., Facundo, V.A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. *Rev. Bras. Plantas Med.* 15, 757–762, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500017>

Santos, O.J., Ribas Filho, J.M., Czczeko, N.G., Castelo Branco Neto, M.L., Naufel, C. Jr., Ferreira, L.M., Campos, R.P., Moreira, H., Porcides, R.D., Dobrowolski, S. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos [Evaluation of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) extract on the healing process of gastrorraphy in rats]. *Acta Cir Bras.* 21 Suppl 2:39-45, 2006. Portuguese. doi: 10.1590/s0102-86502006000800007. PMID: 17117276.

Scheibe, C.L., Ribas-Filho, J.M., Czczeko, N.G., Malafaia, O., Barboza, L.E.D., Ribas, F.M., Wendler, E., Torres, O., Lovato, F.C., Scapini, J.G.S. *Schinus terebinthifolius raddi* (Aroeira) and *Orbignya phalerata* mart. (Babassu) effect in cecorrahphy healing in rats. *Acta Cir. Bras.* 31, 402–410, 2016. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020160060000007>

Sereniki, A., Linard-Medeiros, C.F.B., Silva, S.N., Silva, J.B.R., Peixoto Sobrinho, T.J.S., da Silva, J.R., Alves, L.D.S., Smailic, S.S., Wanderley, A.G., Lafayette, S.S.L. *Schinus terebinthifolius* administration prevented behavioral and biochemical alterations in a rotenone

model of Parkinson's disease. *Brazilian J. Pharmacogn.*, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.005>

Silva, A.B., Silva, T., Franco, E.S., Rabelo, S.A., Mota, R.A., Da Câmara, C.A.G., Pontes-Filho, N.T., Lima-Filho, J. V. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi). *Brazilian J. Microbiol.*, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000100023>

Silva, M.M., Iriguchi, E.K.K., Kassuya, C.A.L., Vieira, M.C., Foglio, M.A., Carvalho, J.E.; Ruiz, A.L.T.G., Souza, K.P., Formagio, A.S.N. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(4):445-452, 2017.

Smigiel, K. S.; Parks, W. C. Macrophages, Wound Healing, and Fibrosis: Recent Insights. *Current Rheumatology Reports*, 20(4), 2018. doi:10.1007/s11926-018-0725-5

Szwed, S. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. *Cadernos da Escola de Saúde, Curitiba*, 1(15):7-17, 2016.

Todirascu-Ciornea, E., El-Nashar, H.A.S., Mostafa, N.M., Eldahshan, O.A., Boiangiu, R.S., Dumitru, G., Hritcu, L., Singab, A.N.B. *Schinus terebinthifolius* Essential Oil Attenuates Scopolamine-Induced Memory Deficits via Cholinergic Modulation and Antioxidant Properties in a Zebrafish Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5256781>

Uliana, M.P., Fronza, M., da Silva, A.G., Vargas, T.S., de Andrade, T.U., Scherer, R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. *Ind. Crops Prod.*, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.077>

Uma Devi, P., Satyamitra, M. Protection against prenatal irradiation-induced genomic instability and its consequences in adult mice by *Ocimum* flavonoids, orientin and vicenin. *Int J Radiat Biol.* 80, 653-62, 2004.

Uma Devi, P.; Ganasoundari, A.; Vrinda, B.; Srinivasan, K. K.; Unnikrishnan, M. K. Radiation Protection by the *Ocimum* Flavonoids Orientin and Vicenin: Mechanisms of Action. *Radiation Research*, 154(4), 455-460, 2000. doi:10.1667/0033-7587(2000)154[0455:rpbt0f]2.0.co;2

Varela-Barca, F.N.T., Agnez-Lima, L.F., De Medeiros, S.R.B. Base excision repair pathway is involved in the repair of lesions generated by flavonoid-enriched fractions of pepper

tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) stem bark. *Environ. Mol. Mutagen.*, 48(8), 672-681, 2007. <https://doi.org/10.1002/em.20334>

Vieira, D.R.P., Amaral, F.M.M., Maciel, M.C.G., Nascimento, F.R.F., Libério, S.A., Rodrigues, V.P. Plant species used in dental diseases: Ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(3), 1441-1449, 2014.

Vieira, M.N., Costa, F. das N., Leitão, G.G., Garrard, I., Hewitson, P., Ignatova, S., Winterhalter, P., Jerz, G. *Schinus terebinthifolius* scale-up countercurrent chromatography (Part I): HIGH performance countercurrent chromatography fractionation of triterpene acids with off-line detection using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.005>

Vizzotto Junior, A.O., Noronha, L., Scheffel, D.L.H., Campos, A.C.L. Influência da cisplatina administrada no pré e no pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [online]., 39(2):143-149, 2003. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000200009>.

Vrinda, B.; Uma Devi, P. Radiation protection of human lymphocyte chromosomes in vitro by orientin and vicenin. *Mutat Res.* 498, 39-46, 2001.

Weckx, L.L.M.; Hirata, C.H.W., Abreu, M.A.M.M., Fillizolla, V.C., Silva, O.M.P. Levamisol não previne lesões de estomatite aftosa recorrente: um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 55(2), pp. 132-138, 2009.

Zlokovic, B. V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.* 2008 Jan 24;57(2):178-201, 2008. doi: 10.1016/j.neuron.2008.01.003. PMID: 18215617.

Referências Bibliográficas

ADSTAMONGKONKUL D, HESS DC. Ischemic Conditioning and neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: a literature review. *Cond Med*, 1(1): 9-16; 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIO (ANVISA). Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos. Brasília. 2012.

AGGARWAL H, SINGH MP, NAHAR P, MATHUR H, GV S. Efficacy of low-level laser therapy in treatment of recurrent aphthous ulcers - a sham controlled, split mouth follow up study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(2): 218-221; 2014.

AKRAM M, UDDIN S, AHMED A, USMANGHANI K, HANNAN A, MOHIUDDIN E, ASIF M. Curcuma longa and curcumin: a review article. *Romanian Journal of Biology - Plant Biology*, 55 (2): 65-70; 2010.

AKINTOYE SO, GREENBERG MS. Recurrent Aphthous Stomatitis. *Dental Clinics of North America*, 58(2): 281-297; 2014. DOI: 10.1016/j.cden.2013.12.002.

ALBREKTSON M, HEDSTROM L, BERGH H. Recurrent aphthous stomatitis and pain management with low-level laser therapy: a randomized controlled trial. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*, 117(5): 590-594; 2014.

ALEKSIC V, KNEZEVIC P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4): 240-54; 2014. DOI: 10.1016/j.micres.2013.10.003

AL-SAFFAR MT. The therapeutic effect of viscous solution of curcumin in the treatment of recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Al-Rafidain Dental Journal*, 6(1): 48-52; 2006. DOI: 10.33899/rden.2006.40201

ALIDAEI MR, TAHERI A, MANSOORI P, GHODSI S.Z. Silver nitrate cautery in aphthous stomatitis: a randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*, 153(3): 521-52, 2005; DOI: 10.1111/j.1365-2133.2005.06490

ALTENBURG A, EL-HAJ N, MICHELI C, PUTTKAMMER M, ABDEL-NASER MB, ZOUBOULIS CC. The treatment of chronic recurrent oral aphthous ulcers. *Deutsches Arzteblatt International*, 111: 665-73; 2014. DOI: 10.3238/arztebl.2014.0665

ALVAREZ-LEITE JI, PEREIRA SS, VIEIRA EC. Doenças nutricionais. In: BOGLIOLO, L. (Org.). Bogliolo, Patologia Geral. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 363-394, 2013.

