

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS ÁGRARIAS E ENGENHARIAS - CCAE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ELISABETH MARIA LÓPEZ DE PRADO**

**POTENCIAL CICATRIZANTE DE *Colocasia esculenta* (L.) Schott:  
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E DESENVOLVIMENTO  
DE FILMES PARA USO COMO COBERTURAS**

**ALEGRE – ES**

**2020**

ELISABETH MARIA LÓPEZ DE PRADO

**POTENCIAL CICATRIZANTE DE *Colocasia esculenta* (L.) Schott:  
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E DESENVOLVIMENTO  
DE FILMES PARA USO COMO COBERTURAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Aparecida Severi

Co-orientadora: Profa. Dra. Janaína Cecília Oliveira Villanova

ALEGRE- ES

2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de  
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

P896p Prado, Elisabeth Maria López de, 1973-  
Potencial cicatrizante de *Colocasia esculenta* (L.) Schott:  
caracterização química. avaliação biológica e desenvolvimento de  
filmes para uso como coberturas / Elisabeth Maria López de  
Prado. - 2020.  
111 f. : il.

Orientadora: Juliana Aparecida Severi.  
Coorientadora: Janaína Cecília Oliveira Villanova.  
Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e  
Engenharias.

1. Plantas medicinais. 2. Biopolímeros. 3. Cicatrização de  
ferimentos. 4. Curativos. I. Severi, Juliana Aparecida. II.  
Villanova, Janaína Cecília Oliveira. III. Universidade Federal do  
Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV.  
Título.

CDU: 619

---

ELISABETH MARIA LÓPEZ DE PRADO

**POTENCIAL CICATRIZANTE DE *Colocasia esculenta* (L.) Schott:  
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E DESENVOLVIMENTO  
DE FILMES PARA USO COMO COBERTURAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas

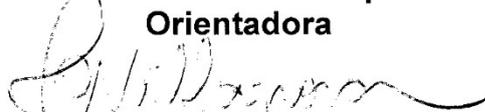
Aprovado em 17 de fevereiro de 2020.

**COMISSÃO EXAMINADORA**



---

**Profa. Dra. Juliana Aparecida Severi**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientadora



---

**Profa. Dra. Janaina Cecília Oliveira Villanova**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Co-Orientadora



---

**Profa. Dra. Jankerle Neves Boeloni**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinadora



---

**Prof. Dr. Eduardo Frizzera Meira**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinador

Aos meus pais, Francisco e Johanna,  
ao meu companheiro Ivan,  
com muito amor,  
dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Juliana Severi, cujos conhecimentos, orientação, companheirismo e dedicação foram essenciais para a realização desse trabalho.

À minha co-orientadora, Janaína Villanova, pela orientação, disponibilidade e por tantos ensinamentos sobre o “mundo dos polímeros”.

Ao meu marido Ivan, pelo amor, apoio e compreensão.

Aos meus pais Francisco e Johanna, pelo amor imenso que sempre me dedicaram, por todo incentivo e por me ensinarem a questionar e buscar as respostas.

Aos meus irmãos de sangue e de coração Paulo, Marcos, Tiago e Adriana e aos meus sobrinhos Frederico, Helena, Mateus e Daniel. Sem o amor de vocês, nada seria possível!

Aos professores Eduardo e Fabiana, pela colaboração e orientações sobre o experimento animal.

À professora Jankerle pelo acompanhamento nos trabalhos de análise histológica, ensinamentos e orientações.

Aos meus colegas de laboratório, pela colaboração nos trabalhos e pela agradável companhia: especialmente ao Winner, Taiana, Karol, Rodolfo, Luíza, Marian, Shaira, Talita, Alice, Sanderson, Núbia e Daiana.

Aos técnicos Sandra, Jerusa, Magda, Eduardo, Anderson, Euziane e Júlio.

Aos colegas do Laboratório de Produção Farmacêutica.

Aos professores e colegas do curso.

Aos Laboratórios de: Fisiologia Experimental do CCENS/UFES; Patologia Animal do Hospital Veterinário da UFES; Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins da UFES; Engenharia de Polímeros e Compósitos da UFMG, pela realização de ensaios e/ou utilização do espaço.

A todos que de alguma forma estiveram presentes durante a realização deste trabalho, contribuindo para que o mesmo fosse possível.

À Universidade Federal do Espírito Santo.

À CAPES. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

*“Digo: o real não está nem na saída nem na chegada: ele se dispõe pra gente é no meio da travessia.”*

João Guimarães Rosa

## RESUMO

PRADO, ELISABETH MARIA LOPEZ. **Potencial cicatrizante de *Colocasia esculenta* (L.) Schott: caracterização química, avaliação biológica e desenvolvimento de filmes para uso como coberturas**. 2020. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2020.

*Colocasia esculenta* é uma planta reconhecida popularmente pelo valor alimentício e como cicatrizante. Objetivou-se avaliar a atividade cicatrizante dos extratos das suas partes aéreas (EPA) e rizomas (ER) e desenvolver filmes para uso em coberturas, usando blendas de poli(álcool vinílico) (PVA) e ER. Os extratos foram caracterizados quimicamente, verificando-se compostos fenólicos (1,04% EPA; 0,71% ER), flavonoides (0,24%, EPA) e polissacarídeos (ER). Avaliou-se a atividade cicatrizante em ratos nos grupos controle: negativo (C-), veículo (CV), positivo (C+); bem como em ER e EPA. Registrou-se as áreas das lesões em 0, 7, 14 e 21 dias, calculando-se o Índice de Cicatrização da Úlcera (ICU). Não se evidenciou efeito significativo dos extratos no ICU, porém observou-se tendência de maior ICU em C+, ER e EPA, em 14 dias. A análise histológica qualitativa e quantitativa evidenciou maior regeneração, qualidade dos tecidos e proliferação fibroblástica em C+ ( $12 \pm 0$ ), ER ( $12 \pm 0$ ) e EPA ( $12 \pm 0$ ) aos 21 dias; modulação da inflamação aos 14 dias em EPA, com infiltrado polimorfonuclear menor em C+ ( $3,5 \pm 1$ ) e EPA ( $3,2 \pm 1,79$ ); reepitelização maior em CV ( $1,8 \pm 0,45$ ) e ER ( $1,75 \pm 0,5$ ) aos 7 dias. Portanto, os extratos produziram ações benéficas à cicatrização. Foram preparados filmes por casting-solving, utilizando blendas de PVA 8% com ER a 10%, 20%, 30%, 40%. Obtiveram-se filmes incolores, transparentes, flexíveis, resistentes ao manuseio, com boa interação entre os polímeros, sem separação de fases. A adição do ER originou filmes com menor espessura, maior capacidade de inchamento e parcialmente molháveis pela água. O aumento do teor de ER nas blendas interferiu na solubilidade e permeabilidade ao vapor d'água. A análise conjunta dos parâmetros sugere que o filme de PVA contendo maior porcentagem de polímero natural (40% de ER) é potencialmente útil para o preparo de coberturas bioativas.

Palavras-chave: Cicatrização. Cobertura. Formação de Filme.

## ABSTRACT

PRADO, ELISABETH MARIA LOPEZ. **Healing potential of *Colocasia esculenta* (L.) Schott: chemical characterization, biological evaluation and development of films for use as wound dressings.** 2020. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2020.

*Colocasia esculenta* is a plant popularly recognized for its nutritional value and healing effect. Its purpose was to evaluate the healing activity of its aerial parts extracts (EPA) and rhizomes extracts (ER) and to develop films for use in wound dressings, using poly(vinyl alcohol) (PVA) and ER blends. The extracts were chemically characterized, checking phenolic compounds (1.04% EPA; 0.71% ER), flavonoids (0.24%, EPA) and polysaccharides (ER). The healing activity in rats was evaluated in the control groups: negative (C-), vehicle (VC), positive (C+); as well as in ER and EPA. The areas of lesions were registered at 0, 7, 14 and 21 days, and the Ulcer Healing Index (UCI) was calculated. There was no significant effect of the extracts on ICU, but it was observed a tendency of higher ICU in C+, ER and EPA, in 14 days. The qualitative and quantitative histological analysis showed greater regeneration, tissue quality and fibroblastic proliferation in C+ ( $12 \pm 0$ ), ER ( $12 \pm 0$ ) and EPA ( $12 \pm 0$ ) at 21 days; modulation of inflammation at 14 days in EPA, with lower polymorphonuclear infiltrate in C+ ( $3.5 \pm 1$ ) and EPA ( $3.2 \pm 1.79$ ); greater reepithelialization in CV ( $1.8 \pm 0.45$ ) and ER ( $1.75 \pm 0.5$ ) at 7 days. Therefore, the extracts produced beneficial effects to healing. Films were prepared by casting-solving using blends of PVA 8% with ER at 10%, 20%, 30%, 40%. Colourless, transparent, flexible, resistant to handling films were obtained, with good interaction between the polymers, without phase separation. The addition of ER resulted in films with lower thickness, higher swelling capacity and partially wettable by water. The increase of the ER content in the blends interfered with the solubility and permeability to water vapor. Joint analysis of the parameters suggests that PVA film containing a higher percentage of natural polymer (40% ER) is potentially useful for the preparation of bioactive wound dressings.

Key words: Healing. Wound dressing. Film formation

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
Figura 1 -	Plantas e rizomas de <i>Dioscorea</i> spp. e <i>Colocasia esculenta</i> .....	18
Figura 2 -	Estruturas botânicas de <i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott.....	19
Figura 3 -	Exemplares de <i>Colocasia esculenta</i> , da variedade “chinês”.....	20
Figura 4 -	Estrutura molecular do fenol.....	26
Figura 5 -	Esqueleto básico dos flavonoides.....	26
Figura 6 -	Exemplos de subclasses dos flavonoides.....	27
Figura 7 -	Estruturas moleculares de compostos isolados a partir de <i>C. esculenta</i> .....	29
Figura 8 -	Estruturas moleculares de heterosídeos flavônicos isolados a partir de <i>C. esculenta</i> .....	29
Figura 9 -	Estruturas da amilose e amilopectina.....	46
Figura 10 -	Estrutura molecular do mero do poli(álcool vinílico).....	49
Figura 11 -	Representação simplificada de interações entre o amido e o PVA por meio de ligações de hidrogênio.....	50
Figura 12 -	Fluxogramas da obtenção dos extratos dos rizomas e das partes aéreas de <i>C. esculenta</i> .....	55
Figura 13 -	Número amostral em cada grupo e subgrupo, de acordo com os tempos de observação (0, 7, 14 e 21 dias) .....	58
Figura 14 -	Fluxograma do experimento animal.....	59
Figura 15 -	Fluxograma da obtenção dos filmes .....	62
Figura 16 -	Análise cromatográfica (CCD) dos extratos das partes aéreas e rizomas de <i>C. esculenta</i> .....	68
Figura 17 -	Imagens representativas das lesões nos cinco grupos experimentais, ao longo do experimento .....	70
Figura 18 -	Índice de cicatrização da úlcera (ICU) dos cinco grupos experimentais, nos tempos avaliados pelo o experimento .....	72

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
Figura 19 - Imagens representativas das seções histológicas das lesões nos dias 7, 14 e 21, destacando a progressão do reparo dos tecidos .....	77
Figura 20 - Imagens representativas das seções histológicas das lesões, nos dias 7, 14 e 21, destacando o infiltrado inflamatório.....	78
Figura 21 - Imagens representativas das seções histológicas das lesões nos dias 7, 14 e 21, destacando a progressão do reparo do tecido conjuntivo .....	79
Figura 22 - Imagens representativas das seções histológicas das lesões nos dias 7, 14 e 21, destacando a progressão da fibroplasia ....	80
Figura 23 - Imagens representativas dos filmes preparados a partir do PVA puro e das blendas com diferentes proporções de ER .....	87
Figura 24 - Fotomicrografias de MEV da fratura dos filmes (blendas de PVA e ER) .....	88
Figura 25 - Fotomicrografias de MEV da fratura do filme de PVA puro.....	89

## LISTA DE SIGLAS E/OU ABREVIATURAS

- %AL – Porcentagem da área da lesão em relação a área inicial
- ABST – 2,2'azinobis- 3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico
- AW – Trabalho de adesão
- C- – Controle negativo (grupo experimental)
- C+ – Controle positivo (grupo experimental)
- CCD – Cromatografia em camada delgada
- CMC – Carboximetilcelulose
- Cols. – Colaboradores
- CV – Controle do veículo (grupo experimental)
- DP – Desvio padrão
- DPPH – 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
- EP – Erro padrão
- EPA – Extrato das partes aéreas de *C. esculenta*
- ER – Extrato dos rizomas de *C. esculenta*
- HE – Hematoxilina-eosina
- ICU – Índice de cicatrização da úlcera
- MEV – Microscopia eletrônica de varredura
- MIC – Concentração inibitória mínima
- ML% – Índice de solubilidade
- PBS – Tampão fosfato salino pH 7,4
- PVA – Poli(álcool vinílico)
- PVA:ER 6:4 – Blenda a 60% (v/v) de PVA 8% (p/v) e 40% (v/v) de ER 2,5% (p/v)
- PVA:ER 7:3 – Blenda a 70% (v/v) de PVA 8% (p/v) e 30% (v/v) de ER 2,5% (p/v)
- PVA:ER 8:2 – Blenda a 80% (v/v) de PVA 8% (p/v) e 20% (v/v) de ER 2,5% (p/v)
- PVA:ER 9:1 – Blenda a 90% (v/v) de PVA 8% (p/v) e 10% (v/v) de ER 2,5% (p/v)
- Q% – Índice de intumescimento
- Rpm – Rotações por minuto
- S – Espalhamento
- TEAC – Capacidade antioxidante equivalente ao trolox
- TPS-1 – Taro polissacarídeo 1
- TPS-2 – Taro polissacarídeo 2

TPVA – Taxa de permeabilidade ao vapor d'água

TM – Tricrômico de Masson

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
Tabela 1 -	Valores da composição nutricional dos rizomas e das folhas de <i>C. esculenta</i> , relatados em diferentes estudos.....	21
Tabela 2 -	Composição nutricional do rizoma e das partes aéreas de <i>C. esculenta</i> .....	21
Tabela 3 -	Prospecção fitoquímica qualitativa da espécie <i>C. esculenta</i> ....	31
Tabela 4 -	Principais ações farmacológicas de <i>C. esculenta</i> , segundo seus diferentes extratos e constituintes químicos.....	39
Tabela 5 -	Proporção das dispersões poliméricas nas blendas 1 a 10.....	63
Tabela 6 -	Ganho percentual de peso animais durante o experimento.....	69
Tabela 7 -	Índice de cicatrização da úlcera ( $\pm$ EP) das lesões dos animais durante a avaliação do efeito cicatrizante de <i>C. esculenta</i> .....	71
Tabela 8 -	Área média percentual ( $\pm$ EP) das lesões dos animais durante a avaliação do efeito cicatrizante de <i>C. esculenta</i> .....	71
Tabela 9 -	Escore dos achados histológicos no tempo de 7 dias (média $\pm$ DP) .....	81
Tabela 10 -	Escore dos achados histológicos no tempo de 14 dias (média $\pm$ DP) .....	82
Tabela 11 -	Escore dos achados histológicos no tempo de 21 dias (média $\pm$ DP) .....	83
Tabela 12 -	Proporção das dispersões poliméricas nas blendas selecionadas para estudo.....	86
Tabela 13 -	Valores de densidade relativa e pH obtidos para as dispersões e blendas selecionadas para o estudo.....	86
Tabela 14 -	Ângulo de contato, trabalho de adesão e espalhabilidade do PBS sobre os filmes.....	90
Tabela 15 -	Espessura, índice de intumescimento (Q%), solubilidade (ML%) e taxa de transmissão de vapor d'água (TPVA).....	91

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
2.1 <i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott.....	18
2.1.1 Origem, nomenclatura e descrição botânica.....	18
2.1.2 Composição química.....	20
2.1.3 Ações farmacológicas.....	32
2.2. Extrato de <i>Colocasia esculenta</i> como material para preparo de filmes poliméricos utilizados como coberturas.....	40
2.2.1 Coberturas para feridas.....	40
2.2.2 Filmes em coberturas para feridas.....	42
2.2.3 Requisitos para as coberturas para feridas.....	43
2.2.4 Polímeros obtidos a partir de fontes naturais usados no preparo de filmes e coberturas para feridas.....	44
2.2.5 Blendas de polímeros.....	48
2.2.6 Estado da arte.....	51
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	54
3.1 Obtenção e caracterização dos extratos vegetais.....	54
3.2 Avaliação da atividade cicatrizante dos extratos.....	57
3.3 Obtenção dos filmes.....	62
3.4 Caracterização dos filmes.....	64
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	67
4.1 Obtenção e caracterização dos extratos vegetais.....	67
4.2 Avaliação da atividade cicatrizante dos extratos.....	69
4.3 Obtenção dos filmes.....	85
4.4 Caracterização dos filmes.....	87
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	95

<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>96</b>
<b>7 ANEXO.....</b>	<b>110</b>
<b>Anexo - Certificado de aprovação do CEUA.....</b>	<b>111</b>

## INTRODUÇÃO

Grande atenção tem sido dada atualmente para o uso de plantas medicinais em substituição aos fármacos sintéticos. Desde o final da década de 1970, a Organização Mundial de Saúde vem reforçando a importância da utilização das plantas medicinais como um recurso economicamente viável para aumentar a cobertura de atenção primária à saúde. Há mais de 20 anos o governo brasileiro vem implementando políticas de incentivo à utilização racional de plantas medicinais e às pesquisas relacionadas aos fitoterápicos. O Brasil é o país que abriga a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial, com enorme potencialidade para a utilização e pesquisa das plantas medicinais (BRASIL, 2006). Os produtos naturais apresentam as vantagens de serem recursos renováveis, acessíveis, de baixo custo, não causam impactos ambientais, e, em geral, apresentam menor potencial de toxicidade e ocorrência de efeitos colaterais, em relação aos produtos sintéticos (CALIXTO *et al.*, 2001).

A cicatrização é um processo que está presente na rotina clínica dos profissionais de saúde, dentre eles os médicos veterinários. Lesões que não cicatrizam estão associadas a uma alta morbidade e podem afetar o bem-estar e a saúde, além de implicar em perda econômica. O manejo correto das feridas melhora a taxa de cura, o tempo para retornar à função normal, a aparência estética final e, portanto, a satisfação de clientes (LIPTAK, 1997; OLIVEIRA; DIAS, 2012). Pesquisas recentes têm priorizado o desenvolvimento e testes de vários materiais naturais e sintéticos que aumentem a taxa de cicatrização de feridas ou eliminem as possíveis complicações do processo de cicatrização (HANANEH; ISMAIL; ALSHEHABAT, 2015).

As coberturas para feridas ("*wound dressings*") podem ser definidas como todo material aplicado diretamente sobre a ferida. Auxiliam na reconstrução da função de barreira da pele, na aceleração da cicatrização e na redução do risco de infecção local (SAMPAIO; DE CARVALHO; BRETTAS, 2018). Dentre as diversas formas disponíveis de curativos, os filmes apresentam vantagens como transparência, facilidade de aplicação e remoção, maior tempo de permanência sobre o local e potencial de funcionar como matrizes para liberação controlada ou prolongada de fármacos.

Possibilitam menor número de trocas do curativo, aumentando o conforto e a adesão do paciente ao tratamento (JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014).

A utilização de polímeros naturais, especialmente os polissacarídeos, como insumos para a produção de filmes e coberturas para curativos tem se mostrado bastante vantajosa. São recursos renováveis e apresentam características únicas como atoxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e fácil disponibilidade. Suas características hidrofílicas são vantajosas por proporcionarem a absorção do excesso de exsudato. Porém, a solubilidade em água torna-se um problema ao diminuir a estabilidade das coberturas. Além disso, nem sempre fornecem propriedades mecânicas elevadas (ESKANDARINIA *et al.*, 2019). Uma forma efetiva de solucionar essas limitações é a combinação com polímeros sintéticos, que apresentam maior resistência mecânica, estabilidade e durabilidade em comparação aos polímeros naturais (TABATA, 2009). Diversos autores estudaram filmes de blendas de poli(álcool vinílico) (PVA) com amido, obtendo melhorias nas propriedades mecânicas dos filmes e demonstrando uma boa compatibilidade entre esses dois polímeros (ISMAIL e ZAABA, 2011; TRINATH *et al.*, 2018).

Os rizomas do taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, constituem um alimento de baixo custo e frequente na dieta de milhões de pessoas, sendo cultivado nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, ocorre tanto como uma cultura de subsistência, como em cultivo comercial, sobretudo nos estados de Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (ANDRADE; NUNES; PEREIRA, 2015a). Os rizomas e partes aéreas dessa espécie têm sido tradicionalmente usados para diversos fins curativos, entre eles a cicatrização de feridas, na forma de emplastos ou compressas (SHARMA e MISHRA, 2009). Na medicina tradicional chinesa é empregado para tratamento de distúrbios gastrointestinais (YU *et al.*, 2015). Na medicina Ayurvédica o extrato das folhas é usado para o tratamento de várias doenças, como pressão alta, distúrbios hepáticos, dores reumáticas, congestão pulmonar e úlceras (VASANT *et al.*, 2012). No Brasil foi realizado levantamento etnofarmacológico no Paraná, relatando seu uso como adstringente, antidiabético e antirreumático (SILVA; QUADROS; NETO, 2015).

O taro se apresenta como uma fonte promissora para a produção de filmes para curativos. Os rizomas possuem alto teor de polissacarídeos: 70% de amido, com propriedades filmógenas, e até 25% de mucilagens, com alta capacidade de retenção de líquidos, ação emoliente e protetora para feridas (MIJINYAWA; DURGA; MISHRA,

2018). Ainda nos rizomas, foram isolados polissacarídeos não amiláceos com ação imunoestimulante, além de proteínas de defesa (LI *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2015b). Estudos demonstraram a presença de polifenóis, sobretudo flavonoides, tanto nas folhas quanto nos rizomas, com marcante ação antioxidante (LEONG *et al.*, 2010; SIMSEK e EL, 2015). Com relação aos estudos *in vitro* e em modelos animais, já foram evidenciadas propriedades antioxidantes, cicatrizantes e imunomoduladoras, dentre outras (GONÇALVES *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2018; SIMSEK e EL, 2015). Portanto, o taro constitui-se fonte tanto de biopolímeros com propriedades filmógenas, como de compostos bioativos com ações potencialmente benéficas à cicatrização de feridas.

Neste contexto, o presente trabalho foi proposto com os objetivos de preparar, caracterizar e avaliar a atividade cicatrizante de extratos dos rizomas e das partes aéreas de *C. esculenta*; bem como de desenvolver filmes a partir de blendas do extrato dos rizomas de *C. esculenta* com PVA, com potencial de utilização em coberturas para feridas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Colocasia esculenta* (L.) Schott

#### 2.1.1 Origem, nomenclatura e descrição botânica

A espécie *Colocasia esculenta* (L.) Schott é uma planta originária de regiões tropicais úmidas da Ásia (Índia, Indonésia) e pertence à família *Araceae*. É um importante alimento para milhões de pessoas, sendo cultivado exclusivamente nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo, como a África, a Ásia, a Índia Ocidental e a América do Sul. No Brasil, é cultivado tanto como uma cultura de subsistência, como comercialmente, sobretudo nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (ANDRADE; NUNES; PEREIRA, 2015; ANDRADE, 2016; SAENPHOOM *et al.*, 2016).

Segundo Silva (2011), possui os seguintes nomes populares em inglês: *taro*, *dasheene*, *eddoe*, *cocoyam* e *elephant ear*. Em francês é conhecida como *taro*, *songe*, *madère*, *chou-chine* e *dachine*. Em espanhol é denominada como *taro*, *kal*, *cará* e *malanga*. Na África é chamada de *colcas* e *alcolcas*, enquanto no Egito é dito *inhame*. No Brasil, denomina-se comumente como taro. Entretanto, no sudeste, centro e sul do país é conhecido como inhame, possivelmente em razão de sua semelhança com os rizomas de *Dioscorea* spp., que por sua vez, são conhecidos nas regiões norte e nordeste como cará (Figura 1).

Figura 1 – Plantas e rizomas de *Dioscorea* spp. e *Colocasia esculenta*



A- *Dioscorea* spp. B- *Colocasia esculenta*  
FONTE: Andrade (2016)

Em razão da confusão quanto à nomenclatura desses vegetais, foi estabelecida uma padronização durante o 1º Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Cará, realizado em Venda Nova do Imigrante, ES, em 2001. Assim, *Dioscorea* spp., conhecida como cará, cujo tubérculo é muito cultivado nas regiões norte e nordeste do Brasil, passou a ter denominação definitiva de inhame e *C. esculenta*, rizoma popularmente conhecido no sul, sudeste e centro-oeste brasileiro como inhame, passou a ter a denominação taro, como é conhecido mundialmente no mercado econômico (ANDRADE, 2016; REIS, 2011).

O taro (*C. esculenta*) é uma planta herbácea vivaz, cuja altura pode variar entre 30 cm a 180 cm, de acordo com a cultivar. Seu caule é modificado em rizoma amiláceo, constituindo a parte comestível da planta. Suas raízes são abundantes e fasciculadas. O rizoma é tuberoso, formando um corno de aspecto escamoso e de grossura variável, de onde nascem em roseta, na extremidade de longos pecíolos, grandes folhas peltadas que podem atingir 70 cm de comprimento por 60 cm de largura. O limbo é cordiforme ou ligeiramente sagitado, de cor verde escura. Os pecíolos podem ser verdes ou violáceos, terminando numa bainha curta e imbricada na base. A inflorescência é uma espádice cilíndrica, envolvida por uma longa espata. Os frutos são pequenas bagas uniloculares (ANDRADE, 2016; SILVA, 2011). A Figura 2 ilustra as estruturas botânicas de *C. esculenta*.

Figura 2 – Estruturas botânicas de *Colocasia esculenta* (L.) Schott



1 - pecíolos, 2 - espádice, 3 - espádice sem espata, 4 - estames, 5 - pistilo,  
6 - seção vertical do pistilo, 7 - rizomas (caules modificados)

FONTE: <http://www.herbarium.gov.hk/SubpagesImage.aspx?id=4113&type=illustration>

Trata-se de uma espécie polimórfica com diversas variedades. As mais conhecidas são *C. esculenta* var. *esculenta*, caracterizada por um grande rizoma principal ou central e vários pequenos rizomas laterais, e *C. esculenta* var. *antiquorum*, caracterizada por um rizoma central relativamente pequeno e rizomas laterais bem desenvolvidos (MERGEDUS *et al.*, 2015; SILVA, 2011). A Figura 3 demonstra exemplares da variedade conhecida como taro chinês.

Figura 3 – Exemplares de *Colocasia esculenta*, da variedade “chinês”



FONTE: o autor

### 2.1.2 Composição química

#### Componentes nutricionais

A composição nutricional do taro pode variar amplamente, dependendo do genótipo, das condições ambientais, de fatores agrônômicos durante o cultivo, idade da planta, métodos de processamento e armazenagem (LEWU; ADEBOLA; AFOLAYAN, 2009; MERGEDUS *et al.*, 2015; REIS, 2001). Os rizomas são mais

comumente utilizados na alimentação, mas em países da Ásia e África as folhas do taro também são consumidas como alimentos (FERRERES *et al.*, 2012).

Os rizomas de taro podem ser considerados um dos alimentos mais ricos dentre os tubérculos. São uma importante fonte de carboidratos de boa qualidade, com amido facilmente digerível, minerais, vitaminas e aminoácidos essenciais. O amido é o componente mais abundante, com teor entre 70% a 80%, apresentando grânulos relativamente pequenos quando comparado a outras amiláceas. A digestibilidade é da ordem de 97%, proporcionando eficiente liberação dos componentes durante a digestão. Em contrapartida, contém quantidades reduzidas de proteínas e lipídios (ANDRADE, 2016; LEWU; ADEBOLA; AFOLAYAN, 2009; SILVA, 2011). As composições nutricionais das folhas e dos rizomas foram determinadas por diferentes autores e encontram-se discriminadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores da composição nutricional dos rizomas e das folhas de *C. esculenta*, relatados em diferentes estudos

Autores	Rizomas				Folhas
	SEFA-DEDEH <i>et al.</i> , 2004	LEWU <i>et al.</i> , 2009	REIS, 2011	KUMOROA <i>et al.</i> , 2014	SAENPHOOM <i>et al.</i> , 2016
Umidade (%)	59 a 72	69,7 a 76,7	59,3 a 72,1	61,3	80,0
Proteínas (%)	2,98 a 4,69	6,4 a 17,0*	3,0 a 4,7*	2,6	29,7*
Lipídeos (%)	0,64 a 0,95	0,8 a 2,4*	0,64 a 0,97*	0,37	-
Extrato etéreo (%)	-	-	-	-	4,3*
Carboidratos (%)	17,8 a 32,5	67,8 a 82,6*	17,8 a 32,5*	31,5	-
Cinzas (%)	1,56 a 1,88	-	1,56 a 1,88*	1,23	9,2*
Fibras (%)	-	2,7 a 5,2	1,7	3,0	48,1*
Energia (Kcal/100g)	-	89 a 95	97	145	-

\* Valores determinados nas amostras dessecadas

Estudo anterior realizado por este grupo de pesquisa, avaliou a composição nutricional do mesmo material vegetal de *C. esculenta* utilizado no presente estudo. Os resultados estão expressos na Tabela 2 (VIEIRA, 2018).

Tabela 2 – Composição nutricional do rizoma e das partes aéreas de *C. esculenta*

Amostra	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Fibras	Proteínas	Carboidratos
Rizoma	7,40%	6,43%	0,25%	3,71%	6,93%	75,28%
Partes aéreas	8,93%	15,73%	1,79%	15,72%	20,11%	37,70%

Além dos altos níveis de proteína, as folhas são excelentes fontes de betacaroteno, potássio, cálcio, fósforo, ferro, riboflavina, tiamina, niacina, vitamina A, vitamina C e fibras (FERRERES *et al.*, 2012). A presença de vitaminas (ácido ascórbico, carotenos e tiamina) e aminoácidos (arginina, cistina, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, serina, tirosina, treonina, triptofano e valina) também foi relatada por Silva (2011).

As farinhas obtidas a partir dos rizomas também são bastante utilizadas na indústria alimentícia. Um estudo com farinhas produzidas a partir de seis variedades de *C. esculenta* foi realizado por Aboubakar e cols. (2008), apresentando os seguintes teores: 2,0 a 9,6% de umidade, 2,9 a 4,9% de proteínas, 90,5 a 95,5% de carboidratos, 68,8 a 86,6% de amido, 0,30 a 1,17% de gordura, 13,5 a 26,7% de açúcares redutores e 1,3 a 5,5% de cinzas. Njintang e cols. (2014) obtiveram resultados semelhantes.

Com relação à composição mineral, Mergedus e cols. (2015) encontraram os seguintes valores nos rizomas: 0,24% de potássio, 0,14% de fósforo, 0,1% de magnésio, 0,0067% de cálcio, 0,0051% de zinco, 0,0012% de ferro, 0,0011% de manganês, 0,00067% de cobre e 0,00084% de cádmio.

## **Oxalatos**

Os oxalatos são amplamente distribuídos nas plantas em formas solúveis em água, tais como oxalatos de potássio, sódio e amônio e também como cristais insolúveis de oxalato de cálcio. Autores relatam que os oxalatos podem alterar o gosto dos alimentos, além de diminuir a biodisponibilidade do cálcio (SEFA-DEDEH e AGYIR-SACKEY, 2004).

Oscarsson e Savage (2007) encontraram teores de  $589 \pm 35,8$  mg de oxalatos totais/100 g de peso fresco em folhas jovens de taro e  $443 \pm 15,0$  mg de oxalatos totais/100 g de peso fresco em folhas mais velhas. Os oxalatos solúveis corresponderam a 74% do teor total de oxalato das folhas jovens e velhas. Sefa-Dedeh e Agyir-Sackey (2004) determinaram o teor de oxalato nos rizomas, encontrando valores de 328 a 488 mg de oxalato/100 g de rizoma.

Os oxalatos insolúveis, especialmente cristais em agulha como o oxalato de cálcio, podem causar irritação e inchaço da boca, garganta e trato intestinal, quando o taro é consumido cru. Esse fator causa alguma limitação na sua utilização como alimento (KUMOROA *et al.*, 2014). Porém os métodos usuais de preparo, como cozimento em água ou em calor seco, reduzem os teores de oxalato em até 50%

(SEFA-DEDEH e AGYIR-SACKEY, 2004). Alguns métodos vêm sendo testados com objetivo de reduzir os teores de oxalato de cálcio. Os cristais estão mais concentrados nas camadas externas dos rizomas e podem ser removidos em grande parte por descascamento de uma camada espessa do rizoma seguido de cocção. Outro método descrito foi a imersão em solução de bicarbonato de sódio 10% (p/p) por 2 horas, seguido de fervura a 90 °C por 60 minutos (KUMOROA *et al.*, 2014; OSCARSSON e SAVAGE, 2007).

### **Mucilagens**

Em todo o mundo, especialmente nas zonas tropicais e subtropicais, existem plantas contendo mucilagem em seus tecidos (MORTON, 1990; WADHWA, NAIR, KUMRIA, 2013). Quimicamente, as mucilagens enquadram-se no grupo dos polissacarídeos, que são polímeros de alta massa molar, resultantes da condensação de unidades glicídicas entre si. O grau de polimerização é bastante variável, podendo chegar até 3.000 unidades. Podem estar associadas a uma variedade de outros componentes orgânicos e inorgânicos, como proteínas, minerais e outros. As características físico-químicas são influenciadas pela estrutura primária, natureza e sequência dos monossacarídeos presentes; pelo grau de polimerização e pela conformação espacial de suas cadeias (JANI *et al.*, 2009).

