

CHRIS KREBS DANILEVICZ

EFEITO DA FORMULAÇÃO MUCOADESIVA COM EXTRATO DE Curcuma longa L. NO  
REPARO DE ÚLCERAS EM PELE E EM MUCOSA BUCAL DE RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade  
de Farmácia da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, como requisito parcial para a  
obtenção do título de Farmacêutica Generalista.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Manoela Domingues  
Martins

Porto Alegre

2016

## CIP- Catalogação na Publicação

Danilevicz, Chris Krebs

Efeito da formulação mucoadesiva com extrato de curcuma longa I. no reparo de úlceras em pele e em mucosa bucal de ratos / Chris Krebs Danilevicz. - 2016.

Colocar nº de folhas 50f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de  
Farmácia, Curso de Graduação em Farmácia, Porto Alegre,  
BR-RS, 2016.

Orientadora: Manoela Domingues Martins

1. Cicatrização. 2. Úlcera. 3. Curcumina . 4. Curcuma  
longa L. 5. Medicamentos fitoterápicos

I. Martins, Manoela Martins. II. Título.

Aos meus avós, Genaro e Lourdes Krebs, por todo conhecimento e bagagem de vida que me proporcionaram.

À minha mãe, Laura, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, por ser meu porto seguro e exemplo de mulher incrível e batalhadora.

Ao meu papai, Roberto, pelo carinho e apoio, me incentivando a crescer cada vez mais e nunca desistir.

Aos meus irmãos, Thaís, Lauren, Roberto e Katherine, que são amigos incríveis e companheiros para todas as horas, nada nesta vida teria sentido sem vocês.

Ao meu namorado Marquinho, obrigada pela paciência, compreensão e parceria em todos os momentos. Especialmente, nos instantes em que tinha certeza de que iria falhar e ele prontamente me convencia do contrário.

*A persistência é o caminho do êxito.*

*Charles Chaplin*

## RESUMO

DANILEVICZ , Chris Krebs. **Efeito da formulação mucoadesiva com extrato de Curcuma longa L. no reparo de úlceras em pele e mucosa bucal de ratos.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

Lesões ulceradas são extremamente comuns e diversos protocolos terapêuticos vem sendo utilizados, buscando aliviar a sintomatologia dolorosa e acelerar o reparo. Curcuma longa L. tem sido proposta como tratamento de várias doenças por possuir propriedades antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória. O objetivo desse estudo foi avaliar a ação tópica da formulação mucoadesiva com extrato de Curcuma longa L. (FMC) no reparo de úlceras em pele e em mucosa bucal de ratos. Foram utilizados 90 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia da linhagem Wistar), pesando entre 270 e 370g. Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais (n=30): Grupo Controle (GC), Grupo Placebo (GP) e Grupo Curcuma longa L. (GCL). Foi realizada uma úlcera na pele do dorso e outra na língua de cada animal utilizando um instrumento punch de 10 e 3mm, respectivamente. Nos animais do GC houve apenas a manipulação dos animais sem nenhum tipo de tratamento; os animais do GP receberam duas aplicações diárias de formulação mucoadesiva preparada sem princípio ativo e os animais do grupo GCL receberam duas aplicações diárias da formulação mucoadesiva contendo extrato de Curcuma longa L. Após 3, 5, 10, 14 e 21 dias foram eutanasiados 6 animais de cada grupo. Foram realizadas análises clínicas (peso e medida das feridas) e avaliação histopatológica (reepitelização e inflamação). A análise clínica e histopatológica revelaram diferenças entre os grupos em relação a medida da área da úlcera, grau de reepitelização e inflamação. O tratamento com FMC (GCL) estimulou o reparo acelerado de feridas tanto em pele como em mucosa bucal. Na pele o GCL foi superior ao GC e GP na análise de 10 dias enquanto que, na mucosa bucal aos 5 dias. Os animais tratados com FMC apresentaram redução do tempo de cicatrização das úlceras associado à aceleração do reparo epitelial, diminuição do infiltrado neutrofílico e aumento da inflamação crônica com proliferação de fibroblastos. Com base neste estudo, concluiu-se que a FMC estimula o reparo de úlceras em pele e mucosa bucal.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cicatrização, Úlcera, Mucosa bucal. Curcumina, Curcuma longa L. Fitoterápicos.

## **ABSTRACT**

DANILEVICZ , Chris Krebs. **Effect of mucoadhesive formulation with *Curcuma longa* L. extract (FMC) in skin and oral mucosa ulcer wound healing in rats.** Final Paper (Graduation in Pharmacy) – School of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, 2016.

Ulcerative lesions are extremely common and several treatment protocols have been used seeking to relieve painful symptoms and accelerate wound healing. *Curcuma longa* L. exhibit antioxidante, anti-tumor and anti-inflammatory properties and has been proposed as treatment for various diseases. The aim of the present study was to evaluate the topical action of mucoadhesive formulation with *Curcuma longa* L. extract (FMC) in skin and oral mucosa wound healing. Ninety male rats (*Rattus norvegicus albinos*, Rodentia, Mammalia Wistar), weighing between 270 and 370g were divided into 3 groups (n = 30): control group (CG), Placebo Group (GP) and Group *Curcuma longa* L. (GCL). Ulcers with 10 mm and 3mm in diameter were made on the skin of the back and dorsum of the tongue, respectively with a punch. CG animals were only handling without any treatment; GP animals received two daily applications of the neutral mucoadhesive formulation and animals GCL group received two daily applications of the mucoadhesive formulation extract of *Curcuma longa* L. Six animals from each group were euthanized on days 1, 3, 5, 7 and 14. Clinical analysis (weight and injuries area) and histopathologic evaluation (re-epithelialization and inflammation) were performed. Clinical and histopathologic analysis revealed differences between the groups regarding the ulcer area, degree of re-epithelialization and inflammation. Treatment with FMC (GCL) accelerated wound healing in both skin and oral mucosa ulcers. In skin, GCL was superior to GC and GP at 10 day, whereas the oral mucosa lesions were at 5 days. The animals treated with FMC decreased time of healing of ulcers associated with acceleration of epithelial repair, decreased neutrophil infiltration and increased chronic inflammation with fibroblast proliferation. In conclusion, FMC stimulates skin and oral mucosa ulcers wound healing.

**PALAVRAS-CHAVE:** Wound healing, Ulcers, Oral mucosa, Curcumin, Phytotherapy.

## **AGRADECIMENTOS**

À melhor equipe, minha família (mãe, pai, irmãos, namorado, cunhado e cusco), desta vida e de muitas outras, pessoas de luz, que fazem do meu mundo muito melhor. Sempre dispostos ajudar e acolher, especialmente nos momentos difíceis. Vocês são meus maiores incentivadores, eu não teria conseguido nada sem vocês.