ALVES DR, BOOTH SP, SCAVONE P, SCHELLENBERGER P, SALVAGE J, DEDI C, THET NT, JENKINS ATA, WATERS R, NG KW, OVERALL ADJ, METCALFE AD, NZAKIZWANAYO J, JONES BV. Development of a HighThroughput Ex vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8: 196; 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00196

AMIRI, M. S, JOHARCHI, M. R. Ethnobotanical investigation of traditional medicinal plants commercialized in the markets of Mashhad, Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(3): 254-71; 2013.

ANDERSEN ML, WINTER LMF. Animal models in biological and biomedical research - experimental and ethical concerns. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 91(1), 1-14; 2017. DOI: 10.1590/0001-3765201720170238

ANDRADE TA, IYER A, DAS PK, FOSS NT, GARCIA SB, COUTINHO-NETTO J, JORDÃO AA JR, FRADE MA. The inflammatory stimulus of a natural latex biomembrane improves healing in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 44(10): 1036-47; 2011. DOI: 10.1590/s0100-879x2011007500116.

ARABACI T, KARA C, CIÇEK Y. Relationship between periodontal parameters and Behçet's disease and evaluation of different treatments for oral recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Periodontal Research.*, 44 (6): 718-25; 2009. DOI: 10.1111/j.1600-0765.2008.01183.x.

ARAF A MG, GHALWASH D, EL-KERSH DM, ELMAZAR MM. Propolis-based niosomes as oromuco-adhesive films: A randomized clinical trial of a therapeutic drug delivery platform for the treatment of oral recurrent aphthous ulcers. *Scientific Reports*, 8: 18056; 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-37157-7.

ARIMA H, DANNO G. Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(8): 1727-1730; 2002.

ARMAS E, SARRACENT Y, MARRERO E, FERNÁNDEZ O, BRANFORD-WHITE C. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract (RMABE) in the treatment of aphthous ulcers: a pilot study. *Current Medical Research and Opinion*, 21(11): 1711-1715; 2005. DOI: 10.1185/030079905X65493.

ARMSTRONG AR, THIEBAUT SP, BROWN LJ, NEPAL B. Australian adults use complementary and alternative medicine in the treatment of chronic illness: a national study. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, 35: 384-90; 2011.

ARRING NM, MILLSTINE D, MARKS LA, NAIL LM. Ginseng as a Treatment for Fatigue: A Systematic Review *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 24(7): 624-33; 2018. DOI: 10.1089/acm.2017.0361

ASEM A. Historical record on brine shrimp *Artemia* more than one thousand years ago from Urmia Lake, Iran. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 9: 113-114; 2008. DOI: <https://www.researchgate.net/publication/266571643>

ATANASOV AG. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33: 1582-1614; 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>

ÁVILA VPF. Modelos de animais na avaliação de antimicrobianos: revisão de literatura. *Revista Agrocientífica*, 1(1): 69-80; 2014

AYDIN S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72: 4-15; 2015. DOI: 10.1016/j.peptides.2015.04.012

AZIMIHOSAINI S, BADIIE B. Assessment of the effect of Myrtle drug in the treatment of aphthous stomatitis. *Journal of Ghazvin University of Medical Sciences*, 2: 4-9; 1999.

BABAEI N, MANSOURIAN A, MOMEN-HERAVI F, MOGHADAMNIA A, MOMEN-BEITOLLAHI J. The efficacy of a paste containing *Myrtus communis* (Myrtle) in the management of recurrent aphthous stomatitis: a randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 14(1): 65-70; 2010. DOI: 10.1007/s00784-009-0267-3.

BALAJI S, MOLES CM, BHATTACHARYA SS, LESANT M, DHAMIJA Y, LE LD, KING A, KIDD M, BOUSO MF, SHAABAN A, CROMBLEHOLME TM, BOLLYKY P, KESWANI SG. Comparison of interleukin 10 homologs on dermal wound healing using a novel human skin ex vivo organ culture model. *Journal of Surgical Research*, 190(1): 358-66; 2014. DOI: 10.1016/j.jss.2014.02.027.

BALBINO CA, PEREIRA LM, CURI R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(1): 27-51; 2005.

BARIJ. Barij Essence Pharmaceutical Company. Matrica Mouthwash. Disponível em: <<https://barijessence.com/en/product/matrica/>>. Acesso em: 02 maio 2021.

BEDNARCZUK VO, VERDAM MCS, MIGUEL MD, MIGUEL OG. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. *Visão Acadêmica*, 11(2): 43-50; 2010.

BELENGUER-GUALLAR I, JIMÉNEZ-SORIANO Y, CLARAMUNT-LOZANO A. Treatment of recurrent aphthous stomatitis. A literature review. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 6(2): 168-174; 2014. DOI: 10.4317/jced.51401.

BESU I, JANKOVIC L, KONIC-RISTIC A, RASKOVIC S, BESU V, DJURIC M, CAKIC S, MAGDU IU, JURANIC Z. The role of specific cow's milk proteins in the etiology of recurrent aphthous ulcers. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 42(1): 82-88; 2012. DOI:10.1111/j.1600-0714.2012.01204.x

BOYDEN S. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 115(3): 453-66; 1962. DOI: 10.1084/jem.115.3.453.

BRAILO V, BORAS VV, ALAJBEG I, JURAS V. Delayed contact sensitivity on the lips and oral mucosa due to propolis-case report. *Oral Medicine and Pathology*, 11(4): E303-304; 2006.

BRANDT HRC, ARNONE M, VALENTE NYC, CRIADO PR, SOTTO MN. Vasculite cutânea de pequenos vasos: etiologia, patogênese, classificação e critérios diagnósticos – Parte I. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 82(5): 387-406; 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. *Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2020* [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 217p. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf>. Acesso em: 18 abril 2021.

BRASIL. Ministério do Trabalho. Normas Regulamentadoras. NR 9 – Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (109.000-3). Disponível em: <http://www.trtsp.jus.br/geral/tribunal2/LEGIS/CLT/NRs/NR_9.html>. Acesso em: 10 jun 2020.

BRATCHER NA, REINHARD GR. Creative implementation of 3Rs principles within industry programs: beyond regulations and guidelines. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 54: 133-138; 2015.

BRATEL J, HAKEBERG M. Anamnestic findings from patients with recurrent aphthous stomatitis. *Swedish Dental Journal*, 38(3): 143-149; 2014.

BUGANZA TEPOLE A, KUHL E. Systems-based approaches toward wound healing. *Pediatric Research*, 73: 553-563; 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/pr.2013.3>

BUTLER PD, LY DP, LONGAKER MT, YANG GP. Use of organotypic coculture to study keloid biology. *American Journal of Surgery*, 195(2): 144-148; 2008. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.10.003.

CAETANO GF, BÁRTOLO PJ, DOMINGOS M, OLIVEIRA CC, LEITE MN, FRADE MA. Osteogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells into polycaprolactone (PCL) scaffold. *Procedia Engineering*, 110: 59-66; 2015.

CAETANO KS, FRADE MA, MINATEL DG, SANTANA LA, ENWEMEKA CS. Phototherapy improves healing of chronic venous ulcers. *Photomedicine and Laser Surgery*, 27(1): 111-118; 2009. DOI: <https://doi.org/10.1089/pho.2008.2398>

CALDERON M, LAWRENCE WT, BANES AJ. Increased proliferation in keloid fibroblasts wounded in vitro. *Journal of Surgical Research*, 61(2): 343-7; 1996. DOI: 10.1006/jsre.1996.0127.

CARVALHO EB, BORGES E, CARLOSI LMB, SILVA MAM, MAGALHÃES SMM, GOMES FVBAF, CARVALHO MJC, QUIXADÁ ATS, PITOMBEIRA MHS. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 29(2): 149-152; 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000200013>

CASTELO BRANCO NETO ML, RIBAS FILHO JM, MALAFAIA O, OLIVEIRA FILHO MA DE, CZECHKO NG, AOKI S, CUNHA R, FONSECA VR, TEIXEIRA HM, AGUIAR LRF DE. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 21: 17-22; 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000800004>

CASTRO C, MURA F, VALENZUELA G, FIGUEROA C, SALINAS R, ZUÑIGA MC, TORRES JL, FUGUET E, DELPORTE C. Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. *Food Research International*, 64: 873-879; 2014. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.08.050.