Possuem a propriedade de formar soluções viscosas ou géis ao entrarem em contato com a água, formando uma matriz hidrofílica e atuando como um reservatório de água *in vivo*. Essa propriedade se deve aos grupos hidrofílicos, que interagem com a água para formar géis ou soluções viscosas. Os géis resultantes de polímeros diferentes irão apresentar formas estruturais e texturas também diferentes (TONELLI; MURR; PARK, 2005).

Devido às suas propriedades de retenção de água e gelificação, as mucilagens têm ampla aplicação nas áreas médica, farmacêutica e alimentícia. São utilizadas como estabilizantes, gelificantes e espessantes de alimentos. Na fabricação de medicamentos podem ser usadas com as funções de espessantes, aglutinantes e desagregantes das formulações. Os usos terapêuticos incluem propriedades laxantes e também protetoras das mucosas, sendo utilizadas para tratar inflamações e irritações locais, tosse, úlceras, queimaduras, feridas, diarreia e desinteria. Várias publicações fizeram contribuições apreciáveis para a descoberta das propriedades

bioativas de tais produtos que ocorrem naturalmente nas plantas (MORTON, 1990; WADHWA; NAIR; KUMRIA, 2013).

Os rizomas de *C. esculenta* contém mucilagem, atuando provavelmente como polissacarídeo de armazenamento para o vegetal. Esta mucilagem tem caráter neutro e propriedades reológicas únicas, que possibilitam seu uso como espessante, emulsionante e estabilizante na indústria alimentícia e também como aglutinante, viscosante e formador de matriz na indústria farmacêutica (ANDRADE; NUNES; PEREIRA, 2015; ANDRADE, 2016; MIJINYAWA; DURGA; MISHRA, 2018).

Os teores relatados na literatura variam bastante, em função de fatores ambientais, genéticos e dos métodos de extração. Andrade (2016) realizou um levantamento dos valores encontrados em diversos estudos, observando relatos de teores de mucilagem desde 2,5% até 25,0%. O comportamento da viscosidade indica que a mucilagem tem caráter neutro e provavelmente é altamente ramificada, uma vez que a viscosidade aumenta em função da concentração. Lin e Huang (1993) verificaram que a viscosidade da mucilagem de *C. esculenta* foi comparável à goma arábica a 2% de concentração, mas aumentou drasticamente na concentração de 4%. Variações de pH e de força iônica na solução não exerceram efeito significativo na viscosidade.

Estudos mostraram duas frações distintas na mucilagem: uma fração mais abundante, com componentes com massa molar superior a um milhão de Daltons, além de componentes com aproximadamente 850000 Daltons e 100000 Daltons, respectivamente. A segunda fração, menos abundante, apresentou componentes com massa de 5000 Daltons (LIN e HUANG, 1993). Análises posteriores mostraram que a mucilagem possui alto conteúdo de glicídeos (91,94%) e pequena fração protéica (3,18%), além de minerais. Andrade; Nunes e Pereira (2015) determinaram os teores de umidade (12,7%), cinzas (4,05%), extrato etéreo (0,29%) e fibras (0,35%). Andrade (2016) comparou diversos métodos de extração, obtendo mucilagens brutas com 8,5% de proteínas e 84,6% de glicídeos e mucilagens purificadas contendo 47,8% de proteínas e 39,0% de glicídeos. Segundo o autor, a mucilagem do taro é formada principalmente, por arabinogalactanas, que podem estar ligadas a proteínas, formando a glicoproteína AGP (proteína arabinogalactana).

Alguns autores determinaram o perfil de monossacarídeos resultante da hidrólise da mucilagem. Há variações entre os resultados relatados por diferentes trabalhos, principalmente devido a diferenças nos processos de obtenção utilizados.

A proporção e a presença de alguns monossacarídeos podem ser alteradas devido a diferentes formas de extração, condições de cultivo e fisiologia do rizoma utilizado. Estudos feitos com mucilagens extraídas sob aquecimento produzem a glicose como o principal componente (ANDRADE; NUNES; PEREIRA, 2015). Entretanto, quando a extração é realizada em baixas temperaturas obtém-se a galactose como substância majoritária (ANDRADE, 2016). A diferença nas composições de glicídeos pode ser atribuída principalmente à presença de amido como uma impureza na mucilagem. Pelo processo de extração a quente o amido é extraído junto com a mucilagem, gerando alto teor de glicose após a hidrólise; já pelo processo a frio extrai-se preferencialmente mucilagem isenta de amido (LIN e HUANG, 1993; ANDRADE, 2016).

Mijinyawa; Durga e Mishra (2018) relataram como principais monossacarídeos a glicose, a galactose, a manose e a arabinose. Lin e Huang (1993) encontraram 19,7% de glicose, 16,2% de arabinose, 61,6 % de galactose, 0,5% de ácido galacturônico, 2,1% de proteínas. Andrade; Nunes e Pereira (2015) encontraram 1,63% de frutose, 0,26% de fucose, 0,18% de arabinose, 0,90% de galactose, 76,46% de glicose, 0,02% de xilose, 0,04% de ramnose e 0,31% de manose. Em estudo posterior, realizado com mucilagem obtida por extração a frio e submetida a processo de purificação, Andrade (2016) encontrou 16,7% de arabinose, 72,4% de galactose e 10,9% de glicose.

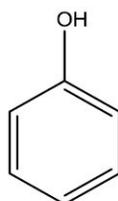
Quanto ao perfil de aminoácidos, foram encontrados: 23,27% de lisina, 20,93% de triptofano, 6,72% de treonina, 5,85% de serina, 2,75% de glicina, 4,91% de alanina, 9,50% de cisteína, 8,20% de isoleucina, 6,16% de fenilalanina e 3,14% de histidina (ANDRADE; NUNES; PEREIRA, 2015). Segundo Andrade (2016), a presença de aminoácidos mostra que pelo menos parte da fração proteica existente no rizoma de taro vai para a mucilagem, podendo se ligar às arabinogalactanas e formando a glicoproteína AGP (proteína arabinogalactana), com propriedades emulsionantes.

### **Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe com grande diversidade de estruturas químicas, desde simples até complexas, mas que compartilham a característica básica de possuir pelo menos um anel aromático benzênico no qual está ligado pelo menos um grupamento hidroxila, caracterizando a presença do grupo fenólico (Figura 4). Quando ocorre mais de um grupo fenólico na molécula, ela pode

ser denominada como um polifenol. Estes compostos são classificados segundo a sua estrutura química, abrangendo grupos com diversas complexidades estruturais, desde fenóis simples e ácidos fenólicos até antraquinonas, cumarinas, flavonoides e taninos (SIMÕES *et al.*, 2010).

Figura 4 – Estrutura molecular do fenol

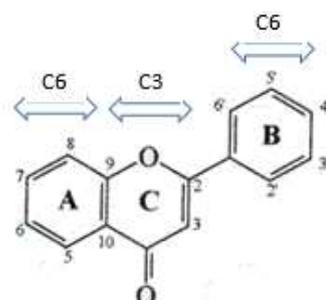


FONTE: CUNHA (2005)

Numerosas pesquisas relatam que a ingestão de polifenóis como parte de uma dieta regular reduz o risco de doenças cardiovasculares e de desenvolvimento de cânceres. Além disso, eles têm sido reconhecidos por possuírem ações antioxidante, anti-inflamatória, antialérgica, venotônica, cardioprotetora, hepatoprotetora e antiviral (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; CHAMPAGNE *et al.*, 2011; FERRERES *et al.*, 2012).

Vários estudos detectaram compostos polifenólicos, sobretudo pertencentes ao grupo dos flavonoides, tanto nas folhas quanto nos rizomas de *C. esculenta* (CHAMPAGNE *et al.*, 2011; FERRERES *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2014; MUÑOZ-CUERVOA *et al.* 2016; SIMSEK e EL, 2015). Quimicamente, os flavonoides podem ser definidos como compostos fenólicos com esqueleto básico C6-C3-C6, constituído por duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas, conforme mostrado na Figura 5.

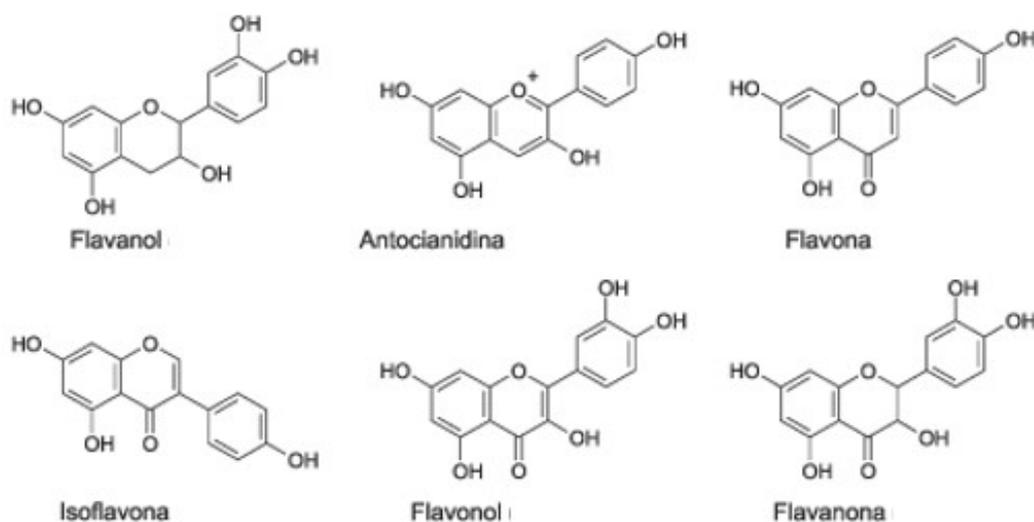
Figura 5 – Esqueleto básico dos flavonoides



FONTE: SIMÕES *et al.* (2010)

Segundo os tipos de substituintes presentes, os flavonoides são divididos em diversas classes, como flavonas, flavonóis, flavanonas, antocianidinas, isoflavonas, dentre outras (Figura 6). Além disso, podem formar heterosídeos, através da ligação de uma ou mais moléculas de glicídeos ao flavonoide. Conforme o sítio de ligação do glicídeo, essas ligações podem ser do tipo C-heterosídicas (glicídeo ligado a um carbono do esqueleto básico) ou O-heterosídicas (glicídeo ligado a um oxigênio), gerando C-heterosídeos ou O-heterosídeos, respectivamente (CUNHA, 2005; SIMÕES *et al.*, 2010).

Figura 6 – Exemplos de subclasses dos flavonoides



FONTE: CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO (2007)

Champagne e cols. (2011) estudaram a composição e as quantidades de compostos fenólicos em dez espécies de raízes tropicais consumidas como alimentos, dentre elas o taro, o inhame, a batata doce e a mandioca. Os teores mais altos (326,7 mg/100 g), bem como a maior variedade de compostos flavônicos, foi encontrada para o rizoma de taro, indicando que o mesmo é uma fonte interessante desses componentes. Simsek e El (2015) encontraram teores de fenólicos totais ( $205 \pm 53$  mg/100 g) e flavonóides totais ( $61 \pm 9$  mg/100 g) em extrato hidrometanólico dos rizomas do taro.

Muñoz-Cuervo e cols. (2016) analisaram os rizomas de 167 cultivares de taro, encontrando 35 flavonas e flavonóis, seis flavanonas, e dois flavanóis. Dentre as flavonas, 20 eram heterosídeos de apigenina, luteolina e o crisoeriol, com ligações C-

heterosídicas e O-heterosídicas. Heterosídeos de crisoeriol não são encontrados frequentemente, merecendo uma pesquisa mais detalhada. Nas flavanonas foram encontrados heterosídeos com ligações O-ramnosídicas.

Quarenta e um metabólitos fenólicos (11 derivados do ácido hidroxicinâmico e 30 heterosídeos de flavonoides) foram identificados por meio de cromatografia líquida de alto desempenho nas folhas de duas variedades de *C. esculenta* coletadas na ilha de Açores, Portugal. As variedades gigante branca e vermelha (denominações locais) continham, respectivamente, 14 e 21% de ácidos fenólicos (ácido caféico, ácido 5-O-cafeoilquinico e ácido *p*-cumarínico), 37 e 28% de flavonas mono-C-heterosídeos, 42 e 43% de flavonas di-C-heterosídeos, 3 e 4% de flavonas mono-C-(O-heterosídeo) heterosídeos, e ambas variedades 2% de flavonas di-C-(O-glicosil) heterosídeos e 2% de flavonas-O-heterosídeos. Luteolina-6-C-heterosídeo foi o composto presente em maiores quantidades em ambas as variedades. Também foram encontrados: apigenina-8-C-heterosídeo, apigenina-6-O-heterosídeo, luteolina-8-C-heterosídeo, luteolina-6-C-heterosídeo, apigenina-6-C-heterosídeo-7-O-heterosídeo, luteolina-3,7-di-O-heterosídeo e crisoeriol (FERRERES *et al.*, 2012).

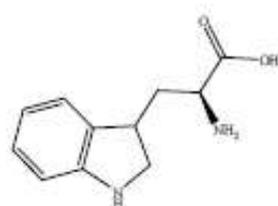
Li e cols. (2014) relataram a presença de pelargonidina-3-heterosídeo, cianidina-3-ramnosídeo, cianidina-3-heterosídeo, orientina, isorientina, vitexina, isovitexina, luteolina-7-O-heterosídeo, luteolina-7-O-rutinosídeo, ácido rosmarínico, 1-O-feruloil-D-heterosídeo e 1-O-cafeoil-D-heterosídeo nas folhas de *C. esculenta*. A Figura 7 traz as estruturas químicas de alguns desses compostos.

Gonçalves e cols. (2013) pesquisaram os compostos fenólicos presentes em extratos aquosos das folhas de *C. esculenta* submetidas a diferentes processos de cultivo. Os teores de fenólicos totais encontrados variaram entre 2,93 e 6,68 mg/g, sendo os valores superiores obtidos para as plantas cultivadas com pouca irrigação. A distribuição percentual dos compostos fenólicos foi de 84,1 a 96,7% de di-C-heterosídeos de flavonas; 2,24 a 14,6% de mono-C-heterosídeos de flavonas e 0,44 a 1,3% de mono-C-(O-glicosil) heterosídeos de flavonas. Derivados da luteolina constituíram 44,5 a 52,3% dos compostos fenólicos; derivados da apigenina 44,8 a 52,71% e derivados do crisoeriol 0,0 a 2,9%.

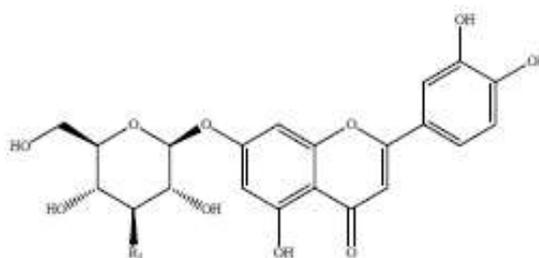
Seis C-heterosídeos e um O-heterosídeo de flavonoides foram isolados por Leong e cols. (2010) a partir das folhas e pecíolos. Eles foram identificados como escaftosídeo, isoescaftosídeo, orientina, isovitexina, isoorientina, vitexina e luteolina 7-O-soforosídeo (Figura 8). A isovitexina foi o principal composto nos extratos aquosos

(0,28 mg/g) e metanólicos (0,51 mg/g) das folhas enquanto escaftosídeo foi o principal composto do extrato aquoso (0,06 mg/g) dos pecíolos.

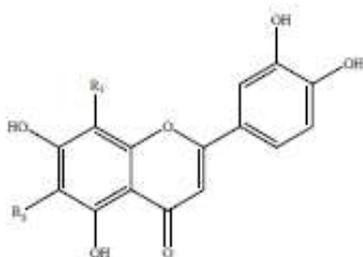
Figura 7 – Estruturas moleculares de compostos isolados a partir de *C. esculenta*



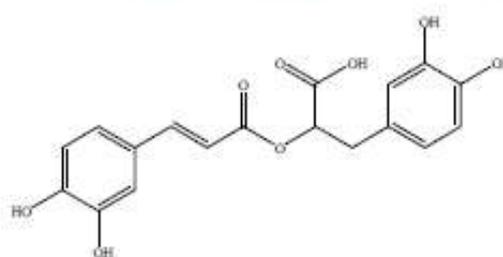
Triptofano



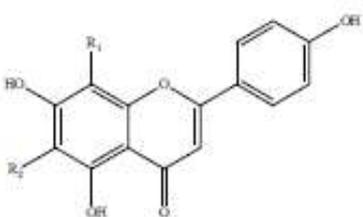
R1= OH: Luteolina-7-O-heterosídeo  
R2= ramnose: Luteolina-7-O-rutinosídeo



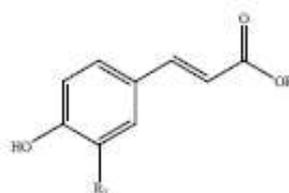
R1= glicose; R2=H: Orientina  
R1= H; R2= glicose: Isoorientina



Ácido rosmarínico



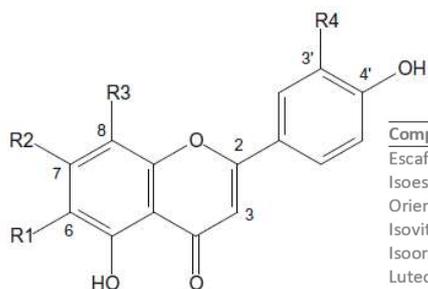
R1= glicose; R2=H: Vitexina  
R1= H; R2= glicose: Isovitexina



R1= OCH<sub>3</sub>; R2= glicose: 1-O-feruloil-D-heterosídeo  
R1= OH; R2= glicose: 1-O-cafeoil-D-heterosídeo

FONTE: LI *et al.* (2014)

Figura 8 – Estrutura molecular de heterosídeos flavônicos isolados a partir de *C. esculenta*



Composto	R1	R2	R3	R4
Escaftosídeo	C-β-D-glucopiranosil	OH	C-α-L-arabinopiranosil	H
Isoescaftosídeo	C-α-L-arabinopiranosil	OH	C-β-D-glucopiranosil	H
Orientina	H	OH	C-β-D-glucopiranosil	OH
Isovitexina	C-β-D-glucopiranosil	OH	H	H
Isoorientina	C-β-D-glucopiranosil	OH	H	OH
Luteolina-7-O-soforosídeo	H	O-β-D-glucopiranosil	H	OH
Vitexina	H	OH	C-β-D-glucopiranosil	H

FONTE: LEONG *et al.* (2010)

## Outros compostos

Li e cols. (2018) purificaram e caracterizaram dois polissacarídeos não amiláceos a partir dos rizomas de *C. esculenta*, denominados TPS-1 e TPS2 (Taro Polissacarídeos 1 e 2), com massas moleculares de 10.502 e 10.191 kDa, respectivamente. TPS-1 é constituído de 8,5% de ramnose, 0,73% de xilose, 88,57% de glicose e 2,56% de galactose, com a maioria das ligações do tipo  $\alpha$ -(1,6)-D-glicídica. TPS-2 é constituído de 3,4% de ramnose, 1,6% de arabinofuranosídeo, 0,73% de xilose, 87,92% de glicose e 26,94% de galactose, com a maioria das ligações do tipo  $\beta$ -(1,4)-D-glicídica.

Sancho e cols. (2017) avaliaram o teor de oligossacarídeos após cozimento, presentes nos rizomas do taro, comparando-os com os níveis de outros alimentos como a batata doce e a mandioca. Os rizomas apresentaram níveis baixos de frutooligosacarídeo ( $0,21 \pm 0,03$  mg/100 g) e maltooligosacarídeo ( $0,78 \pm 0,03$  mg/100 g), caracterizando o taro como uma fonte pobre destas substâncias.

O taro contém vários tipos de proteínas de defesa contra pragas, patógenos ou estresses abióticos, como lectinas e metalotioneínas. Dois compostos, uracil e glicol-proteína taro lectina foram purificados e identificados por Yu e cols. (2015) a partir dos rizomas frescos. Outra lectina obtida a partir do extrato bruto dos rizomas foi a tarina, que demonstrou uma especificidade por glicídeos complexos, ligando-se com alta afinidade a N-glicanas complexas e manose. Muitos desses ligantes podem ser encontrados em vírus, células tumorais e insetos, assim como em células hematopoiéticas (PEREIRA *et al.*, 2015b)

Carneiro e cols. (1990) isolaram uma albumina, correspondendo a 11% das proteínas solúveis presentes no rizoma de taro. A proteína isolada tem relativamente alto teor de aminoácidos essenciais, como fenilalanina e leucina, mas é pobre em aminoácidos contendo enxofre, ao contrário das proteínas encontradas em geral nos tecidos de reserva.

Foi verificada a presença de polifenoloxidasas no taro. Essas enzimas catalisam a oxidação de compostos fenólicos a quinonas, que se polimerizam resultando em pigmentos marrons (melaninas) levando ao escurecimento do rizoma. As polifenoloxidasas tem importância no setor alimentício, pois o escurecimento enzimático causa grandes perdas em alimentos como batatas, alface, maçãs, bananas, pêssegos, dentre outros (DUANGMAL e APENTEN, 1999).

### Prospecção fitoquímica

Em trabalho anterior realizado por este grupo de pesquisa, foi realizada a prospecção fitoquímica qualitativa do mesmo material vegetal de *C. esculenta* utilizado no presente estudo. Os resultados estão expressos na Tabela 3. Observou-se caracterização positiva para compostos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas e terpenoides tanto nos rizomas como nas partes aéreas. Os rizomas apresentaram ainda reação positiva para fenóis simples. Embora tenha sido obtido resultado positivo nas reações de caracterização de alcaloides, considerou-se a possibilidade de um resultado falso-positivo, uma vez que polifenóis, proteínas e mucilagens presentes na droga vegetal também podem produzir precipitados com os reagentes utilizados (VIEIRA, 2018).

Tabela 3 – Prospecção fitoquímica qualitativa da espécie *C. esculenta*

Classe investigada	Ensaio realizado	Resultado observado	
		Rizomas	Partes aéreas
Compostos fenólicos	Adição de FeCl <sub>3</sub> 5%	+	+
Fenóis simples	Micro sublimação	+	-
Flavonoides	Adição de AlCl <sub>3</sub> 5%	-	+
	Reação de Shinoda	+	+
	Reação de Pew	+	+
	Reação de Taubouk	+	+
Cumarinas	Adição de KOH 10%	-	-
Quinonas	Reação de Borntrager	-	-
Taninos	Reação de gelatina 2%	-	-
	Adição de Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> 10%	+	+
	Adição de Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> 3%	+	+
	Adição de FeCl <sub>3</sub> 2%	TC*	TC*
Terpenoides e Heterosídeos cardiotônicos	Reação de Liebermann	NE*	NE*
	Reação de Keller-Kiliani	+	+
	Reação de Pesez	+	+
Saponinas	Formação de espuma	+	+
	Índice afrosimétrico	28	50
	Atividade hemolítica	-	-
Alcaloides	Reagente de Bertrand	+	+
	Reagente de Wagner	-	+
	Reagente de Dragendorff	-	+
	Reagente de Hager	+	+
	Reagente de Mayer	+	+

\*TC: taninos condensados; \*NE: núcleo esteroidal.

### 2.1.3 Ações farmacológicas

#### Ação cicatrizante

O processo de cura de lesões teciduais se dá por regeneração ou por cicatrização. Na regeneração, o tecido morto é substituído por outro com morfologia e funcionalidade idênticas ao tecido original. Na cicatrização, o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (BRASILEIRO FILHO, 2009).

A cicatrização é um processo biológico complexo e pode ser dividido em fases, embora essas possam se sobrepor e ocorrer simultaneamente (CAMPOS, 2007). Segundo Kumar (2010), a primeira fase é inflamatória, na qual ocorre inicialmente a formação do coágulo de fibrina e liberação de mediadores, desencadeando uma reação inflamatória no local. O exsudato de células fagocitárias reabsorve os produtos de destruição tecidual. Na fase proliferativa, caracterizada pela formação do tecido de granulação, ocorre proliferação de células endoteliais e fibroblásticas, com neovascularização, deposição de colágeno do tipo III e componentes da matriz. A última fase, chamada de remodelação, envolve a contração da ferida pela ação dos miofibroblastos e o remodelamento do tecido. Em todas as fases, o processo é mediado por vários fatores de crescimento e citocinas. O tempo de duração de cada fase pode variar de acordo com o tipo e extensão da ferida, presença de infecção, bem como com as condições do organismo (BRASILEIRO FILHO, 2009).

A fase inflamatória tem início imediatamente após a ocorrência da lesão, quando as vias de coagulação são ativadas, resultando na formação de um coágulo na superfície da ferida, composto por hemácias, fibrina, fibronectina, componentes do complemento e macrófagos. O coágulo funciona como um tampão, evitando a perda de sangue e fluidos, protege contra a entrada de agentes externos e serve de arcabouço para as células que são atraídas por fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas liberadas no local. As citocinas ativam as células endoteliais, que expõe moléculas de adesão (ICAM, VCAM, selectinas), favorecendo a adesão de leucócitos. As primeiras células a chegarem à ferida são os neutrófilos, que produzem radicais livres auxiliando na destruição bacteriana e na fagocitose de restos celulares, sendo gradativamente substituídos por macrófagos. Estes migram para a ferida após 48 - 96 horas da lesão, desempenhando papel fundamental no término do desbridamento iniciado pelos neutrófilos, além de secretarem citocinas e fatores de crescimento,

necessários para a continuidade do processo de cicatrização. Usualmente essa fase dura cerca de quatro a seis dias (BRASILEIRO FILHO, 2009; HOSGOOD, 2006; KUMAR et al., 2010).

A fase seguinte é a proliferativa, na qual os fibroblastos migram para o local através de quimiotaxia, proliferam e depositam componentes da matriz extracelular, principalmente fibras colágenas finas (tipo III), ácido hialurônico e proteoglicanos. Simultaneamente, ocorre a formação de novos capilares. A proliferação das células endoteliais é induzida por fatores de crescimento (VEGF, EGF e PDGF) e citocina TNF- $\alpha$ . O tecido conjuntivo neoformado recebe o nome de tecido de granulação. Também ocorre proliferação de queratinócitos a partir das bordas da ferida, iniciando a reepitelização. Essa fase caracteriza-se pela reconstituição dos tecidos e fechamento da ferida. Tem início ao redor do 4º dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana (BRASILEIRO FILHO, 2009; CAMPOS et al., 2007; KUMAR et al., 2010).

Na fase final, chamada de remodelação ou maturação, ocorre gradualmente a substituição do tecido de granulação por tecido conjuntivo denso. Os fibroblastos e leucócitos secretam colagenases, que digerem as fibras de colágeno tipo III (mais finas), bem como as fibras dispostas de forma aleatória. Ocorre a deposição de fibras de colágeno tipo I (mais resistentes) e a reorganização das fibras de forma paralela às linhas de tensão, com aumento das ligações transversais, conferindo ao tecido maior resistência e força tênsil. O remodelamento do tecido conjuntivo que ocorre nessa fase resulta do equilíbrio entre a síntese e a degradação de componentes da matriz extracelular e proporciona o aumento da resistência do tecido. As fibras colágenas tornam-se mais grossas e compactas, comprimindo os capilares e reduzindo seu número. As células fagocitárias vão desaparecendo, por apoptose. Citocinas, quimiocinas e produtos de degradação da matriz extracelular atuam nos receptores dos fibroblastos induzindo a expressão de genes que estimulam a síntese de proteínas contráteis. Com isso, essas células adquirem o fenótipo de miofibroblastos, com função contrátil, de fundamental importância para a contração das margens da lesão, promovendo a retração da cicatriz. A fase de remodelamento tem início após cerca de duas a quatro semanas da ocorrência da lesão, estendendo-se por até três meses e, em alguns casos, até por anos. Na segunda semana, a resistência da cicatriz corresponde a cerca de 10 a 20% da resistência da pele não

lesada, aumentando progressivamente até atingir cerca de 80% da resistência original (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; BRASILEIRO FILHO, 2009; KUMAR et al., 2010).

Alguns fatores locais que podem influenciar negativamente a cicatrização são hipóxia tecidual, infecção, técnica cirúrgica inadequada, presença de corpos estranhos e tecido necrosado, edema e pressão tecidual elevada. Estes fatores podem atuar como barreira física para o desenvolvimento ordenado do tecido de granulação e deposição de colágeno, ou podem aumentar excessivamente a resposta inflamatória. Além disso, feridas em áreas com mobilidade alta são propensas à inflamação crônica, devido à perturbação repetitiva do tecido neoformado. Dentre os fatores locais, a infecção é a causa mais importante do retardo da cicatrização. O fluxo de sangue é outro fator relevante, pois quando é insuficiente aumenta o risco de infecção, retardando a taxa de cura. Além disso, a baixa perfusão tecidual aumenta a hipóxia, interferindo no metabolismo e no crescimento celular e prejudicando a cicatrização (CAMPOS et al., 2007; OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Dentre os fatores sistêmicos que dificultam a cicatrização, pode-se citar diabetes, hipotensão, hipotermia, alterações da coagulação, idade, insuficiência hepática, renal e respiratória, deficiências nutricionais e o uso de alguns fármacos (HAN; CEILLEY, 2017). Alguns medicamentos podem interferir negativamente na cicatrização de feridas, como os corticosteróides, penicilamina, ciclosporina e colchicina. Os anti-inflamatórios esteroidais (corticosteróides) restringem a fase inflamatória da cicatrização causando efeito inibitório na taxa e qualidade da cicatrização. Entretanto, uma única dose de esteróides não é suficiente para causar esse efeito. O uso de antioxidantes (vitamina C, vitamina E e ginkgo biloba) tem sido relacionado à menor formação de radicais livres e menor dano tecidual em situações de hipóxia (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Pesquisas realizadas por Gonçalves e cols. (2013) apontam para uma potencial utilização das folhas de *C. esculenta* como cicatrizantes de feridas. Extratos aquosos foram capazes de eliminar várias espécies oxidantes (radicais superóxido, óxido nítrico e DPPH), além de inibir a hialuronidase. Essas ações seriam benéficas ao processo de cicatrização, pois protegeriam as células da pele contra danos oxidativos e preveniriam a degradação do ácido hialurônico, acelerando a recuperação de feridas. A alta atividade antioxidante foi relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos, principalmente às flavonas do tipo mono-C-heterosídeos de luteolina. Em outro trabalho, Takahashi e cols. (2012) verificaram que o extrato das folhas de *C.*

*esculenta* apresentou atividade proliferativa celular em modelo de cultura de fibroblastos humanos. Essas células desempenham papel fundamental no processo de cicatrização, por meio da síntese de colágeno e da remodelação dos tecidos. A taxa de proliferação celular foi de 112,5% em relação ao controle, porém não induziu aumento significativo na síntese de colágeno.

### **Ação antioxidante**

Leong e cols. (2010) obtiveram compostos flavônicos a partir de extratos aquosos e metanólicos das folhas e pecíolos de *C. esculenta*. Os flavonoides isoorientina, orientina e luteolina 7-O-soforosídeo mostraram forte atividade antioxidante observada em ensaios de eliminação de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), de branqueamento de betacaroteno e de inibição de radical superóxido. O extrato metanólico da folha mostrou maior atividade sequestradora de radicais DPPH (83,9% de atividade) do que o extrato aquoso (65% de atividade), enquanto o oposto foi observado para os pecíolos (17,8% de atividade no extrato aquoso).

Simsek e El (2015) testaram a ação antioxidante do extrato hidrometanólico dos rizomas do taro contendo 205 mg/100 g de fenólicos totais e 61 mg/100 g de flavonóides. A atividade antioxidante foi expressa em função da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC), sendo realizados os ensaios *in vitro* pelos métodos de captura de radicais livres ABST (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico) e DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil). Foram obtidos valores de  $452 \pm 72$  mM TEAC/100 g e  $244 \pm 73$  mM TEAC/100 g, pelos ensaios de ABTS e DPPH, respectivamente.

Atualmente diversos processos inflamatórios, doenças crônicas e degenerativas têm sido associadas ao estresse oxidativo. Vários estudos relacionados às ações antidiabéticas, hipolipemiantes, antihipertensivas e cicatrizantes de *C. esculenta* atribuem os efeitos benéficos obtidos à presença de substâncias antioxidantes nos extratos de suas folhas e rizomas, sobretudo aos flavonoides presentes nos mesmos (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; CHAMPAGNE *et al.*, 2011; ELEAZU; ELEAZU; IROAGANACHI, 2016; VASANT *et al.*, 2012).

### **Ações imunomoduladora e proliferativa**

Como dito anteriormente, Li e cols. (2018) purificaram e caracterizaram dois novos polissacarídeos não amiláceos a partir dos rizomas de *C. esculenta*,

denominados TPS-1 e TPS2 (Taro Polissacarídeos 1 e 2). Ambos apresentaram ação imunoestimulante em modelo de linhagem celular de macrófagos, sendo que TPS-2 exibiu uma atividade de imunomodulação efetiva maior do que o TPS-1, em relação aos níveis de óxido nítrico, fator de necrose tumoral- $\alpha$  e interleucina-6 liberados pelos macrófagos e a estimulação significativa da fagocitose realizada por essas células. Os autores concluíram que TPS-1 e TPS-2 podem ser considerados como novos imunoestimulantes potenciais.

Estudos demonstraram a ação proliferativa do extrato proteico dos rizomas do taro tanto *in vitro* como *in vivo*. O extrato estimulou de maneira dose-dependente a proliferação *in vitro* de esplenócitos C57BL/6 e BALB/c, em modelo de cultura celular de camundongos. Foi isolada, a partir do extrato, uma proteína com massa molar de 50 KDa, biologicamente ativa (PEREIRA *et al.*, 2015b; TULIN e ECLEO, 2007). A inoculação do extrato em camundongos estimulou proliferação de linfócitos B220+ na medula óssea e de células do baço. Os autores atribuíram a ação imunoestimulante às proteínas presentes no extrato (PEREIRA *et al.*, 2015a).