Às minhas amigas Beatriz, Gisele, Lauren e Thaís, que torceram e participaram ativamente pela conquista deste "canudo". Obrigada por todo apoio, compreensão nos momentos de ausência, e por estarem ao meu lado nos momentos difíceis.

A equipe da Universidade Federal de Goiás, Prof. <sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marize Campos Valadares e Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto, por toda contribuição e colaboração neste trabalho. À Aline Carlos de Oliveira, pelo preparo das formulações aqui utilizadas.

A equipe da Unidade de Experimentação Animal do HCPA, em especial à Marta, Tuane e Daniela, que foram incríveis durante a fase de experimentação animal, nos auxiliando sempre com muita presteza e gentileza.

A equipe da Unidade de Patologia Experimental do HCPA, Flávia, Emily, Lidio e Felipe, pela ajuda na execução da fase experimental e pelos momentos descontraídos e leves entre um corte histológico e outro.

A todas as "Manoeletes", um grupo maravilhoso que tive o prazer de conviver, sempre dispostas a ajudar independente de hora ou dia. Especialmente à Liana, com sua alegria encantadora, contribuiu muito para execução deste trabalho. À Marina, com sua meiguice, torna os dias patológicos melhores. À Vivi, a toda dedicação e ajuda nas colaborações. Obrigada mesmo, vocês realmente me fizeram amar o trabalho em equipe.

À minha orientadora e amiga, Manô, muito obrigada por acreditar em mim, investir seu tempo e energia, sempre ativamente presente desde a idéia do projeto, execução experimental e toda produção deste trabalho. Tornou a conclusão deste curso leve e prazerosa. Obrigada por todos os ensinamentos científicos e também pelos ensinamentos de vida, sempre transmitindo boas energias e alegria de viver.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
OBJETIVO	16
MATERIAIS E MÉTODOS	17
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS	43



## INTRODUÇÃO

O reparo tecidual é um processo fisiológico complexo cujo objetivo final é restaurar a integridade tecidual danificada. Este processo envolve uma variedade de eventos e inicia-se com a hemostasia, prosseguindo em três fases dinâmicas e interrelacionadas denominadas de fase inflamatória, proliferativa e remodelativa, que ocorrem de forma contínua, temporal e por vezes simultânea (MENDONÇA, COUTINHO-NETO, 2009). Ao longo dessas fases há a interação de diversas células, proteínas de matriz extracelular e seus receptores mediados por meio de citocinas e fatores de crescimento (LÓPEZ- JORNET et al. 2011).

Após a ação do agente agressor, é iniciada a fase inflamatória, marcada pela liberação de mediadores químicos inflamatórios (histaminas, citocinas, complemento, etc) que promovem alterações vasculares e exsudativas no sítio da lesão. Neste momento ocorre a migração de células inflamatórias para o local da agressão tem como objetivo eliminar agentes agressores e fagocitar componentes do tecido conjuntivo danificados, além de preparar o tecido para a próxima fase através da liberação de fatores de crescimento. A fase seguinte, denominada de proliferativa é marcada pelos fenômenos de reepitelização, fibroplasia e angiogênese. Estes dois últimos fenômenos são responsáveis pela formação do tecido de granulação, tecido que representa o arcabouço do reparo tecidual, ocupando a área da lesão e sendo responsável pelo fechamento da lesão propriamente dita. Por fim, ocorre a fase de remodelamento que se caracteriza por alterações na matriz extracelular e maturação dos elementos teciduais, com a deposição de proteoglicanas e colágeno, na tentativa de recuperar a estrutura tecidual normal. Nesta fase, a maioria dos vasos, fibroblastos e células inflamatórias desaparecem por processos de emigração,

apoptose ou processos de morte celular desconhecidos (MENDONÇA, COUTINHO-NETO, 2009).

O processo de reepitelização compreende a migração e proliferação das células epiteliais basais presentes nas bordas da ferida e ele é de extrema importância para formação da barreira epitelial composta por diversas camadas e assim reestabelecer a homeostase tecidual (BEN AMAR, WU, 2014; PELICIOLOI et al., 2014). A indução da proliferação e da migração das células epiteliais é um evento desejado durante o reparo de feridas, assim os protocolos terapêuticos buscam, entre outros aspectos, estimular este processo (PELICIOLOI et al., 2014). Diversas vias de sinalização estão ativas durante o reparo, incluindo a via da AKT/mTOR. Um aumento na migração epitelial resultando na aceleração do reparo é observado como resultado da superexpressão desta via (SQUARIZE et al., 2010).

Lesões em pele representam um problema de saúde pública sendo foco de infecções além de gerar dor e desconforto e a capacidade de reparação tecidual tem grande importância para a sobrevivência dos indivíduos tanto em lesões acidentais como em lesões cirúrgicas. Da mesma forma, as ulcerações em boca, tais como a úlcera traumática e a ulceração aftosa recorrente, representam uma queixa muito comum na prática clínica do cirurgião dentista e geram desconforto dificultando a alimentação e a fonação. Os protocolos de tratamento utilizados para essas lesões visam acelerar o reparo e aliviar a sintomatologia. Entre as opções de tratamento propostas pode ser citado o uso de analgésicos, antibióticos, antissépticos, imunomoduladores, antiinflamatórios, fitoterápicos além de tratamentos locais específicos como remoção cirúrgica, debridamento, cauterização química, ultrassom de baixa densidade e fototerapia laser (SCULLY; SHOTTS, 2000; FIELD; ALLAN, 2003; LEÃO et al., 2007; MARTINS et al., 2009; MIZIARA, 2009; FERNANDES et al.,