CAVALCANTE GM, PAULA RJS, SOUZA LP, SOUSA FB, MOTA MRL, ALVES APN. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 26(3): 227-234; 2011. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502011000300012>

CHAINANI-WU N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: A component of turmeric (*Curcuma Longa*). *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(1): 161-168; 2003. DOI: 10.1089/107555303321223035.

CHEN WL, KUO KT, CHOU TY, CHEN CL, WANG CH, WEI YH, WANG LS. The role of cytochrome c oxidase subunit Va in non-small cell lung carcinoma cells: association with migration, invasion and prediction of distant metastasis. *BMC Cancer*, 12: 273; 2012. DOI: 10.1186/1471-2407-12-273.

CHERRAT L, ESPINA L, BAKKALI M, GARCÍA-GONZALO D, PAGÁN R, LAGLAOUI A. Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6): 1197-204; 2014. DOI: 10.1002/jsfa.6397

CHERUBINI K, LORANDI CS, KRAPF SM, DE SOUSA FR, YURGEL LS, FIGUEIREDO MA, SALUM FG. Association between recurrent aphthous stomatitis and salivary thiocyanate levels. *Journal of Oral Science*, 48(3): 153-156; 2006. DOI: 10.2334/josnusd.48.153.

CHIANG CP, CHANG JYF, WANG YP, WU YH, WU YC SUN A. Recurrent aphthous stomatitis - Etiology, serum autoantibodies, anemia, hematinic deficiencies, and management. *Journal of the Formosan Medical Association*, 118(9): 1279-1289; 2019. DOI: [10.1016/j.jfma.2018.10.023](https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.10.023)

CHIGURUPATI H, AUDDY B, BIYANI M, STOHS SJ. Hepatoprotective effects of a proprietary glycyrrhizin product during alcohol consumption: a randomized, double-blind, placebo controlled, crossover study. *Phytotherapy Research*, 30(12): 1943-53; 2016. DOI: 10.1002/ptr.5699

CLARKE LL. A guide to Ussing chamber studies of mouse intestine. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(6): G1151-66; 2009. DOI: 10.1152/ajpgi.90649.2008.

COLLEY HE, SAID Z, SANTOCILDES-ROMERO ME, BAKER SR, D'APICE K, HANSEN J, MADSEN LS, THORNHILL MH, HATTON PV, MURDOCH C. Pre-clinical evaluation of novel mucoadhesive bilayer patches for local delivery of clobetasol-17-propionate to the oral mucosa. *Biomaterials*, 178: 134-146; 2018. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.06.009.

COMPANJEN AR, VAN DER WEL LI, WEI L, LAMAN JD, PRENS EP. A modified ex vivo skin organ culture system for functional studies. *Archives of Dermatological Research*, 293(4): 184-90; 2001. DOI: 10.1007/s004030100219.

CONDÉ-GREEN A, CHUNG TL, HOLTON LH 3RD, HUI-CHOU HG, ZHU Y, WANG H, ZAHIRI H, SINGH DP. Incisional negative-pressure wound therapy versus conventional dressings following abdominal wall reconstruction: a comparative study. *Annals of Plastic Surgery*, 71(4): 394-397; 2013. DOI: 10.1097/SAP.0b013e31824c9073.

COSTA GBF, CASTRO JFL. Etiologia e tratamento da estomatite aftosa recorrente: revisão de literatura. *Medicina*, 46(1): 1-7; 2013. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v46i1p1-7

CRUVINEL WM, Mesquita Júnior D, ARAUJO JAP, CALETAN TTT, SOUZA AWS DE, SILVA NP DA, ANDRADE LEC. Sistema Imunitário – Parte I: Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 50(4): 434-61; 2010.

CUIRZ, BRUCE AJ, ROGERS III RS. Recurrent aphthous stomatitis. *Clinics in Dermatology*, 34(4): 475-481; 2016. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2016.02.020

DAS NEVES MV, DA SILVA TM, LIMA EDEO, DA CUNHA EV, OLIVEIRA EDEJ. Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1):159-66; 2016. DOI: 10.1016/j.bjm.2015.11.009.

DE ÁVILA SANTANA L, ALVES JM, ANDRADE TA, KAJIWARA JK, GARCIA SB, GOMES FG, FRADE MA. Clinical and immunohistopathological aspects of venous ulcers treatment by Low-Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS). *Ultrasonics*, 53(4):870-879; 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2012.12.009>

LUNA J DE S, DOS SANTOS AF, DE LIMA MRF, DE OMENA MC, DE MENDONÇA FA, BIEBER LW, SANT'ANA AEA study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2): 199-206; 2005. DOI: 10.1016/j.jep.2004.10.004.

DESHMUKH RA, BAGEWADI AS. Comparison of effectiveness of curcumin with triamcinolone acetonide in the gel form in treatment of minor recurrent aphthous stomatitis: A randomized clinical trial. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 4(3): 138-141; 2014. DOI: 10.4103/2230-973X.138346.

DOUGLAS CR. Patofisiologia do processo inflamatório. DOUGLAS, C. R. (Org.). *Patofisiologia geral: mecanismos da doença*. 1. ed. São Paulo: Robe Editorial, 2000. p. 533-582.

DUNKIN CSJ, PLEAT JM, GILLESPIE PH, TYLER MPH, ROBERTS AHN, MCGROUTHER DA. Scarring occurs at a critical depth of skin injury: precise measurement in a graduated dermal scratch in human volunteers, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 119(6): 1722-1732; 2007. DOI: 10.1097/01.prs.0000258829.07399.f0.

ESTEVIÃO LRM, MEDEIROS JP, SIMOES RS, ARANTES RME, RACHID MA, DA SILVA RMG, MENDONÇA FE, EVÊNCIO-NETO J. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Acta Cirurgica. Brasileira*, 30: 289-295; 2015. DOI: [10.1590/S0102-865020150040000008](https://doi.org/10.1590/S0102-865020150040000008)

ERNST, E. Prevalence of use of complementary/alternative medicine: a systematic review. *Bull World Health Organ*, 78(2): 252-257; 2000. PMID: 10743298; PMCID: PMC2560678.

FAINSTEIN MK. *Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas*. México: Editorial El Manual Moderno, 2008.

FIORE C, EISENHUT M, RAGAZZI E, ZANCHIN G, ARMANINI D. A history of the therapeutic use of liquorice in Europe. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 317-324; 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.015>

FRASS M, STRASSL RP, FRIEHS H, MÜLLNER M, KUNDI M, KAYE AD. Use and acceptance of complementary and alternative medicine among the general population and medical personnel: a systematic review. *The Ochsner Journal Spring*, 12(1): 45-56; 2012. PMID: 22438782; PMCID: PMC3307506.

FUNATOGAWA K, HAYASHI S, SHIMOMURA H, YOSHIDA T, HATANO T, ITO H, HIRAI Y. Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiology and Immunology*, 48(4): 251-61; 2004. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2004.tb03521.x.

GABBIANI G, HIRSCHL B, RYAN GB, STATKOV PR, MAJNO G. Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. *Journal of Experimental Medicine*, 135(4):719-34; 1972.

GEER DJ, SWARTZ DD, ANDREADIS ST. In vivo model of wound healing based on transplanted tissue-engineered skin. *Tissue Engineering*, 10: 1006-1017; 2004. DOI: 10.1089/ten.2004.10.1006.

GHAFFARI A, KILANI RT, GHAFARY A. Keratinocyte-conditioned media regulate collagen expression in dermal fibroblasts. *Journal of Investigative Dermatology*, 129(2): 340-347; 2009. DOI: 10.1038/jid.2008.253.