Lectinas são proteínas encontradas em uma ampla gama de organismos, com a capacidade de se ligar reversivelmente a carboidratos específicos. Eles podem exercer importantes atividades biológicas, como a ativação do ciclo celular em linfócitos. Pereira e cols. (2014) testaram, em modelo experimental murino, o extrato proteico bruto de rizomas de *C. esculenta*, e também a tarina na forma isolada, uma vez que essa lectina representou 40% das proteínas presentes no extrato. Ambos apresentaram atividades aglutinantes contra eritrócitos e mitogênicas *in vitro* e *in vivo* para esplenócitos de camundongos. Metade das células em proliferação foi identificada como linfócitos B. O extrato bruto foi mais efetivo no desencadeamento da proliferação do que a tarina na forma purificada.

### **Ação anticâncer**

Extratos das partes comestíveis de *C. esculenta* apresentaram efeitos inibitórios de proliferação em sete linhagens celulares de linfócitos T, constituídas por linhagens de células T de leucemia do adulto, de leucemia linfoblástica aguda e de células T transformadas pela infecção pelo HTLV-I. Estes achados sugerem uma bioatividade preventiva de leucemia no extrato (KAI *et al.*, 2011).

### **Ação antimicrobiana**

A atividade antibacteriana de extratos aquosos e etanólicos de *C. esculenta* foi avaliada contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Foi utilizado o método de microdiluição em caldo, considerando a concentração inibitória mínima (MIC) de no máximo de 200 µg/mL. O extrato etanólico dos pecíolos apresentou atividade contra *P. aeruginosa*, com MIC = 100 µg/mL. Não houve atividade frente aos outros micro-organismos testados (LIU *et al.*, 2014).

Em outro estudo, realizado por meio de método de difusão em agar, *C. esculenta* não apresentou atividade frente a 25 micro-organismos testados (gram positivos, gram negativos e leveduras), dos gêneros: *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Candida* e *Trichosporon*. Foram utilizados extratos das folhas, preparados com solventes orgânicos polares e apolares (CHANDA *et al.*, 2013). Resultados diferentes foram obtidos por Reis (2011), que observou atividade antifúngica do extrato contra quatro espécies de *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*.

### **Ação antidiabética**

A farinha dos rizomas de *C. esculenta* demonstrou potencial benéfico para o tratamento da diabetes. A adição de farinha de taro por 21 dias na dieta de ratos induzidos a diabetes, resultou em diminuição da hiperglicemia em 58,75%, dos níveis de proteína e glicose na urina e do peso relativo dos rins dos animais. (ELEAZU; IROAGANACHI; ELEAZU, 2013).

Em estudo semelhante dos mesmos autores, foram demonstradas ações antidiabéticas de *C. esculenta*. Ratos induzidos ao diabetes foram alimentados com 810 g/kg de farinha dos rizomas de taro durante 28 dias. Os animais tiveram melhora no peso corporal (18,89% de decréscimo), diminuição nos níveis séricos de glicose e da porcentagem de hemoglobina glicada (ELEAZU; ELEAZU; IROAGANACHI, 2016).

As frações solúveis em acetato de etila e em butanol, obtidas a partir de extrato etanólico a 95% das folhas de *C. esculenta* apresentaram atividade inibitória sobre a aldose redutase. Foram obtidos valores de IC<sub>50</sub> de 2,07 µg/mL (fração em acetato de etila) e 5,05 µg/mL (fração butanólica), em comparação com o controle positivo quercetina, com IC<sub>50</sub> de 1,09 µg/mL. A aldose redutase é uma oxidoredutase, sendo

uma enzima chave na via do poliol, que catalisa a redução da glicose ao sorbitol, sendo este posteriormente metabolizado em frutose pela sorbitol desidrogenase. Essa via desempenha papéis importantes na formação da catarata e na patogênese de complicações diabéticas, como neuropatia, nefropatia, e retinopatia. Assim, a inibição da aldose redutase representa um ponto chave para a prevenção de complicações diabéticas a longo prazo (LI *et al.*, 2014).

### **Ações hipolipemiantes e antihipertensivas**

A mucilagem dos rizomas de *C. esculenta* apresentou efeito hipolipemiante em modelo animal murino. A mucilagem, rica em arabinogalactano, foi administrada aos animais em dose de 4 mg/100 g de peso corporal durante oito semanas. Os níveis lipídicos diminuíram no soro e nos tecidos, sendo esse efeito atribuído a uma diminuição na produção hepática de VLDL - lipoproteínas de densidade muito baixas (BOBAN; NAMBISAN; SUDHAKARAN, 2006). A adição de 810 g/kg de farinha dos rizomas de taro na dieta de ratos, induzidos ao diabetes, proporcionou redução significativa nos níveis séricos de triacilgliceróis, colesterol total, colesterol VLDL, colesterol LDL; nos índices de riscos aterogênicos e coronários; além do aumento dos níveis de colesterol HDL (ELEAZU; ELEAZU; IROAGANACHI, 2016). O extrato etanólico dos rizomas de taro a 20% mostrou-se eficaz na redução do perfil lipídico sérico de coelhos induzidos a hipercolesterolemia (REIS, 2011).

Vasant e cols. (2012) demonstraram as atividades anti-hipertensiva e diurética leve do extrato aquoso de folhas de *C. esculenta* em modelo animal de ratos induzidos à hipertensão. Os autores atribuíram esses efeitos às atividades inibitórias da ECA (enzima conversora de angiotensina), vasodilatadoras,  $\beta$ -bloqueadoras e/ou bloqueadoras dos canais de cálcio, que foram relatadas para os flavonoides presentes no extrato, como vitexina, isovitexina e orientina.

### **Ação sobre sistema nervoso central**

A atividade neurofarmacológica de *C. esculenta* foi demonstrada em alguns estudos. Kalariya e cols. (2015) observaram propriedades anticomulsivas para o extrato hidroalcoólico das folhas, em modelo animal, com doses de 25 e 50 mg/kg, por via intra-peritoneal. O efeito do extrato foi comparável ao da fluoxetina, um fármaco padrão de referência utilizado no tratamento do transtorno obsessivo-compulsivo. Os estudos de toxicidade aguda mostraram que o valor de LD<sub>50</sub> do extrato

em camundongos foi de 1000 mg/kg, por via intra-peritoneal. O extrato hidroalcolico das folhas exerceu atividade ansiolítica em modelo animal, em doses de 100 a 400 mg/kg, por via oral, com efeitos dose dependentes. Os camundongos apresentaram diminuição da ansiedade e da depressão e aumento do tempo de sono induzido por tiopental (KALARIYA; PARMAR; SHETH, 2010).

### Ação sobre sistema nervoso periférico

A lectina glicol-proteína do taro foi obtida a partir dos rizomas frescos, demonstrando atividade de estimulação nervosa em neurônios do gânglio da raiz dorsal (DRG) de camundongos transgênicos GcaMP, em concentração de 1 mg/mL. A proteína ligou-se aos receptores de células DRG e alterou o cálcio livre intracelular, sendo capaz de induzir estímulos de coceira ou dor. Segundo os autores, essa substância poderia ser utilizada como droga modelo em pesquisas relacionadas a esses estímulos. Além disso, sua presença poderia explicar a irritação cutânea e coceira causada pela mucilagem do taro (YU *et al.*, 2015). Muitos autores atribuem os efeitos irritantes do taro à presença de cristais de oxalato de cálcio (KUMOROA *et al.*, 2014; OSCARSSON e SAVAGE, 2007; SEFA-DEDEH e AGYIR-SACKEY, 2004).

### Resumo das principais ações relatadas

As principais ações farmacológicas descritas nesta revisão para os rizomas e folhas de *C. esculenta* estão apresentadas na Tabela 4. As ações foram relacionadas aos tipos de extratos e compostos químicos testados nos experimentos.

Tabela 4 – Principais ações farmacológicas de *C. esculenta*, segundo seus diferentes extratos e constituintes químicos

Ações	Rizomas						Folhas	
	EXT	MUC	DRV	EXP	POL	FLV	EXT	FLV
Antioxidante						x		x
Cicatrizante							x	
Imunomoduladora				x	x			
Antidiabética			x				x	
Hipolipemiante	x	x	x				x	x
Ansiolítica							x	
Anticâncer	x							

EXT - Extrato total; MUC - Mucilagem; DRV - Droga vegetal; EXP - Extrato proteico; POL - Polissacarídeos; FLV - Flavonoides

## **2.2. Extrato de *Colocasia esculenta* como material para preparo de filmes poliméricos utilizados como coberturas**

### **2.2.1 Coberturas para feridas**

Os curativos, coberturas para feridas (“*wound dressings*”), ou simplesmente coberturas, podem ser definidos como todo material aplicado diretamente sobre a ferida. São utilizados com objetivo de favorecer a reparação dos tecidos dérmicos e epidérmicos. Sua função primária é formar uma barreira de proteção física contra agentes infecciosos, sujidades e traumas mecânicos. Também podem promover a manutenção de um ambiente úmido, absorver o excesso de secreções e reduzir a dor e o odor. Assim, auxiliam na reconstrução da função de barreira da pele, na aceleração da cicatrização e na redução do risco de infecção local (DAUNTON *et al.*, 2012; FONSECA e SAVASSI-ROCHA, 1999; SAMPAIO; DE CARVALHO; BRETTAS, 2018).

Há uma grande variedade de curativos, desde coberturas puramente físicas, como as gazes; até formas farmacêuticas convencionais (pomadas, cremes, géis, soluções, suspensões) e também as formas de hidrogéis, hidrocolóides, espumas e filmes; sendo cada uma delas empregada em situações específicas. Além disso, as coberturas podem veicular diversos tipos de substâncias ativas, como antibióticos, enzimas, cicatrizantes, fatores de crescimento, dentre outros (BOATENG; CATANZANO, 2015; KAMOUN *et al.*, 2015).

Entre os diferentes tipos de coberturas disponíveis, são denominadas coberturas passivas, quando sua função é limitada à cobertura e proteção do local; interativas, quando são capazes de modificar a fisiologia no micro-ambiente das feridas, mantendo-as úmidas e otimizando a cicatrização; e finalmente, coberturas bioativas são aquelas que agregam às anteriores, a função de reservatório de fármacos, com o objetivo de tratar as feridas e promover a regeneração tecidual (BOATENG e CATANZANO, 2015; MOGOȘANU e GRUMEZESCU, 2014; SHAW e MARTIN, 2009).

As coberturas conhecidas como “gaze” são utilizadas desde o século 5 a.C. até os dias de hoje. Podem ser constituídas por dois tipos de material: tecido de algodão 100% natural, mais amplamente utilizado, ou gaze feita de materiais artificiais e sintéticos, como misturas de rayon ou de fibras sintéticas. Sua principal função seria

manter a ferida seca, permitindo a absorção de exsudatos e impedindo a entrada de bactérias. Porém, já foi demonstrado que manter o local da ferida úmido promove uma cicatrização mais rápida e eficiente. Além disso, a gaze de tecido é problemática pois pode soltar fibras ao ser cortada, deixando detritos no leito da ferida. Também tende a grudar na ferida, resultando em dor e trauma durante a remoção (BOATENG, 2008; DAUNTON *et al.*, 2012).

As pomadas, cremes, géis, soluções e suspensões são utilizadas como veículos para a incorporação de substâncias ativas, como antibióticos, enzimas, cicatrizantes, analgésicos, anti-inflamatórios e fatores de crescimento. Conferem algum grau de proteção e manutenção da umidade no ambiente da ferida. Porém, de forma geral, não são eficazes em permanecer sobre a ferida, pois absorvem os fluidos locais e são lavadas. Assim, são necessárias reaplicações constantes. O tempo de permanência sobre a ferida varia de acordo com a hidrofiliabilidade e viscosidade da forma farmacêutica utilizada, dentre outras características (BOATENG, 2008; BOATENG e CATANZANO, 2015).

Os hidrogéis são formados por polímeros hidrofílicos reticulados. O processo de reticulação origina ligações covalentes inter cruzadas entre as cadeias poliméricas, formando uma rede tridimensional que mantém a estrutura do hidrogel e confere ao material uma capacidade elástica. Assim, os hidrogéis possuem a capacidade de absorver grandes quantidades de água, com intumescimento de até 300 vezes o seu volume original, sem que ocorra sua dissolução e desintegração (AHMED, 2015).

Os mesmos estão disponíveis nas formas de géis (secos ou pré-misturados), impregnados em gaze e na forma de filmes. São adequados para todos os estágios de cicatrização de feridas, não são irritantes e são permeáveis aos metabólitos. Suas principais ações são: hidratação de feridas secas; promoção de debridação, absorção do exsudato; alívio da dor através da hidratação das terminações nervosas. As desvantagens dos curativos de hidrogel são o acúmulo de exsudato, que pode provocar a degradação do tecido e proliferação bacteriana, e a baixa resistência mecânica. Portanto, não são indicados para feridas infectadas ou com excesso de exsudatos (BROUSSARD e POWERS, 2013; SAMPAIO; DE CARVALHO; BRETTAS, 2018).

Hidrocolóides são compostos por polímeros capazes de formar géis, como carboximetilcelulose, gelatina, pectina e guar. Eles estão disponíveis nas formas de pós e de filmes. Nesse último caso são geralmente associados a um polímero sintético

como o poliuretano, para agregar propriedades adesivas e de resistência à água. Em contato com o exsudato da ferida, absorvem a água e formam géis, que evitam a aderência à ferida e proporcionam alívio da dor, por manter as terminações nervosas úmidas. São interessantes para úlceras e para ferimentos sobre as articulações, pois o gel formado proporciona um amortecimento leve. Eles também estimulam o desbridamento autolítico. Uma desvantagem é a natureza opaca do curativo, o que limita a visualização da ferida (BOATENG, 2008; BROUSSARD e POWERS, 2013).

Os curativos de espuma são constituídos por espumas poliméricas porosas e absorventes. Muitas vezes são associadas a camadas poliméricas oclusivas de apoio, como polímeros de poliuretano, para evitar o contato direto com a ferida, perda excessiva de líquidos e contaminação bacteriana. Frequentemente esses curativos possuem bordas de silicone. Os pensos de espuma mantêm um ambiente úmido ao redor da ferida, fornecem isolamento térmico, são altamente absorventes e permeáveis aos gases, melhoram a tolerância dos tecidos à pressão e reduzem as forças de cisalhamento. São recomendados para prevenção de úlceras por pressão (BOATENG, 2008; INOUE e MATSUDA, 2015).

### **2.2.2 Filmes em coberturas para feridas**

Os filmes são materiais que apresentam espessura fina e são utilizados como barreira a agentes externos. Podem ser oclusivos ou permeáveis, dependendo do tipo de polímeros constituintes. Assim como os hidrogéis, os hidrocolóides e as espumas, os filmes podem ser um dos constituintes de um curativo ou a própria cobertura curativa em si (BOATENG e CATANZANO, 2015; MOGOȘANU e GRUMEZESCU, 2014). Podem ser obtidos por diferentes processos, dentre eles a técnica de *casting-solving*, que consiste na preparação de uma solução do(s) polímero(s) seguida de evaporação do solvente. A transformação da solução filmogênica em filme é consequência das interações inter e intramoleculares que ocorrem. As características finais dos filmes dependem do tipo e da concentração dos polímeros utilizados e também da técnica de preparação (DUTRA *et al.*, 2017).

Os filmes apresentam a vantagem de tornar o tratamento mais confortável e funcional em relação a outras formas farmacêuticas convencionais, pois são transparentes, permitindo a visualização da ferida, podem ser aplicados em feridas de

maior extensão, podem ser removidos facilmente, evitando a dor e o trauma durante a sua remoção. Além disso, os filmes são capazes de funcionar como matrizes para liberação controlada ou prolongada de fármaco, diminuindo o número de trocas do curativo e aumentando a adesão do paciente ao tratamento (JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014).

Os filmes utilizados como coberturas devem apresentar características de biocompatibilidade, capacidade de absorver líquidos (intumescer), permeabilidade a gases e propriedades mecânicas satisfatórias. O poder de intumescimento do material garante que os exsudados produzidos pelos ferimentos sejam absorvidos. A permeabilidade aos gases é essencial para permitir trocas gasosas e promover aporte de oxigênio às células. Propriedades de força tensil e flexibilidade proporcionam resistência adequada ao curativo e facilidade de manuseio (LIVSHITS, 1988; MOGOȘANU e GRUMEZESCU, 2014).

### **2.2.3 Requisitos para as coberturas para feridas**

Curativos modernos baseiam-se no conceito de criação de um ambiente ideal para permitir a migração das células de defesa e epiteliais, promover a angiogênese e síntese do tecido conjuntivo. Tais condições incluem a manutenção de um ambiente úmido ao redor da ferida, temperatura adequada do tecido para melhorar o fluxo sanguíneo, permeabilidade aos gases, permitindo trocas gasosas com o ambiente e aporte adequado de oxigênio para ajudar na regeneração de células e tecidos, além de uma baixa carga bacteriana (BOATENG, 2008; SAMPAIO; DE CARVALHO; BRETTAS, 2018).

Coberturas consideradas ideais devem contribuir tanto para a cicatrização da ferida, como para o conforto do paciente. Devem fornecer proteção mecânica e atuar como barreira física contra a entrada de microrganismos na lesão. Uma característica importantíssima é a capacidade de absorver o excesso de exsudatos, evitando a degradação do tecido circundante e o crescimento de microrganismos (BOATENG, 2008; JAYAKUMAR *et al.*, 2011). Os materiais utilizados devem ser biocompatíveis, atóxicos, não alergênicos e não aderentes. Do ponto de vista mecânico, devem apresentar boa resistência e flexibilidade, permitindo fácil aplicação e remoção.

Também são desejáveis um aspecto esteticamente agradável, custo permissivo e facilidade de esterilização (BROUSSARD e POWERS, 2013; KAMOUN *et al.*, 2015).

O avanço no desenvolvimento de materiais poliméricos e a utilização destes no preparo de coberturas, trouxe inúmeros benefícios, uma vez que permite o preparo de uma variedade de tipos de coberturas, inclusive daquelas que atuam como sistema de liberação de fármacos (DUTRA *et al.*, 2017).

#### **2.2.4 Polímeros obtidos a partir de fontes naturais usados no preparo de filmes e coberturas para feridas**

Os polímeros naturais apresentam maior compatibilidade biológica e menor toxicidade em relação aos polímeros sintéticos. São renováveis, biodegradáveis e apresentam semelhanças com a matriz extracelular, estimulando o processo de cicatrização de feridas. Muitos ainda possuem atividades biológicas, o que torna o seu uso extremamente vantajoso. Diferentes polímeros naturais vêm sendo utilizados como materiais para preparar curativos de feridas, tais como colágeno, alginato, quitosana, amido, celulose e derivados (KAMOUN *et al.*, 2015; MOGOȘANU e GRUMEZESCU, 2014; PELLA *et al.*, 2018; STRACCIA *et al.*, 2015).

O colágeno é um dos tipos de cobertura mais utilizados. Trata-se de um polímero proteico de origem animal, extraído de pele, ossos e tendões. Além do emprego em coberturas curativas, o colágeno é utilizado também na constituição de arcabouços para proliferação de tecidos e em enxertos de pele artificiais. Sua função no processo de cicatrização é bem esclarecida, funcionando como um substrato natural para as células, oferecendo uma estrutura de suporte que guia e estimula a formação tecidual, além de melhorar a ligação, diferenciação, proliferação e migração celulares (LEE; SINGLA; LEE, 2001; MOUSAVI *et al.*, 2019; PARENTEAU-BAREIL; GAUVIN; BERTHOD, 2010).

O alginato é um polissacarídeo natural linear constituído por (1,4)- $\alpha$ -L-guluronato e (1,4)- $\beta$ -D-manuronato em variadas proporções e arranjos sequenciais, que tem a capacidade de formar um gel na presença de cátions multivalentes. A proporção entre esses dois componentes e o tipo de ligações entre eles resulta em géis com diferentes graus de elasticidade. É obtido a partir de algas marinhas marrons principalmente de três espécies: *Laminaria hyperborean*, *Ascophyllum nodosum* e

*Macrocystis pyrifera*. Foi patenteado em 1880, sendo utilizado em coberturas para feridas nas formas de ácido alginico e de seus sais (alginatos). Auxilia na manutenção de um microambiente úmido nas lesões, diminuindo a dor; propicia um nível ideal de temperatura e dificulta o crescimento bacteriano. Foram relatadas ações hemostáticas, além de incremento na migração, proliferação e adesão celular nas feridas, aumentando a taxa de cicatrização (KAMOUN *et al.*, 2015; LEE e MOONEY, 2012; STRACCIA *et al.*, 2015).

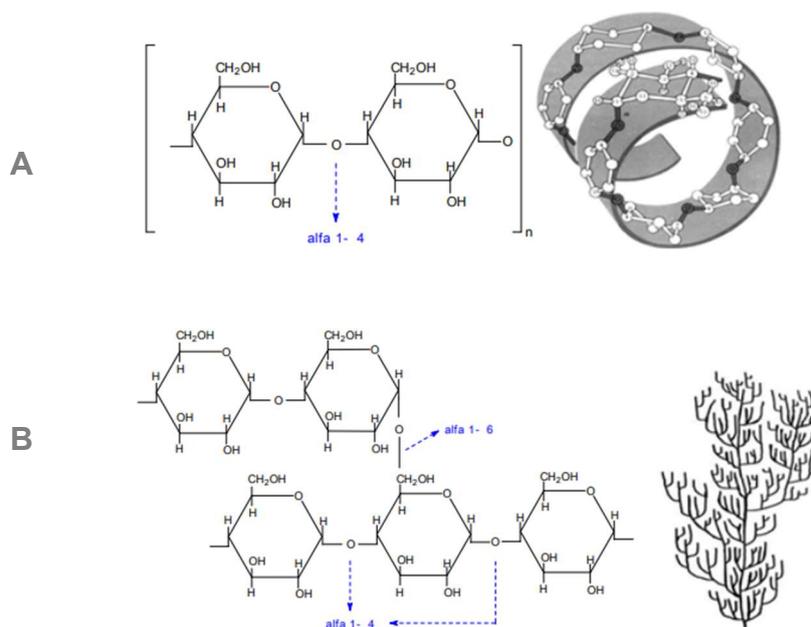
A quitosana é o principal derivado da quitina, que é um polímero encontrado na natureza, obtido a partir das carapaças de crustáceos, do exoesqueleto de insetos e da parede celular de alguns fungos. Quitosana e quitina são copolímeros constituídos de unidades de N-acetil-glicosamina e N-glicosamina distribuídas aleatoriamente ao longo da cadeia. Quando a proporção de N-acetil-glicosamina é maior do que 50%, o polímero é denominado quitina. Inversamente, quando o número de unidades de N-glicosamina é mais elevado, então o polímero é denominado quitosana (AVILA *et al.*, 2012; MOGOŞANU e GRUMEZESCU, 2014). Ambos são empregados em filmes para coberturas de feridas e queimaduras, sendo um dos biopolímeros mais utilizados em curativos. Possuem atividade antimicrobiana, antifúngica e antiviral, bioadesividade, resistência a condições ambientais e excelente permeabilidade ao oxigênio. Observou-se que a quitosana melhora o tecido de granulação da ferida e acelera a síntese de colágeno pelos fibroblastos, o que aumenta a taxa de cicatrização (CHEN; KUO; LEE, 2012). Além dessas propriedades bioativas, é um dos poucos polímeros de origem natural com características catiônicas (CHEN; KUO; LEE, 2012; KAMOUN *et al.*, 2015).

A celulose é um polissacarídeo linear, presente nas paredes celulares vegetais e extremamente abundante na natureza. Nas coberturas curativas é comum o emprego da celulose sintetizada por bactérias, devido ao seu alto grau de pureza. Um exemplo é a celulose obtida por síntese bacteriana a partir do melão de cana de açúcar (DE LUCENA *et al.*, 2015). As moléculas de celulose formam ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares, sendo que o primeiro tipo de interação é responsável pela rigidez da cadeia e o segundo pela formação da fibra vegetal. Esse biopolímero possui propriedades atraentes como alta pureza, estrutura de rede, boa resistência à tração, alta capacidade de absorção de exsudato, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Tem sido usado como excelente cobertura para feridas e

queimaduras. Porém, apresenta baixa capacidade de inibir o crescimento microbiano (BOATENG, 2008; KAMOUN *et al.*, 2015).

O amido é um polissacarídeo de reserva, encontrado em muitos vegetais superiores, geralmente nas sementes, tubérculos e rizomas. Apresenta as vantagens de ser um produto amplamente disponível, renovável, de fácil obtenção e baixo custo (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008). Caracteriza-se como um homopolissacarídeo, composto por cadeias de amilose e amilopectina (Figura 9).

Figura 9 – Estruturas da amilose e amilopectina



A - amilose e respectiva conformação helicoidal; B - amilopectina e seu formato ramificado  
 FONTE: HORN (2012).

A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, originando uma cadeia linear. A amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em  $\alpha$ -1,4, com ramificações em  $\alpha$ -1,6, formando uma estrutura altamente ramificada. A proporção das cadeias de amilose e amilopectina são diferentes em cada tipo de amido, variando em função da espécie vegetal e do estado fisiológico da planta. Essa variação influencia diretamente as propriedades físico-químicas e funcionais do amido, como cristalinidade, viscosidade e temperatura de gelatinização (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

De especial importância para a obtenção dos filmes é a capacidade de gelatinização, que confere propriedades termoplásticas ao amido. Esse processo consiste em aquecê-lo em presença de grande quantidade de água. A mesma é

absorvida pelo polímero, provocando intumescimento e ruptura das estruturas cristalinas. A amilose encontrada no interior dos grânulos é liberada, formando uma fase contínua de gel ao redor destes grânulos, resultando em um aumento da viscosidade. Após a gelatinização, as moléculas lineares de amilose tendem a se orientar paralelamente, formando ligações de hidrogênio entre as hidroxilas de polímeros adjacentes. Ocorre diminuição de volume e a afinidade do polímero pela água é reduzida, o que permite ao amido gelatinizado formar filmes estáveis e flexíveis (CAMPAGNER *et al.*, 2015; DIAS, 2008).

Os filmes de amido proporcionam um ambiente úmido no local, boa absorção de exsudatos e diminuição da necrose da superfície da ferida (ESKANDARINIA *et al.*, 2019). Por outro lado, podem apresentar baixa resistência mecânica e a solubilidade em água facilita sua desintegração. Isso pode ser solucionado pela adição de substâncias com ação plastificante, como a glicerina, e pela associação com outros polímeros. Também são bastante utilizados os amidos modificados quimicamente, a fim de melhorar suas propriedades físico-químicas (PAL; BANTHIA; MAJUMDAR, 2006).

Na atualidade, tem sido dada grande atenção para o uso de plantas medicinais na farmacoterapia em substituição aos fármacos sintéticos (GÜNES e TIHMINLIOGLU, 2017; LIAKOS *et al.*, 2014). Como exemplificado acima, a utilização de polímeros naturais como insumos para a produção de filmes e coberturas para curativos tem se mostrado bastante vantajosa.

Nesse sentido, o taro se apresenta como uma fonte promissora, pois seus rizomas possuem alto teor de amido (70%), um polissacarídeo com propriedades filmógenas, e também de mucilagens (até 25%), polissacarídeos com alta capacidade de retenção de líquidos e capacidade de formação de gel com ação emoliente e protetora para feridas (MIJINYAWA; DURGA; MISHRA, 2018). Ainda nos rizomas, foram isolados polissacarídeos não amiláceos com ação imunoestimulante, além de proteínas de defesa, como lectinas, dentre elas a tarina (LI *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2015b). Estudos demonstraram também a presença de polifenóis, sobretudo flavonoides, tanto nas folhas quanto nos rizomas, com marcante ação antioxidante (LEONG *et al.*, 2010; SIMSEK e EL, 2015). Com relação aos estudos *in vitro* e em modelos animais, já foram evidenciadas propriedades antioxidantes, cicatrizantes e imunomoduladoras, dentre outras. (GONÇALVES *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2018; SIMSEK e EL, 2015). Portanto, o taro constitui-se fonte tanto de polímeros que podem ser

utilizados como insumos na preparação de filmes para coberturas, como de compostos bioativos com potenciais ações para auxiliar a cicatrização de feridas.

### **2.2.5 Blendas de polímeros**

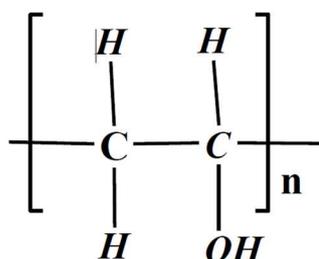
Mistura polimérica, blenda polimérica, ou simplesmente blenda, são os nomes dados à mistura física entre dois ou mais polímeros. Um dos métodos de obtenção é a mistura por solução, que consiste em misturar soluções dos polímeros constituintes em um solvente comum (SILVA *et al.*, 2016). Em geral as propriedades resultantes das misturas são associações entre as propriedades dos polímeros puros. Portanto, combinando as propriedades de interesse dos polímeros utilizados obtém-se novos materiais, com melhores características físicas, químicas e mecânicas. Trata-se de uma alternativa tecnológica para se obter materiais poliméricos com as mais diversas especificações a um custo relativamente baixo (PELLISSARI *et al.*, 2009; VIEGAS, 2016; YU e LI, 2006). As blendas podem ser miscíveis, imiscíveis ou parcialmente miscíveis. A miscibilidade entre as misturas é importante no desenvolvimento de um novo material polimérico, pois as outras propriedades do sistema dependem do número de fases; de sua morfologia e da adesão entre elas. Nas blendas miscíveis e também nas parcialmente miscíveis existem interações específicas entre os segmentos dos polímeros, impedindo a separação de fases (CASARIN, 2004).

É crescente a associação de polímeros naturais e sintéticos em blendas empregadas na preparação de coberturas bioativas uma vez que agregam o maior número possível de requisitos que as tornam ideais ao uso (BOATENG *et al.*, 2008; SHARMA; DUA; MALIK, 2014). Os polímeros naturais, especialmente os polissacarídeos, são recursos renováveis e apresentam características únicas como atoxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e fácil disponibilidade. Suas características hidrofílicas são interessantes por proporcionar a absorção do excesso de exsudato, mas a solubilidade em água torna-se um problema ao diminuir a estabilidade das coberturas. Além disso, nem sempre fornecem propriedades mecânicas elevadas. Uma forma efetiva de solucionar essas limitações é a combinação com polímeros sintéticos (PAL; BANTHIA; MAJUMDAR, 2006). Esses polímeros apresentam maior resistência mecânica, estabilidade e durabilidade em comparação aos polímeros naturais (TABATA, 2009).

Um exemplo a ser citado são os poliuretanos, que têm sido utilizados de modo crescente na fabricação de filmes para cobertura de áreas doadoras de enxertos e feridas (JUNIOR *et al.*, 2001). São sintetizados a partir da reação de poliadição em etapas entre um isocianato ( $-N=C=O$ ) com um poliol (OH), ambos com dois ou mais grupos funcionais. Os isocianatos empregados na reação de síntese de poliuretanos podem ser aromáticos ou alifáticos e os polióis são poliéteres, poliésteres, polibutadienos e produtos naturais (como o óleo da mamona). Dentre as características que favorecem a utilização desse material como curativo, estão a flexibilidade (favorecida pela utilização de isocianatos alifáticos), a biocompatibilidade, resistência à degradação enzimática e hidrolítica (controlada pelo aumento da cadeia carbônica hidrofóbica e favorecida pela utilização de poliéteres), a transparência (favorecida pela utilização de isocianatos não aromáticos), a resistência ao rasgo e ao cisalhamento (DA SILVA SOUZA, 2013). Entretanto, os poliuretanos possuem capacidade limitada de absorção de água e inibição de crescimento microbiano, o que limita o seu uso na forma isolada para curativos de feridas. Frequentemente são associados a polímeros naturais afim de suprir essas deficiências (BANKOTI *et al.*, 2017).

O poli(álcool vinílico) (PVA) é outro polímero sintético muito utilizado. Possui como características ser semicristalino e apresentar caráter hidrofílico. É constituído pela repetição do mero  $[CH_2CH(OH)]$  (Figura 10), sendo produzido a partir de modificações químicas do acetato de vinila, num processo de várias etapas. No início, o monômero é polimerizado em poli(acetato de vinila) para logo ser convertido em poli(álcool vinílico) ao ser hidrolisado com hidróxido de sódio.

Figura 10 – Estrutura molecular do mero do poli(álcool vinílico)

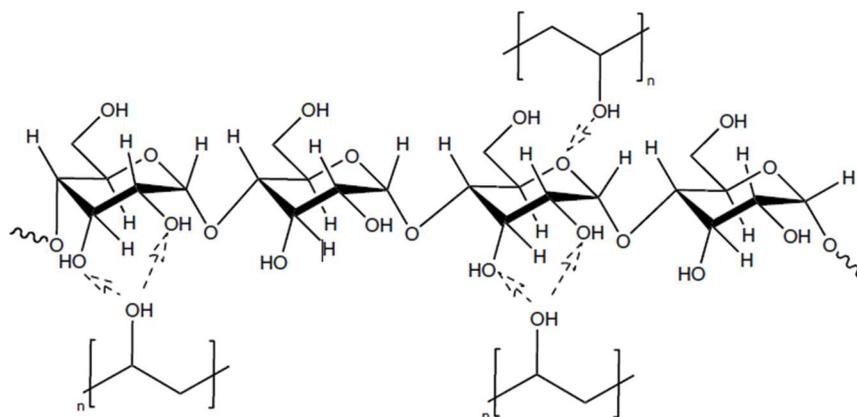


FONTE: SALMAN; BAKR; HUMAD (2018)

A solubilidade e a cristalinidade do PVA em água estão relacionadas com o seu grau de hidrólise e massa molar. O grau de hidrólise é expresso em porcentagem de moles hidrolisados e esta propriedade afeta a sensibilidade à água dos filmes, aumentando a resistência à água com o aumento do grau de hidrólise, devido ao aumento nas ligações de hidrogênio entre grupos hidroxilas intra e intermoleculares. Estas hidroxilas podem também formar ligações de hidrogênio com outras moléculas disponíveis no meio em que o polímero está disperso (SREEDHAR *et al.*, 2006). A massa molar é expressa geralmente em termos da viscosidade da solução. De acordo com os fabricantes, ao aumentar a viscosidade, aumenta-se a resistência do filme (SEKISUI, 2019). O PVA apresenta ótimas propriedades filmógenas, com alta resistência mecânica e química, boa capacidade de absorção de água, permeabilidade a gases, flexibilidade, adesividade e biocompatibilidade. É biodegradável e não tóxico (LIU *et al.*, 2013). Entretanto, filmes de PVA puros podem ser pouco elásticos e apresentar baixa capacidade de intumescimento (DUTRA *et al.*, 2017).