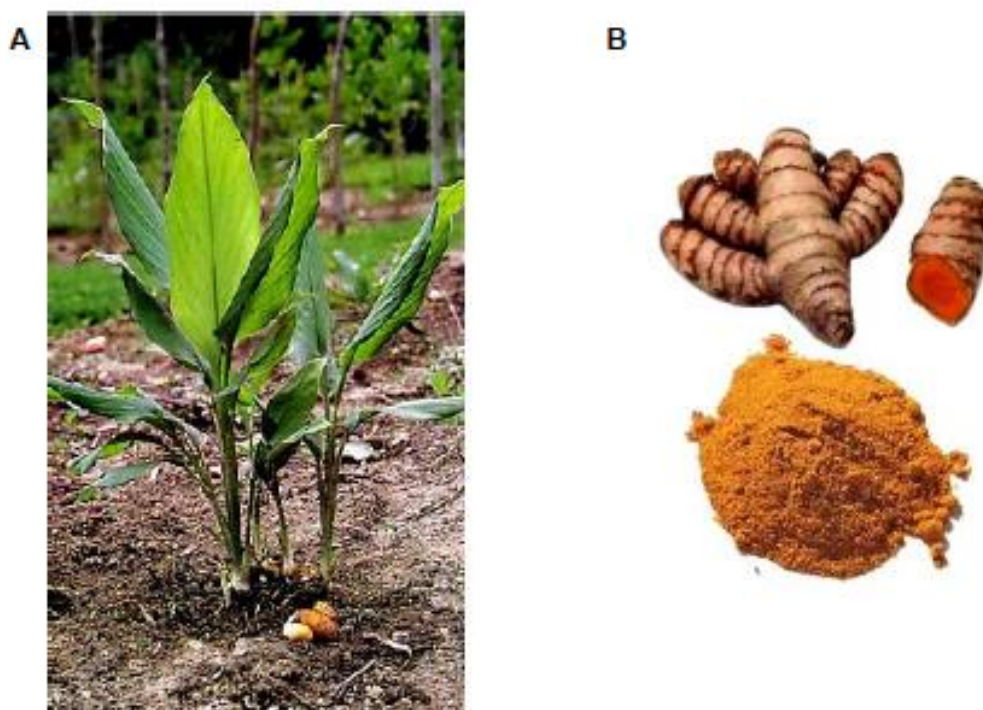
2010; SQUARIZE et al. 2010; LÓPEZ- JORNET et al. 2011; MARTINS et al., 2011; PAVESI et al., 2010; WAGNER et al., 2013).

Atualmente, percebe-se que os corticoesteroides, como o clobetasol, são amplamente prescritos para o tratamento de lesões baseado em sua eficácia clínica, entretanto buscam-se terapias alternativas uma vez que mesmo administrado de forma tópica, os corticoesteroides podem levar a reações adversas sistêmicas se forem absorvidos pela corrente sanguínea (MARTINS et al., 2009). Embora na maioria dos casos, os efeitos adversos sejam brandos, é possível encontrar diversos relatos na literatura de pacientes que desenvolveram síndrome de Cushing pelo uso tópico de corticoesteroides (GEN et al., 2007; SEMIZ et al., 2008; MARTINS et al., 2009; PRAMICK et al., 2009; TIWARI et al., 2013).

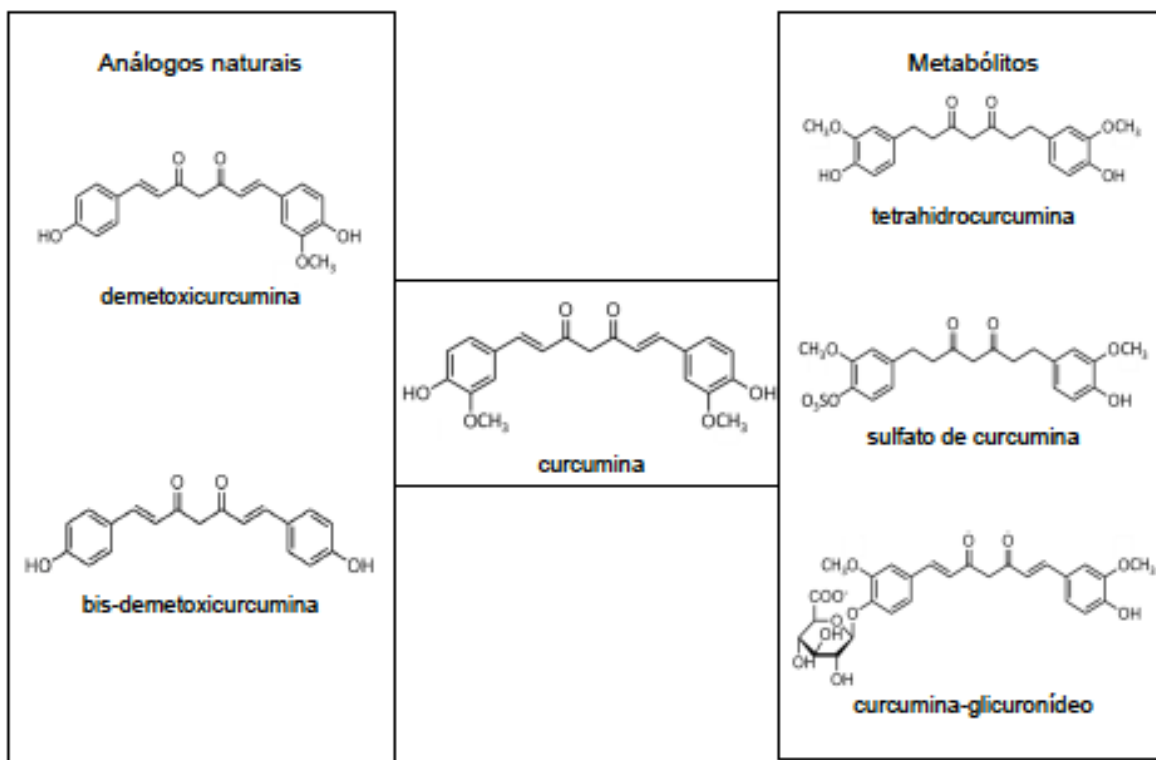
Fatores como a biodiversidade nacional e a possibilidade de acesso com menor custo fazem dos produtos naturais e seus subprodutos importantes alternativas terapêuticas (BATISTA et al., 2012). Plantas medicinais contribuem de forma significativa para cuidados primários de saúde em muitos países e servem de ponto de partida para o desenvolvimento de vários semissintéticos análogos. O uso de fitoterápicos no reparo de feridas vem sendo muito estudado (MARGARET et al., 1998; OHARA, 1998; SHUKLA et al., 1999; PAIVA et al., 2002; SUGUNA et al., 2002; MUKHERJEE et al., 2003; CHAUDHARI; MENGI, 2006; LUSBY ; et al., 2006; MENSAH et al., 2006; SHETTY et al., 2007; SPERONI et al., 2007; MARTINS et al., 2009; ARAÚJO et al., 2010; COELHO et al., 2015.) isto porque várias plantas tem princípios ativos como alcalóides, triterpenos e biomoléculas que influenciam em uma ou mais fases do reparo.