GIANNETTI L, MURRI DELLO DIAGO A, LO MUZIO L. Recurrent aphthous stomatitis. *Minerva Stomatologica*, 67(3): 125-128; 2018. DOI: 10.23736/S0026-4970.18.04137-7.

GOLDARU HERBAL PHARMACOPEIA, ESFAHAN, IRAN, 2012. Disponível em: <<https://www.yumpu.com/en/document/read/7155793/goldaru-herbal-pharmacopeia-edited-by-research-and>>. Acesso em: 02 maio 2021.

GOLDENBERG S. Aspectos éticos da pesquisa com animais. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 15(4): 193-195; 2000.

GOLDMAN RJ, SALCIDO R. More than one way to measure a wound: an overview of tools and techniques. *Advances in Skin Wound Care*, 15(5): 236-43; 2002. DOI: 10.1097/00129334-200209000-00011.

GORSKY M, EPSTEIN J, RAVIV A, YANIV R, TRUELOVE E. Topical minocycline for managing symptoms of recurrent aphthous stomatitis. *Special Care Dentistry*, 28(1): 27-31; 2008. DOI: 10.1111/j.1754-4505.2008.00006.x.

GOTTRUP F, AGREN MS, KARLSMARK T. Models for use in wound healing research: a survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound Repair and Regeneration*, 8(2): 83-96; 2000. DOI: 10.1046/j.1524-475x.2000.00083.x.

GOWING G, SVENDSEN S, SVENDSEN CN. Ex vivo gene therapy for the treatment of neurological disorders. *Progress in Brain Research*, 230: 99-132; 2017. doi:10.1016/bs.pbr.2016.11.003

GUERRA A, BELINHA J, JORGE RN. Modelling skin wound healing angiogenesis: A review. *Journal of Theoretical Biology*, 459: 1-17; 2018. DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.09.020.

GYASI RM, ABASS K, ADU-GYAMFI S, ACCAM BT, NYAMADI VM. The Capabilities of Nurses for Complementary and Traditional Medicine Integration in Africa. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 24(3): 282-290; 2018. DOI:10.1089/acm.2017.0133

HAMISHEHKAR H, NOKHODCHI A, GHANBARZADEH S, KOUHSOLTANI M. Triamcinolone acetonide oromucoadhesive paste for treatment of aphthous stomatitis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5(2):277-282; 2015. DOI: 10.15171/apb.2015.038

HARISI R, KENESSEY I, OLAH JN, TIMAR F, BABO I, POGANY G, PAKU S, JENEY A. Differential inhibition of single and cluster type tumor cell migration. *Anticancer Research*, v. 29(8): 2981-2985; 2009. PMID: 19661304.

HARMON AM, KONG W, BUENSUCESO CS, GORMAN AJ, MUENCH TR. Effects of fibrin pad hemostat on the wound healing process in vivo and in vitro. *Biomaterials*, 32(36): 9594-9601; 2011. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.09.019.

HARRIS P, REES R. The prevalence of complementary and alternative medicine use among the general population: a systematic review of the literature. *Complementary Therapies in Medicine*, 8(2): 88-96; 2000. DOI: 10.1054/ctim.2000.0353.

HENEMYRE-HARRIS CL, ADKINS AL, CHUANG AH, GRAHAM JS. Addition of epidermal growth factor improves the rate of sulfur mustard wound healing in an in vitro model. *Eplasty*, 8: e16; 2008. PMID: 18438446; PMCID: PMC2289780.

HENDRICKSON D, VIRGIN J. Factors that affect equine wound repair. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 21(1):33-44, 2005. DOI: 10.1016/j.cveq.2004.11.002.

HEYWOOD R. The use of animals in testing. *Alternatives to laboratory animals*, 14(4): 329-333; 1987.

HIDALGO D, SANCHEZ R, LALALEO L, BONFILL M, CORCHETE P, PALAZON J. Biotechnological production of pharmaceuticals and biopharmaceuticals in plant cell and organ cultures. *Current Medicinal Chemistry*, 25: 3577-3596; 2018. DOI: 10.2174/0929867325666180309124317

HOFFMANN J, GENDRISCH F, SCHEMPP CM, WÖLFLE U. New Herbal Biomedicines for the Topical Treatment of Dermatological Disorders. *Biomedicines*, 8(2): 27; 2020. DOI: 10.3390/biomedicines8020027.

ISBRUCKER RA, BURDOCK GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 46(3): 167-92; 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.06.002>

JIANG XW, HU J, MIAN FI. A new therapeutic candidate for oralaphthous ulcer: Allicin. *Medical Hypotheses*, 71: 897-899; 2008.

JURENKA J. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. *Alternative Medicine Review*, 13(2): 128-144; 2008.

KEUSTERMANS GC, HOEKS SB, MEERDING JM, PRAKKEN BJ, DE JAGER W. Cytokine assays: an assessment of the preparation and treatment of blood and tissue samples. *Methods*, 61(1): 10-17; 2013. DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.04.005.

KHAZAELI P, CHAMANI G, MEHRABANI M, MOHAMMADI, N. Formulation and clinical evaluation of Myrtus Mucoadhesive paste in the treatment of recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Dental School Shahid Beheshti University of Medical Sciences*, 23: 429-437; 2005.

KHADEMI H, IRANMANESH P, MOEINI A, TAVANGAR A. Evaluation of the effectiveness of the Iralvex gel on the recurrent aphthous stomatitis management. *International Scholarly Research Notices*, 2014. ID 175378. DOI: 10.1155/2014/175378

KINOSHITA T, TAMURA Y, MIZUTANI K. The isolation and structure elucidation of minor isoflavonoids from licorice of *Glycyrrhiza glabra* origin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(7): 847-849; 2005. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.53.847>

KNIGHT A. Systematic reviews of animal experiments demonstrate poor human clinical and toxicological utility. *Alternatives to laboratory animals*, 35(6): 641-59; 2007. DOI: 10.1177/026119290703500610. PMID: 18186670.

KOSCHWANEZ HE, BROADBENT E. The use of wound healing assessment methods in psychological studies: a review and recommendations. *British Journal of Health Psychology*, 16: 1-32; 2011. DOI: <https://doi.org/10.1348/135910710X524633>

KOUTSAVITI A, LIGNOU I, BAZOS I, KOLIOPOULOS G, MICHAELAKIS A, GIATROPOULOS A, TZAKOU O. Chemical Composition and Larvicidal Activity of Greek Myrtle Essential Oils against *Culex pipiens* biotype *molestus*. *Natural Product Communications*, 10(10):1759-1762; 2015. PMID: 26669120.

KRONEL: *Schinus terebinthifolius*. Marta Melissa Leite Maia. Caruaru – PE: Hebron, 2018. Bula de remédio.

KUMAR V, ABBAS A, ASTER J. Robbins & Cotran, patologia: bases patológicas das doenças. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

LACERTE M, MESFIN FB. Hypoxic Brain Injury. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019.

LALABONOVA H, DASKALOV H. Clinical assessment of the therapeutic effect of low-level laser therapy on chronic recurrent aphthous stomatitis *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(5): 929-933; 2014. DOI: 10.1080/13102818.2014.966526.

LECKRIDGE B. The Future of Complementary and Alternative Medicine— Models of Integration. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 10(2): 413-416; 2004. DOI:10.1089/107555304323062446

LEONTI M. The future is written: Impact of scripts on the cognition, selection, knowledge and transmission of medicinal plant use and its implications for ethnobotany and ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 542-555; 2011. DOI: 10.1016/j.jep.2011.01.017

LI P, LU Q, JIANG W, PEI X, SUN Y, HAO H, HAO K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rhubarb anthraquinones extract in normal and disease rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91: 425-435; 2017. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.04.109.