A mistura de amido com polímeros sintéticos polares, como o PVA, melhora as propriedades físico-mecânicas dos produtos. A formação de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila do amido e do PVA (Figura 11) melhora a miscibilidade entre os dois componentes e aumenta a estabilidade (DEAN *et al.*, 2008). Diversos autores estudaram filmes de blendas de PVA com amido, obtendo melhorias nas propriedades mecânicas dos filmes e demonstrando uma boa compatibilidade entre esses dois polímeros (FOLLAIN *et al.*, 2005; ISMAIL e ZAABA, 2011; TRINATH *et al.*, 2018).

Figura 11 – Representação simplificada de interações entre o amido e o PVA por meio de ligações de hidrogênio.



FONTE: DEAN *et al.* (2008)

### 2.2.6 Estado da arte

Estudos recentes avaliaram filmes de amido e PVA, obtidos por diferentes processos, investigando o efeito da proporção desses polímeros nas blendas, bem como de diferentes tipos de aditivos. Tian e cols. (2017) investigaram o efeito da proporção entre amido e PVA na estrutura e propriedades de filmes obtidos pelo processo de fusão. Os autores observaram que as ligações de hidrogênio formadas entre os grupos hidroxila do amido e do PVA favorecem a interação e compatibilidade desses polímeros. Essas ligações podem ser fortes a ponto de reduzir a cristalinidade do PVA. Com o aumento da proporção de amido, houve diminuição da resistência mecânica, porém aumento da elasticidade dos filmes.

Ismail e Zaaba (2011) associaram amido de tapioca ao PVA, a fim de obter filmes biodegradáveis e com boas propriedades mecânicas, utilizando o processo de fusão. Os autores estudaram o efeito de aditivos nas propriedades de filmes, verificando que a glicerina e o polietilenoglicol aumentaram a biodegradabilidade, a absorção de água e a taxa de transmissão de vapor de água, enquanto o glutaraldeído teve um efeito oposto. Quanto às propriedades mecânicas, o aumento da concentração de glicerina e de polietilenoglicol aumentou o alongamento por ruptura, mas diminuiu a resistência à tração. Jiang et cols. (2016) estudaram os efeitos de quatro sais inorgânicos (LiCl, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub> e AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) nas propriedades de cristalinidade, de barreira à água e mecânicas de filmes de amido e PVA. O estudo confirmou o efeito plastificante dos sais sobre os filmes, uma vez que seus íons positivos e negativos podem interagir com os grupos hidroxila das cadeias de amido e PVA, diminuindo sua cristalinidade. Além disso, a incorporação de sais inorgânicos hidrofílicos aumentou a taxa de absorção de água. O LiCl provocou o maior aumento na absorção da água pelos filmes. De forma geral, o MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O e o CaCl<sub>2</sub> foram os plastificantes mais adequados e adição em 15% (p/p) proporcionou aumentos de 418,83% e 434,80%, respectivamente, no alongamento por ruptura dos filmes.

Das; Uppaluri e Das (2019) estudaram o efeito da concentração de ácido cítrico e de variáveis do processo de fabricação em filmes de PVA, amido e glicerol, reticulados com ácido cítrico, obtidos por *casting-solving*. A melhor combinação foi obtida utilizando 3 g de ácido cítrico em 30 mL da blenda, com secagem a 50 °C, durante 12 horas. Os filmes produzidos nessas condições apresentaram ótimo índice de intumescimento (260.5 ± 2.9%) e taxa de permeabilidade ao vapor d'água compatíveis com o desejável para coberturas para feridas. Exibiram ainda atividade

antibacteriana frente *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, atribuída à ligação do ácido cítrico com a membrana celular, inibindo o mecanismo de síntese de proteínas e da membrana celular. Junlapong e cols. (2019) preparam filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca e PVA em diferentes proporções, com e sem adição de trietanolamina. Os melhores resultados de resistência à água, à tração e flexibilidade, foram obtidos com a proporção de 20% de amido e adição de trietanolamina.

Priya e cols. (2014) avaliaram filmes de PVA e amido reforçados com fibras celulósicas, preparados por *casting-solving*, usando ácido cítrico como plastificante e glutaraldeído como agente reticulante. As blendas obtidas apresentaram boa compatibilidade e os filmes apresentaram boa ação antibacteriana para *E. coli* e *S. aureus*. Os autores verificaram que a adição de glutaraldeído aumentou a tensão na ruptura, mas diminuiu o índice de intumescimento. A adição das fibras de celulose aumentou a resistência mecânica. Domene-López e cols. (2018) desenvolveram filmes com amido de batata, PVA e colofônia, uma resina extraída de pinheiros e coníferas. A adição de 8% de colofônia resultou em filmes com valores de resistência à tração superiores a 10 MPa e de alongamentos de ruptura próximos a 2000%, comparáveis aos de polímeros convencionais usados em embalagens de alimentos, como o polietileno de baixa densidade.

Cano e cols. (2016) desenvolveram filmes de amido e PVA, na proporção de 2:1, adicionados dos óleos essenciais de neem (NO) e de orégano (OEO), visando a utilização em embalagens para alimentos. Os filmes contendo OEO exibiram atividade antibacteriana em concentrações de 6,7% e antifúngica em concentrações maiores. A incorporação dos óleos não afetou notavelmente propriedades de barreira dos filmes, como o índice de intumescimento e a permeabilidade ao vapor de água, mas reduziu a transparência e a resistência mecânica, especialmente em concentrações mais altas (22%).

Eskandarinia e cols. (2019) utilizaram a técnica de *casting-solving* para elaborar filmes a partir de amido de milho, ácido hialurônico e extrato etanólico de propólis, em diferentes proporções, com objetivo de obter coberturas bioativas, com efeito antimicrobiano e cicatrizante. Os filmes foram avaliados por ensaios físico-químicos, e biológicos *in vitro* e *in vivo*. Os curativos contendo extrato de propólis apresentaram atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli* e *S. epidermidis* e aceleração na cicatrização de excisões de pele em ratos Wistar. A presença do extrato diminuiu o índice de intumescimento dos filmes e também sua velocidade de degradação em

água. Amal e cols. (2015) desenvolveram membranas para suporte de tecidos, a partir da mistura de colágeno, amido e quitosana, acrescida de extrato aquoso de *Punica granatum*. A atividade regeneradora dos filmes foi avaliada em feridas induzidas em porquinhos da Índia, observando-se que a porcentagem de reepitelização do grupo tratado com os filmes contendo o extrato de *P. granatum* ( $84,6 \pm 1,1\%$ ) foi superior à dos animais tratados com filmes sem o extrato ( $50,0 \pm 1,1\%$ ) e também à do grupo controle ( $19,66 \pm 0,8\%$ ). As membranas contendo o extrato apresentaram ação contra *Pseudomonas aeruginosa*.

É comum a associação de nanopartículas de metais a filmes compostos por polímeros naturais, afim de melhorar as propriedades antibacterianas. Arockianathan e cols. (2012) produziram filmes compostos por quitosana e amido de sagu, impregnados com nanopartículas de prata, com e sem gentamicina. O aumento do teor de quitosana diminuiu o índice de intumescimento. A ação cicatrizante dos filmes foi avaliada em modelo de feridas induzidas em ratos. Os filmes contendo nanopartículas de prata com ou sem gentamicina produziram cicatrização e reepitelização mais rápidas, comparadas a dos animais não tratados. Baghaie e cols. (2017) desenvolveram membranas de hidrogel a base de PVA, amido e quitosana associadas a nanopartículas de óxido de zinco (nZnO) em diferentes concentrações. As membranas contendo 10% de nZnO apresentaram a ação antibacterina mais efetiva. Na avaliação da cicatrização *in vivo*, ao 14º dia, a diminuição da área das feridas tratadas com hidrogel sem nZnO foi de 95% e a das feridas tratadas com hidrogel com nZnO foi de 96%, enquanto a porcentagem de diminuição da área das feridas do grupo controle foi de 79%.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção e caracterização dos extratos vegetais

##### Coleta e preparação dos extratos

Os rizomas, talos e folhas de *C. esculenta* (L.) Schott, variedade chinês, foram coletados no Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), localizado no distrito de Rive, pertencente ao município de Alegre, no Espírito Santo (latitude 20,755841, longitude 41,453386). As coletas foram realizadas no período da manhã, nos dias 18 de junho e 02 de julho de 2018. Foi preparada exsiccata com as partes aéreas do material vegetal, sendo a mesma depositada no Herbário VIES – Subcuradoria Alegre/Jerônimo Monteiro para documentação, sob o número de tombo 1088.

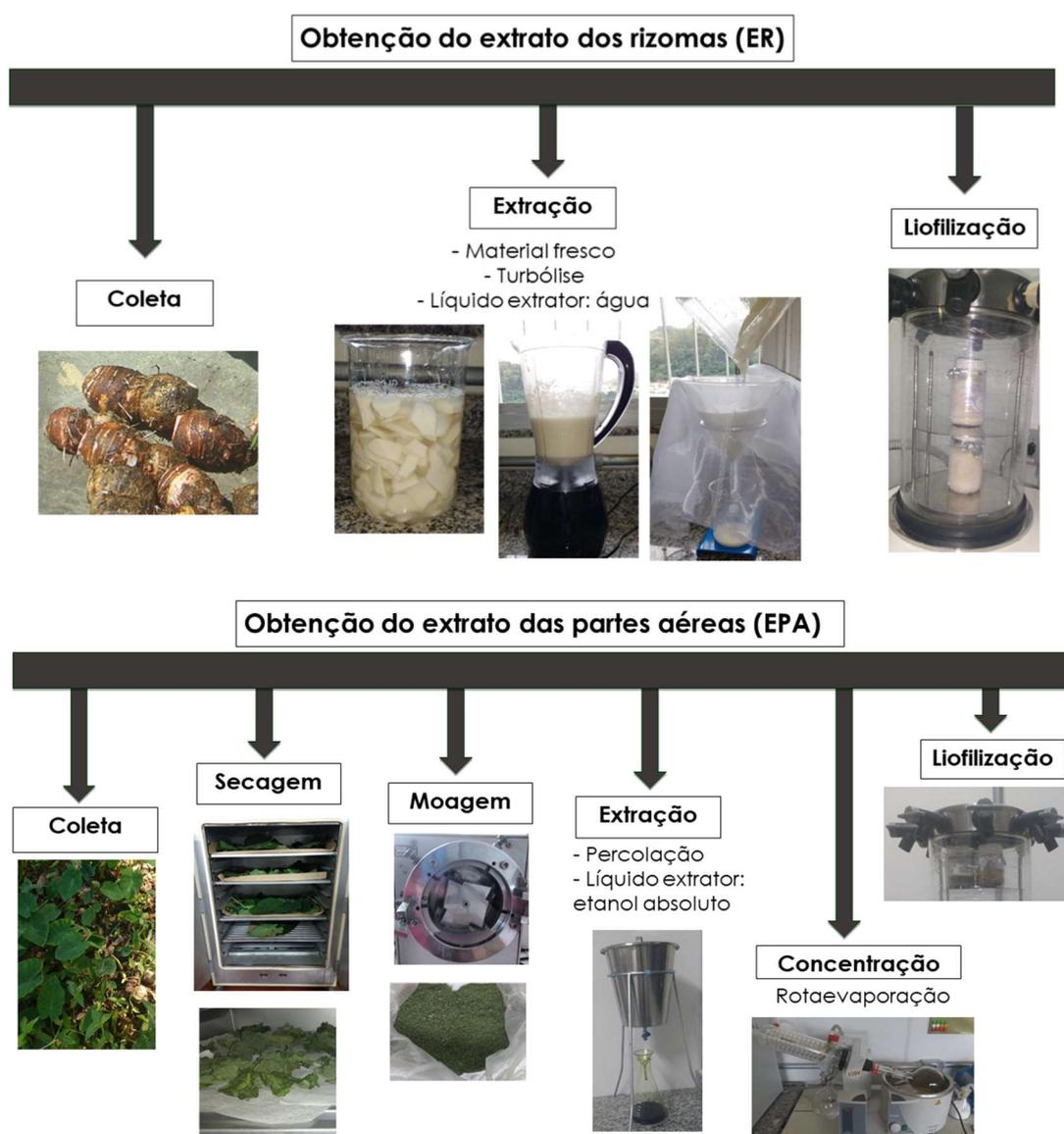
O restante do material foi levado ao Laboratório de Produção Farmacêutica do CCENS-UFES, Alegre-ES, onde foi processado. Os rizomas foram separados das partes aéreas (talos e folhas). Em seguida realizou-se a retirada manual de interferentes e a lavagem do material em água corrente, para remoção de sujidades. Os rizomas foram descascados, cortados em cubos com 2 a 3 cm de altura e utilizados a fresco na preparação do extrato aquoso. Os talos foram picados em pedaços menores e as folhas deixadas inteiras. Todo o material foi pesado. As partes aéreas foram transferidas para estufa com circulação forçada de ar (Novus, N1040), onde permaneceram a 40 °C durante 7 dias. Após a secagem, o material foi pesado e moído em moinho de facas (Marconi, MA340), equipado com peneira de malha 0,5 – 1 mm, para obtenção de um pó fino. O pó obtido foi guardado em recipiente hermético, ao abrigo da luz, armazenado em temperatura ambiente.

Em seguida, o extrato das partes aéreas (folhas e talos) foi preparado por percolação de 475 g de droga vegetal, utilizando etanol absoluto como líquido extrator. O material vegetal foi previamente intumescido com etanol absoluto durante 24 horas e depois transferido para o percolador. A percolação foi realizada até o esgotamento. A solução extrativa obtida foi filtrada em papel filtro e submetida à rotaevaporação à vácuo (Heidolph, Laborota, 4000) para eliminação do etanol e concentração do extrato. Em seguida, foi congelada e liofilizada (Liobras, L101) para obtenção do extrato seco, que foi denominado EPA (extrato das partes aéreas).

O extrato dos rizomas foi preparado por turbólise em liquidificador doméstico, utilizando água deionizada como líquido extrator. Foram pesados 300 g de rizomas frescos e descascados, adicionou-se 300 mL de água deionizada, deixou-se em repouso durante 10 minutos. Em seguida o material foi submetido a turbólise durante 5 minutos. A mistura foi filtrada em organza e a solução extrativa obtida foi congelada em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e em seguida liofilizada para eliminação da água e obtenção do extrato seco, que foi denominado ER (extrato dos rizomas).

Os extratos obtidos foram pesados e armazenados em recipientes herméticos, sob refrigeração. A Figura 12 apresenta as etapas para obtenção dos extratos.

Figura 12 – Fluxogramas da obtenção dos extratos dos rizomas e das partes aéreas de *C. esculenta*



### **Perfil cromatográfico dos extratos**

Os extratos foram convenientemente solubilizados a 50 mg/mL em uma solução hidroalcolica 50% (v/v) em banho ultrassônico (Sanders, Soniclean-6) por três minutos. Em seguida, foram aplicados sobre cromatoplasmas de sílica gel 60G (0,22  $\mu\text{m}$ , F254, Macherey-Nagel), com auxílio de capilares de vidro. Após a preparação das cromatoplasmas, realizou-se a otimização da fase móvel com diferentes combinações de solventes orgânicos e água, a fim de evidenciar as principais bandas presentes. O sistema otimizado foi mantido em câmara de saturação com os solventes acetato de etila, metanol e água (100:13,5:10, v/v/v) e a eluição foi feita no modo ascendente, unidirecional. Após eluição, as placas foram secas em capela de exaustão e nebulizadas inicialmente com reagente geral (anisaldeído sulfúrico) e, em seguida, com reveladores específicos para compostos fenólicos, flavonoides, cumarinas e alcaloides (cloreto férrico a 5%, cloreto de alumínio a 5%, hidróxido de sódio a 10% e Dragendorff, respectivamente) visando a revelação das bandas. Após nebulização, as placas foram secas em capela de exaustão e analisadas sobre luz visível e luz ultravioleta de 254 e 360 nm (Boitton, BOIT-LUB01).

### **Determinação do teor de fenóis totais**

O doseamento de fenóis totais foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Lamuela-Raventos (1999), adaptado para microplaca de 96 poços. Como substância de referência para construção da curva de calibração foi utilizado ácido gálico (Vetec). Para isso, preparou-se soluções do padrão nas concentrações de 15,62 a 500,0  $\mu\text{g/mL}$  e dos extratos dos rizomas e das partes aéreas a 100  $\mu\text{g/mL}$ . Em cada poço adicionou-se 50  $\mu\text{L}$  de água purificada, 12,5  $\mu\text{L}$  da amostra, 12,5  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin 2N (Dinâmica), seguido da incubação por 5 minutos ao abrigo da luz. Em seguida, adicionou-se 125  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% (p/v) e incubou-se por 90 minutos ao abrigo da luz. Ao final, realizou-se a leitura espectrofotométrica a 750 nm (Thermo Fisher Scientific, Multiskan). O teor percentual de fenóis (%) foi expresso em relação aos extratos secos das amostras.

### **Determinação do teor de flavonoides totais**

O doseamento de flavonoides totais foi realizado pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio (HARBORNE *et al.*, 1975), adaptado para microplaca de 96 poços a partir de Herald e cols. (2012). Para isso, preparou-se uma curva de calibração com

padrão de quercetina nas concentrações de 220 a 6,87 µg/mL e do extrato a 125 µg/mL. Em seguida, adicionou-se a cada poço 100 µL de amostra teste (padrão de quercetina ou extrato), 20 µL de cloreto de alumínio a 5%, 20 µL de acetato e sódio 1 M e 100 µL de metanol 50%. Incubou-se por 30 minutos ao abrigo da luz e realizou-se a leitura espectrofotométrica a 415 nm (Thermo Fisher Scientific, Multiskan). O teor de flavonoides foi determinado a partir da curva de calibração, como percentual em relação ao extrato seco.

### **3.2 Avaliação da atividade cicatrizante dos extratos**

O ensaio biológico foi realizado após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFES), sob número 006/2019 (certificado de aprovação em anexo). A metodologia empregada neste estudo foi adaptada a partir dos trabalhos descritos por Caetano e cols. (2009), Garros e cols. (2006), Koga e cols. (2018) e Zonari e cols. (2015).

#### **Animais**

Os animais (n=75) foram fornecidos pelo biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. Foram utilizados *Rattus norvegicus albinus*, linhagem Wistar, machos, adultos, apresentando peso corpóreo entre 120 e 270 g no início do experimento. Respeitou-se um período de sete dias antes do começo do ensaio para a aclimação dos animais no Laboratório de Fisiologia Experimental do CCENS/UFES. Durante todo o experimento os mesmos foram alojados em gaiolas individuais de metal, com limpeza diária e mantidos em condições controladas e estáveis, temperatura de 24 °C, umidade entre 50 a 70% e ciclo claro-escuro de 12/12horas, com livre acesso à água potável e ração (Socil).

#### **Indução das lesões excisionais**

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com cetamina (91 mg/kg) e xilazina (9,1 mg/kg). Após a aplicação anestésica, cada animal foi posicionado em decúbito ventral sobre uma prancha de acrílico, submetido à tricotomia na região dorsal do tórax e à indução das lesões. Utilizou-se molde do tamanho retangular de 1,5 × 2 cm para delimitar a área da incisão, que foi feita utilizando tesoura cirúrgica.

Foi retirado fragmento na região craniocaudal, expondo a fáscia muscular dorsal, constituído de pele e tecido subcutâneo (Garros *et al.*, 2006). Todo o procedimento cirúrgico foi realizado utilizando técnica séptica.

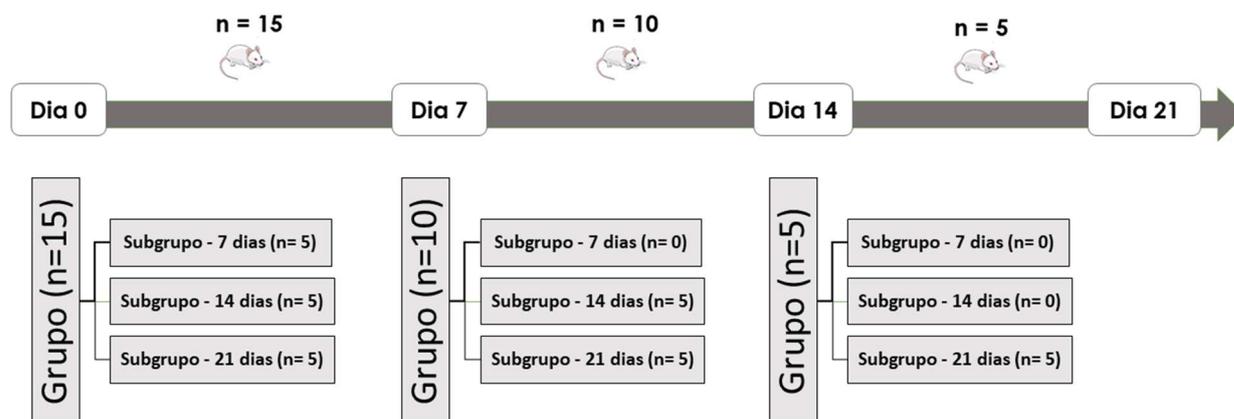
### Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n=15), como descrito a seguir:

- Grupo 1: controle negativo (C-), solução salina 0,9 % (p/v).
- Grupo 2: controle do efeito do veículo (CV), solução de carboximetilcelulose a 0,5% (p/v) em água deionizada.
- Grupo 3: controle positivo (C+): pomada de calêndula Concreta® (laboratório Simões, registro no MS Nº 1.0576.0004.001-5), contendo como substâncias ativas, em cada 1 g de produto: 0,133 g de óxido de zinco e 0,133 g de tintura de calêndula padronizada em 1,6 a 5 mg de flavonoides totais por 100 mL de tintura).
- Grupo 4: extrato dos rizomas (ER), suspensão do extrato aquoso liofilizado dos rizomas de *C. esculenta* a 400 mg/mL em veículo de carboximetilcelulose a 0,5% (p/v) em água deionizada.
- Grupo 5: extrato das partes aéreas (EPA): suspensão do extrato etanólico liofilizado das partes aéreas de *C. esculenta* a 400 mg/mL em veículo de carboximetilcelulose a 0,5% (p/v) em água deionizada.

Posteriormente, cada grupo foi aleatoriamente dividido em três subgrupos (n=5), de acordo com cada período de observação (7, 14 e 21 dias), como representado na Figura 13. A cada sete dias, cinco animais de cada grupo foram

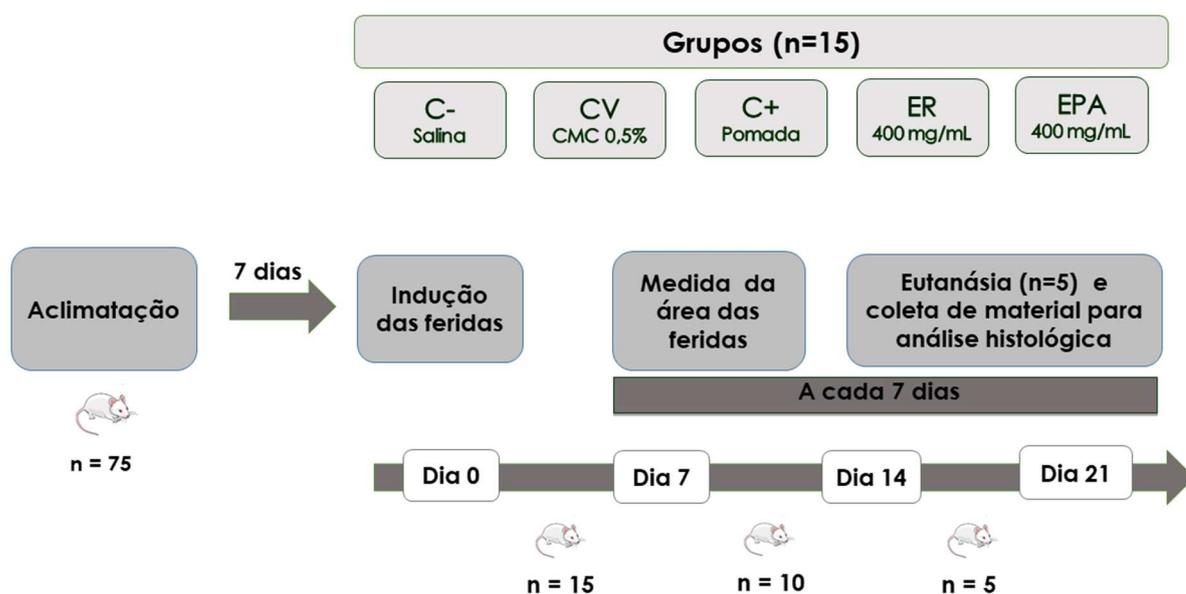
Figura 13 – Número amostral em cada grupo e subgrupo, de acordo com os tempos de observação (0, 7, 14 e 21 dias)



FONTE: o autor

eutanasiados para coleta de material para análise histológica (Zonari *et al.*, 2015). A Figura 14 ilustra a dinâmica do experimento. O ensaio com o subgrupo referente ao tempo de observação de 21 dias não foi realizado simultaneamente aos demais, devido a limitação de infraestrutura física. Porém, as demais condições experimentais foram mantidas exatamente iguais.

Figura 14 – Fluxograma do experimento animal



FONTE: o autor

As soluções de salina 0,9% (p/v) e de carboximetilcelulose (CMC) a 0,5% (p/v) foram esterilizadas após o preparo, por autoclavagem a 120 °C durante 20 minutos; bem como os frascos utilizados para acondicionar os produtos aplicados e as ponteiros das pipetas utilizadas. As suspensões contendo os extratos das partes aéreas e dos rizomas foram submetidas a sonicação durante 10 minutos em banho ultrassônico (Sanders-Medical, Soniclean), afim de otimizar a dispersão do extrato no veículo.

A aplicação de todos os tratamentos foi iniciada no dia da indução das lesões, denominado dia zero, logo após o ato cirúrgico, sendo repetida a cada 24 horas (GARROS *et al.*, 2006). As quantidades de produto aplicadas em cada animal foram: 500 mg de pomada para o grupo C+ e 250 µL de salina, de CMC e das suspensões dos extratos para os grupos C-, CV, ER e EPA, respectivamente.

### **Avaliação dos animais**

Os pesos dos animais foram determinados nos tempos de 0, 7, 14 e 21 dias. O aspecto geral e mobilidade dos mesmos foram observados diariamente.

### **Análise macroscópica das lesões**

Foi feita avaliação macroscópica das lesões diariamente. Observou-se a presença ou não de secreção e necrose.

O tamanho das feridas foi avaliado nos tempos de 0, 7, 14 e 21 dias, em todos os animais, por meio de registro fotográfico. Os ratos foram sedados com xilazina via intraperitoneal (10 mg/kg), a fim de garantir o relaxamento da musculatura e a padronização da posição dos animais nos registros. As lesões foram fotografadas utilizando câmara digital (Sony, Cyber-shot 8.1 megapixels), mantida em tripé a distância fixa de 38,5 cm. Foram obtidas imagens com tamanho de 3264 x 2448 pixels, no formato de arquivo JPG com 2,5 MB. Os valores da área de cada lesão foram mensurados por planimetria digital, importando-se a fotografia digital da lesão para o software de análise de imagem (ImageJ). Cada lesão foi medida três vezes e foi considerado o valor médio obtido (Koga *et al.*, 2018).

A avaliação da diminuição da área da ferida de cada animal foi realizada mediante o cálculo do índice de cicatrização da úlcera (ICU), conforme descrito por Caetano e cols. (2009). Valores de ICU menores que zero representam aumento da área da lesão, valores maiores que zero representam diminuição da área e valores iguais a um representam o fechamento total da lesão. Também foi calculada a porcentagem da área da lesão em relação a área inicial (%AL), conforme descrito por Zonari e cols. (2015). Quanto maior a diminuição da área da lesão, menor será o valor de %AL. Assim, o valor de %AL igual a 0% representa o fechamento total da lesão. As Equações 1 e 2 foram utilizadas para os cálculos de ICU e da porcentagem da área, respectivamente, nas quais *ICU* é o índice de cicatrização da úlcera, *%AL* é a porcentagem área da lesão em relação a área inicial, *ALT* é a área da lesão no tempo avaliado e *ALI* é a área inicial da lesão no tempo zero.

$$ICU = \frac{ALI - ALT}{ALI} \quad (1)$$

$$\%AL = \frac{ALT \times 100}{ALI} \quad (2)$$

### **Análise histológica das lesões**

Nos 7º, 14º e 21º dias, cinco animais de cada grupo foram eutanasiados por meio de administração intraperitoneal de tiopental (160 mg/kg), sendo coletado material biológico para análise histológica. As feridas foram excisadas com margem de cerca de 0,5 cm de pele íntegra ao redor das lesões, sendo retirados um fragmento do tecido epitelial e subcutâneo e um fragmento do tecido muscular localizado logo abaixo da lesão (Zonari *et al.*, 2015).

Cada fragmento foi colocado em isopor com auxílio de alfinetes e fixados em formalina 10% (p/v) tamponada com pH 7,0. A análise dos tecidos foi realizada no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da UFES. Os fragmentos foram processados pela técnica de inclusão em parafina e as secções histológicas de 4µm foram coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) para avaliação morfológica e pelo Tricrômico de Masson (TM), para evidenciação do tecido conjuntivo (Zonari *et al.*, 2015).

A análise morfológica foi feita sem conhecimento prévio da identificação do material (às cegas), por um observador. Foram avaliados os seguintes parâmetros: crosta, reepitelização, proliferação vascular, infiltrado inflamatório (células mononucleares, polimorfonucleares e gigantes), proliferação fibroblástica e colagenização (Garros *et al.*, 2006). Os dados obtidos foram classificados segundo metodologia adaptada de Trivilin e cols. (2017), observando sua distribuição e intensidade e atribuindo índices para os achados histológicos. Foram utilizados os seguintes índices: distribuição [ausente=0, focal=1, multifocal=2, difusa=3] e intensidade [ausente=0, discreta=1, moderada=2, intensa=3]. Para o parâmetro de proliferação fibroblástica, os índices de intensidade foram: [ausente=0, discreta=1, moderada=2, intensa com tecido conjuntivo frouxo=3, intensa com tecido conjuntivo denso=4]. Para obtenção dos escores das amostras, os valores de distribuição e intensidade foram multiplicados.

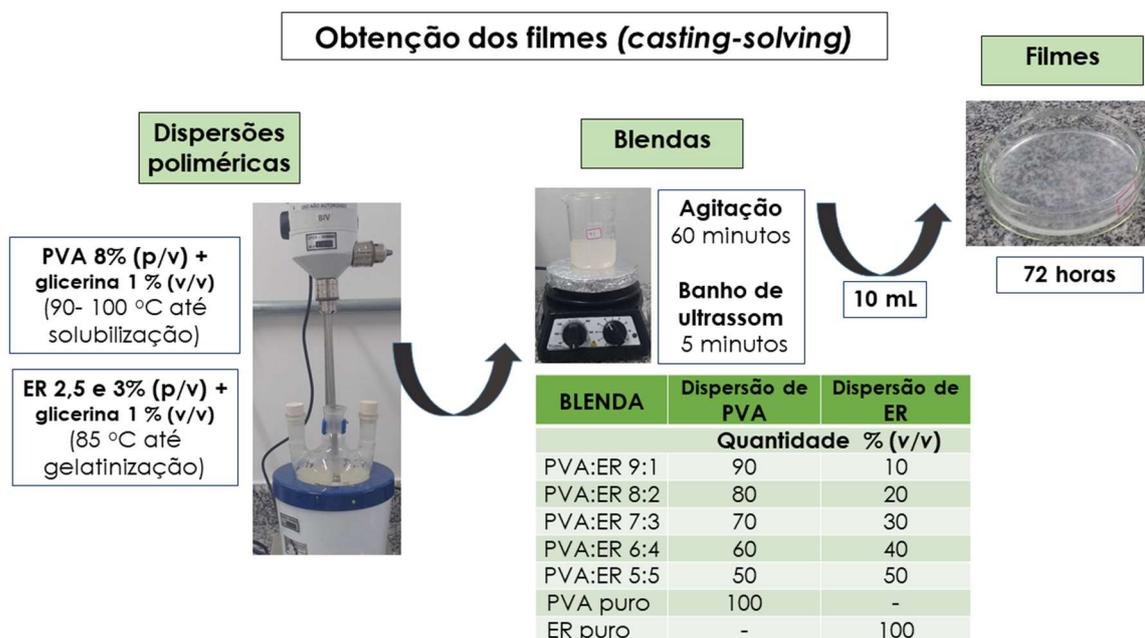
### **Análise estatística**

Os dados experimentais referentes às áreas das lesões foram submetidos a Análise de Variância de uma via e teste de médias de Bonferroni ( $p < 0,05$ ). Para as análises da morfologia dos tecidos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis acompanhado do teste post hoc de Dunn ( $p < 0,05$ ). A análise estatística dos dados foi realizada por meio do software estatístico GraphPad Prism, versão 6.1.