Dentre as plantas medicinais, uma espécie muito utilizada na medicina popular e que possui propriedades farmacológicas aplicáveis no contexto do reparo é a raiz da *Curcuma Longa* L. Esta é um polifenol também conhecida como açafrão-da-índia, açafrão-da-terra, cúrcuma, tumérico ou gengibre amarelo (GOEL et al., 2008; GUPTA et al., 2012; AGGARWAL et al., 2013). De origem asiática (Índia e Indonésia), a *Curcuma longa* L. pertence à família gengibre (*Zingiberaceae*) e é largamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Índia, China e América Latina (RAMSEWAK et al., 2000; ARAUJO e LEON, 2001; LEE et al., 2010; ANNADURAI et al., 2013). Esta planta herbácea, perene, mede aproximadamente um metro de altura e a partir de sua raiz seca e moída se extrai um pó de cor amarelo alaranjado utilizado normalmente como condimento alimentar ou corante amarelo (FARAZZUDIN et al., 2014; LÜER et al., 2014). A curcumina corresponde ao componente mais ativo e abundante da *Curcuma longa* L. Estudos têm demonstrado que fenóis e grupos metóxi são os responsáveis pelas propriedades biológicas da curcumina, já que este é um composto polifenólico (AHSAN et al., 1999; RAMSEWAK et al., 2000; MAHESHWARI et al., 2006; LI et al., 2011). Seu uso medicinal está baseado em suas propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas, além de apresentar características antimutagênicas, anticancerígenas e antioxidantes, podendo ser utilizada tanto na forma tópica quanto sistêmica (LÜER et al., 2014; REDDY et al., 2014). Diversos estudos têm demonstrado os diferentes efeitos benéficos da curcumina, como propriedades anti-inflamatórias (BALASUBRAMANYAM et al., 2003; JURENKA, J.S. , 2009; HENROTIN, 2013), antioxidante (RUBY et al., 1995; SCARTEZZINI e SPERONI, 2000; FUJISAWA et al., 2004; YOUSSEF et al., 2004), antibacteriana (NEGRI et al., 2005; NAZ et al., 2010), antiparasitária (PEREZ-ARRIAGA et al., 2006), antimalárica

(NANDAKUMAR et al., 2006), antitumoral (JORDAN et al., 2016) entre outros. Outro ponto importante relacionado ao uso da curcumina é sua segurança. Os curcuminoides da *Curcuma longa* L. apresentam um bom perfil de segurança tanto em humanos (12g/dia) (LAO et al., 2006) quanto em animais (100mg/kg/dia) (TEITEN et al., 2010), não manifestando toxicidade mesmo em altas doses.



**Figura 1:** Imagem da *Curcuma longa*. (A) Visão geral do rizoma (B) Raiz pulverizada. Fonte: SANTOS, E. X. F. Efeitos da Formulação Mucoadesiva com Extrato de *Curcuma Longa* L. em Animais Portadores de Mucosite Intestinal Induzida Por 5-Fluorouracil. 2014. 87 fl. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás.



**Figura 2.** Estrutura molecular da curcumina, análogos naturais e principais metabólitos. Programa ChemBioDraw Ultra 13.0 Suite. (Fonte: SANTOS, E. X. F. Efeitos da Formulação Mucoadesiva com Extrato de Curcuma Longa L. em Animais Portadores de Mucosite Intestinal Induzida Por 5-Fluorouracil. 2014. 87 fl. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós -Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás.

A *Curcuma longa* L, apresenta três curcuminóides principais em sua composição, a curcumina (diferoilmetano [1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil) -1,6-heptadieno-3, 5 diona]), desmetoxicurcumina (DMC) e bisdemetoxicurcumina (BDMC). A curcumina, no entanto, mostrou-se mais ativa do que o DMC ou BDMC. Estudos indicam que os dois grupos metoxi, dois grupos hidroxilo fenólicos e dois duplo conjugados, presentes na curcumina desempenham um papel essencial nas atividades proliferativas e pró-inflamatórias, estimulando o reparo tecidual. Da caracterização deste curcuminóide possui: fórmula molecular de C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>, ponto de fusão à 183 ° C, peso molecular de 368,37 g/mol,espectrofotometricamente, apresenta máxima de absorção de 430nm em metanol e em acetona a absorção ocorre em 415-420 nm (GOEL, 2008).

Uma das principais preocupações o uso da curcumina no uso de diferentes aplicações clínicas é a sua biodisponibilidade oral baixa devido ao metabolismo de primeira passagem, pois a molécula ao ser metabolizada endogenamente, através da glucuronidação hepática, é excretada na sua maior parte permanecendo disponível sistemicamente apenas uma pequena fração (NAGPAL, M., SOOD, S., 2013). Desta forma, a utilização de de extratos vegetais contendo esse princípio ativo incorporados em formulações mucoadesivas é uma estratégia interessante para o reparo de lesões cutâneas. Isto porque estes sistemas apresentam capacidade de aderir-se à superfície das células de epitélios ou da camada de muco que as recobre, prolongando assim o tempo de contato do fármaco no local de absorção/ação, aumentando a biodisponibilidade local ou sistêmica do fármaco (MOHAMMADI-SAMANI; BAHRI-NAJAFI; YOUSEFI, 2005). Diferentes estudos realizados com curcumina e compostos mucoadesivos demonstraram que esta associação aumenta a sua biodisponibilidade (CHEN et al., 2012) e impede a sua degradação (AKHTAR; RIZVI; KAR, 2012).

O modelo animal permite avaliar o efeito clínico do tratamento com fitoterápicos, mas, além disso, ele permite um estudo mais aprofundado dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos no processo de reparo, sendo assim possível que se compreenda através de quais destes mecanismos o tratamento proposto age. Modelos experimentais também são necessários para investigar segurança do produto e eficácia do tratamento para uso clínico no reparo de feridas.

## **OBJETIVO**

### **Objetivos gerais**

Avaliar o efeito clínico e histopatológico da ação da formulação mucoadesiva com Curcuma longa L. (FMC) no reparo de lesões em pele e em mucosa bucal de ratos.

### **Objetivos específicos**

Avaliar o efeito clínico da FMC no reparo de úlceras na pele de rato.

Avaliar o efeito clínico da FMC no reparo de úlceras na mucosa bucal de rato.

Avaliar microscopicamente o padrão de reepitelização e inflamação das úlceras na pele tratadas com FMC.

Avaliar microscopicamente o padrão de reepitelização e inflamação das úlceras em mucosa bucal tratadas com FMC.

Avaliar o efeito do tratamento com FMC nos mecanismos envolvidos com o processo de reepitelização da pele.

Avaliar o efeito do tratamento com FMC nos mecanismos envolvidos com o processo de reepitelização da mucosa bucal.



## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O Projeto de pesquisa foi encaminhado para aprovação pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFRGS e Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do HCPA e Comitê de Pesquisa (CEP) do HCPA. Foi solicitado verba a FIPE (Fundação de Incentivo a Pesquisa e Eventos) junto ao HCPA. O protocolo experimental utilizado neste estudo seguiu os princípios de ética e experimentação animal, baseado na lei 11.794, de 08 de outubro de 2008 e na Diretriz Brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos (DBCA) do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA-2016) que visam o aprimoramento de condutas na experimentação animal. Este protocolo também seguiu o Guia de Severidade dos Procedimentos Científicos (CEUA-UFRGS) e enquadra-se na categoria leve, pois é provável que os animais experienciem dor, sofrimento ou desconforto leves que durem pouco tempo.