LI A, XUAN H, SUN A, LIU R, CUI J. Preparative separation of polyphenols from water-soluble fraction of Chinese propolis using macroporous absorptive resin coupled with preparative high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1012-1013:42-9; 2016. DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.12.038.

LIU X, GUAN X, CHEN R, HUA H, LIU Y, YAN, Z. Repurposing of yunnan baiyao as an alternative therapy for minor recurrent aphthous stomatitis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. DOI: 10.1155/2012/284620.

LOFUTO MA, LEMOS CA, SHIMIZU MT, CABRAL R, BIRMAN EG. Clinical evaluation of the topical use of propolis in recurrent minor aphthous ulceration. *Ciência Odontológica Brasileira*, 8: 6-9; 2005.

LOPES-CENDES I, RIBEIRO PAO. Aspectos genéticos das epilepsias: uma visão atual. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(6): 903-908; 2013.

LORENZI H, MATOS FJA. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*, 2 ed. Editora Nova Odessa, São Paulo, p. 63-64, 2008.

LUCENA PLH DE, FILHO JMR, MAZZA M, CZECZKO NG, DIETZ UA, NETO MAC, HENRIQUES GS, SANTOS OJ DOS, CESCHIM AP, THIELE ES. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 2006. DOI: 10.1590/S0102-86502006000800008

MACPHAIL L. Topical and Systemic Therapy for Recurrent Aphthous Stomatitis. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 16(4): 301-307; 1997.

MAHBOUBI, M. *Myrtus communis* L. and its application in treatment of Recurrent Aphthous Stomatitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 193: 481-489; 2016. DOI: 10.1016/j.jep.2016.09.054.

MANDELBAUM SH, DI SANTIS EP, MANDELBAUM MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *The journal Brazilian Annals of Dermatology*, 78(4): 393-410; 2003.

MANIFAR S, OBWALLER A, GHAREHGOZLOO A, BOORBOOR S, KORDI HR, AKHONDZADEH S. Curcumin gel in the treatment of minor aphthous ulcer: a randomized, placebo- controlled trial. *Journal of Medicinal Plants*, 11(41): 40-45; 2012.

MARTINS DA SILVA WJ, BUCALEN FERRARI, CK. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 14(3): 441-451; 2011.

MARTORELLI SBF, PINHEIRO ALB, SOUSA IA, HIGINO JS, BRAVO F. Efeito anti-inflamatório e cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (AROEIRA) a 30% em orabase – estudo “*In vivo*”. *IJD. International Journal of Dentistry*, 10(2): 80-90; 2011.

MASSON-MEYERS DS, ANDRADE T, CAETANO GF, GUIMARAES FR, LEITE MN, LEITE SN, FRADE M. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *International Journal of Experimental Pathology*, 101(1-2): 21–37; 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/iep.12346>

MASSON-MEYERS DS, ENWEMEKA CS, BUMAH VV, ANDRADE TA, FRADE MA. Topical treatment with *Copaifera langsdorffii* oleoresin improves wound healing in rats. *International Journal of Phytomedicine*, 5: 378-386; 2013.

MATHES SH, RUFFNER H, GRAF-HAUSNER U. The use of skin models in drug development. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 69-70: 81-102; 2014. DOI: 10.1016/j.addr.2013.12.006.

MENDONÇA RJ, COUTINHO-NETTO J. Aspectos celulares da cicatrização. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 84(3): 257-262; 2009.

MENG F, DU C, ZHANG Y, WANG S, ZHOU Q, WU L, WANG Y, YANG, X. Protective effect of rhubarb combined with ulinastatin for patients with sepsis. *Medicine*, 99(7): e18895; 2020. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018895>

MENG W, DONG Y, LIU J, WANG Z, ZHONG X, CHEN R, ZHOU H, LIN M, JIANG L, GAO F, XU T, CHEN Q, ZENG X. A clinical evaluation of amlexanox oral adhesive pellicles in the treatment of recurrent aphthous stomatitis and comparison with amlexanox oral tablets: a randomized, placebo control-led, blinded, multicenter clinical trial. *Trials*, 10: 30, 2009.

MESSINA Z, MILLS R. Anoxic Encephalopathy. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2019.

MEYER BN, FERRIGNI NR, PUTNAM JE, JACOBSEN LB, NICHOLS DE, MCLAUGHLIN JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5): 31-34; 1982. DOI: 10.1055/s-2007-971236.

MIMICA-DUKIC N, BOZIN B, SOKOVIC M, SIMIN N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5;52(9):2485-2489;2004. DOI: 10.1021/jf030698a. PMID: 15113145.

MINATEL DG, FRADE MA, FRANÇA SC, ENWEMEKA CS. Phototherapy promotes healing of chronic diabetic leg ulcers that failed to respond to other therapies. *Lasers in Surgery and Medicine*, 41(6): 433-441; 2009. DOI: 10.1002/lsm.20789.

MIRANDA LEC, VIARO F, CENEVIVA R, EVORA PRB. As bases experimentais da lesão por isquemia e reperfusão do fígado. Revisão. Acta Cirúrgica Brasileira, 19(1): 3-12; 2004.

MIRÓ MS, RODRÍGUEZ E, VIGEZZI C, ICELY PA, ARAUJO MGF, RIERA FO, VARGAS L, ABIEGA C, CAIERO JP, SOTOMAYOR CE. Candidíasis vulvovaginal: una antigua enfermedad con nuevos desafíos. Revista Iberoamericana de Micología, 34(2): 65-71; 2017.

MIYATA, Y, MATSUO, T, MITSUNARI, K, ASAI, A, OHBA, K, SAKAI, H. A review of oxidative stress and urinary dysfunction caused by bladder outlet obstruction and treatments using antioxidants. Antioxidants (Basel), 8(5): E132; 2019. DOI: 10.3390/antiox8050132.

MODI S. Positioning ADMET *in silico* tools in drug Discovery. Drug Discovery Today, 9(1), 14-15, 2004.

MOGHADAMNIA, A. A, MOTALLEBNEJAD, M, KHANIAN, M. The efficacy of the bioadhesive patches containing licorice extract in the management of recurrent aphthous stomatitis. Phytotherapy Research, 23(2): 246-250; 2009. DOI: 10.1002/ptr.2601.

MOUSAVI F, MOJAVER YN, ASADZADEH M, MIRZAZADEH M. Homeopathic treatment of minor aphthous ulcer: a randomized, placebo-controlled clinical trial. Homeopathy, 98(3):137-141; 2009. DOI: 10.1016/j.homp.2009.05.006

MUHAMMAD, G, HUSSAIN, M. A, ANWAR, F, ASHRAF, M, GILANI, A. H. *Alhagi*: a plant genus rich in bioactives for pharmaceuticals. Phytotherapy Research, 29(1): 1-13; 2015. DOI: 10.1002/ptr.5222.

MURPHY HS, WARD PA. Inflamação. In: RUBIN, E. et al. (Org.). Rubin patologia: bases clinicopatológicas da medicina. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 43-85.

NAJEEB S, KHURSHID Z, ZOHAIB S, NAJEEB B, QASIM S. B, ZAFAR M. S. Management of recurrent aphthous ulcers using low-level lasers: A systematic review. Medicina (Kaunas), 52(5): 263-268; 2016. DOI: 10.1016/j.medici.2016.07.006.

NASERI M, MARD S. Gastroprotective effect of alhagi maurorum on experimental gastric ulcer in rats. Pakistan Journal of Medical Sciences, 23(4): 570-57; 2007.

NATAH SS, KONTTINEN YT, ENATTAH NS, ASHAMMAKHI N, SHARKEY KA, HÄYRINEN-IMMONEN R. Recurrent aphthous ulcers today: a review of the growing

knowledge. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 33(3):221-234; 2004. DOI: 10.1006/ijom.2002.0446. PMID: 15287304.