### 3.3 Obtenção dos filmes

A Figura 15 apresenta as etapas realizadas para a obtenção dos filmes.

Figura 15 – Fluxograma da obtenção dos filmes



FONTE: o autor

#### Dispersões poliméricas

Foram preparadas soluções de poli(álcool vinílico) (massa molar de 85.000 - 124.000 g/mol e grau de hidrólise maior que 99%, Sigma-Aldrich - USA) nas concentrações de 8% e 10% (p/v) em água deionizada. Foi realizada agitação mecânica constante a 350 rpm (Fisatom, modelo 713D) e aquecimento entre 90 e 100 °C, utilizando manta térmica (Casalabor, modelo MA-1500), durante 90 minutos, até completa solubilização do polímero. Em seguida, foi adicionada, com função de plastificante, glicerina (Synth, Brasil) a 1% (v/v), mantendo a agitação durante um minuto. Devido a alta viscosidade obtida para a solução de PVA a 10% (p/v), optou-se por utilizar somente a solução de PVA a 8% (p/v) para o preparo das blends.

Foram preparadas dispersões do extrato liofilizado dos rizomas de *C. esculenta* (ER) nas concentrações de 2,5%, 3%, 4% e 10% (p/v) em água deionizada, sob agitação mecânica constante a 350 rpm. O aquecimento foi realizado utilizando manta térmica, durante 30 a 40 minutos, com aumento gradual da temperatura, até ocorrência da gelatinização do amido presente no extrato, em torno de 85 °C. Em

seguida, adicionou-se glicerina 1% (v/v) como plastificante, mantendo a agitação durante um minuto. Após resfriamento à temperatura ambiente, as dispersões foram filtradas em organza, a fim de eliminar possíveis grumos. Como as dispersões a 4% e a 10% (p/v) apresentaram alta viscosidade, optou-se por utilizar para o preparo das blendas somente as dispersões de ER a 3 e a 2,5% (p/v).

### Blendas

Para o preparo das blendas, diferentes proporções das dispersões poliméricas foram misturadas sob agitação magnética, sendo testados os tempos de agitação de 45 e de 60 minutos. A composição qualitativa e quantitativa das blendas 1 a 10 é dada na Tabela 5.

Tabela 5 – Proporção das dispersões poliméricas nas blendas 1 a 10

Blenda	Proporção das dispersões poliméricas (% v/v)		
	PVA 8% (p/v)	ER 3% (p/v)	ER 2,5% (p/v)
1	90,0	10,0	-
2	80,0	20,0	-
3	70,0	30,0	-
4	60,0	40,0	-
5	50,0	50,0	-
6	90,0	-	10,0
7	80,0	-	20,0
8	70,0	-	30,0
9	60,0	-	40,0
10	50,0	-	50,0

Mediante a avaliação preliminar do aspecto e integridade dos filmes formados pelas blendas 1 a 10, foram definidas as proporções definitivas das dispersões poliméricas para composição das blendas a serem estudadas, bem como o tempo de agitação ideal. Foram selecionadas as blendas 6 a 9 (Tabela 5) e o tempo de 60 minutos de agitação magnética.

Foram medidos os valores de densidade relativa e de pH das dispersões de PVA a 8% (p/v) e de ER a 2,5% (p/v), bem como das blendas selecionadas para estudo. Para determinação da densidade realtiva utilizou-se o método do picnômetro da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010). O pH foi determinado com leitura direta das amostras, utilizado pHmetro digital (Digimed, DM22).

## Filmes

Os filmes foram preparados pela técnica de *casting-solving*, na qual a blenda das dispersões poliméricas é depositada em um molde e o solvente é evaporado. Foram depositados 10,0 mL de cada blenda em placas de vidro com diâmetro padronizado (9 cm), que foram deixadas expostas ao ar por 72 h, até completa secagem. Também foram preparados filmes constituídos por 100% da dispersão de PVA 8% (p/v) e filmes constituídos por 100% das dispersões de ER 2,5 e 3 % (p/v), todos contendo 1% (v/v) de glicerina. Depois de secos, os filmes foram retirados das placas com auxílio de uma pinça e armazenados em sacos plásticos hermeticamente fechados.

### 3.4 Caracterização dos filmes

#### Análise visual

Os filmes foram avaliados visualmente, sendo observados: aspecto (formação de domínios e continuidade), facilidade de remoção dos moldes (manutenção da integridade), coloração e opacidade.

#### Microscopia eletrônica de varredura

Foi realizada microscopia eletrônica de varredura empregando microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JEM-6610LV) no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins da UFES, em Vitória. As análises contemplaram microscopia de superfície e de fratura dos filmes. As amostras foram coladas sobre o suporte porta-amostra do microscópio (*stub*) por meio de fitas adesivas de carbono dupla face. Para obtenção das imagens da superfície, os filmes foram fixados na posição horizontal sobre o suporte. Para obtenção de imagens da seção transversal, os filmes foram fraturados, por meio de imersão em nitrogênio líquido seguida de choque. Os fragmentos obtidos foram fixados sobre o suporte em posição vertical. Antes da observação, os *stubs* contendo as amostras foram metalizados com uma fina camada de ouro (10 nm) em metalizador à vácuo (Desk V, Denton Vacuum). Foram utilizados aumentos de 1000 vezes e 1500 vezes para as imagens de superfície e de 500, 700 e 1000 vezes para as imagens de fratura.

## Molhabilidade

A molhabilidade foi avaliada pela medida do ângulo de contato ( $\phi$ ) formado entre os filmes e o tampão fosfato salino pH 7,4 (PBS), empregando o método da gota sésil, em goniômetro GBX Instrument (Digidrop-DI), a  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ , no Laboratório de Engenharia de Polímeros e Compósitos, na Escola de Engenharia da UFMG. Um alíquota de 5  $\mu\text{L}$  de PBS foi depositada na superfície das coberturas com dimensões de 2,0 x 2,0 cm, utilizando microseringa. Os resultados representam as médias dos ângulos entre a linha de tangente e a superfície dos filmes, referentes aos lados direito e esquerdo das gotas depositadas. Foram feitas três medições consecutivas, à temperatura ambiente, empregando o modo Surface Energy do software. Os parâmetros trabalho de adesão (AW) e espalhamento (S) foram calculados diretamente, considerando o tempo de 10 segundos. Todas as medidas foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão (DP).

## Espessura

A espessura foi determinada utilizando micrômetro digital (Mitutoyo, MDC25PX). Foram considerados cinco pontos de cada filme, selecionados aleatoriamente, sendo dois pontos centrais e três periféricos. Os resultados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão (DP).

## Índice de intumescimento

O ensaio foi realizado conforme metodologia descrita por Xie e cols. (2012). Os filmes foram recortados nas dimensões de 2,0 x 2,0 cm, secos em estufa (Steriler, SX1.3DTME) a  $105^\circ \text{C}$  durante 1 hora para normalização das massas, pesados em balança analítica (Shimadzu, AUY220) e colocados em becker contendo 50 mL de tampão fosfato salino pH 7,4 (Sigma-Aldrich, USA), à temperatura ambiente. Decorrido o tempo de 60 minutos, as amostras foram retiradas com auxílio de pinça e o excesso de solução tampão retirado com papel absorvente, sendo os filmes pesados novamente. Todas as medidas foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão (DP). O índice de intumescimento (Q%) representa a quantidade de massa adquirida pelos filmes e foi calculado em função da Equação 3, na qual Q% é o índice de intumescimento,  $ms$  é a massa do filme entumescido (swelling) e  $md$  a massa do filme seco (dry).

$$Q\% = \frac{ms-md}{md} \times 100 \quad (3)$$

### Solubilidade

O teste foi realizado segundo adaptação da metodologia de Flores e cols. (2010). Os filmes foram recortados nas dimensões de 2,0 x 2,0 cm, secos em estufa a 105° C para normalização das massas e pesados em balança analítica. Em seguida, foram colocados em erlenmeyer contendo 50 mL de tampão fosfato salino pH 7,4, à temperatura ambiente, e mantidos sob agitação em banho recíprocante (MARCONI, MA93, Brasil). Decorrido o tempo de 48 horas, as amostras foram retiradas com auxílio de pinça, em seguida secas em estufa a 105° C até peso constante, sendo os filmes pesados em balança analítica. Todas as medidas foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão (DP). O índice de solubilidade foi calculado pela Equação 4, na qual  $ML\%$  é o índice de solubilidade,  $mf$  é a massa final do filme e  $mi$  a massa inicial do filme.

$$ML\% = \frac{mi - mf}{mi} \times 100 \quad (4)$$

### Permeabilidade ao vapor d'água

Esse parâmetro foi determinado pela medida da taxa de permeabilidade de vapor de água (TPVA) através do filme, utilizando método gravimétrico, empregando o método "taça" modificado, descrito por Reis e Noletto (2015). Uma amostra de cada filme foi firmemente fixada no topo de copo contendo 9 g de cloreto de cálcio anidro como agente dessecante. Em seguida, o copo foi colocado em câmara climática (Shellab, HC9R2) a 25 °C e 75% de umidade relativa (UR) por 48 horas. O ganho de peso foi acompanhado por pesagens periódicas. Todas as medidas foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão (DP). Os resultados foram expressos em (g/m<sup>2</sup>.dia) e calculados de acordo com a Equação 5, na qual  $TPVA$  é a taxa de permeabilidade ao vapor d'água (g/m<sup>2</sup>.dia),  $\Delta m$  é a massa de água absorvida pelo material higroscópico no tempo "t"(g),  $\Delta t$  é o tempo de permeação (dias) e  $A$  é a área de corpo-de-prova exposta (m<sup>2</sup>).

$$TPVA = \frac{\Delta m}{\Delta t} \cdot \frac{1}{A} \quad (5)$$

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Obtenção e caracterização dos extratos vegetais

A etapa de coleta do material vegetal resultou na obtenção de 6.604 g das partes aéreas. Após secagem, este material foi moído, resultando em 648 g de droga vegetal (90,2% de perda por secagem). Também foram obtidos 1.143 g de rizomas, os quais foram utilizados a fresco para o preparo do extrato.

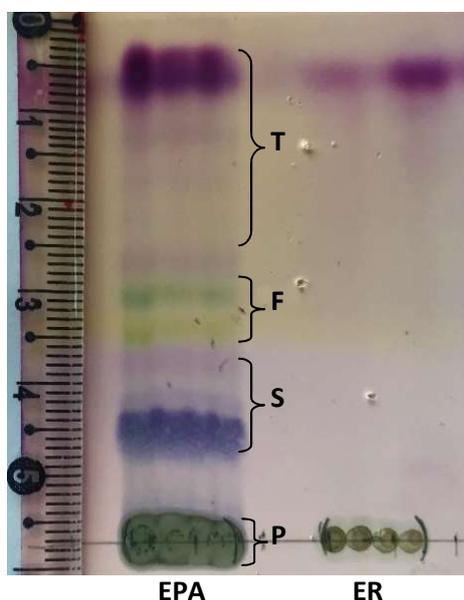
A extração das partes aéreas de *C. esculenta* por percolação resultou em 65 g de extrato seco liofilizado (rendimento de 13,7% em relação à droga vegetal). O etanol absoluto foi utilizado como líquido extrator devido a sua polaridade intermediária, sendo adequado para a solubilização de princípios ativos de média a alta polaridade, como polifenóis, saponinas, holosídeos e heterosídeos. O processo extrativo por meio de percolação propicia ainda o arraste de substâncias pela ação da gravidade, possibilitando a extração não só de substâncias com polaridade semelhante à do líquido extrator, mas também de compostos de menor polaridade, como terpenos. Portanto, é um processo que favorece o esgotamento da droga e extração de grande parte das substâncias presentes na mesma.

A extração dos rizomas por turbólise resultou em 485 mL de solução extrativa. Após liofilização, obteve-se 63,8 g de extrato seco (rendimento de 21,3% em relação aos rizomas frescos). Os rizomas do taro são usados popularmente para a cicatrização de feridas na forma de emplastos ou compressas contendo os rizomas frescos e ralados, aplicados diretamente sobre as feridas (SHARMA e MISHRA, 2009; SWARNKAR e KATEWA, 2008). O processo de extração escolhido para esta parte estudo visou aproximar-se do uso popular dos rizomas como cicatrizantes de feridas. A água, devido a sua alta polaridade, propicia a extração de substâncias de alta polaridade, como polifenóis, saponinas, holosídeos, heterosídeos e proteínas. Além disso, o processo de turbólise envolve ruptura dos tecidos celulares e forte agitação, favorecendo a liberação e extração de outras substâncias presentes no material vegetal.

Na análise do perfil comatográfico dos extratos, a revelação da cromatoplaça com anisaldeído sulfúrico (Figura 16) permitiu a observação de bandas de colorações variáveis e comparação com a literatura de referência (WAGNER et al., 1984). Com

relação ao extrato das partes aéreas, as bandas de coloração violácea na região de Rf 0,9 a 0,5 são indicativas da presença de agliconas terpênicas (T), enquanto as de Rf 0,4 a 0,2 são indicativas de saponinas (S). Na região central da placa, as bandas de Rf entre 0,5 a 0,4 com coloração amarelo-ouro sob luz visível e UV são sugestivas de flavonoides. No ponto de aplicação das amostras, as bandas de coloração azul-acinzentado são indicativas de polissacarídeos (P). A natureza fenólica foi confirmada mediante a aspersion da placa com  $\text{FeCl}_3$  5%, enquanto a presença de flavonoides foi evidenciada pelo uso do revelador constituído por  $\text{AlCl}_3$  5% e observação sob luz UV. Com relação ao extrato dos rizomas, observou-se apenas traços das bandas de Rf entre 0,9 a 0,2 observadas nas folhas, o que sugere estarem presentes em quantidades bastante reduzidas. A principal diferença entre os extratos reside na ocorrência majoritária de polissacarídeos no extrato dos rizomas, evidenciado no ponto de aplicação da amostra. Cumarinas e alcaloides não foram identificados em nenhum dos extratos. Tais observações são compatíveis com os resultados obtidos da prospecção fitoquímica qualitativa realizada por Vieira (2018).

Figura 16 – Análise cromatográfica (CCD) dos extratos das partes aéreas e rizomas de *C. esculenta*.



Legenda: EPA - extrato das partes aéreas, ER - extrato dos rizomas, T - terpenoides, F - flavonoides, S - saponinas, P - polissacarídeos. Revelador: anisaldeído sulfúrico, após aquecimento (100 °C)

FONTE: o autor

Na etapa de doseamento de compostos fenólicos, verificou-se que os extratos secos das partes aéreas são constituídos por 1,04% de compostos fenólicos totais e

os extratos secos dos rizomas por 0,71%. Quanto ao doseamento de flavonoides, verificou-se 0,24% de flavonóides totais no extrato seco as partes aéreas. Gonçalves e cols. (2013) pesquisaram os compostos fenólicos presentes em extratos aquosos das folhas de *C. esculenta* submetidas a diferentes processos de cultivo. Os teores de fenólicos totais encontrados variaram entre 0,294 e 0,668%. A literatura cita valores de 0,327% (CHAMPAGNE *et al.*, 2011) de compostos fenólicos nos rizomas de taro; 0,205% de fenóis totais e 0,061% de flavonoides em extrato hidrometanólico dos rizomas (SIMSEK e EL, 2015). Não encontramos na literatura dados referentes ao teor de flavonoides nas folhas. Os valores de fenóis totais encontrados no presente estudo são mais altos que os relatados na literatura. Entretanto, é preciso considerar que as condições de extração utilizadas por esses autores não foram as mesmas empregados no presente trabalho. A concentração das substâncias presentes em um extrato varia em função da polaridade do líquido extrator, do método de extração escolhido e do processamento da solução extrativa. Além disso, já foi verificada uma grande variação nos teores de polifenóis do taro em função da variedade botânica e das condições de cultivo (FERRERES *et al.*, 2012; MUÑOZ-CUERVOA *et al.*, 2016).

#### 4.2 Avaliação da atividade cicatrizante dos extratos

Inicialmente, verificou-se que o ganho de peso dos animais foi bastante uniforme entre os grupos, havendo diferença significativa apenas entre o ER e o CV no tempo de 14 dias e entre o C+ e CV no tempo de 21 dias (Tabela 6). Essa avaliação

Tabela 6 – Ganho percentual de peso animais durante o experimento

Grupo	Ganho percentual de peso % (media ± EP)		
	Tempos de observação		
	Dia 7	Dia 14	Dia 21
C-	4,9 ± 3,9 <sup>a</sup>	32,3 ± 2,7 <sup>a,b</sup>	48,6 ± 6,6 <sup>a,b</sup>
CV	5,7 ± 2,2 <sup>a</sup>	20,2 ± 5,1 <sup>b</sup>	39,8 ± 2,3 <sup>b</sup>
C+	6,9 ± 2,4 <sup>a</sup>	32,8 ± 4,6 <sup>a,b</sup>	70,8 ± 6,3 <sup>a</sup>
ER	9,7 ± 2,2 <sup>a</sup>	50,2 ± 5,4 <sup>a</sup>	57,7 ± 6,1 <sup>a,b</sup>
EPA	5,6 ± 2,0 <sup>a</sup>	34,1 ± 4,7 <sup>a,b</sup>	57,9 ± 6,7 <sup>a,b</sup>

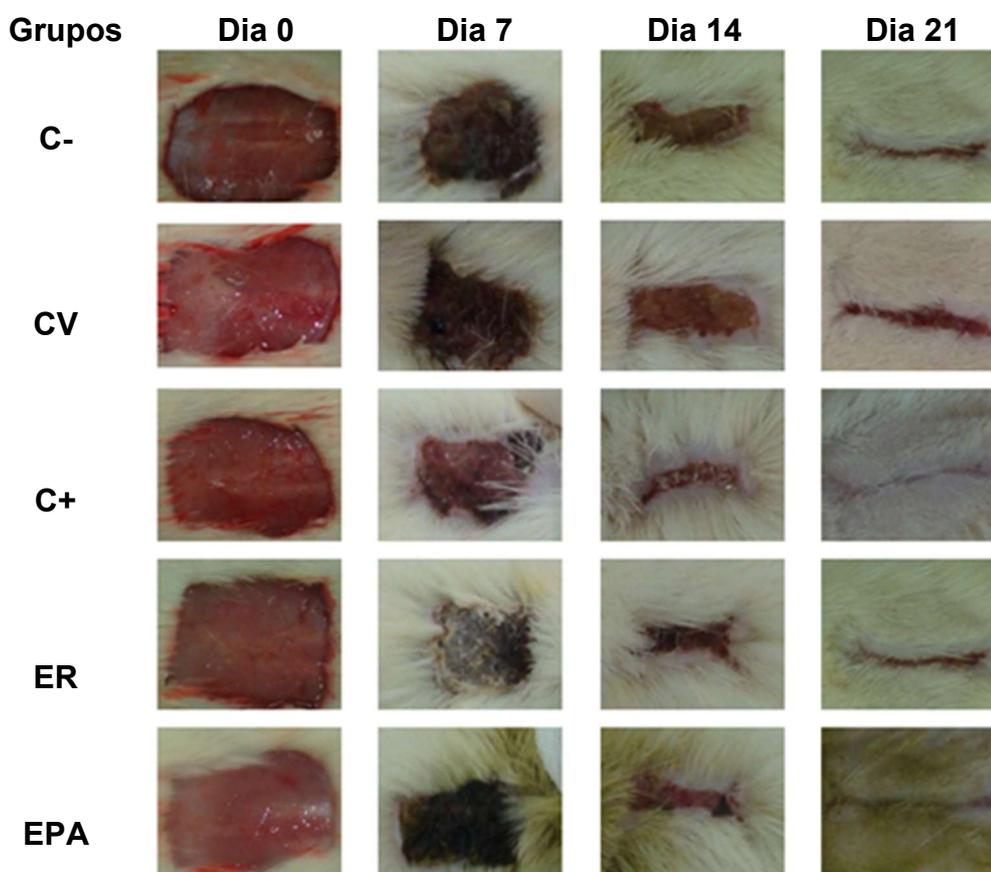
As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Bonferroni, a 5% de probabilidade.

é importante, pois a perda de peso é um sinal de que o animal não está saudável, o que pode interferir na sua capacidade de cicatrização e portanto nos resultados do experimento.

Por motivos éticos, foi necessário sacrificar um animal do C+ no 10º dia, pois o mesmo apresentou inchaço na região lombar direita e sinais de estresse, como perda acentuada de peso e eriçamento dos pelos. Outros quatro animais vieram a óbito ao longo do experimento, sendo dois do grupo C-, um do CV e um do ER. O restante dos animais apresentou condições normais de mobilidade e aspecto geral durante todo o experimento, denotando boas condições de saúde.

Na observação macroscópica das feridas, verificou-se progressivo fechamento das lesões ao longo do tempo, com ausência de necrose ou secreção em todos os indivíduos. A Figura 17 ilustra o aspecto das feridas em cada grupo, ao longo do experimento.

Figura 17 – Imagens representativas das lesões nos cinco grupos experimentais, ao longo do experimento



FONTE: o autor

As Tabelas 7 e 8 apresentam os dados relacionados às áreas das feridas ao longo do ensaio, realizados mediante os cálculos do ICU e da %AL, respectivamente. Para fins de melhor visualização, os resultados referentes ao ICU também estão ilustrados na Figura 18.

Tabela 7 – Índice de cicatrização da úlcera ( $\pm$  EP) das lesões dos animais durante a avaliação do efeito cicatrizante de *C. esculenta*

Tempo (dias)	Tratamento				
	C-	CV	C+	ER	EPA
0	0,000 $\pm$ 0,000 <sup>a</sup>	0,000 $\pm$ 0,000 <sup>a</sup>	0,000 $\pm$ 0,000 <sup>a</sup>	0,000 $\pm$ 0,000 <sup>a</sup>	0,000 $\pm$ 0,000 <sup>a</sup>
7	0,459 $\pm$ 0,034 <sup>b</sup>	0,452 $\pm$ 0,025 <sup>b</sup>	0,579 $\pm$ 0,030 <sup>a</sup>	0,405 $\pm$ 0,029 <sup>b</sup>	0,503 $\pm$ 0,020 <sup>a,b</sup>
14	0,819 $\pm$ 0,018 <sup>a,b</sup>	0,738 $\pm$ 0,045 <sup>b</sup>	0,909 $\pm$ 0,013 <sup>a</sup>	0,880 $\pm$ 0,012 <sup>a</sup>	0,889 $\pm$ 0,014 <sup>a</sup>
21	0,955 $\pm$ 0,016 <sup>a,b</sup>	0,860 $\pm$ 0,056 <sup>b</sup>	0,988 $\pm$ 0,009 <sup>a,b</sup>	0,982 $\pm$ 0,009 <sup>a,b</sup>	0,986 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>

As médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Bonferroni, a 5% de probabilidade.

Tabela 8 – Área média percentual ( $\pm$  EP) das lesões dos animais durante a avaliação do efeito cicatrizante de *C. esculenta*.

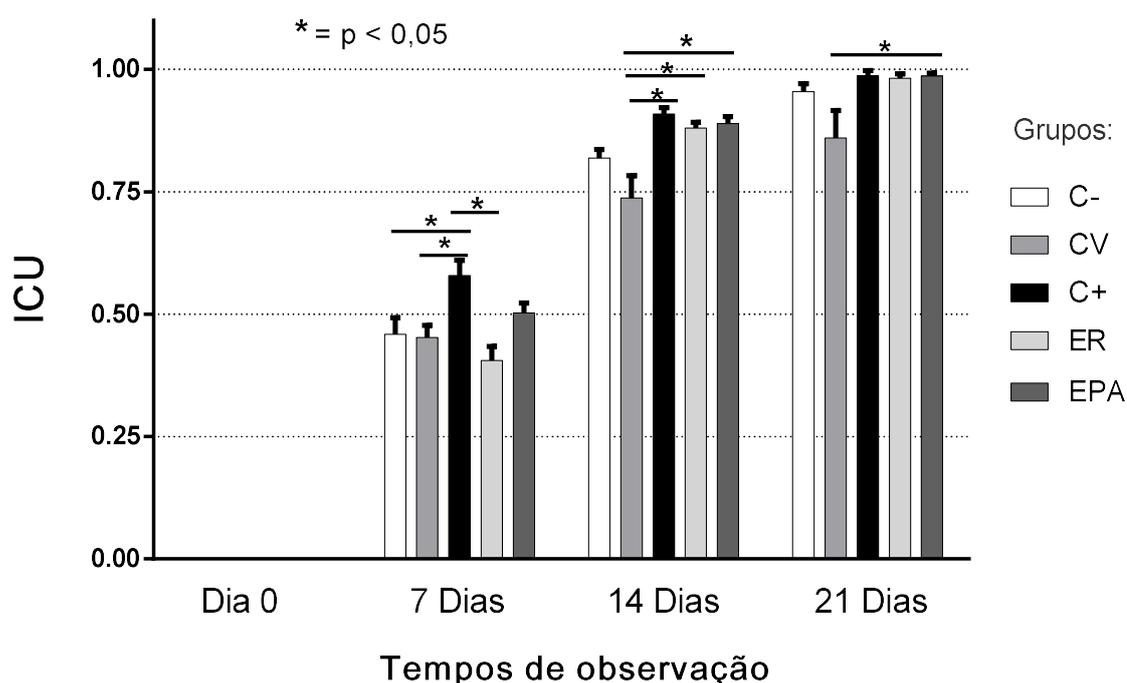
Tempo (dias)	Tratamento				
	C-	CV	C+	ER	EPA
0	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
7	54,17 $\pm$ 3,47 <sup>a</sup>	54,77 $\pm$ 2,50 <sup>a</sup>	42,29 $\pm$ 3,01 <sup>b</sup>	59,51 $\pm$ 2,85 <sup>a</sup>	49,78 $\pm$ 2,01 <sup>a,b</sup>
14	18,22 $\pm$ 1,80 <sup>a,b</sup>	26,37 $\pm$ 4,47 <sup>a</sup>	9,00 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	12,11 $\pm$ 1,13 <sup>b</sup>	11,14 $\pm$ 1,46 <sup>b</sup>
21	4,41 $\pm$ 1,20 <sup>a,b</sup>	13,93 $\pm$ 5,59 <sup>a</sup>	1,14 $\pm$ 0,68 <sup>b</sup>	1,74 $\pm$ 0,78 <sup>b</sup>	1,58 $\pm$ 0,61 <sup>b</sup>

As médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Bonferroni, a 5% de probabilidade.

Considerando os valores de ICU (Tabela 7), no tempo de 7 dias houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre o grupo C+ e os grupos C-, CV e ER, sendo observados os maiores valores médios para os grupos C+ e EPA (correspondendo a um maior fechamento da ferida) e a menor média para o grupo ER. No tempo de 14 dias, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre o grupo CV e os grupos C+, ER e EPA, sendo obtido o menor valor médio de ICU para o grupo CV. No tempo de

21 dias, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente entre os grupos CV e EPA, também com menor valor médio para o grupo CV. Porém, é interessante observar que aos 21 dias houve fechamento completo da lesão em dois animais do C+, um animal do ER e um animal do EPA.

Figura 18 – Índice de cicatrização da úlcera (ICU) dos cinco grupos experimentais, nos tempos avaliados pelo o experimento



A carboximetilcelulose (CMC) foi utilizada como veículo para elaboração da suspensão dos extratos de *C. esculenta* com a função de aumentar a viscosidade da suspensão, favorecendo seu tempo de permanência sobre as lesões. O grupo CV teve como objetivo verificar se a CMC por si só não favoreceria o processo de cicatrização, uma vez que a mesma possui características filmógenas. Ao contrário, observou-se que o grupo tratado com o veículo de CMC apresentou resultados anômalos, com os menores valores médios de ICU nos tempos de 14 e 21 dias. Além disso, apresentou erro padrão bastante superior aos dos outros grupos, também nos tempos de 14 e 21 dias (Tabela 7).

Embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos dos extratos de *C. esculenta* e os controles negativo e positivo, foi observada uma tendência de maiores valores de ICU para os tratamentos do controle positivo e dos extratos dos rizomas e das partes aéreas (Figura 18). Diante disso, em caráter exploratório, foi

realizada uma comparação considerando os grupos C-, C+, ER e EPA. Nesta, observou-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o grupo C+ e os grupos C- e ER no tempo de 7 dias e entre o grupo C- e os grupos C+, ER e EPA no tempo de 14 dias. Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos no tempo de 21 dias. Essa análise dos dados reforça a idéia da existência de uma diferença entre os tratamentos no tempo de 14 dias, no qual as médias dos grupos tratados com os extratos dos rizomas e das partes aéreas de *C. esculenta* foram próximas a média do controle positivo e superiores à do controle negativo. Assim, os extratos estariam produzindo um fechamento das feridas superior ao do controle negativo e semelhante ao do controle positivo. Além disso, esse resultado é coerente com a hipótese de que a maior variância interna de ICU do grupo CV possa ter mascarado o efeito dos tratamentos, para o número de réplicas usado. Uma alternativa para confirmar essa tendência com maior segurança, seria aumentar o número amostral utilizado, a fim de diminuir o impacto das variâncias intergrupo nos resultados.

Em relação ao efeito cicatrizante, pode-se inferir que, além da diminuição da área da lesão, há outros fatores importantes que devem ser avaliados no processo de reparo tecidual, como a modulação da reação inflamatória e a qualidade dos tecidos formados. De Castro Garros e cols. (2006) avaliaram a ação do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas em ratos durante 21 dias, não observando diferenças significativas entre as áreas das feridas dos grupos tratados com água e com extrato de *P. edulis*. Porém, o estudo histológico demonstrou colagenização significativamente maior, no 14º dia, nos animais tratados com *P. edulis*. De forma semelhante, Koga e cols. (2018) avaliaram, durante 22 dias, a ação cicatrizante de filmes de alginato contendo gel de *Aloe vera* em feridas cutâneas em ratos. Não houve diferenças significativas nas áreas das lesões entre os grupos tratados com o filme contendo *A. vera* e o controle negativo. Entretanto, os filmes contendo *A. vera* modularam a fase inflamatória e diminuíam a quantidade de macrófagos em relação ao grupo controle. A avaliação de fibras colágenas demonstrou uma diminuição no tipo III e um aumento nas fibras tipo I no grupo tratado com o filme com *A. vera*, sugerindo uma melhoria na progressão do processo de cicatrização.

Quanto à análise histológica qualitativa das lesões, foram observados os aspectos predominantes em cada grupo, descritos no Quadro 1 e ilustrados pelas

Quadro 1 – Características gerais dos achados histológicos nos diversos grupos em cada tempo de observação

Grupo	Tempo de observação		
	7 dias	14 dias	21 dias
<b>C-</b>	Crosta em intensa quantidade, sem reepitelização e com proliferação vascular moderada; o infiltrado inflamatório atingiu hipoderme, sendo mononuclear moderado, polimorfonuclear intenso e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade discreta a moderada, além de colagenização discreta.	Crosta em intensa quantidade e reepitelização nas bordas das lesões, exceto em um indivíduo. Proliferação vascular moderada; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear discreto, polimorfonuclear moderado e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade moderada, além de colagenização discreta.	Crosta em discreta quantidade e reepitelização completa em dois indivíduos. Proliferação vascular discreta; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos moderados e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em intensa quantidade, colagenização discreta a moderada; além de regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos) em dois indivíduos.
<b>CV</b>	Crosta intensa e reepitelização nas bordas das lesões. Proliferação vascular intensa; o infiltrado inflamatório atingiu hipoderme, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos intensos e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade discreta a moderada, além de colagenização discreta.	Crosta intensa e reepitelização nas bordas das lesões. Proliferação vascular intensa; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear moderado, polimorfonuclear intenso e com células gigantes em quantidade discreta. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em intensa quantidade, além de colagenização discreta.	Crosta moderada; reepitelização completa em um indivíduo. Proliferação vascular moderada; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos intensos e com células gigantes em discreta quantidade em dois indivíduos. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em intensa quantidade, colagenização discreta, além de regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos) em um indivíduo.
<b>C+</b>	Crosta em intensa quantidade, reepitelização discreta e proliferação vascular intensa; o infiltrado inflamatório atingiu hipoderme, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos intensos e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade moderada, além de colagenização discreta.	Crosta moderada a intensa e reepitelização nas bordas das lesões. Proliferação vascular moderada; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos moderados e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em intensa quantidade, além de colagenização discreta.	Crosta discreta e reepitelização completa. Proliferação vascular discreta; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear discreto e com células gigantes em discreta quantidade em dois indivíduos. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica intensa, formação de tecido conjuntivo denso, colagenização moderada; além de regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos).
<b>ER</b>	Crosta intensa e reepitelização nas bordas das lesões. Proliferação vascular intensa; o infiltrado inflamatório atingiu hipoderme, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos intensos e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade discreta a moderada, além de colagenização discreta.	Crosta intensa e reepitelização nas bordas das lesões. Proliferação vascular intensa; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear moderado, polimorfonuclear intenso e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em intensa quantidade, além de colagenização discreta.	Reepitelização completa. Proliferação vascular discreta; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos discretos. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica intensa, formação de tecido conjuntivo denso, colagenização moderada; além de regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos).
<b>EPA</b>	Crosta intensa, reepitelização nas bordas das lesões e proliferação vascular intensa; o infiltrado inflamatório atingiu hipoderme, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos intensos e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade moderada, além de colagenização discreta.	Crosta moderada a intensa e reepitelização nas bordas das lesões. Proliferação vascular discreta; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear e polimorfonuclear ambos discretos e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em intensa quantidade, além de colagenização discreta.	Crosta discreta e reepitelização completa. Proliferação vascular discreta; o infiltrado inflamatório atingiu derme profunda, sendo mononuclear discreto e com células gigantes em discreta quantidade. Apresentou tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica intensa, formação de tecido conjuntivo denso, colagenização moderada; além de regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos).