### **Delineamento**

Tratou-se de um ensaio experimental, controlado e cego.

**Hipótese experimental:** o uso tópico da FMC tem ação anti-inflamatória e promove de forma acelerada o reparo de úlceras em pele e em mucosa bucal de ratos.

**Hipótese nula:** o uso tópico da FMC não tem ação antiinflamatória e não promove de forma acelerada o reparo de úlceras em pele e em mucosa bucal de ratos.

### **Obtenção do extrato e preparo da medicação tópica**

A formulação utilizada neste trabalho (formulação mucoadesiva com extrato de Curcuma longa L.) foi desenvolvida no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica,

e fornecidas pelo professor Dr. Ricardo Neves Marreto da Faculdade de Farmácia/UFG.

A formulação mucoadesiva contem os seguintes componentes descritos no quadro 1:

Quadro 1. Composição da formulação mucoadesiva com extrato de Curcuma longa L. (FMC) .

Excipiente	Quantidade
Extrato de CL	2,0%
Polaxamer 407®	15%
Polietilenoglicol 400	30%
Soluplus®	1,5%
Metabissulfito de sódio	0,1%
Bissulfito de sódio	0,1%
Ácido cítrico	0,15%
Propilenoglicol	

Foi utilizado o polímero mucoadesivo polaxamer 407 (15%, p/p) (SigmaAldrich, St. Louis, Missouri, Estados Unidos), que é um copolímero em bloco do óxido de etileno e óxido de propileno. A formulação foi obtida pelo uso do extrato de Curcuma longa (Gamma Comércio, Importação e Exportação LTDA, São Paulo, São Paulo, Brasil), que é uma preparação enriquecida em curcuminóides. O teor de curcuminóides especificado foi de 96,45%. O preparo foi realizado da seguinte maneira: em um recipiente com capacidade adequada adicionou-se o

polietilenoglicol e o propilenoglicol e a mistura foi aquecida e a 65 °C sob constante agitação com auxílio de chapa aquecedora (Nova Ética, Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil) Acrescentou-se então o polaxamer 407® até a completa solubilização, mantendo-se a mesma temperatura. Após a solubilização, adicionou-se o soluplus e agitou-se a mistura até sua completa dispersão. Em seguida, adicionou-se lentamente a curcumina até a sua solubilização, sempre mantendo a temperatura em 65°C. A formulação pronta foi então armazenada em um recipiente em temperatura ambiente e sob proteção da luz.

## **Experimento**

Utilizou-se 90 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia da linhagem Wistar) machos, pesando entre 270 e 370g. Os animais foram adquiridos de biotério certificado pela Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e foram alojados individualmente em cada caixa plástica (40x30x16 cm), com ração padrão do UEA e água ad libitum, temperatura de 22°C podendo variar 2°C para mais ou para menos e ciclo claro/escuro de 12 horas. A parte experimental foi realizada na UEA.

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais (n=30 animais por grupo):

- Grupo Controle (GC): manipulação dos animais sem nenhum tipo de tratamento;
- Grupo Placebo (GP): uso tópico da formulação mucoadesiva neutra, contendo somente os excipientes (sem substância ativa)
- Grupo da formulação mucoadesiva com extrato de *Curcuma longa* L. (GCL): uso tópico da FMC.

O cálculo amostral utilizando como desfecho primário o fechamento clínico da ferida foi baseado em trabalhos da literatura que utilizam metodologia semelhante (MENDONÇA et al, 2009; WAGNER et al., 2013) com número de 6 animais por grupo por dia de eutanásia. Inicialmente os animais foram pesados e anestesiados com anestésico geral injetável por via intraperitoneal utilizou-se uma mistura de 50mg de quetamina e 5mg de xilazina por quilograma de peso corporal do animal e para atingir a anestesia geral foi utilizado isoflurano 1-2% . Após a anestesia foi realizada a tricotomia, com uma máquina disponibilizada pela UEA, no dorso dos animais envolvendo uma área de aproximadamente 3,0 cm de comprimento e 2,0 cm de largura na região lombar e foi realizada a anti-sepsia destas áreas com solução de digluconato de clorexidina a 2%. Em seguida foi realizada a ferida cirurgica no centro do dorso dos animais utilizando um instrumento chamado "punch" de 10mm de diâmetro e de 02mm de profundidade sendo a base incisionada com uma lâmina de bisturi nº 15. Obtendo-se então uma ferida cirúrgica, de bordas bem delimitadas, regulares e com diâmetro de 10mm. Uma leve compressão de um minuto com a gaze foi efetuada até ocorrer uma hemostasia relativa da lesão (Grau de severidade: moderado). Após esse procedimento foi realizado as úlceras na porção central do dorso lingual de cada animal utilizando-se um instrumento punch de 3mm de diâmetro circunferencial e de 0,2mm de profundidade, sendo a base incisionada com uma lâmina de bisturi nº 15. Obtendo-se também uma ferida cirúrgica, de bordas bem delimitadas, regulares e com diâmetro de 3mm. E também realizou-se uma leve compressão de um minuto com a gaze da mesma maneira como nas feridas realizadas no dorso com objetivo de ocorrer uma hemostasia relativa da lesão (Grau de severidade: moderado). Com intuito de controlar a dor dos animais foi utilizado fármaco opióide, Tramadol 5mg/kg, via intraperitoneal de 12/12 horas por 2 dias.

Cada animal do GP e GCL recebeu duas aplicações diárias de formulação mucoadesiva neutra e formulação mucoadesiva com extrato de *Curcuma longa* L, respectivamente. Com o intuito de padronizar as quantidades aplicadas foi utilizado uma colher medidora de 0,5g, para ambas úlceras dorso e mucosa bucal. Os produtos foram aplicados com haste flexível até o recobrimento total da ferida sob anestesia inalatória com isofluorano. O GC foi submetido a manipulação diária semelhante aos demais grupos; porém, sem tratamento. Foram mortos 6 animais após 3, 5, 10, 14 e 21 dias para cada grupo experimental através de anestésico inalatório isofluorano. A seguir realizou-se as medidas clínicas das úlceras. As áreas excisionadas foram cirurgicamente removidas e fixadas em solução formalina a 10% tamponada. O material fixado foi enviado ao Laboratório de Patologia Experimental do HCPA onde foi processado e emblocado em parafina utilizando os procedimentos de rotina histopatológica.