NAKAMURA K, IWATA Y, ASAI J, KAWAKAMI T, TSUNEMI Y, TAKEUCHI M, MIZUKI N, KANEKO F. Guidelines for the treatment of skin and mucosal lesions in Behcet's disease: A secondary publication. *Journal of Dermatology*, 47: 223-235; 2020.

NAZARI S, RAMESHRAD M, HOSSEINZADEH H. Toxicological Effects of *Glycyrrhiza glabra* (Licorice): A Review. *Phytotherapy Research*, 31(11): 1635-1650; 2017. DOI:10.1002/ptr.5893

NEVILLE BW, DAMM DD, ALLEN CM, BOUQUOT JE. Doenças imunológicas e alérgicas. In: NEVILLE, B. W. et al. (Org). *Patologia oral & maxilofacial*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 275-302.

NERY RA. Uric acid and tissue repair. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 28(4): 290-292; 2015.

NEWMAN DJ, CRAGG GM. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79: 629-661; 2016. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b01055

NG SF, ROUSE JJ, SANDERSON FD, MEIDAN V, ECCLESTON GM. Validation of a static Franz diffusion cell system for in vitro permeation studies. *AAPS PharmSciTech*, 11(3): 1432-1441; 2010. DOI:10.1208/s12249-010-9522-9.

NUNES JR JAT, RIBAS-FILHO JM, MALAFAIA O, CZECZKO NG, INÁCIO CM, NEGRÃO AW, DE LUCENA PLH, MOREIRA H, WAGENFUHR JR J, CRUZ JJ. Avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) no processo de cicatrização da linea alba de ratos. *Acta Cirurgica Brasileira*, 21(3): 8-15; 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000900003>

OLIVEIRA IVP, DIAS RVC. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. *Acta Veterinaria Brasilica*, 6(4): 267-271; 2012.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Quality control methods of herbal materials. 43-44, 2011.

PAPAZOGLU ES, ZUBKOV L, MAO X, NEIDRAUER M, RANNOU N, WEINGARTEN MS. Image analysis of chronic wounds for determining the surface area. *Wound Repair and Regeneration*, 18(4): 349-358; 2010. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2010.00594.x.

PAPIER A, PERES MR, BOBROW M, BHATIA A. The digital imaging system and dermatology. *Internacional Journal of Dermatology*, 39(8): 561-575; 2000. DOI: 10.1046/j.1365-4362.2000.00033.x

PAKFETRAT A, MANSOURIAN A, MOMEN-HERAVI F, DELAVARIAN Z, MOMEN-BEITOLLAHI J, KHALILZADEH O, SHABESTARI SB. Comparison of colchicine versus prednisolone in recurrent aphthous stomatitis: A double-blind randomized clinical trial. *Clinical and Investigative Medicine*, 33: 189-195; 2010. DOI:10.25011/cim.v33i3.13725

PAPPALARDO F, RUSSO G, TSHINANU, F. M., & VICECONTI, M. (2018). In silico clinical trials: concepts and early adoptions. *Briefings in Bioinformatics*. doi:10.1093/bib/bby043

PHAN TT, LIM IJ, AALAMI O, LORGET F, KHOO A, TAN EK, MUKHOPADHYAY A, LONGAKER MT. Smad₃ signalling plays an important role in keloid pathogenesis via epithelial-mesenchymal interactions. *The Journal of Pathology*, 207(2): 232-242; 2005. DOI: 10.1002/path.1826.

PEPLOW PV, CHUNG TY, BAXTER GD. Laser photobiomodulation of proliferation of cells in culture: a review of human and animal studies. *Photomed Laser Surgery, Suppl 1*: p. S3-40; 2010. DOI: 10.1089/pho.2010.2771.

PEREIRA FEL. Introdução à patologia. In: BOGLIOLO, L. (Org.). *Bogliolo, patologia geral*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013a. p. 1-6.

PEREIRA FEL. Etiopatogênese geral das lesões. In: BOGLIOLO, L. (Org.). *Bogliolo, patologia geral*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013b. p. 33-63.

PEREIRA FEL. Inflamações. In: BOGLIOLO, L. (Org.). *Bogliolo, patologia geral*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013c. p. 65-117.

PEREIRA FEL. Reparo das lesões. In: BOGLIOLO, L. (Org.). *Bogliolo, patologia geral*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013d. p. 175-196.

PEREIRA SM, FRADE MAC, RANGAYYAN RM, AZEVEDO-MARQUES PM. Classification of Color Images of Dermatological Ulcers. *Journal of Biomedical and Health Informatics*, 17(1): 136-142; 2013. DOI: 10.1109/TITB.2012.2227493.

PLANZ V, FRANZEN L, WINDBERGS M. Novel in vitro approaches for the simulation and analysis of human skin wounds. *Skin Pharmacology and Physiology*, 28(2): 91-96; 2015. DOI: 10.1159/000364810.

PORTER SR, HEGARTY A, KALIAKATSOU F, HODGSON TA, SCULLY C. Recurrent Aphthous Stomatitis. *Clinics in Dermatology* 8(5):569-578; 2000. DOI: 10.1016/s0738-081x(00)00147-4. PMID: 11134852.

PORTH CM. Conceitos de saúde e doença. In: PORTH, C. M, MATFIN, G. *Fisiopatologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,8 (1): 2-10; 2010.

POURAHMAD M, RAHIMINEJAD M, FADAEI S, KASHAFI H. Effects of camel thorn distillate on recurrent oral aphthous lesions. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 8(5):348-352; 2010. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2010.07316.x.

PRASAD RS, PAI A. Assessment of immediate pain relief with laser treatment in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*, 116(2):189-193; 2013. DOI: 10.1016/j.oooo.2013.02.011. Epub 2013 Apr 23. PMID: 23622766.

QI S, SONG Y, PENG Y, WANG H, LONG H, YU X, LI Z, FANG L, WU A, LUO W, ZHEN Y, ZHOU Y, CHEN Y, MAIC, LIU Z, FANG W. ZEB2 mediates multiple pathways regulating cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis in glioma. *PLoS One*, 7: e38842; 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0231386.

QUEIROZ SIML, SILVA MVAD, MEDEIROS AMC, OLIVEIRA PT, GURGEL BCV, SILVEIRA ÉJDD. Recurrent aphthous ulceration: an epidemiological study of etiological factors, treatment and differential diagnosis. *The journal Brazilian Annals of Dermatology*, 93(3): 341-346; 2018. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20186228.

RAD F, YAGHMAEE R, MEHDI ABADI P, KHATIBI RA comparative clinical trial of topical Triamcinolone (Adcortyle) and a herbal solution for the treatment of minor Aphthous Stomatitis. *Armagan Daneash*, 15: 191-195; 2010.

RIBAS MO, SOUSA MH, SARTORETTO J, LANZONI TA, NORONHA L, ACRA A. Effect of the *Schinus terebinthifolius raddi* in the process of tissular repair in ulcers induced in mucosa oral of the rat]. Efeito da *Schinus terebinthifolius raddi* sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. *Revista Odonto Ciência*, 21(53): 245-252; 2006.

ROCHA JÚNIOR AM, DE OLIVEIRA RG, FARIAS RE, DE ANDRADE LCF, AARESTRUP FM. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. *The Journal Brazilian Annals of Dermatology*, 81(2): 150-156; 2006. DOI: 10.1590/S0365-05962006000200006

ROCHA MEN, SANTOS CL. O uso comercial e popular do eucalipto *Eucalyptus globulus* Labill – Myrtaceae. *Saúde & Ambiente em Revista*, 2(2); 23-34; 2007.

RODRÍGUEZ-ARCHILLA A, RAISSOUNI T. Randomized clinical trial of the effectiveness of complementary therapies for recurrent aphthous stomatitis. *Medicina Clinica (Barc)*, 149(2): 55-60; 2017. DOI: 10.1016/j.medcli.2016.12.031

ROGERS III RS. Recurrent aphthous stomatitis: clinical characteristics and evidence for an immunopathogenesis. *The Journal of Investigative Dermatology*, 69: 499-509; 1977.