Figuras 19 a 22, sendo a proliferação fibroblástica evidenciada pelo Tricrômico de Masson (Figuras 21 e 22) e os demais aspectos visualizados pela coloração de hematoxilina-eosina (Figuras 19 e 20).

Aos 7 dias após a indução das lesões, observou-se reação inflamatória em todos os grupos, com o infiltrado inflamatório atingindo até hipoderme. Entretanto, o C- apresentou resposta inflamatória e proliferação vascular um pouco menos acentuadas que a dos outros grupos, além de ser o único grupo onde não ocorreu reepitelização nas bordas. Os demais grupos apresentaram infiltrado inflamatório e proliferação vascular intensos, com reepitelização nas bordas da lesão. Houve formação de tecido conjuntivo frouxo em todos os grupos. A fibroplasia foi levemente mais intensa em C+ e em EPA, o que pode ser considerado um fator positivo para a cicatrização, uma vez que os fibroblastos desempenham funções essenciais para a reconstituição do tecido conjuntivo (BEHERA *et al.*, 2017). Os achados de inflamação e vascularização intensos estão condizentes com os eventos esperados para essa fase inicial do reparo da lesão, caracterizada pela reação inflamatória (GARROS *et al.*, 2006).

Aos 14 dias após a indução das feridas, foram observados eventos característicos da fase proliferativa, como progressivo aumento da reepitelização e da deposição de tecido de granulação, além da gradual diminuição do processo inflamatório, com infiltrado atingindo até derme profunda. Todos os grupos apresentaram reepitelização nas bordas das lesões, exceto um dos indivíduos de C-. Também foi observada intensa fibroplasia, com formação de tecido conjuntivo frouxo em todos os grupos, exceto em C-, onde a mesma foi moderada. A fibroplasia é essencial para a reconstituição da derme, sendo os fibroblastos responsáveis pela deposição de colágeno e componentes da matriz extracelular, mantendo a integridade do tecido conjuntivo (BEHERA *et al.*, 2017).

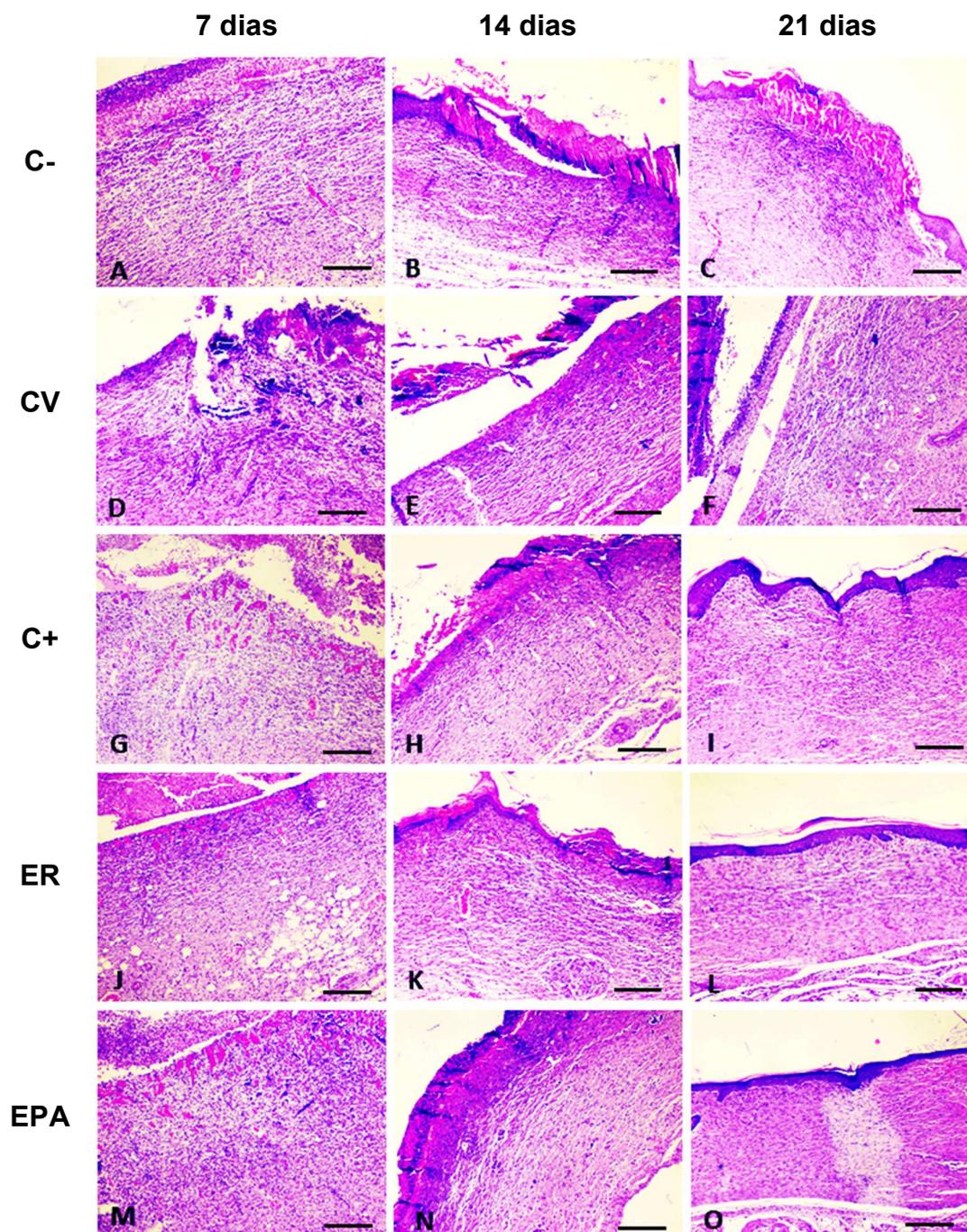
Ainda no tempo de 14 dias, o grupo EPA apresentou infiltrado inflamatório em menor intensidade que a dos outros grupos, sugerindo que o extrato das partes aéreas de *C. esculenta* tenha modulado o processo inflamatório. A inflamação é uma etapa essencial para a cura das feridas, uma vez que as células fagocitárias realizam a remoção dos tecidos lesados e microrganismos, além de liberarem fatores quimiotáticos e de crescimento, necessários à continuidade do processo (BRASILEIRO FILHO, 2009). Porém, é conhecido que o excesso de espécies reativas de oxigênio geradas nessa fase pode causar danos aos tecidos (VALIZADEH *et al.*,

2015). Além disso, é difícil estabelecer uma relação precisa entre inflamação e os processos de cicatrização e regeneração. Os macrófagos, por exemplo, funcionam como importantes orquestradores do processo inflamatório, e embora normalmente estejam associados à formação de cicatrizes, também são necessários para a regeneração dos tecidos (WILLYARD, 2018). De forma geral, acredita-se que a modulação da inflamação seja benéfica ao processo de cura (VALIZADEH *et al.*, 2015).

Aos 21 dias após a indução das lesões, os grupos apresentaram, de forma geral, diminuição da proliferação vascular e do infiltrado inflamatório, além de maior grau de regeneração dos tecidos. Esses achados estão relacionados aos processos que ocorrem no princípio da fase de remodelação, quando a inflamação e a vascularização regridem progressivamente, dando lugar à densificação do tecido conjuntivo (BRASILEIRO FILHO, 2009). Vale ressaltar que o infiltrado inflamatório foi menos intenso em C+, ER e EPA do que em C- e CV (Figura 20). O grupo CV apresentou resultado bastante diferente dos demais, com proliferação vascular moderada e infiltrado inflamatório intenso, sugerindo que a CMC tenha sustentado o processo inflamatório, o que provavelmente interferiu negativamente no processo de cicatrização. É interessante observar que o grupo CV apresentou resultados anômalos também na análise macroscópica da área das lesões, como descrito anteriormente.

Houve reepitelização completa e regeneração parcial da derme em todos os indivíduos dos grupos C+, ER e EPA, porém somente em dois indivíduos de C- e em apenas um de CV. O mesmo ocorreu em relação à qualidade do tecido conjuntivo formado: enquanto os grupos C+, ER e EPA apresentaram tecido conjuntivo denso, com colagenização moderada, em C- e em CV houve produção de tecido conjuntivo frouxo e a colagenização foi discreta a moderada. Portanto, aos 21 dias, os grupos do controle positivo e os tratados com os extratos dos rizomas e das partes aéreas de *C. esculenta* apresentaram maior grau de regeneração e qualidade dos tecidos, com reepitelização e formação de tecido conjuntivo denso, além de menor infiltrado inflamatório, em relação aos grupos do controle negativo e controle do veículo. A reepitelização, o remodelamento do tecido conjuntivo e a modulação da inflamação são eventos importantes no processo de reparo dos tecidos (BRASILEIRO FILHO, 2009). Esses resultados demonstram que os extratos de *C. esculenta* produziram efeitos benéficos para a cicatrização e regeneração das lesões.

Figura 19 – Imagens representativas das seções histológicas das lesões nos dias 7, 14 e 21, destacando a progressão do reparo dos tecidos

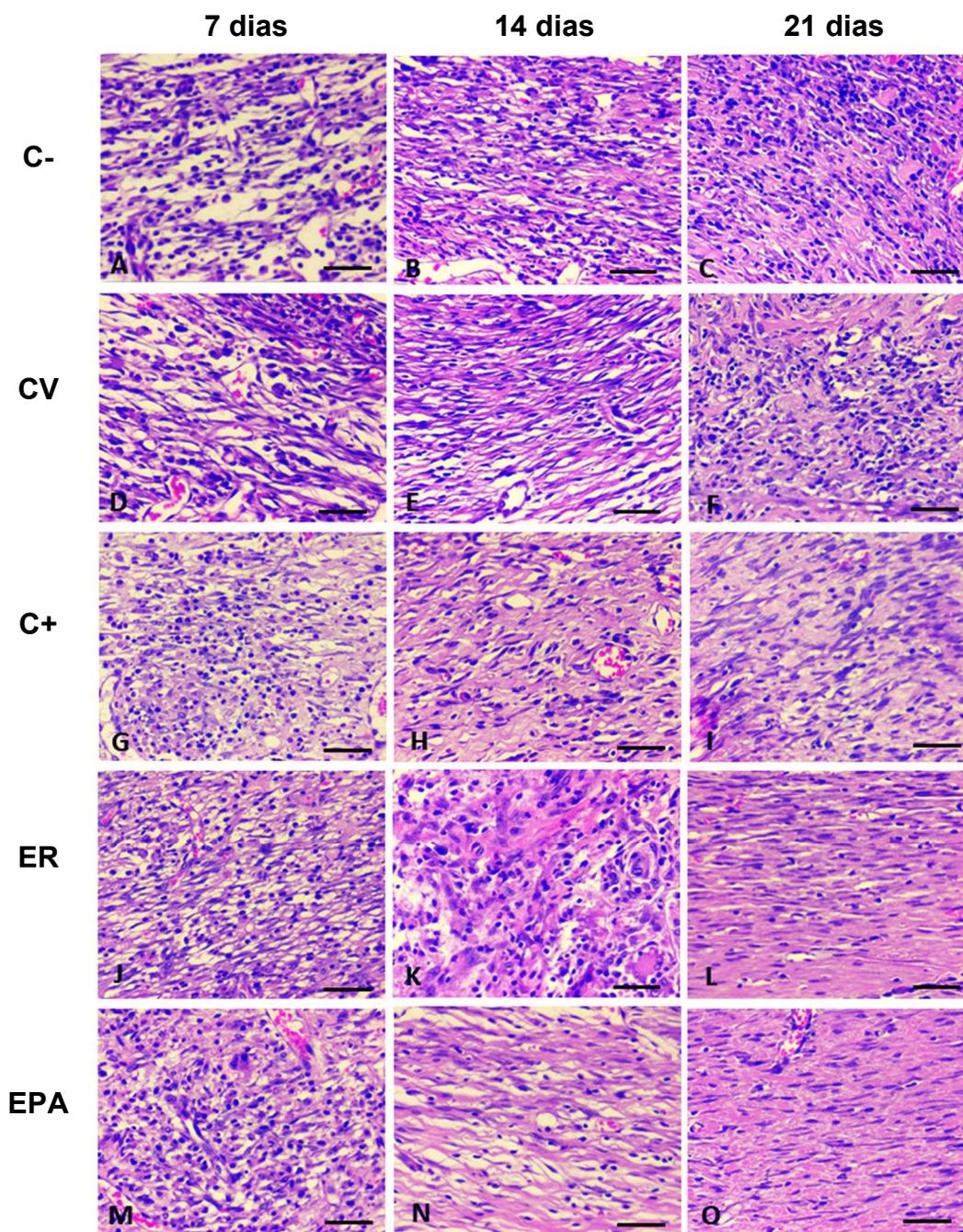


Tratamentos: **A-C** - Controle negativo (C-); **D-F** - Controle veículo (CV); **G-I** - Controle positivo (C+); **J-L** - Extrato dos rizomas (ER); **M-O** - Extrato das partes aéreas (EPA). Tempos de observação após a indução das lesões: **A, D, G, J e M**: 7 dias; **B, E, H, K e N**: 14 dias; **C, F, I, L e O**: 21 dias. Aos 7 dias, infiltrado inflamatório em derme, algumas vezes atingindo hipoderme (A, D, G, J e M), vascularização moderada em C- (A) e intensa nos demais grupos (D, G, J e M). Aos 14 dias, progressivo aumento da reepitelização e da deposição de tecido de granulação, gradual diminuição do processo inflamatório, com infiltrado atingindo derme profunda (B, E, H, K e N). Aos 21 dias, diminuição da proliferação vascular e do infiltrado inflamatório na maioria dos grupos (C, I, L e O), exceto em CV (F), onde observa-se proliferação vascular moderada e infiltrado inflamatório intenso. Reepitelização completa e regeneração parcial da derme nos grupos C+, ER e EPA (I, L e O).

HE, Barra = 567  $\mu$ m.

FONTE: o autor

Figura 20 – Imagens representativas das seções histológicas das lesões, nos dias 7, 14 e 21, destacando o infiltrado inflamatório

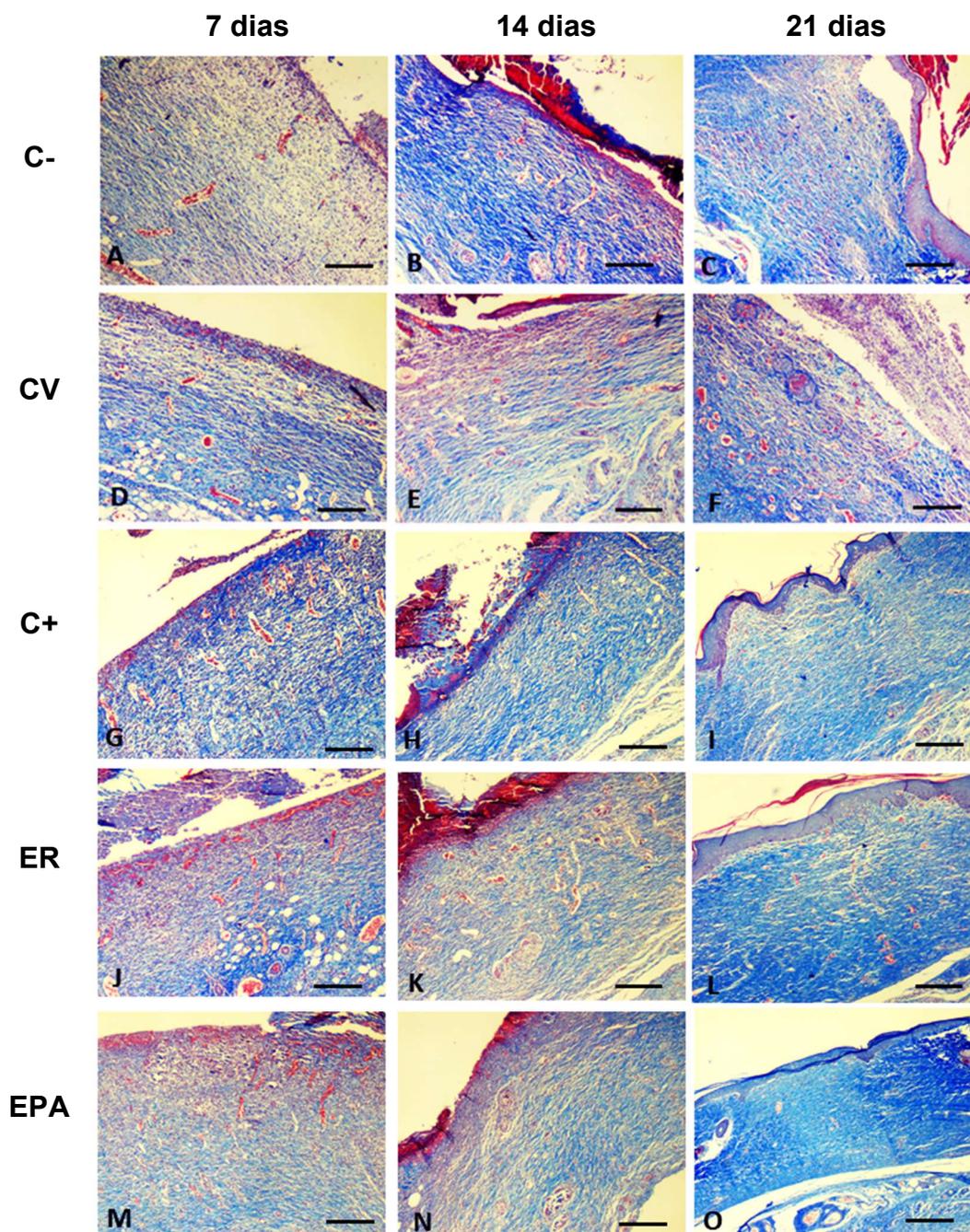


Tratamentos: **A-C** - Controle negativo (C-); **D-F** - Controle veículo (CV); **G-I** - Controle positivo (C+); **J-L** - Extrato dos rizomas (ER); **M-O** - Extrato das partes aéreas (EPA). Tempos de observação após a indução das lesões: **A, D, G, J e M**: 7 dias; **B, E, H, K e N**: 14 dias; **C, F, I, L e O**: 21 dias. Aos 7 dias, infiltrado polimorfonuclear intenso em todos os grupos (A, D, G, J e M), infiltrado mononuclear moderado em C- (A) e intenso nos demais grupos (D, G, J e M). Aos 14 dias, infiltrado mononuclear discreto e polimorfonuclear moderado em C- (B), mononuclear moderado e polimorfonuclear intenso em CV e ER (E e K), mononuclear e polimorfonuclear ambos moderados em C+ (H) e ambos discretos em EPA (N). Aos 21 dias, infiltrado mononuclear e polimorfonuclear ambos moderados em C- (C), intensos em CV (F) e discretos em ER (L). Infiltrado mononuclear discreto em C+(I) e EPA(O).

HE, Barra = 56,7  $\mu$ m.

FONTE: o autor

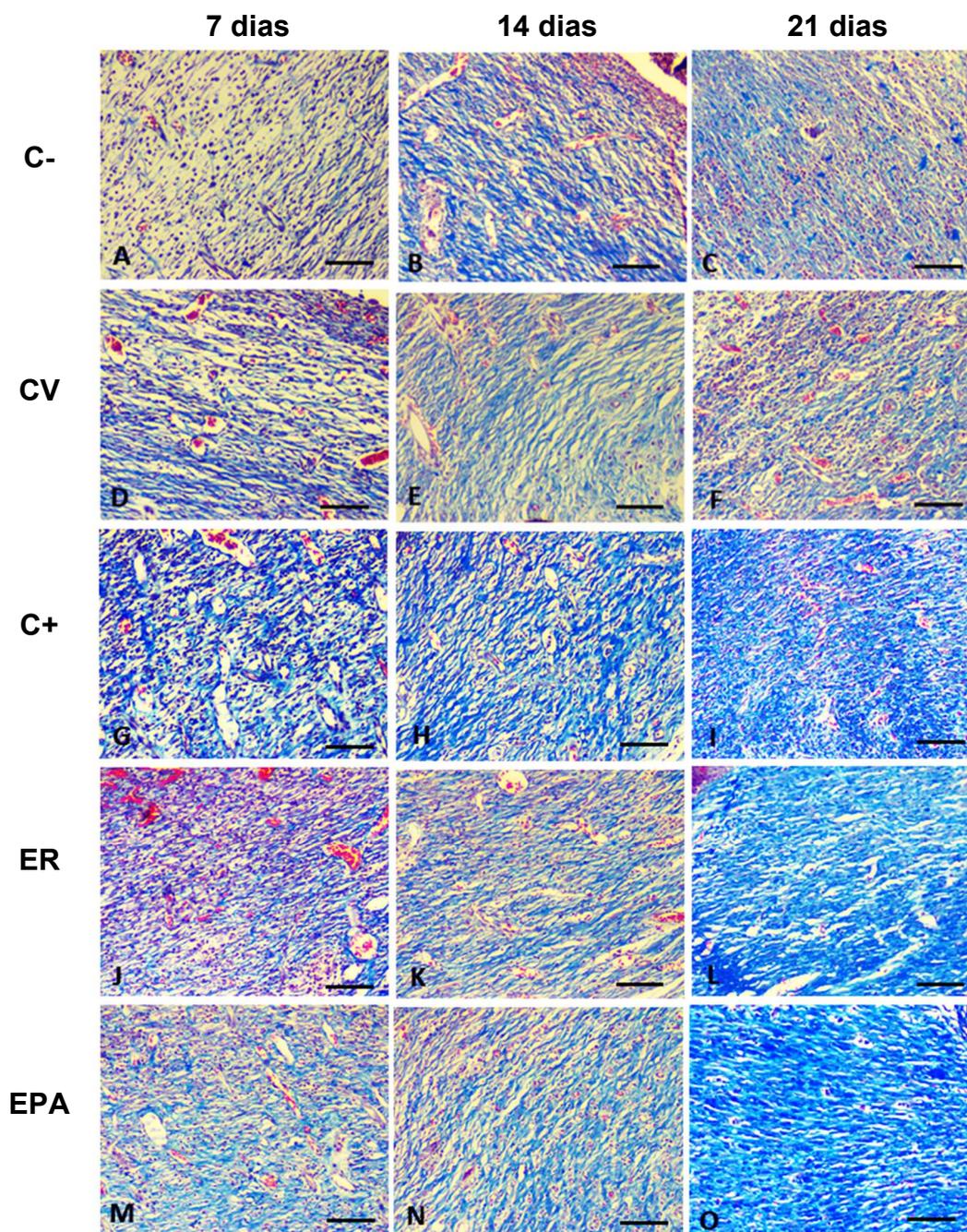
Figura 21 – Imagens representativas das seções histológicas das lesões nos dias 7, 14 e 21, destacando a progressão do reparo do tecido conjuntivo



Tratamentos: **A-C** - Controle negativo (C-); **D-F** - Controle veículo (CV); **G-I** - Controle positivo (C+); **J-L** - Extrato dos rizomas (ER); **M-O** - Extrato das partes aéreas (EPA). Tempos de observação após a indução das lesões: **A, D, G, J e M**: 7 dias; **B, E, H, K e N**: 14 dias; **C, F, I, L e O**: 21 dias. Aos 7 dias, tecido cicatricial com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em todos os grupos (A, D, G, J e M), em quantidade discreta a moderada em C-, CV e ER (A, D e J) e moderada em C+ e EPA (G e M). Aos 14 dias, tecido cicatricial com proliferação fibroblástica e formação de tecido conjuntivo frouxo em todos os grupos (B, E, H, K e N), em intensa quantidade em CV, C+, ER e EPA (E, H, K e N) e moderada em C- (B). Aos 21 dias, tecido cicatricial, com proliferação fibroblástica intensa em todos os grupos (C, F, I, L e O; formação de tecido conjuntivo frouxo em C- e CV (C e F) e tecido conjuntivo denso em C+, ER e EPA (I, L e O). Reepitelização completa e regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos) em C+, ER e EPA (I, L e O). Tricrômico de Masson, Barra = 567  $\mu$ m.

FONTE: o autor

Figura 22 – Imagens representativas das seções histológicas das lesões nos dias 7, 14 e 21, destacando a progressão da fibroplasia



Tratamentos: **A-C** - Controle negativo (C-); **D-F** - Controle veículo (CV); **G-I** - Controle positivo (C+); **J-L** - Extrato dos rizomas (ER); **M-O** - Extrato das partes aéreas (EPA). Tempos de observação após a indução das lesões: **A, D, G, J e M**: 7 dias; **B, E, H, K e N**: 14 dias; **C, F, I, L e O**: 21 dias. Aos 7 dias, formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade discreta a moderada em C-, CV e ER (A, D e J) e moderada em C+ e EPA (G e M); colagenização discreta todos os grupos (A, D, G, J e M). Aos 14 dias, formação de tecido conjuntivo frouxo em quantidade moderada em C- (B) e intensa em CV, C+, ER e EPA (E, H, K e N); colagenização discreta em todos os grupos (B, E, H, K e N). Aos 21 dias, formação de tecido conjuntivo denso, com colagenização moderada e regeneração parcial da derme (ausência de glândulas e folículos pilosos) em C+, ER e EPA (I, L e O) e tecido conjuntivo frouxo, com colagenização discreta a moderada em C- e CV (C e F). Tricrômico de Masson, Barra = 227  $\mu$ m.

FONTE: o autor

Os resultados da análise histológica quantitativa das lesões estão apresentados nas Tabelas 9 a 11. No tempo de 7 dias após a indução das lesões, dentre todos os parâmetros avaliados, foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para os escores de reepitelização entre o grupo C- e os grupos CV e ER e de infiltrado inflamatório mononuclear entre o grupo C- e os grupos CV, ER e EPA (Tabela 9). Assim, ER e CV produziram uma reepitelização significativamente maior que a do controle negativo; bem como CV, ER e EPA apresentaram infiltrado mononuclear mais intenso que o do controle negativo. A reepitelização é um fator positivo, sendo essencial para a integridade da epiderme e denotando a regeneração do tecido original (TROMBETTA *et al.*, 2006). O infiltrado inflamatório é importante nesta fase inicial, sendo responsável pela fagocitose dos restos celulares e pela liberação de mediadores. Além disso, células específicas do infiltrado mononuclear, como macrófagos e linfócitos, liberam fatores de crescimento importantes para a estimulação da proliferação dos fibroblastos (BRASILEIRO FILHO, 2009).

Tabela 9 – Escores dos achados histológicos no tempo de 7 dias (média  $\pm$  DP)

Parâmetros	Grupos					p
	C(-)	CV	C(+)	ER	EPA	
RE	0 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	1,8 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	0,5 $\pm$ 1 <sup>a,b</sup>	1,75 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	1 $\pm$ 1 <sup>a,b</sup>	*
CR	2,75 $\pm$ 0,5	4,2 $\pm$ 1,64	3,25 $\pm$ 0,5	2,5 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1,22	
PV	4 $\pm$ 0	4,8 $\pm$ 1,79	5,5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1,15	5,6 $\pm$ 0,89	
IP	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	5,5 $\pm$ 1	5,5 $\pm$ 1	6 $\pm$ 0	
IM	4 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	6 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	5,5 $\pm$ 1 <sup>a,b</sup>	6 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	6 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	*
CG	2 $\pm$ 0	1,6 $\pm$ 0,89	1 $\pm$ 1,15	2,5 $\pm$ 1	1,6 $\pm$ 0,89	
CO	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	
PF	4,5 $\pm$ 1,73	4,8 $\pm$ 1,64	5,4 $\pm$ 1,34	4,5 $\pm$ 1,73	6 $\pm$ 0	

As médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5% de probabilidade.

RE= reepitelização, CR= crosta, PV= proliferação vascular, IP=infiltrado inflamatório polimorfonuclear, IM= infiltrado inflamatório mononuclear, CG= células gigantes, CO= colagenização, PF= proliferação fibroblástica, C(-)= controle negativo, CV= controle do veículo, C(+)= controle positivo, ER= extrato dos rizomas de *C. esculenta*, EPA= extrato das partes aéreas de *C. esculenta*, \* =  $p < 0,05$

Para o tempo de 14 dias, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no parâmetro de infiltrado inflamatório polimorfonuclear entre o CV e os grupos C+ e EPA, sendo obtido o maior valor médio para o CV (Tabela 10). O infiltrado polimorfonuclear normalmente é mais intenso nos primeiros dias após a lesão, sendo os neutrófilos um dos tipos celulares responsáveis pela fagocitose dos tecidos (KUMAR *et al.*, 2010). Como dito anteriormente, após 14 dias, uma modulação do infiltrado polimorfonuclear

seria mais condizente com um processo de cicatrização dentro da normalidade. A partir desse ponto de vista, observamos que os grupos C+ e EPA produziram resultados mais favoráveis à cicatrização quanto a esse parâmetro, em relação ao CV. É interessante observar que o grupo EPA apresentou resultados de modulação da inflamação aos 14 dias também na análise microscópica qualitativa, como descrito anteriormente.

Tabela 10 – Escores dos achados histológicos no tempo de 14 dias (média ± DP)

Parâmetros	Grupos					p
	C(-)	CV	C(+)	ER	EPA	
RE	1,5 ± 1,0	1,33 ± 1,15	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	
CR	1,75 ± 1,7	1,67 ± 1,53	1,25 ± 0,5	2 ± 1,14	1 ± 1	
PV	3 ± 2	4 ± 0	3 ± 1,15	3 ± 1,15	3,2 ± 1,1	
IP	4,5 ± 1 <sup>a,b</sup>	6 ± 0 <sup>a</sup>	3,5 ± 1 <sup>b</sup>	4,5 ± 1,19 <sup>a,b</sup>	3,2 ± 1,79 <sup>b</sup>	*
IM	2,5 ± 1	3,33 ± 1,15	3,5 ± 1	3 ± 1,15	2,8 ± 1,1	
CG	1,5 ± 1	2 ± 0	1 ± 1,15	2 ± 0	2,4 ± 0,89	
CO	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	
PF	8,4 ± 2,51	9 ± 2,45	10,8 ± 1,64	8,25 ± 1,5	9,6 ± 1,34	

As médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5% de probabilidade.

RE= reepitelização, CR= crosta, PV= proliferação vascular, IP=infiltrado inflamatório polimorfonuclear, IM= infiltrado inflamatório mononuclear, CG= células gigantes, CO= colagenização, PF= profiferação fibroblástica, C(-)= controle negativo, CV= controle do veículo, C(+)= controle positivo, ER= extrato dos rizomas de *C. esculenta*, EPA= extrato das partes aéreas de *C. esculenta*, \* = p< 0,05

Para o tempo de 21 dias, o grupo CV apresentou diferenças significativas (p<0,05) com os outros grupos nos escores de vários parâmetros, a saber: reepitelização menor que C+, ER e EPA; crosta maior que C+ e EPA; proliferação vascular maior que C-, C+ e EPA; infiltrado inflamatório, tanto mononuclear como polimorfonuclear, maior que C+ (Tabela 11). O conjunto desses achados aponta para um pior desempenho do CV em relação aos parâmetros e grupos supramencionados, o que já havia sido observado na análise microscópica qualitativa. Num processo normal de cicatrização, aos 21 dias, espera-se que esteja ocorrendo a fase de remodelação, caracterizada pela regressão do infiltrado inflamatório e por aumento da deposição de matriz extracelular no tecido conjuntivo, que se torna mais denso e menos vascularizado (BRASILEIRO FILHO, 2009). A função da crosta é a proteção da lesão enquanto ocorre a reposição dos tecidos lesados, porém sua presença não

é fundamental, inclusive a cicatrização pode ser mais rápida naquelas feridas em que ela não está presente (FERREIRA *et al.*, 2015).

Tabela 11 – Escores dos achados histológicos no tempo de 21 dias (média  $\pm$  DP)

Parâmetros	Grupos					p
	C(-)	CV	C(+)	ER	EPA	
RE	2,5 $\pm$ 0,57 <sup>a,b</sup>	1,75 $\pm$ 1,26 <sup>b</sup>	3 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	3 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	3 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	*
CR	1 $\pm$ 0,82 <sup>a,b</sup>	2,25 $\pm$ 2,62 <sup>a</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,55 <sup>a,b</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	*
PV	2 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	4 $\pm$ 1,63 <sup>a</sup>	2 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	2,4 $\pm$ 0,89 <sup>a,b</sup>	2 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	*
IP	2 $\pm$ 1,63 <sup>a,b</sup>	4 $\pm$ 2,83 <sup>a</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	1,2 $\pm$ 1,1 <sup>a,b</sup>	0,5 $\pm$ 1 <sup>a,b</sup>	*
IM	3 $\pm$ 1,15 <sup>a,b</sup>	5 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	1,5 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	2,4 $\pm$ 0,89 <sup>a,b</sup>	2 $\pm$ 0 <sup>a,b</sup>	*
CG	1,5 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1,15	1 $\pm$ 1,15	0 $\pm$ 0	0,25 $\pm$ 0,5	
CO	3 $\pm$ 1,16	2,5 $\pm$ 1	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	
PF	9 $\pm$ 2,45 <sup>b</sup>	9 $\pm$ 2,12 <sup>b</sup>	12 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	12 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	12 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	*

As médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5% de probabilidade.