### **Estudo Clínico**

Os animais foram pesados no início e nos dias de sacrifício tendo sido monitorados diariamente para determinar o estado da ferida (aberto versus fechado). As feridas foram fotografada nos dias de sacrifício. A área da ferida foi calculada em pixels utilizando o software ImageJ 1.48v (National Institutes of Health, EUA) e, em seguida, convertida em mm<sup>2</sup> utilizando o objeto fotografado como uma escala de referência. O percentual de reparo foi calculado como  $[(\text{área inicial} - \text{área no respectivo tempo de avaliação}) / (\text{área inicial})] \times 100$  (Khorasani et al., 2009).

Após a realização das medidas clínicas as feridas foram seccionadas e uma parte foi submetida para análise histopatológica e outra foi congelada para posterior análise molecular.

## Estudo Histopatológico

Realizou-se cortes histológicos semi-seriados na espessura de 4 $\mu$ m em micrótomo, que foram submetidos ao protocolo de coloração com os corantes de hematoxilina-eosina e foram observados em microscópio óptico. Inicialmente realizou-se uma análise descritiva de cada tempo experimental comparando os grupos. A seguir, realizou-se análise semi-quantitativa por meio de escores. Para medir o grau de reepitelização foram utilizados os critérios descritos por Sinha, Gallaher (2003), subdivididos em 5 graus:

- grau 0: reepitelização no final da ferida;
- grau 1: reepitelização cobrindo menos de metade da ferida;
- grau 2: reepitelização cobrindo mais da metade da ferida;
- grau 3: reepitelização recobrando toda a ferida com espessura irregular;
- grau 4: reepitelização recobrando toda a ferida e de espessura normal.

O grau de inflamação foi avaliado pelas 4 fases de resolução do processo inflamatório descrito por Kumar, Cotran, Robbins (2003), e utilizado por Camacho-Alonso, López-Jornet (2007),

- grau 1: inflamação aguda (membrana piogênica);
- grau 2: predominância de inflamação aguda difusa;
- grau 3: predominância de processo inflamatório crônico (fibroblastos proliferando);

- grau 4: resolução e cicatrização (redução ou desaparecimento da inflamação crônica apesar de algumas células inflamatórias persistirem).

Os cortes foram analisados por dois patologistas cegados e o nível de concordância entre os examinadores foi calculado e o valor de kappa acima de 5.]

### **Análise Estatística**

Os dados foram expressos como média e desvio padrão. A SPSS versão 19.0 foi utilizado para a análise estatística. Grupos, épocas de avaliação e a interação entre o tempo de grupo e avaliação foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ou one-way Anova. O nível de significância foi fixado em 5% ( $p < 0,05$ ). O coeficiente Kappa foi calculado para determinar a concordância inter-examinador entre os escores de reepitelização e inflamação.

## RESULTADOS

### 1. ANÁLISE DO PESO

A análise individual de cada grupo mostrou que todos demonstraram leve perda de peso no dia 3 seguido de aumento gradual do peso até dia 14 e dia 21. Assim como, não foi observada alteração de peso significativa entre os grupos ao longo do período experimental (Figura 3).

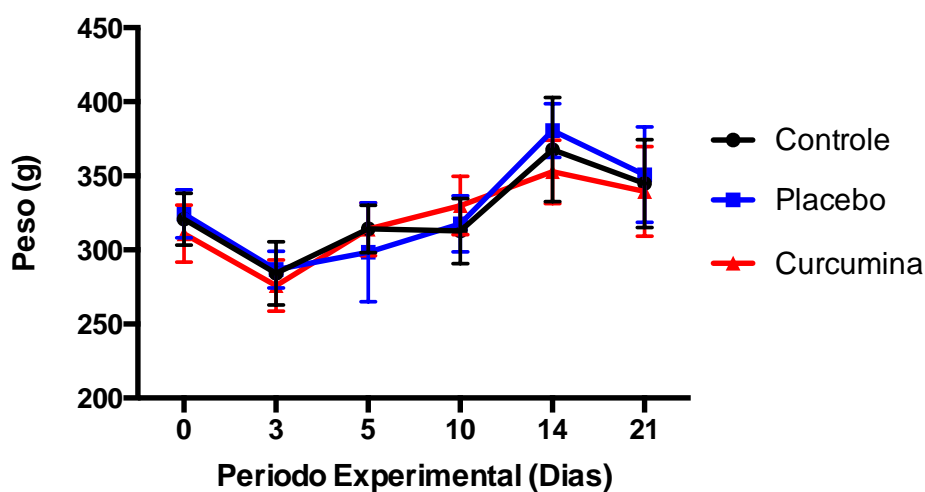


Figura 3. Análise do peso dos animais ao longo do tempo experimental de acordo com o grupo, utilizou-se o teste estatístico Kruskal-Wallis.

### 2. ANÁLISE DO REPARO DAS ULCERAS EM PELE

#### Análise Clínica

A avaliação clínica das áreas das feridas em pele situada no dorso dos animais revelou que, nos dias 3 e 10, houve uma diferença significativa entre todos os grupos. Em ambos os períodos, o GCL apresentou menores medias que o GC e GP (Figura 4; Figura 5). O GCL mostrou maior número de animais com fechamento completo da ferida (Tabela 1). Nos demais tempos experimentais (14 e 21 dias) não foi evidenciada diferença clínica na área das ulcerações. Todos os animais do GCL

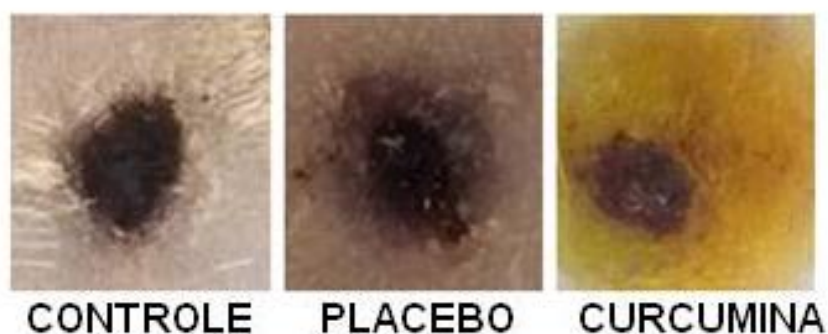


demonstraram fechamento da ferida aos 14 dias enquanto que o GP apenas aos 21 dias e os CG teve 02 animais com ulceração presente ao final do experimento (Tabela 1).