ROMANELLI M, MITEVA M, ROMANELLI P, BARBANERA S, DINI V. Use of diagnostics in wound management. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 7(1): 106-10; 2013. DOI: 10.1097/SPC.0b013e32835dc0fc.

RUAN HH, LI GY, DUAN N, JIANG HL, FU YF, SONG YF, ZHOU Q, WANG X, WANG WM. Frequencies of abnormal humoral and cellular immune component levels in peripheral blood of patients with recurrent aphthous ulceration. *Journal of Dental Sciences*, 13(2): 124-130; 2018. DOI: 10.1016/j.jds.2017.09.003.

SAIKALY SK, SAIKALY TS, SAIKALY LE. Recurrent aphthous ulceration: a review of potential causes and novel treatments. *Journal of Dermatological Treatment*, 29(6): 542-552; 2018. doi:10.1080/09546634.2017.1422079

SALEEM H, SARFARAZ M, KHAN KM, ANWAR MI, ZENGİN G, AHMAD I, KHAN SU, MAHOMOODALLY FM, HEMAD N. UHPLC-MS Phytochemical profiling, biological propensities and in-silico studies of *Alhagi maurorum* roots: A medicinal herb with multifunctional properties. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 46(5): 1-24; 2020. DOI: 10.1080/03639045.2020.1762199

SAMET N, LAURENT C, SUSARLA SM, SAMET-RUBINSTEEN N. The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: a pilot study. *Clinical Oral Investigation*, 11(2): 143-147; 2007. DOI: 10.1007/s00784-006-0090-z.

SANTOS EB, DANTAS GS, SANTOS HB, DINIZ MFFM, SAMPAIO FC. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1B): 321-324; 2009. DOI: 10.1590/S0102-695X2009000200024

SANTOS O, RIBAS FILHO JM, CZECZKO NG, CASTELO BRANCO NETO ML, NAUFEL JR C, FERREIRA LM, CAMPOS RP, MOREIRA H, PORCIDES RD, DOBROWOLSKI S. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. *Acta Cirurgica Brasileira*, 21(suppl. 2): 39-45; 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000800007>

SAWAIR FA. Recurrent Aphthous Stomatitis: Do we know what patients are using to treat the ulcers? *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 16(6): 651-655; 2010. DOI: 10.1089/acm.2009.0555.

SCHEIBE CL, RIBAS FILHO JM, CZECZKO NG, MALAFAIA O, BARBOSA LED, RIBAS FM, WENDLER E, TORRES O, LOVATO LC, SCAPINI JGS. *Schinus terebinthifolius* raddi (Aroeira) and *Orbignya phalerata* mart. (Babassu) effect in cecorrhaphy healing in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 31(6): 402-410; 2016. DOI: 10.1590/S0102-865020160060000007

SCHEMEL-SUÁREZ M, LÓPEZ-LÓPEZ J, CHIMENOS-KÜSTNER E. Úlceras orales: diagnóstico diferencial y tratamiento. *Medicina Clínica*, 45(11): 499-503; 2015. DOI: 10.1016/j.medcli.2015.04.017

SCHIRATO GV, MONTEIRO FMF, SILVA FO, DE LIMA FILHO JL, LEAO AMAC, PORTO ALF. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. *Ciência Rural*, 36(1): 149-154; 2006. DOI: DOI:10.1590/S0103-84782006000100022

SCULLY C, PORTER SR. Aphthous Stomatitis: an overview of aetiopathogenesis and management. *Clinical and Experimental Dermatology*, 16: 235-243; 1991.

SEGALL M, CHAMPNESS E, OBREZANOVA O, LEEDING C. Beyond profiling: using ADMET models to guide decisions. *Chemistry & Biodiversity*, 6(11), 2144-2151, 2009.

SEYYEDI SA, SANATKHANI M, PAKFETRAT A, OLYAEE P. The therapeutic effects of chamomilla tincture mouthwash on oral aphthae: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 6(5): e535-538; 2014. DOI: 10.4317/jced.51472

SIBBALD WJ. An alternative pathway for preclinical research in fluid management. *Critical care*, 4(Suppl 2): S8–S15; 2000. DOI: 10.1186/cc970.

SHAN B, CAI YZ, BROOKS JD, CORKE H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117: 112-119; 2007. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.003.

SHAO K, HAN B, GAO J, JIANG Z, LIU W, LIU W, LIANG Y. Fabrication and feasibility study of an absorbable diacetyl chitin surgical suture for wound healing. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 104(1): 116-25; 2016. DOI: 10.1002/jbm.b.33307.

SHAO Z, FRIEDLANDER M, HURST CG, CUI Z, PEI DT, EVANS LP, JUAN AM, TAHIR H, DUHAMEL F, CHEN J, SAPIEHA P, CHEMTOB S, JOYAL J-B, SMITH LEH. Correction: Choroid Sprouting Assay: An Ex Vivo Model of Microvascular Angiogenesis. *PLOS ONE*, 8(7): e69552; 2013. DOI: 10.1371/annotation/c6b85ec4-996d-4daf-863a-44260a888470.

SHAWAHNA R, JARADAT NA. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by patients with psoriasis in the West Bank of Palestine. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 17(1): 4; 2017. DOI: 10.1186/s12906-016-1503-4

SINGH O, KHANAM Z, MISRA N, SRIVASTAVA MK. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosy reviews*, 5(9): 82-95; 2011. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79103>

SIQUEIRA JM, BOMM MD, PEREIRA NFG, GARCEZ WS, BOAVENTURA MAD. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii*: Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* leach. *Química Nova*, 21(5): 557-559; 1998. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000500004>

SILVERSTEIN AM, MILLER G. History of immunology. The royal experiment on immunity: 1721-1722. *Cellular Immunology*, 61(2):437-447; 1981. DOI: 10.1016/0008-8749(81)90391-9. PMID: 7018701.

SILVERSTEIN AM, BIALASIEWICZ AA. History of immunology. A history of theories of acquired immunity. *Cellular Immunology*, 51(1): 151-167; 1980. DOI: 10.1016/0008-8749(80)90245-2. PMID: 6988085.

SILVERSTEIN, A. M. History of immunology. Cellular versus humoral immunity: determinants and consequences of an epic 19th century battle. *Cellular Immunology*, 48(1): 208-221; 1979. DOI: 10.1016/0008-8749(79)90113-8. PMID: 389439.

ŚLEBIODA Z, SZPONAR E, KOWALSKA A. Etiopathogenesis of Recurrent Aphthous Stomatitis and the Role of Immunologic Aspects: Literature Review. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 62: 205–215; 2014. DOI: 10.1007/s00005-013-0261-y

SOYLU ÖZLER G. Silver nitrate cauterization: A treatment option for aphthous stomatitis. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 42(5): e281-3; 2014. DOI: 10.1016/j.jcms.2013.10.006.

SOUZA PRM, DUQUIA RP, BREUNIG JA, ALMEIDA HL JR. Recurrent aphthous stomatitis in 18-year-old adolescents - Prevalence and associated factors: a population-based study. *The journal Brazilian Annals of Dermatology*, 92(5): 626-629; 2017. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20174692.

SULZBACHER E, FONTANA RT. Concepções da equipe de enfermagem sobre a exposição a riscos físicos e químicos no ambiente hospitalar. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 66(1): 25-30; 2013.

TAHERI JB, TAVAKOLI MA. The effect of herbal medicine and Adcortyle in the treatment of aphthous ulcers in oral cavity *Journal of Dental School Shahid Beheshti University of Medical Sciences*, 20: 608-616; 2002.