RE= reepitelização, CR= crosta, PV= proliferação vascular, IP=infiltrado inflamatório polimorfonuclear, IM= infiltrado inflamatório mononuclear, CG= células gigantes, CO= colagenização, PF= proliferação fibroblástica, C(-)= controle negativo, CV= controle do veículo, C(+)= controle positivo, ER= extrato dos rizomas de *C. esculenta*, EPA= extrato das partes aéreas de *C. esculenta*, \* =  $p < 0,05$

Ainda no tempo de 21 dias, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no parâmetro de proliferação fibroblástica dos grupos C+, ER e EPA em relação aos grupos C- e CV, com os maiores escores médios para os grupos C+, ER e EPA (Tabela 11). Esses resultados caracterizam maior fibroplasia nos grupos tratados com os extratos de *C. esculenta* e com o controle positivo, em relação aos grupos do controle negativo e do veículo, corroborando os achados de proliferação fibroblástica observados na avaliação microscópica qualitativa. Como discutido anteriormente, a proliferação de fibroblastos é essencial ao processo de cicatrização, sendo os mesmos responsáveis pela produção de colágeno e outros componentes da matriz do tecido conjuntivo (BEHERA *et al.*, 2017). Os fibroblastos também regulam o equilíbrio quantitativo e qualitativo do colágeno, balanceando sua síntese e degradação (GARROS *et al.*, 2006).

Os resultados descritos na análise microscópica qualitativa e quantitativa relativos ao grupo CV, juntamente com os menores valores médios de ICU obtidos tempos de 14 e 21 dias na análise macroscópica, apontam para um pior desempenho de CV em relação aos outros grupos, inferior inclusive ao do controle negativo. O veículo de CMC utilizado provavelmente sustentou o processo inflamatório,

prejudicando a cicatrização e o fechamento das lesões. Diante disso, pode-se inferir que os extratos dos rizomas e das partes aéreas de *C. esculenta* poderiam ter apresentado resultados ainda melhores caso não tivessem sido veiculados na suspensão de CMC.

Diversas plantas medicinais possuem comprovada ação cicatrizante, devido a diferentes classes de compostos bioativos, como taninos, flavonoides, saponinas triterpênicas, óleos essenciais e mucilagens, dentre outros (FERRERO, 2006). É provável que as ações benéficas ao processo de reparo de feridas observadas no presente estudo estejam relacionadas aos compostos bioativos encontrados em *C. esculenta*, como flavonoides, proteínas, polissacarídeos e mucilagens.

A ação antioxidante *in vitro* dos compostos flavônicos presentes em *C. esculenta* foi demonstrada tanto para as folhas e pecíolos (LEONG *et al.*, 2010), como para os rizomas (SIMSEK e EL, 2015). Já foi verificado que compostos com ação antioxidante diminuem o dano tecidual, por reduzir o nível de espécies reativas de oxigênio durante o processo inflamatório (VALIZADEH *et al.*, 2015). A ação cicatrizante das folhas do taro foi estudada *in vitro* por Gonçalves e cols. (2013), que verificaram a proteção das células da pele contra danos oxidativos e prevenção da degradação do ácido hialurônico, propiciada pela atividade antioxidante dos compostos fenólicos, principalmente as flavonas. A atividade proliferativa celular do extrato total das folhas de *C. esculenta* foi demonstrada em modelo de cultura de fibroblastos humanos por Takahashi e cols. (2012).

A ação imunoestimulante foi verificada nos rizomas, sendo detectada para polissacarídeos não amiláceos em modelo de linhagem celular de macrófagos (LI *et al.*, 2018) e para o extrato proteico, que apresentou ação proliferativa de células da medula óssea e do baço de camundongos, tanto *in vitro* como *in vivo* (PEREIRA *et al.*, 2015b; TULIN e ECLEO, 2007).

Embora na revisão realizada não tenha sido encontrado nenhum estudo demonstrando a ação cicatrizante das mucilagens presentes nos rizomas do taro, há vários trabalhos com outras espécies contendo mucilagens que relatam suas ações benéficas ao processo de cicatrização. Os principais efeitos observados nesses estudos foram: estimulação do crescimento das células epiteliais; aumento dos níveis de fatores de crescimento; aceleração da síntese do tecido conjuntivo, com estimulação da produção de fibroblastos e da síntese de colágeno e melhora da microcirculação cutânea (AMMAR *et al.*, 2015; BAHRAMSOLTANI *et al.*, 2017; DI

LORENZO et al., 2017; GHAFOURIAN et al., 2015; KOGA et al., 2018; VALIZADEH et al., 2015).

### 4.3 Obtenção dos filmes

No presente estudo, foi utilizado PVA com alta massa molar e alto grau de hidrólise, pois seu elevado número de grupos hidroxila livres promove ligações de hidrogênio intra e intermoleculares do polímero, diminuindo a sua solubilidade em água fria. O controle da solubilidade é importante para evitar a perda excessiva de material e a desagregação dos filmes (DUTRA, 2017).

As dispersões de ER foram submetidas a aquecimento a fim de proporcionar a gelatinização do amido presente no extrato, uma vez que os rizomas de taro apresentam alto teor desse polissacarídeo, em torno de 70% (ANDRADE, 2016; LEWU, ADEBOLA; AFOLAYAN; 2009; SILVA, 2011). O processo de gelatinização do amido é realizado por meio de aquecimento em excesso de água e rompe sua estrutura semicristalina granular, transformando-o em um material termoplástico, capaz de formar filmes estáveis e flexíveis (CAMPAGNER *et al.*, 2015; DIAS, 2008; CARMO e PAIVA, 2015).

A glicerina foi adicionada em todas as dispersões poliméricas, com função de plastificante. Os agentes plastificantes são capazes de reduzir as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, aumentando sua mobilidade. Assim, ocorre redução da rigidez, melhora da flexibilidade e das propriedades mecânicas dos filmes. Os agentes plastificantes mais utilizados no preparo de filmes com polímeros hidrofílicos são a glicerina e o polietilenoglicol (ISMAIL e ZAABA, 2011; VEIGA, 2009).

Foram preparadas soluções de poli(álcool vinílico) nas concentrações de 8% e 10% (p/v) e dispersões do extrato liofilizado dos rizomas de *C. esculenta* (ER) nas concentrações de 2,5%, 3%, 4% e 10% (p/v) em água deionizada. Devido a alta viscosidade obtida para a solução de PVA a 10% (p/v) e para as dispersões de ER a 4% e 10% (p/v), optou-se por utilizar somente a solução de PVA a 8% (p/v) e as dispersões de ER a 3 e 2,5% (p/v) para o preparo das blendas.

Na avaliação preliminar do aspecto e integridade dos filmes formados pelas blendas inicialmente testadas (Tabela 5), verificou-se que aqueles constituídos pela dispersão de ER a 2,5% (p/v) apresentaram aspecto mais homogêneo do que os constituídos pela dispersão de ER a 3% (p/v). Da mesma forma, ao comparar os

tempos de 45 e 60 minutos de agitação das blendas, foram obtidos filmes com aspecto mais uniforme ao utilizar o tempo de 60 minutos. Os filmes constituídos pela blenda com 50% da dispersão de PVA 8% (p/v) e 50% da dispersão de ER, tanto a 3% (p/v) como a 2,5% (p/v), não apresentaram aspecto completamente homogêneo, mesmo com 60 minutos de agitação. Os filmes constituídos por 100% da dispersão de ER a 2,5 e a 3% (p/v) apresentaram-se extremamente quebradiços. Portanto, foram selecionadas para estudo as blendas relacionadas na Tabela 12, e o tempo de 60 minutos de agitação. Para efeito comparativo, também foram preparados filmes utilizando a dispersão de PVA 8% (p/v) pura, com adição de 1% (v/v) de glicerina.

Tabela 12 – Proporção das dispersões poliméricas nas blendas selecionadas para estudo

Blenda	Proporção das Dispersões poliméricas (% v/v)	
	Poli(álcool vinílico) (PVA) 8% (p/v)	Extrato de <i>Colocasia</i> (ER) 2,5% (p/v)
<b>PVA:ER 9:1</b>	90,0	10,0
<b>PVA:ER 8:2</b>	80,0	20,0
<b>PVA:ER 7:3</b>	70,0	30,0
<b>PVA:ER 6:4</b>	60,0	40,0

Na Tabela 13 estão apresentados os valores de densidade relativa e pH obtidos para dispersões e blendas selecionadas para o estudo. Todas apresentaram pH próximo da neutralidade, compatível como pH da pele. O valor do pH cutâneo influencia a barreira de permeabilidade da pele e o processo normal de queratinização, diferindo entre espécies e também dentro da mesma espécie. Segundo Matousek e Campbell (2002), o intervalo relatado para a pele humana sadia varia entre pH 3,0 (ácido) e 6,5 (quase neutro). Foram relatados valores médios de

Tabela 13 – Valores de densidade relativa e pH obtidos para as dispersões e blendas selecionadas para o estudo

Dispersões e blendas		pH	Densidade relativa
Dispersões	PVA: 8% (p/v)	6,48	1,0201
	ER 2,5% (p/v)	6,76	1,0111
Blendas	PVA:ER 9:1	6,54	1,0150
	PVA:ER 8:2	6,55	1,0180
	PVA:ER 7:3	6,56	1,0200
	PVA:ER 6:4	6,52	1,0211

pH cutâneo de 7,4 para cães; 6,4 para gatos; 6,5 para ratos e 6,7 para bovinos. O pH da dispersão de PVA 8% (p/v) está dentro do valor esperado, sendo a especificação da farmacopeia britânica (BRITISH PHARMACOPOEIA 2013), pH entre 4,5 a 6,5 para uma solução a 10% (p/v). Os valores de densidade obtidos para as dispersões de PVA e ER foram bastante próximos, o que facilita sua miscibilidade e homogeneidade das blendas por elas constituídas.

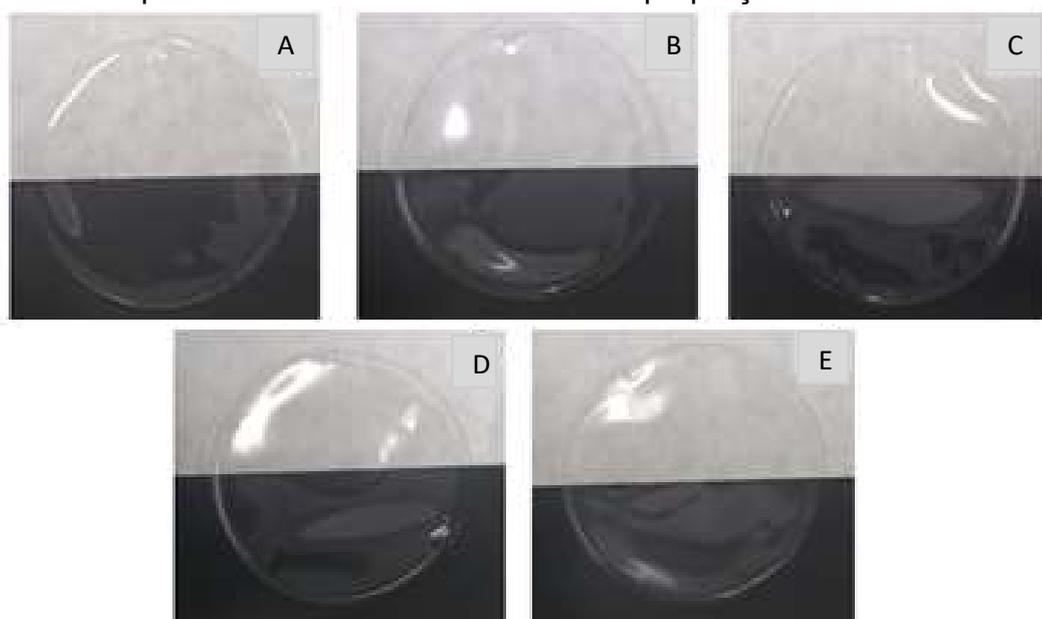
#### 4.4 Caracterização dos filmes

##### Análise visual

Com base nos resultados encontrados, observou-se que o método de *casting-solving* foi adequado para o objetivo proposto, pois caracteriza-se como uma técnica simples e rápida, passível de reprodução em grande escala (DUTRA, 2017).

No que diz respeito à análise visual dos filmes formados (Figura 23), os mesmos se mostraram praticamente incolores, transparentes, brilhantes e isentos de domínios (característica presente em sistemas onde ocorre separação de fases). Os filmes foram de fácil remoção dos moldes, mantendo-se íntegros.

Figura 23 – Imagens representativas dos filmes preparados a partir do PVA puro e das blendas com diferentes proporções de ER



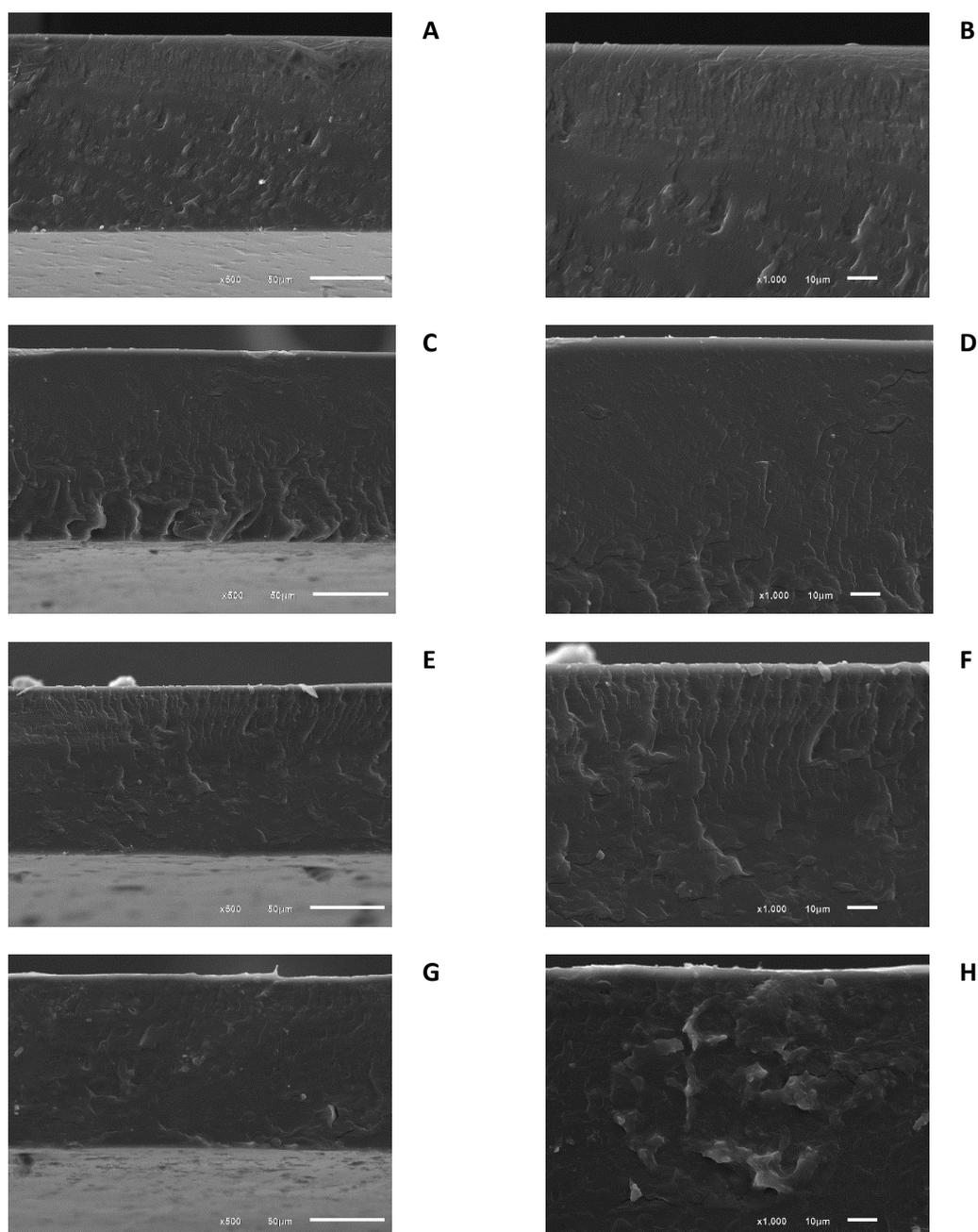
Imagens dos filmes: A - PVA puro; B - PVA:ER 9:1; C - PVA:ER 8:2; D - PVA:ER 7:3; E - PVA:ER 6:4, observando-se aspecto praticamente incolor, transparente, brilhante, além de ausência de domínios

FONTE: o autor

### Microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas por MEV permitem avaliar a morfologia e a homogeneidade dos filmes. A avaliação das imagens de superfície evidenciou que todos os filmes apresentaram aspecto homogêneo, íntegros e que não houve separação de fases, o que foi corroborado pelas fotomicrografias de fratura (Figuras 24 e 25). Nestas, é

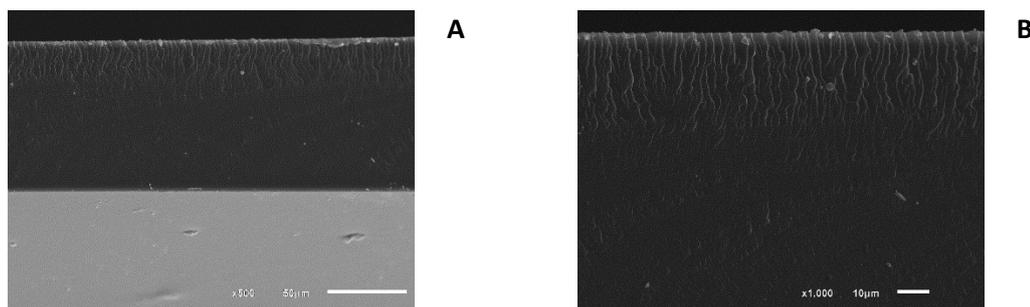
Figura 24 – Fotomicrografias de MEV da fratura dos filmes (blendas de PVA e ER)



Fotomicrografias dos filmes: A e B - PVA:ER 9:1; C e D - PVA:ER 8:2; E e F - PVA:ER 7:3; G e H - PVA:ER 6:4; observando-se aspecto homogêneo, integridade e ausência de separação de fases; A,C, E e G - aumento de 500 vezes; B, D, F e H - aumento de 1000 vezes

FONTE: o autor

Figura 25 – Fotomicrografias de MEV da fratura do filme de PVA puro



Fotomicrografias dos filmes de PVA puro, observando-se aspecto homogêneo e íntegro;  
 A - aumento de 500 vezes; B - aumento de 1000 vezes  
 FONTE: o autor

possível observar a presença de uma só fase, denotando a existência de interações e boa compatibilidade entre os polímeros das blendas. Não foram observadas regiões com formação de domínios.

### Propriedades de barreira

Um parâmetro importante a ser considerado para os filmes poliméricos no preparo de coberturas bioativas é a capacidade dos mesmos de controlar o balanço de umidade na interface da ferida. O excesso de exsudatos deve ser absorvido, evitando a degradação do tecido circundante e o crescimento de microrganismos. Por outro lado, não deve ocorrer perda excessiva de umidade e ressecamento da ferida. A manutenção do nível adequado de umidade na interface entre a ferida e o curativo é crítica para uma cicatrização eficaz (BOATENG, 2008; MCCOLL; CARLIDGE; CONNOLLY; 2007). O controle da hidrofiliicidade e da solubilidade dos filmes são os principais fatores que despertam o interesse na preparação de blendas entre o PVA e polímeros naturais como o amido (TIAN *et al.*, 2017). Neste sentido, a funcionalidade das coberturas está relacionada a suas propriedades de barreira, caracterizadas pela molhabilidade, espessura, grau de intumescimento, solubilidade e permeabilidade ao vapor d'água. Os valores obtidos na determinação destes parâmetros são dados nas Tabelas 14 e 15.

A molhabilidade descreve a capacidade de uma superfície se molhar por um líquido e pode ser definida como a manifestação macroscópica das interações moleculares na interface superfície / líquido. Há uma competição entre as forças de coesão presentes no líquido (que tendem a proporcionar a forma de uma gota

esférica) e as forças de adesão entre a superfície e o líquido (que tendem a espalhar o líquido sobre a superfície). Quando o líquido é a água, a molhabilidade pode ser caracterizada como hidrofiliidade (DUTRA *et al.*, 2017). É um parâmetro importante que afeta várias propriedades dos biomateriais, como a absorção de água, a bioadesão e a interação celular. O ângulo de contato ( $\phi$ ) de um material fornece informações sobre a sua molhabilidade, sendo um parâmetro que permite descrever a interação entre os dois materiais. Considera-se que, quando  $\phi < 30^\circ$ , a superfície é molhada totalmente; quando o ângulo de contato encontra-se entre  $30^\circ < \phi < 90^\circ$ , a superfície é considerada como parcialmente molhável; quando o  $\phi \geq 90^\circ$ , a superfície é definida como negligênciavelmente molhada e, quando  $\phi \geq 180^\circ$ , a superfície não é molhada (KARBOWIAK; DEBEAUFORT; VOILLEY, 2006). Já foi evidenciado que as células aderem e se espalham mais efetivamente em superfícies com hidrofiliidade adequada em comparação com as superfícies hidrofóbicas. Estudos demonstraram que superfícies moderadamente molháveis fornecem fortes interações célula-substrato e célula-célula que induzem a uma melhor regeneração tecidual (GÜNEŞ e TIHMINLIOĞLU, 2017).

Tabela 14 – Ângulo de contato, trabalho de adesão e espalhabilidade do PBS sobre os filmes

Amostra	$\theta$ (graus) (10 s)	Trabalho de adesão (mN/M)	Espalhamento (mN/m)
PVA puro	36,93 ( $\pm 4,72$ )	130,89 ( $\pm 3,46$ )	- 14,71 ( $\pm 3,46$ )
PVA:ER 9:1	34,47 ( $\pm 3,22$ )	132,69 ( $\pm 2,32$ )	- 12,84 ( $\pm 2,32$ )
PVA:ER 8:2	59,23 ( $\pm 1,33$ )	110,05 ( $\pm 1,43$ )	- 35,55 ( $\pm 1,43$ )
PVA:ER 7:3	41,64 ( $\pm 6,68$ )	126,94 ( $\pm 5,73$ )	- 18,66 ( $\pm 5,73$ )
PVA:ER 6:4	42,48 ( $\pm 3,38$ )	126,44 ( $\pm 2,98$ )	- 19,16 ( $\pm 2,98$ )

Valores expressos em média  $\pm$  DP

A literatura relata valores de  $\phi$  em torno de  $80^\circ$  a  $90^\circ$  para filmes de PVA puro. No presente trabalho, o valor encontrado foi de aproximadamente  $37^\circ$ , o que pode estar relacionado ao preparo do filme na presença de glicerina. Para o filme contendo 10% da dispersão de ER o valor foi semelhante (aproximadamente  $35^\circ$ ). Em ambos os casos, a diminuição do ângulo em relação ao PVA puro pode ser devido à presença de maior número de grupos -OH da glicerina e do amido na superfície dos filmes, já

que as hidroxilas podem permanecer disponíveis para a formação de ligações de hidrogênio com a água (LEWU; ADEBOLA; AFOLAYAN, 2009). Para os demais, a presença de ER nos filmes proporcionou aumento do ângulo de contato, sendo que para o filme contendo 20% da dispersão de ER (PVA:ER 8:2) foi observado o maior valor (Tabela 14). Uma explicação possível seria a ocorrência de uma proporção ótima dos materiais nesta blenda, nesse caso as hidroxilas do amido estariam envolvidas apenas em ligações intramoleculares e não estariam disponíveis para formar ligações de hidrogênio. Além disso, outros fatores interferem na molhabilidade, como presença de porosidade e rugosidade na superfície dos filmes (DUTRA *et al.*, 2017). Esses fatores não foram avaliados neste trabalho. Porém, todos os filmes se mostraram moderadamente hidrofílicos.

Espalhamento (S) e trabalho de adesão (AW) também são parâmetros indicativos da afinidade entre uma superfície e um líquido. O espalhamento fornece a medida da diferença entre o trabalho de coesão presente no líquido e a energia de adesão entre a superfície e o líquido. Quando AW supera o trabalho de coesão, o valor de S é positivo e o líquido se espalha completamente no sólido. Quando o trabalho de coesão supera o trabalho de adesão, o valor S é negativo e o espalhamento é parcial (SRIAMORNSAK *et al.*, 2008). Trabalhos de adesão maiores e conseqüentemente, menor espalhabilidade, são vistos em superfície mais hidrofílicas. Os valores de AW e S obtidos seguiram a mesma tendência observada na determinação do ângulo de contato.

Tabela 15 – Espessura, índice de intumescimento (Q%), solubilidade (ML%) e taxa de transmissão de vapor d'água (TPVA)

Amostra	Espessura (mm)	Q (%) (60 min)	ML (%) (48 h)	TPVA (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )
PVA PURO	0,151 (± 0,029)	90,64 (± 4,46)	- 15,44 (± 0,11)	414,91 (± 85,98)
PVA:ER 9:1	0,151 (± 0,032)	93,16 (± 3,89)	- 14,55 (± 0,50)	455,04 (± 83,19)
PVA:ER 8:2	0,125 (± 0,029)	93,05 (± 6,13)	- 18,27 (± 1,71)	636,27 (± 71,08)
PVA:ER 7:3	0,118 (± 0,020)	105,64 (± 8,72)	- 21,20 (± 0,63)	501,73 (± 7,51)
PVA:ER 6:4	0,100 (±0,011)	108,35 (± 4,24)	- 17,33 (± 0,50)	730,30 (± 117,08)

Valores expressos em média ± DP

Outro parâmetro importante a ser considerado é a espessura dos filmes obtidos, pois, esta influencia no inchamento, na solubilidade e na taxa de permeabilidade ao vapor d'água das coberturas formadas (GALDEANO *et al.*, 2013). Na avaliação da espessura, observou-se que esta diminuiu nos filmes obtidos a partir das blendas e que o aumento no teor de ER nas amostras provocou a diminuição da espessura dos filmes (Tabela 15). Esta redução pode ser correlacionada ao empacotamento das cadeias poliméricas nos filmes em função do grande número de grupos OH disponíveis e, pela presença de amilose nas blendas, material com natureza tipicamente linear. Aboubakar e colaboradores (2007), encontraram teores de amilose em torno de 25% no amido do taro.

O índice de intumescimento (Q%) está relacionado a quantidade de água absorvida pelo filme em relação ao seu peso seco, quando imerso no meio de estudo por um determinado tempo. Portanto, influi na capacidade de absorção de fluidos e exsudatos pelo filme, fator essencial para o controle da umidade na ferida, favorecendo a regeneração dos tecidos. O grau ideal de intumescimento para curativos depende principalmente do tipo e da condição da ferida (GÜNEŞ e TIHMINLIOĞLU, 2017). Observou-se aumento de Q% em função do aumento do teor de ER nas blendas. Os filmes contendo 30 e 40% da dispersão de ER (PVA:ER 7:3 e PVA:ER 6:4, respectivamente) apresentaram as maiores proporções de inchamento (Tabela 15). Esse comportamento pode ser correlacionado com a presença de maior número de grupos -OH do amido na superfície desses filmes, já que as hidroxilas podem permanecer disponíveis para a formação de ligações de hidrogênio com a água (LEWU; ADEBOLA; AFOLAYAN, 2009).

O ensaio de solubilidade quantifica a perda de massa pelos filmes após permanência durante 48 horas no meio líquido. A solubilidade dos filmes está relacionada a sua afinidade pela água e também à interação entre as moléculas dos polímeros constituintes. Embora, como já mencionado anteriormente, seja desejável um grau razoável de hidrofiliçidade para a eficácia dos curativos, por outro lado uma alta solubilidade resulta em perda de material e desagregação do filme. Quanto menor a solubilidade, maior a possibilidade de manutenção da integridade do filme durante o uso. A solubilidade variou entre 14,5 e 21,2% (Tabela 15), sendo que o filme contendo 30% da dispersão de ER apresentou a maior perda de massa (21,2%). Filmes preparados a partir de PVA puro, com grau de hidrólise superior a 98% e alta massa molar, são insolúveis em água a temperatura ambiente (DUTRA *et al.*, 2017).

De forma geral, a presença do extrato provocou o aumento da perda de massa, porém não foi possível correlacionar o aumento da solubilidade em função do aumento do teor de ER nos filmes. A adição de ER pode ter contribuído para o aumento da hidrofiliabilidade da superfície dos filmes, favorecendo o contato com meio aquoso e a cisão das cadeias poliméricas, com perda de massa, após um longo tempo de contato (48 h) com o meio de dissolução. Cabe destacar que todos os filmes testados se mantiveram íntegros durante a realização de todos os ensaios, característica requerida para o uso como coberturas.

A permeabilidade ao vapor d'água é uma propriedade importante para as coberturas, pois tanto o acúmulo de líquidos, como também a sua perda excessiva, podem prejudicar o processo de cicatrização e reparo dos tecidos. Portanto, um delicado equilíbrio de umidade é requerido. Neste sentido, a produção de um curativo semipermeável é desejável (GÜNEŞ e TIHMİNLIOĞLU, 2017). A permeabilidade está relacionada a outros parâmetros, como o intumescimento e a espessura. Espera-se que filmes com maior capacidade de inchamento capturem maior teor de vapor d'água, transmitindo-o para o meio e saturando-o. Já o aumento da espessura diminui a permeabilidade ao vapor d'água (HU *et al.*, 2001). A taxa de permeabilidade ao vapor d'água relatada para a pele normal é de 204 g.g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>. A medida da TPVA para coberturas comercializadas é disponível, sendo relatados valores que variam de 139 a 10973 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>, dependendo dos materiais utilizados e das finalidades de aplicação (SOOD; GRANICK; TOMASELLI, 2014). A presença do ER provocou aumento da permeabilidade (Tabela 15), sendo a maior TPVA obtida para o filme contendo 40% da dispersão de ER (730,3 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>). O aumento no índice de inchamento proporcionado pelo aumento de ER contribui para o aumento de TPVA dos filmes, devido a maior captura de água. De modo geral, os maiores valores de permeabilidade foram observados nos filmes de menor espessura, o que está em conformidade com relatos da literatura. Para o filme contendo 30% da dispersão de ER (PVA:ER 7:3) foi obtido um resultado anômalo.

Avaliando-se os testes realizados, observou-se que o filme contendo 40% da dispersão de ER apresentou características vantajosas em relação aos demais, como menor espessura, maior índice de intumescimento e taxa de transmissão de vapor d'água, além de valores de ângulo de contato e solubilidade compatíveis ao uso como cobertura para feridas. Além disso, dentre as blendas testadas, é a que possui maior

proporção do polímero natural, o que é desejável, pois trata-se de um insumo obtido a partir de fontes renováveis, facilmente disponível e com baixo custo.

## 5. CONCLUSÕES

Os extratos das partes aéreas e dos rizomas de *C. esculenta* apresentaram perfil cromatográfico em CCD, teor de fenóis totais e de flavonoides totais compatíveis aos relatados pela literatura.

Na avaliação da atividade cicatrizante em ensaio animal, a análise macroscópica das áreas das lesões não evidenciou efeito significativo dos extratos de *C. esculenta* no ICU; embora tenha sido observada uma tendência de maiores médias de ICU para os grupos C+, ER e EPA, aos 14 dias após a indução das lesões. A análise histológica evidenciou efeitos benéficos dos extratos no reparo das lesões, incluindo modulação da reação inflamatória aos 14 dias pelo grupo EPA; maior fibroplasia, grau de regeneração e qualidade dos tecidos e menor infiltrado inflamatório nos grupos ER e EPA, aos 21 dias. É provável que os efeitos observados no presente estudo estejam relacionados aos compostos bioativos encontrados em *C. esculenta*, como flavonoides, proteínas, polissacarídeos e mucilagens.

Foi possível preparar filmes baseados no PVA contendo extrato liofilizado dos rizomas de taro (ER) pelo método de *casting-solving*, com ótimas características de aspecto visual, flexibilidade e resistentência ao manuseio. O filme de PVA contendo 40% da dispersão de ER apresentou as melhores propriedades dentre as blendas testadas. A análise conjunta dos parâmetros avaliados sugere que o mesmo é útil para o preparo de coberturas bioativas; além de ter a maior porcentagem do polímero natural, o que é vantajoso do ponto de vista do custo e da sustentabilidade.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABOUBAKAR, Y. N.; NJINTANG, J.; SCHER, C. M. F.; MBOFUNG. Physicochemical, thermal properties and microstructure of six varieties of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) flours and starches. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 294-305, 2008.
- AGYARE, C.; ASASE, A.; LECHTENBERG, M.; NIEHUES, M.; DETERS, A., HENSEL, A. An ethnopharmacological survey and *in vitro* confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p.393-403, 2009.
- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: a review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 2, p. 105-121, 2015.
- AMAL, B.; VEENA, B.; JAYACHANDRAN, V. P.; SHILPA, J. Preparation and characterisation of *Punica granatum* pericarp aqueous extract loaded chitosan-collagen-starch membrane: role in wound healing process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 5, p. 181, 2015.
- AMMAR, I.; BARDAA, S.; MZID, M.; SAHNOUN, Z.; REBAII, T.; ATTIA, H.; ENNOURI, M. Antioxidant, antibacterial and *in vivo* dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 483-490, 2015.
- ANDRADE, L. A. Mucilagem do rizoma de taro: técnicas de extração e de caracterizações físicas e químicas. Orientador: Joelma Pereira. 2016. 88 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- ANDRADE, L. A.; NUNES, C. A.; PEREIRA, J. Relationship between the chemical components of taro rhizome mucilage and its emulsifying property. **Food Chemistry**, v. 178, p. 331–338, 2015.
- AROCKIANATHAN, P. M.; SEKAR, S.; SANKAR, S.; KUMARAN, B.; SASTRY, T. P. Evaluation of biocomposite films containing alginate and sago starch impregnated with silver nano particles. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 1, p. 717-724, 2012.
- ÁVILA, A.; BIERBRAUER, K.; PUCCI, G.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, M.; STRUMIA, M. Study of optimization of the synthesis and properties of biocomposite films based on grafted chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 4, p. 752-761, 2012.
- BAGHAIE, S.; KHORASANI, M. T.; ZARRABI, A.; MOSHTAGHIAN, J. Wound healing properties of PVA/starch/chitosan hydrogel membranes with nano zinc oxide as antibacterial wound dressing material. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 28, n. 18, p. 2220-2241, 2017.