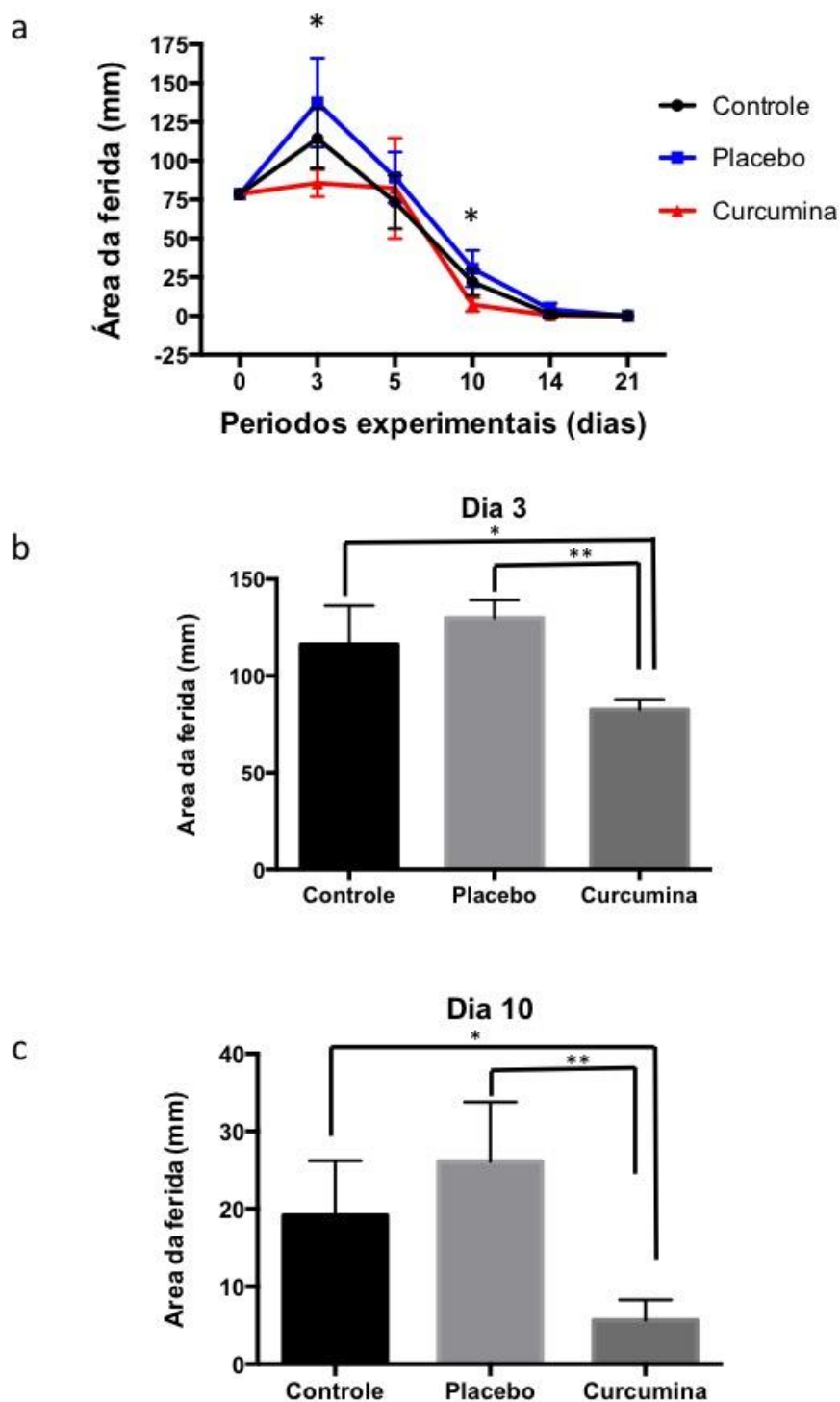
**Tabela 1.** Número de animais com lesões em pele abertas ou fechadas por grupo e por período experimental.

		Dia 3	Dia 5	Dia 10	Dia 14	Dia 21
GC	Aberto	6	6	6	2	2
	Fechado	0	0	0	4	4
GP	Aberto	6	6	6	1	0
	Fechado	0	0	0	5	6
GCL	Aberto	6	6	3	0	0
	Fechado	0	0	3	6	6

## DIA 10



**Figura 4.** Aspecto clínico das úlceras em pele no dia 10 comparando os três grupos.



**Figura 5.** (a) Gráfico demonstrando o padrão de fechamento das feridas de pele acordo com o grupo experimental ao longo do tempo (\* indica diferença estatística entre os grupos). Nota-se redução da área da ferida de pele no GCL nos dias 3 (b) e 10 (c) quando comparado ao GC e GP (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ). Teste estatístico one-way Anova.

### **Análise descritiva do reparo das úlceras em dorso de pele**

No dia 3, todos os grupos demonstraram padrão semelhante de reparo tecidual com ampla ulceração, pouca ou ausente migração epitelial em direção ao centro da ferida. O conjuntivo exposto exibia intenso infiltrado inflamatório agudo (infiltrado de polimorfonucleares) e na profundidade notava-se pouca deposição de fibras colágenas e angiogênese.

No dia 5, pode-se verificar um melhor padrão de reparo nos animais do GP e GCL que exibiam reepitelização cobrindo mais da metade da ferida quando comparados ao controle. A análise do infiltrado inflamatório mostrou uma tendência a cronificação do processo (infiltrado mononuclear e deposição de colágeno e angiogênese) no GCL e a manutenção do foco de infiltrado agudo (neutrofílico) nos GC e GP.