TANG Z-L, WANG X, YI B, LI Z-L, LIANG C, WANG X-X. Effects of the preoperative administration of Yunnan Baiyao capsules on intraoperative blood loss in bimaxillary orthognathic surgery: A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 38(3): 261-266; 2009. DOI: 10.1016/j.ijom.2008.12.003

TARAKJI B, GAZAL G, AL-MAWERI AS, AZZEGHAIBY SN, ALAIZARI N. Guideline for the diagnosis and treatment of recurrent aphthous stomatitis for dental practitioners. *Journal Internacional Oral Health*, 7(5): 74–80; 2015.

THAVARAJAH R, MUDIMBAIMANNAR VK, ELIZABETH J, RAO UK, RANGANATHAN K. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 16(3): 400-405, 2012. DOI: 10.4103/0973-029X.102496.

TOMIC-CANIC, M, MAMBER, S. W, STOJADINOVIC, O, LEE, B, RADOJA, N, MCMICHAEL, J. Streptolysin O enhances keratinocyte migration and proliferation and promotes skin organ culture wound healing in vitro. *Wound Repair and Regeneration*, 15(1):71-79; 2007. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2006.00187.x.

TORRES KAM, LIMA, SMRR, UEDA SMY. Activity of the aqueous extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi on strains of the *Candida* genus. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 38 (12): 593–599; 2016. DOI: 10.1055/s-0036-1597694

TORRES T, FILIPE P. Interleucina-17 como alvo terapêutico na psoríase. *Acta Medica Portuguesa*, 27(2): 252-258; 2014.

TSUNG A, TOHME S, BILLIAR T.R. High-mobility group box-1 in sterile inflammation. *Journal of Internal Medicine*, 276: 425–443; 2014.

UD-DIN S, BAYAT A. Non-animal models of wound healing in cutaneous repair: In silico, in vitro, ex vivo, and in vivo models of wounds and scars in human skin. *Wound Repair and Regeneration*, 25(2): 164–176; 2017. DOI: 10.1111/wrr.12513

UD-DIN S, GREAVES NS, SEBASTIAN A, BAGUNEID M, BAYAT A. Noninvasive device readouts validated by immunohistochemical analysis enable objective quantitative assessment of acute wound healing in human skin. *Wound Repair and Regeneration*, 23(6): 901-914; 2015. DOI: 10.1111/wrr.12344.

VALLE A EGUIA-DEL, MARTINEZ-CONDE-LLAMOSAS R, LÓPEZ-VICENTE J, URIBARRI-ETXEARRIA A, AGUIRRE-URIZAR JM. Salivary levels of tumour necrosis factor alpha in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 16(1): e33-6; 2011.

VAN DEN BROEK LJ, LIMANDJAJA GC, NIESSEN FB, GIBBS S. Human hypertrophic and keloid scar models: principles, limitations and future challenges from a tissue engineering perspective. *Experimental Dermatology*, 23(6): 382-386; 2014. DOI: 10.1111/exd.12419.

VAN KILSDONK JW, VAN DEN BOGAARD EH, JANSEN PA, BOS C, BERGERS M, SCHALKWIJK J. An *in vitro* wound healing model for evaluation of dermal substitutes. *Wound Repair and Regeneration*, 21(6): 890-896; 2013. DOI: 10.1111/wrr.12086.

VICENT SD, LILLY GE. Clinical, historic, and therapeutic features of aphthous stomatitis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*, 74(1):79-86; 1992. DOI: 10.1016/0030-4220(92)90219-g. PMID: 1508514.

VIEIRA DRP, AMARAL FMM, MACIEL MCG, NASCIMENTO FRF, LIBERIO SA, RODRIGUES V. Plant species used in dental diseases: Ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(3): 1441-1449; 2014a. DOI: 10.1016/j.jep.2014.07.021

VIEIRA DRP, AMARAL FMM, MACIEL MCG, NASCIMENTO FRF, LIBERIO AS. Plantas e constituintes químicos empregados em Odontologia: revisão de estudos etnofarmacológicos e de avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* em patógenos orais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16(1): 135-167; 2014b. DOI: 10.1590/S1516-05722014000100020

VIVEK V, BINDU JN. Recurrent aphthous stomatitis: current concepts in diagnosis and management *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology*, 23(3): 232-236; 2011. DOI: 10.5005/jp-journals-10011-1135

WAGH VD. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013: 308249; 2013. DOI: 10.1155/2013/308249.

WATABE S, MORIKAWA M, KANEDA M, NAKAISHI K, NAKATSUMA A, NINOMIYA M, YOSHIMURA T, MIURA T, ITO E. Ultrasensitive detection of proteins and sugars at single-cell level. *Communicative and Integrative Biology*, 9(1): e1124201; 2016. DOI: 10.1080/19420889.2015.1124201.

WIELAND LS, MANHEIMER E, BERMAN BM. Development and classification of an operational definition of complementary and alternative medicine for the Cochrane collaboration. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 17(2): 50-9; 2011. PMID: 21717826; PMCID: PMC3196853.

WILLIAMS C. The Verge Videometer wound measurement package. *British Journal of Nursing*, 9(4): 237-239; 2000. DOI: 10.12968/bjon.2000.9.4.6383. PMID: 11033643.

WHO. World Health Organization. WHO traditional medicine strategy: 2014–2023. 2013. Disponível em: <www.who.int/medicines/publications/traditional/trm_strategy14_23/en/>. Acesso em: 02 maio 2021.

WOLF NB, KÜCHLER S, RADOWSKI MR, BLASCHKE T, KRAMER KD, WEINDL G, KLEUSER B, HAAG R, SCHÄFER-KORTING M. Influences of opioids and nanoparticles on in vitro wound healing models. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 73(1): 34-42; 2009. DOI: 10.1016/j.ejpb.2009.03.009.

WONG VW, SORKIN M, GLOTZBACH JP, LONGAKER MT, GURTNER GC. Surgical approaches to create murine models of human wound healing *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011: 969618; 2011. DOI: 10.1155/2011/969618.

XU W, JONG HONG S, JIA S, ZHAO Y, GALIANO RD, MUSTOE T. A. Application of a partial-thickness human ex vivo skin culture model in cutaneous wound healing study. *Laboratory Investigation*, 92(4): 584-599; 2012. DOI: 10.1038/labinvest.2011.184.

ZAGO MA, PINTO ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 29(3): 207-214; 2007. DOI: /10.1590/S1516-84842007000300003

ZAND N, ATAIE-FASHTAMI L, DJAVID GE, FATEH M, ALINAGHIZADEH MR, FATEMI SM, ARBABI-KALATI F. Relieving pain in minor aphthous stomatitis by a single session of non-thermal carbon dioxide laser irradiation. *Lasers in Medical Science*, 24(4): 515-520; 2009. DOI: 10.1007/s10103-008-0555-1.

ZHOU P, MAO Q, HUA H, LIU X, YAN Z. Efficacy and safety of Chinese patent medicines in the treatment of recurrent aphthous stomatitis: A systematic review. *The Journal of the American Dental Association*, 148(1): 17-25; 2017. DOI: 10.1016/j.adaj.2016.08.025.

ANEXOS

ANEXO I – Documento de Aprovação pelo CEUA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-CEUA
 CIAEP-01.0341.2014



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Bioprospecção de espécies vegetais com indicação etnofarmacológica para tratamento de ulceração aftosa recorrente**" registrada com o nº 23115.002991/2018-19, sob a responsabilidade de **Antônio Luiz Amaral Pereira**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão.

FINALIDADE	<input type="checkbox"/> ENSINO <input checked="" type="checkbox"/> PESQUISA <input type="checkbox"/> EXTENSÃO
Vigência da autorização	30/04/2018 à 01/10/2019
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> , Winstar
Nº de animais	75
Peso/Idade	250g/8 a 12 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFMA

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
 Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais - CEUA/UFMA