BAHRAMSOLTANI, R. et al. Evaluation of phytochemicals, antioxidant and burn wound healing activities of *Cucurbita moschata* Duchesne fruit peel. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 20, n. 7, p. 798-805, 2017.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

BANKOTI, K.; RAMESHBABU, A. P.; DATTA, S.; MAITY, P. P.; GOSWAMI, P.; DATTA, P.; DHARA, S. Accelerated healing of full thickness dermal wounds by macroporous waterborne polyurethane-chitosan hydrogel scaffolds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 81, p. 133-143, 2017.

BEHERA, S. S.; DAS, U.; KUMAR, A.; BISSOYI, A.; SINGH, A. K. Chitosan/TiO<sub>2</sub> composite membrane improves proliferation and survival of L929 fibroblast cells: application in wound dressing and skin regeneration. **International journal of biological macromolecules**, v. 98, p. 329-340, 2017.

BOATENG, J. S.; MATTHEWS, K. H.; STEVENS, H. N. E.; ECCLESTON, G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 8, p. 2892-2923, 2008.

BOATENG, J.; CATANZANO, O. Advanced therapeutic dressings for effective wound healing - a review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 11, p. 3653-3680, 2015.

BOBAN, P. T.; NAMBISAN, B.; SUDHAKARAN, P. R. Hypolipidaemic effect of chemically different mucilages in rats: a comparative study. **British Journal of Nutrition**, v. 96, p.1021–1029, 2006.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira v.1**. 5 ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546 p.

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

BRASILEIRO FILHO, G. (Ed.). **Bogliolo Patologia Geral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2009. 364 p.

**BRITISH PHARMACOPOEIA 2013**. British Pharmacopoeia Commission. London: Stationery Office, 2012, 8000 p.

BROUSSARD, K. C.; POWERS, J. G. Wound dressings: selecting the most appropriate type. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 14, n. 6, p. 449-459, 2013.

CAETANO, K. S.; FRADE, M. A. C.; MINATEL, D. G.; SANTANA, L. Á.; ENWEMEKA, C. S. Phototherapy improves healing of chronic venous ulcers. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 1, p. 111-118, 2009.

- CALIXTO, J. B.; SCHEIDT, C.; OTUKI, M.; SANTOS, A. R. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. **Expert Opinion of Emerging Drugs**, v. 6, n. 2, p. 261-79, 2001.
- CAMPAGNER, M. R.; MORIS, V. A. D. S.; PITOMBO, L. M.; CARMO, J. B. D.; DE PAIVA, J. M. Filmes poliméricos baseados em amido e lignossulfonatos: preparação, propriedades e avaliação da biodegradação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 24, n. 6, p. 740-751, 2015.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n.1, p. 51-58, 2007.
- CANO, A.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physical and antimicrobial properties of starch-PVA blend films as affected by the incorporation of natural antimicrobial agents. **Foods**, v. 5, n. 1, p. 3, 2016.
- CARMO, K. P.; PAIVA, J. M. F. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2377-2386, 2015. Disponível em: < <http://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/1160>>. Acesso em 10 de set. de 2019.
- CARNEIRO, M.; RODRIGUES, C. A.; CASTRO, L. A. B.; SILVA, M. C.; COUTINHO, M. V. Isolation Characterization Of The Major Albumin From *Colocasia esculenta* Corms. **Plant Science**, v. 67, p. 39- 46, 1990.
- CASARIN, S. A. Desenvolvimento e caracterização de blendas e de compostos empregando polímeros biodegradáveis. Orientador: José Augusto Marcondes Agnelli. 2004. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
- CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.
- CHAMPAGNE, A.; HILBERT, G.; LEGENDRE, L.; LEBOT, V. Diversity of anthocyanins and other phenolic compounds among tropical root crops from Vanuatu, South Pacific. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p.315–325, 2011.
- CHANDA, S.; RAKHOLIYA, K.; DHOLAKIA, K.; BARAVALIA, Y. Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: *Terminalia catappa* L. and *Colocasia esculenta* L. **Turkish Journal of Biology**, v. 3, p.81-91, 2013.
- CHEN, J. P.; KUO, C. Y.; LEE, W. L. Thermo-responsive wound dressings by grafting chitosan and poly (N-isopropylacrylamide) to plasma-induced graft polymerization modified non-woven fabrics. **Applied Surface Science**, v. 262, p. 95-101, 2012.
- CHOWDHURY, M. S. H.; KOIKE, M.; MUHAMMED, N.; HALIM, M. A.; SAHA, N.; KOBAYASHI, H. Use of plants in healthcare: a traditional ethnomedicinal practice in rural areas of southeastern Bangladesh. **International Journal of Biodiversity Science & Management**, v. 5, n. 1, p. 41–51, 2009.

CUNHA, A. P. **Farmacognosia e Fitoquímica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005. 670 p.

DA SILVA SOUZA, D. R. Síntese e caracterização de poliuretano à base de Poli (-Caprolactona) reforçado com nanocristais de celulose. Orientador: Fabiano Vargas Pereira. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

DAS, A.; UPPALURI, R.; DAS, C. Feasibility of poly-vinyl alcohol/starch/glycerol/citric acid composite films for wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 998-1007, 2019.

DAUNTON, C.; KOTHARI, S.; SMITH, L.; STEELE, D. A history of materials and practices for wound management. **Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association**, v. 20, n. 4, p. 174, 2012.

DE LUCENA, M. T.; DE MELO JÚNIOR, M. R.; DE MELO LIRA, M. M.; DE CASTRO, C. M. M. B.; CAVALCANTI, L. A.; DE MENEZES, M. A.; DE ANDRADE AGUIAR, J. L. Biocompatibility and cutaneous reactivity of cellulosic polysaccharide film in induced skin wounds in rats. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 2, p. 82, 2015.

DEAN, K. M.; DO, M. D.; PETINAKIS, E.; YU, L. Key interactions in biodegradable thermoplastic starch/poly (vinyl alcohol)/montmorillonite micro-and nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 68, n. 6, p. 1453-1462, 2008.

DIAS, A. B. Desenvolvimento e Caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz. Orientador: João Borges Laurindo. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Florianópolis, 2008.

DI LORENZO, F.; SILIPO, A.; MOLINARO, A.; PARRILLI, M.; SCHIRALDI, C.; D'AGOSTINO, A.; LANZETTA, R. The polysaccharide and low molecular weight components of *Opuntia ficus indica* cladodes: Structure and skin repairing properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 128–136, 2017.

DOMENE-LÓPEZ, D.; GUILLÉN, M. M.; MARTIN-GULLON, I.; GARCÍA-QUESADA, J. C.; MONTALBÁN, M. G. Study of the behavior of biodegradable starch/polyvinyl alcohol/rosin blends. **Carbohydrate polymers**, v. 202, p. 299-305, 2018.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. *Romano*). **Food Chemistry**, v. 64, p.351-359, 1999.

DUTRA, J. A. P.; CARVALHO, S. G., ZAMPIROLI, A. C. D., DALTOÉ, R. D., TEIXEIRA, R. M., CARETA, F. P.; COTRIM, M. A. P.; OREFICE, L. R.; VILLANOVA, J. C. O. Papain wound dressings obtained from poly (vinyl alcohol)/calcium alginate blends as new pharmaceutical dosage form: Preparation and preliminary evaluation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 113, p. 11-23, 2017.

ELEAZU, C. O.; ELEAZU, K. C.; IROAGANACHI, M. A. Effect of cocoyam (*Colocasia esculenta*), unripe plantain (*Musa paradisiaca*) or their combination on glycosylated hemoglobin, lipogenic enzymes, and lipid metabolism of streptozotocin-induced diabetic rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 1, p. 91-97, 2016.

ELEAZU, C. O.; IROAGANACHI, M.; ELEAZU, K. C. Ameliorative potentials of cocoyam (*Colocasia esculenta* L.) and unripe plantain (*Musa paradisiaca* L.) on the relative tissue weights of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Diabetes Research**, v. 2013, p. 1-8, 2013.

ESKANDARINIA, A.; KEFAYAT, A.; RAFIENIA, M.; AGHEB, M.; NAVID, S.; EBRAHIMPOUR, K. Cornstarch-based wound dressing incorporated with hyaluronic acid and propolis: *In vitro* and *in vivo* studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 216, p. 25-35, 2019.

FERREIRA, J. C.; DE SOUZA, M. V.; VILÓRIA, M. I. V.; DE FONSECA, E. F.; DE SOUZA VIANNA, M. W.; COSTA, J. C. M. Efeitos da monofenilbutazona em eqüinos cicatrização por segunda intenção. **Ceres**, v. 54, n. 313, 2015.

FERRERES, F.; GONÇALVES, R. F.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; SILVA, A. M. S. SILVA, J. B.; SANTOS, D.; ANDRADE, P. B. Further knowledge on the phenolic profile of *Colocasia esculenta* (L.) Shott. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 60, p. 7005–7015, 2012.

FERRERO, D. **Fitoterapia: Conceitos Clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 502 p.

FLORES, S. K.; COSTA, D.; YAMASHITA, F.; GERSCHENSON, L. N.; GROSSMANN, M. V. Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, n. 1, p. 196-202, 2010.

FOLLAIN, N.; JOLY, C.; DOLE, P.; BLIARD, C. Properties of starch based blends. Part 2. Influence of poly vinyl alcohol addition and photocrosslinking on starch based materials mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 2, p. 185-192, 2005.

FONSECA, F. P. (Org.); SAVASSI-ROCHA, P. R. (Org.) **Cirurgia ambulatorial**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara-Koogan, 1999. 667p.

GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Influence of thickness on properties of plasticized oat starch films. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 4, p. 637-644, 2013.

GARROS, I. D. C.; CAMPOS, A. C. L.; TÂMBARA, E. M.; TENÓRIO, S. B.; TORRES, O. J. M.; AGULHAM, M. Â.; ARRUDA, E. C. D. M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. supl. 3, p. 55-65, 2006.

GHAFOURIAN, M.; TAMRI, P.; HEMMATI, A. Enhancement of human skin fibroblasts proliferation as a result of treating with quince seed mucilage. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 10, n. 1, e18820, 2015.

GONÇALVES, R. F.; SILVA, A. M. S.; SILVA, A. M.; VALENTÃO, P.; FERRERES, F.; GIL-IZQUIERDO, A.; SILVA, J. B.; SANTOS, D.; ANDRADE, P. B. Influence of taro (*Colocasia esculenta* L. Shott) growth conditions on the phenolic composition and biological properties. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3480-3485, 2013.

GÜNEŞ, S.; TIHMİNLİOĞLU, F. Hypericum perforatum incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 933-943, 2017.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic wound healing: A review of current management and treatments. **Advances in Therapy**, v. 34, p. 599-610, 2017.

HANANEH, W. M.; ISMAIL, Z. B.; ALSHEHABAT, M. A. Review of animal models used to study effects of bee products on wound healing: findings and applications. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 59, p. 425-431, 2015.

HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. **The flavonoids**. London: Chapman and Hall, 1204 p., 1975.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HERALD, T. J.; GADGIL, P.; TILLEY, M. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 11, p. 2326-2331, 2012.

HONG KONG HERBARIUM. *Colocasia esculenta*. Disponível em: <<http://www.herbarium.gov.hk/SubpagesImage.aspx?id=41113&type=illustration>>. Acesso em 31 de out. 2018.

HORN, M. M. Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades. Orientador: Ana Maria de Guzzi Plepis. 2012. 147 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012

HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 36, p. 667-685, 2006.

HU, Y.; TOPOLKARAEV, V.; HILTNER, A.; BAER, E. Measurement of water vapor transmission rate in highly permeable films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 81, n. 7, p. 1624-1633, 2001.

INOUE, K. C.; MATSUDA, L. M. Cost-effectiveness of two types of dressing for prevention of pressure ulcer. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 28, n. 5, p. 415-419, 2015.

ISMAIL, H.; ZAABA, N. F. Effect of additives on properties of polyvinyl alcohol (PVA)/tapioca starch biodegradable films. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 50, n. 12, p. 1214-1219, 2011.

JANI, G. K.; SHAH, D. P.; PRAJAPATI, V. D.; JAIN, V. C. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 308-322, 2009.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; KUMAR, P. S.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. I. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 322-337, 2011.

JIANG, X.; LI, H.; LUO, Y.; ZHAO, Y.; HOU, L. Studies of the plasticizing effect of different hydrophilic inorganic salts on starch/poly (vinyl alcohol) films. **International journal of biological macromolecules**, v. 82, p. 223-230, 2016.

JUNLAPONG, K.; BOONSUK, P.; CHAIBUNDIT, C.; CHANTARAK, S. Highly water resistant cassava starch/poly (vinyl alcohol) films. **International journal of biological macromolecules**, v. 137, p. 521-527, 2019.

JUNIOR, J. A.O.; SHIOTA, L. M.; CHIAVACCI, L. A. Desenvolvimento de formadores de filmes poliméricos orgânico-inorgânico para liberação controlada de fármacos e tratamento de feridas. **Revista Matéria**, v. 19, n. 1, p. 24-32, 2014.

JUNIOR, J.; FERREIRA, M.; ALESSI, M.; NAKAMOTO, H.; JUNIOR, P. Estudo comparativo entre filme transparente de poliuretano e curativo de rayon para cobertura de área doadora de enxertos de pele parcial. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 24, n. 4, p. 466-470, 2001.

KAI, H.; AKAMATSU, E.; TORII, E.; KODAMA, H.; YUKIZAKI, C.; SAKAKIBARA, Y.; SUIKO, M.; MORISHITA, K.; KATAOKA, H.; MATSUNO, K. Inhibition of proliferation by agricultural plant extracts in seven human adult T-cell leukaemia (ATL)-related cell lines. **Journal of Natural Medicines**, v. 65, p. 651–655, 2011.

KALARIYA, M.; PARMAR, S.; SHETH, N. Neuropharmacological activity of hydroalcoholic extract of leaves of *Colocasia esculenta*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 11, p. 1207–1212, 2010.

KALARIYA, M.; PRAJAPATI, R.; PARMAR, S. K.; SHETH, N. Effect of hydroalcoholic extract of leaves of *Colocasia esculenta* on marble-burying behavior in mice: Implications for obsessive–compulsive disorder. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 8, p.1239-42, 2015.

KAMOUN, E. A.; KENAWY, E. S.; TAMER, T. M.; EL-MELIGY, M. A.; ELDIN, M. S. M. Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: characterization and bio-evaluation. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 38-47, 2015.

KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Importance of surface tension characterization for food, pharmaceutical and packaging products: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 5, p. 391-407, 2006.

KOGA, A. Y.; PEREIRA, A. V.; LIPINSKI, L. C.; OLIVEIRA, M. R. Evaluation of wound healing effect of alginate films containin g Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 32, n. 9, p. 1212-1221, 2018.

- KUMAR, V. *et al.* **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1458 p.
- KUMOROA, A. C.; PUTRIB, D. A.; BUDIYATIA, C. S.; RETNOWATIA, D. S.; RATNAWATIA, D. S. Kinetics of Calcium Oxalate Reduction in Taro (*Colocasia esculenta*) Corm Chips during Treatments Using Baking Soda Solution. **Procedia Chemistry**, v. 9, p. 102 – 112, 2014.
- LEE, C. H.; SINGLA, A.; LEE, Y. Biomedical applications of collagen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 221, n. 1-2, p. 1-22, 2001.
- LEE, K. Y.; MOONEY, D.J. Alginate: properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106-126, 2012.
- LEONG, A. C. N.; KINJO, Y.; TAKO, M.; IWASAKI, H.; OKU, H., TAMAKI, H. Flavonoid glycosides in the shoot system of Okinawa Taumu (*Colocasia esculenta* S.). **Food Chemistry**, v. 119, p. 630–635, 2010.
- LEWU, M. N.; ADEBOLA, P. O.; AFOLAYAN, A. J. Effect of cooking on the proximate composition of seven accessions of *Colocasia esculenta* (L.) Schott tubers growing in South Africa. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n.4, p. 81-86, 2009.
- LI, H. M.; HWANG, S. H.; KANG, B. G.; HONG, J. S.; LIM, S. S. Inhibitory Effects of *Colocasia esculenta* (L.) Schott Constituents on Aldose Reductase. **Molecules**, v. 19, p.13212-13224; 2014.
- LI, H.; DONG, Z.; LIU, X.; CHEN, H.; FLAI, F.; ZHANG, M. Structure characterization of two novel polysaccharides from *Colocasia esculenta* (taro) and a comparative study of their immunomodulatory activities. **Journal of Functional Foods**, v. 42, p. 47-57, 2018.
- LIAKOS, I.; RIZZELLO, L.; SCURR, D. J.; POMPA, P. P.; BAYER, I. S.; ATHANASSIOU, A. All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 137-145, 2014.
- LIN, H.; HUANG, A. S. Chemical composition and some physical properties of a water-soluble gum in taro (*Colocasia esculenta*). **Food Chemistry**, v. 48, p. 403-409, 1993.
- LIPTAK, J. M. An overview of the topical management of wounds. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 6, p. 408-413, 1997.
- LIU, J.; LI, Q.; SU, Y.; YUE, Q.; GAO, B.; WANG, R. Synthesis of wheat straw cellulose-g-poly (potassium acrylate)/PVA semi-IPNs superabsorbent resin. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 539-546, 2013.
- LIU, Y.; NIELSEN, M.; STAERK, D.; JÄGE, A. K. High-resolution bacterial growth inhibition profiling combined with HPLC–HRMS–SPE–NMR for identification of antibacterial constituents in Chinese plants used to treat snakebites. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, p.1276-1283, 2014.

LIVSHITS, V. S. Polymer dressings for wounds and burns. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 22, n. 7, p. 515-522, 1988.

MATOUSEK, J. L.; CAMPBELL, K. L. A comparative review of cutaneous pH. **Veterinary Dermatology**, v. 13, p. 293-300, 2002.

MCCOLL, D.; CARTLIDGE, B.; CONNOLLY, P. Real-time monitoring of moisture levels in wound dressings *in vitro*: An experimental study. **International Journal of Surgery**, v. 5, n. 5, p. 316-322, 2007.

MERGEDUS, A.; KRISTL, J.; IVANCIC, A.; SOBER, A.; SUSTAR, V.; KRIZAN, T.; LEBOT, V. Variation of mineral composition in different parts of taro (*Colocasia esculenta*) corms. **Food Chemistry**, v. 170, p. 37-46, 2015.

MIJINYAWA, A. H.; DURGA, G.; MISHRA, A. Isolation, characterization, and microwave assisted surface modification of *Colocasia esculenta* (L.) Schott mucilage by grafting polylactide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 1090-1097, 2018.

MOGOŞANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127-136, 2014.

MORTON, J. F. Mucilaginous plants and their uses in medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 3, p. 245-266, 1990.

MOUSAVI, S.; KHOSHFETRAT, A. B.; KHATAMI, N., AHMADIAN, M.; RAHBARGHAZI, R. Comparative study of collagen and gelatin in chitosan-based hydrogels for effective wound dressing: Physical properties and fibroblastic cell behavior. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 518, n.4, p. 625-631, 2019.

MUÑOZ-CUERVOA, I.; MALAPAD, R.; MICHALETA, S.; V LEBOTE, V.; LEGENDREA, L. Secondary metabolite diversity in taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, corms. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 52, p. 24-32, 2016.

NANJUNDA, D. C. Ethno-medico-botanical Investigation of *Jenu Kuruba* Ethnic Group of Karnataka State, India. **Bangladesh Journal of Medical Science**, v. 9, n. 3, p. 161-169. 2010.

NJINTANG, N. Y; TBOUDJEKO, T.; TATSADJIEU, L. N.; NGUEMA-ONA, E.; SCHER, J.; MBOFUNG, C. M. F. Compositional, spectroscopic and rheological analyses of mucilage isolated from taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) corms. **Journal Food Science Technology**, v. 51, n. 5, p. 900–907, 2014.

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

OSCARSSON, K. V.; SAVAGE, G. P. Composition and availability of soluble and insoluble oxalates in raw and cooked taro (*Colocasia esculenta* var. Schott) leaves. **Food Chemistry**, v. 101, p. 559-562, 2007.

PAL, K.; BANTHIA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Preparation of transparent starch based hydrogel membrane with potential application as wound dressing. **Trends in Biomaterial and Artificial Organs**, v. 20, n. 1, p. 59-67, 2006.

PARENTEAU-BAREIL, R.; GAUVIN, R.; BERTHOD, F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. **Materials**, v. 3, n. 3, p. 1863-1887, 2010.

PELLISSARI, F. M.; GROSSMANN, M. V.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E. A. G. I. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009.

PELLA, M. C.; LIMA-TENÓRIO, M. K.; TENORIO-NETO, E. T.; GUILHERME, M. R.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Chitosan-based hydrogels: from preparation to biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 233-245, 2018.

PEREIRA, P. R.; AGUILA, E. M. D.; VERÍCIMO, M. A.; ZINGALI, R. B. Purification and characterization of the lectin from taro (*Colocasia esculenta*) and its effect on mouse splenocyte proliferation *in vitro* and *in vivo*. **Protein Journal**, v. 33, p. 92-99, 2014.

PEREIRA, P. R.; SILVA, J. T.; VERÍCIMO, M. A.; PASCHOALIN, V. M. F.; TEIXEIRA, G. A. P.B. Crude extract from taro (*Colocasia esculenta*) as a natural source of bioactive proteins able to stimulate haematopoietic cells in two murine models. **Journal of Functional Foods**, v 18, p. 333-343, 2015a.

PEREIRA, P. R.; WINTER, H. C.; VERÍCIMO, M. A.; MEAGHER, J. L.; STUCKEY, J. A.; GOLDSTEIN, I. J.; PASCHOALIN, V. M. F.; SILVA, J. T. Structural analysis and binding properties of isoforms of tarin, the GNA-related lectin from *Colocasia esculenta*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1854, p. 20-30, 2015b.

PRIYA, B.; GUPTA, V. K.; PATHANIA, D.; SINGHA, A. S. Synthesis, characterization and antibacterial activity of biodegradable starch/PVA composite films reinforced with cellulosic fibre. **Carbohydrate polymers**, v. 109, p. 171-179, 2014.

REIS, A. B.; NOLETTO, A. P. R. Taxa de permeabilidade ao vapor d'água: influência da concentração de solução de quitosana aplicada como revestimento em folhas de papel Kraft. **Revista Vozes dos Vales: Publicações Acadêmicas**, 2015. v.4, n. 8, p. 1-19, 2015.

REIS, G. D. Avaliação da atividade biológica do Taro [(*Colocasia esculenta* (L.) Schott)] no ensaio de letalidade com *Artemia salina* Leach, no teste antifúngico de microdiluição em caldo e na hipercolesterolemia em coelhos. Orientador: Tanus Jorge Nagem. 2011. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal De Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

SAENPHOOM, P.; CHIMTONG, S.; SPHIPHATKITPHAISANA, S.; SOMSRIA, S. Improvement of Taro Leaves Using Pre-treated Enzyme as Prebiotics in Animal Feed. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 11, p. 65-70, 2016.

SALAVE, A. P.; REDDY, P. G.; DIWAKAR, P. G. Ethnopharmaceutical Claims by the Vanjaris from Pathardi Tahasil in Ahmednagar District (M.S.) India. **Asian Journal Experimental Biological Sciences**, v. 2, n.1, 69-74, 2011.

SALMAN, S. A.; BAKR, N. A.; HUMAD, H. T. Section C: Physical Sciences DSC and TGA Properties of PVA Films Filled with Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> .5H<sub>2</sub>O Salt. **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, v. 8, n. 2, p.1-11, 2018.

SAMPAIO, W. C.; DE CARVALHO, L. A. N.; BRETTAS, M. L. Avanços no desenvolvimento de biomateriais visando tratamento de feridas crônicas. **Hegemonia Revista Eletrônica do Centro Universitário UNIEURO**, n. 25 (Especial), p. 70-105, 2018. Disponível em: <[http://www.unieuro.edu.br/sitenovo/revistas/revista\\_hegemonia\\_25/W%20C%20Sampaio%20\(5\).pdf](http://www.unieuro.edu.br/sitenovo/revistas/revista_hegemonia_25/W%20C%20Sampaio%20(5).pdf)>. Acesso em 14 de set. de 2019.

SANCHO, R. A. S.; SOUZA, J. D. R. P.; LIMA, F. A.; PASTORE, G. M. Evaluation of oligosaccharide profiles in selected cooked tubers and roots subjected to *in vitro* digestion. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 270-277, 2017

SEFA-DEDEH, S.; AGYIR-SACKEY. E. K. Chemical composition and the effect of processing on oxalate content of cocoyam *Xanthosoma sagittifolium* and *Colocasia esculenta* cormels. **Food Chemistry**, v. 85, p. 479-487, 2004.

SEKISUI Specialty Chemicals. SelvolPVOH\_Brochure\_EN.pdf. Disponível em: <[https://www.sekisui-sc.com/wp-content/uploads/SelvolPVOH\\_Brochure\\_EN.pdf](https://www.sekisui-sc.com/wp-content/uploads/SelvolPVOH_Brochure_EN.pdf)>. Acesso em 15 de set. de 2019.

SHARMA, P.; MISHRA, N. K. Ethno-medicinal uses and agro-biodiversity of Barmana region in Bilaspur district of Himachal Pradesh, Northwestern Himalaya. **Ethnobotanical Leaflets**, v. 2009, n. 6, p. 5, 2009.

SHARMA, S.; DUA, A.; MALIK, A. Third generation materials for wound dressings. **International Journal of. Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, p. 2113-2124, 2014.

SHAW, T. J.; MARTIN, P. Wound repair at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 122, n. 18, p. 3209-3213, 2009.

SILVA, D. F.; LUNA, C. B. B.; ARAÚJO, E. M.; SILVA, A. L. Blendas poliméricas: conceitos, obtenção e aplicações. **Revista de engenharia e tecnologia**, v. 8, n. 1, p. 58-77, 2016.

SILVA, E. E. A Cultura do Taro - Inhame (*Colocasia esculenta* (L.) Schott): Alternativa para o Estado de Roraima. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Roraima, 2011. 32p. (Documentos / Embrapa Roraima, 51). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/roraima/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1014175/a-cultura-do-taro---inhame-colocasia-esculenta-l-schott-alternativa-para-o-estado-de-roraima>>. Acesso em 02 de abr. de 2018.

SILVA, L. E.; QUADROS, D. A.; NETO, A. J. M. Estudo etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais utilizadas na região de Matinhos – PR. **Ciência e Natura**, v. .37 n. 2, p. 266-276, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2010. 1104 p.

SIMSEK, S.; EL, S. N. *In vitro* starch digestibility, estimated glycemic index and antioxidante potential of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) corm. **Food Chemistry**, v. 168, p. 257-261, 2015.

SINGH, S.; DSINGH, D. R.; SALIM, K. M.; SRIVASTAVA, A.; SINGH, L. B.; SRIVASTAVA, R. C. Estimation of proximate composition, micronutrients and phytochemical compounds in traditional vegetables from Andaman and Nicobar Islands. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 62, n. 7, p. 765-773, 2011.

SINGLETON, V. L.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOOD, A.; GRANICK, M. S.; TOMASELLI, N. L. Wound dressings and comparative effectiveness data. **Advances in Wound Care**, v. 3, n. 8, p. 511-529, 2014.

SREEDHAR, B.; CHATTOPADHYAY, D. K.; KARUNAKAR, M. S. H.; SASTRY, A. R. K. Thermal and surface characterization of plasticized starch polyvinyl alcohol blends crosslinked with epichlorohydrin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 101, n. 1, p. 25-34, 2006.

SRIAMORNSAK, P.; WATTANAKORN, N.; NUNTHANID, J.; PUTTIPIPATKHACHORN, S. Mucoadhesion of pectin as evidence by wettability and chain interpenetration. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 458-467, 2008.

STRACCIA, M.; D'AYALA, G.; ROMANO, I.; OLIVA, A.; LAURIENZO, P. Alginate hydrogels coated with chitosan for wound dressing. **Marine Drugs**, v. 13, n. 5, p. 2890-2908, 2015.

SWARNKAR, S.; KATEWA, S. S. Ethnobotanical Observation on Tuberous Plants from Tribal Area of Rajasthan (India). **Ethnobotanical Leaflets**, v. 12, p. 647-66, 2008.

TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, n. suppl. 3, p. S311-S324, 2009.

TAKAHASHI, M.; ASIKIN, Y.; TAKARA, K.; WADA, K. Screening of medicinal and edible plants in Okinawa, Japan, for enhanced proliferative and collagen synthesis activities in NB1RGB human skin fibroblast cells. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 76, n. 12, p. 2317-2320, 2012

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch - composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151-165, 2004.

TIAN, H.; YAN, J.; RAJULU, A. V.; XIANG, A.; LUO, X. Fabrication and properties of polyvinyl alcohol/starch blend films: effect of composition and humidity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 518-523, 2017.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 7, n. 2, p. 181-204, 2005.

TRINATH, K.; SANDEEPKUMAR, K.; DEVARAKONDA, N.; KARTHIK, V. Development and characterization of biodegradable blending Starch/PVA Films theoretical and experimental comparison. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, IOP Publishing, 2018. p. 012129.

TRIVILIN, L. O.; CASSIANO, D. C.; MENDES, S. O.; BORÇOI, A. R.; ARCHANJO, A. B.; CUNHA, E. R.; CONFORTI, A. Exposure to cigarette smoke alters AgNOR number and HIF-1alpha expression in colorectal tubular adenocarcinoma in rats. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 10, n. 3, p. 3822-3829, 2017.

TROMBETTA, D.; PUGLIA, C.; PERRI, D.; LICATA, A.; PERGOLIZZI, S.; LAURIANO, E. R.; BONINA, F. P. Effect of polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the healing of dermal wounds in the rat. **Phytomedicine**, v. 13, n. 5, p. 352-358, 2006.

TULIN, E. E.; T. ECLEO, Z. T. Cytokine-mimetic properties of some philippine food and medicinal plants. **Journal Of Medicinal Food**, v. 10, n. 2, p. 290-299, 2007.

VALIZADEH, R.; HEMMATI, A. A.; HOUSHMAND, G.; BAYAT, S.; BAHADORAM, M. Wound healing potential of *Althaea officinalis* flower mucilage in rabbit full thickness wounds. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 11, p. 937-943, 2015.

VASANT, O. K.; VIJAY, B. G.; VIRBHADRAPPA, S. R.; DILIP, N. T.; RAMAHARI, M. V.; LAXAMANRAO, B. S. Antihypertensive and diuretic effects of the aqueous extract of *Colocasia esculenta* Linn. leaves in experimental paradigms. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 2, p. 621-634, 2012.

VEIGA, I. G. Uso de xantana em substituição ao alginato em membranas coacervadas de quitosana projetadas para a cicatrização de lesões de pele. Orientador: Ângela Maria Moraes. 2009. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas; Campinas, 2009.

VIÉGAS, L. P. Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos. Orientador: Rubén J. Sánchez Rodríguez. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais). Centro de Ciência e Tecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2016.

VIEIRA, K. C. Avaliação da composição fitoquímica e centesimal de *Colocasia esculenta* (L.) SCHOTT (ARACEAE), com vistas à sua utilização para o desenvolvimento de filmes curativos de feridas. Orientador: Juliana Aparecida Severi. 58 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2018.

WADHWA, J; NAIR, A.; KUMRIA, R. Potential of Plants Mucilages in Pharmaceuticals and Therapy. **Current Drug Delivery**, v. 10, n. 2, p.198-207, 2013.

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKY, E. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Berlin: Springer Verlag, 320 p., 1984.

WILLYARD, C. The secrets of healing without scars. **Nature**, v. 563, p. 86-88, 2018.

XIE, L.; JIANG, M.; DONG, X.; BAI, X.; TONG, J.; ZHOU, J. Controlled mechanical and swelling properties of poly (vinyl alcohol)/sodium alginate blend hydrogels prepared by freeze–thaw followed by Ca<sup>2+</sup> crosslinking. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 1, p. 823-831, 2012.

YU, J. G.; LIU, P.; DUAN, J.A.; TANG, Z.X.; YANG, Y. Itches—stimulating compounds from *Colocasia esculenta* (taro): bioactive-guided screening and LC-MS/MS identification. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 4382-4386, 2015.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 6, p. 576-602, 2006.

ZONARI, A.; MARTINS, T. M.; PAULA, A. C. C.; BOELONI, J. N.; NOVIKOFF, S.; MARQUES, A. P.; GOES, A. M. Polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate structures loaded with adipose stem cells promote skin healing with reduced scarring. **Acta Biomaterialia**, v. 17, p. 170-181, 2015.

**ANEXO**

# CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Desenvolvimento e caracterização de filmes para curativos a partir dos extratos dos rizomas e folhas de Colocasia esculenta (L.) Schott*"

Registrada sob o n.º 006/2019, sob a responsabilidade de *Dr. Eduardo Frizzera Meira*, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CAMPUS DE ALEGRE (CEUA-ALEGRE) do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Vigência da autorização: 15/06/2019 a 28/02/2021 Finalidade: Pesquisa

Espécie(s): *Rattus norvegicus*

Linhagem(ns)/raça(s): *Wistar*

Peso: 80-100 g Idade: jovem

Sexo: Macho

Número de animais: 64

Origem: Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

Alegre-ES,



Prof. Dr. Leonardo Oliveira Trivillin

Coordenador da CEUA-ALEGRE