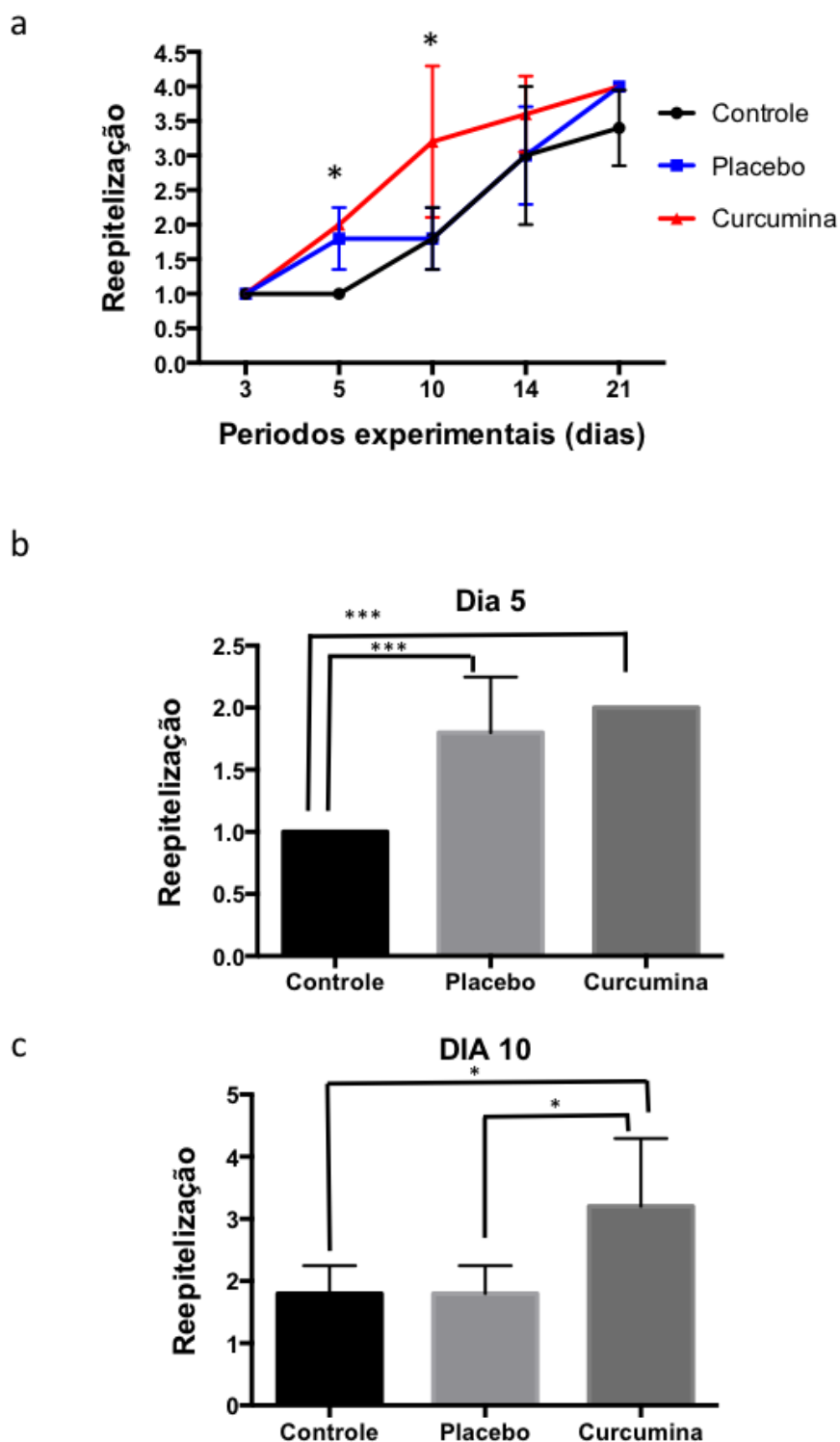
No dia 10, a maior diferença dentre os grupos pode ser observada. O GCL mostrou reepitelização completa em todos os animais, melhor organização das fibras colágenas, angiogênese pronunciada e diminuição do quadro inflamatório. O GC e GP mantinham alguns animais com ulceração, neutrófilos na superfície e processo inflamatório crônico na profundidade.

No dia 14, o GCL mostrou manteve a reepitelização completa e melhor organização do tecido conjuntivo com diminuição do processo inflamatório e da angiogênese e maior deposição de fibras colágenas. O GC apresentava reepitelização de todos os animais porém, o processo inflamatório se mostrou mais exuberante que no GCL. O GP mostrou o pior padrão de reparo neste período com alguns animais mostrando reepitelização incompleta e processo inflamatório crônico exuberante.

Dia 21 todos os grupos mostraram padrão semelhante de reparo com reepitelização completa e redução ou desaparecimento da inflamação crônica apesar de algumas células inflamatórias persistirem principalmente no GP e GC.

### **Grau de reepitelização das úlceras de pele**

O GCL apresentou melhor padrão de reepitelização quando comparado com o GC e GP, especialmente no dia 5 e 10. No dia 5 o GCL demonstrou reepitelização estatisticamente maior que o GC. No dia 10, o GCL apresentou melhor reepitelização que o GC e o GP (Figura 6 ).

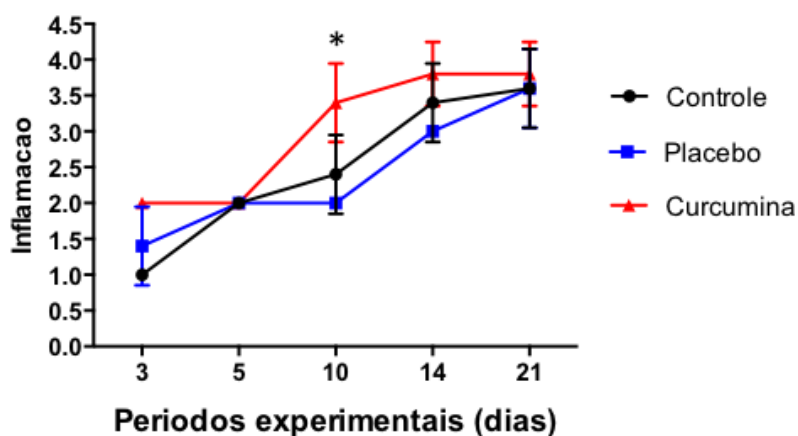


**Figura 6.** (a) Grau de reepitelização das úlceras em pele dos 3 grupos experimentais ao longo do tempo. (b) Análise da reepitelização no dia 5 mostrando que o GP e GCL demonstraram reepitelização significativamente maior que o GC. (c) No dia 10 o GCL demonstrou reepitelização significativamente maior que o GC e GP (\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). Teste estatístico one-way Anova.

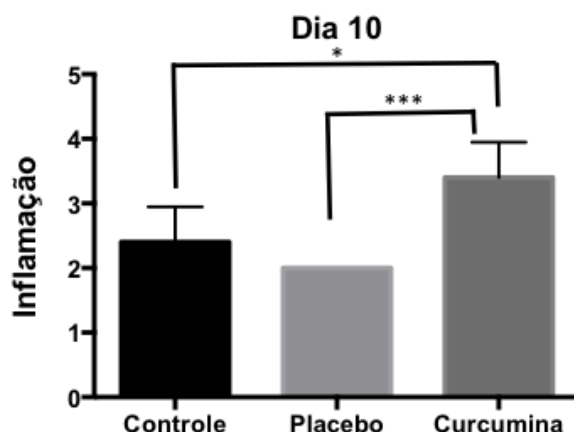
### Grau de inflamação das úlceras de pele

O GCL apresentou melhor resolução no processo inflamatório, especialmente no dia 10, onde foi observada diferença significativa em relação ao CG e CP. O grau de inflamação médio do GCL foi de 3,3 que indica predominância de processo inflamatório crônico associado a angiogênese e fibroplasia. O GC e GP apresentaram média do grau de inflamação de 2, apresentando uma predominância de inflamação aguda difusa (Figura 7).

a



b

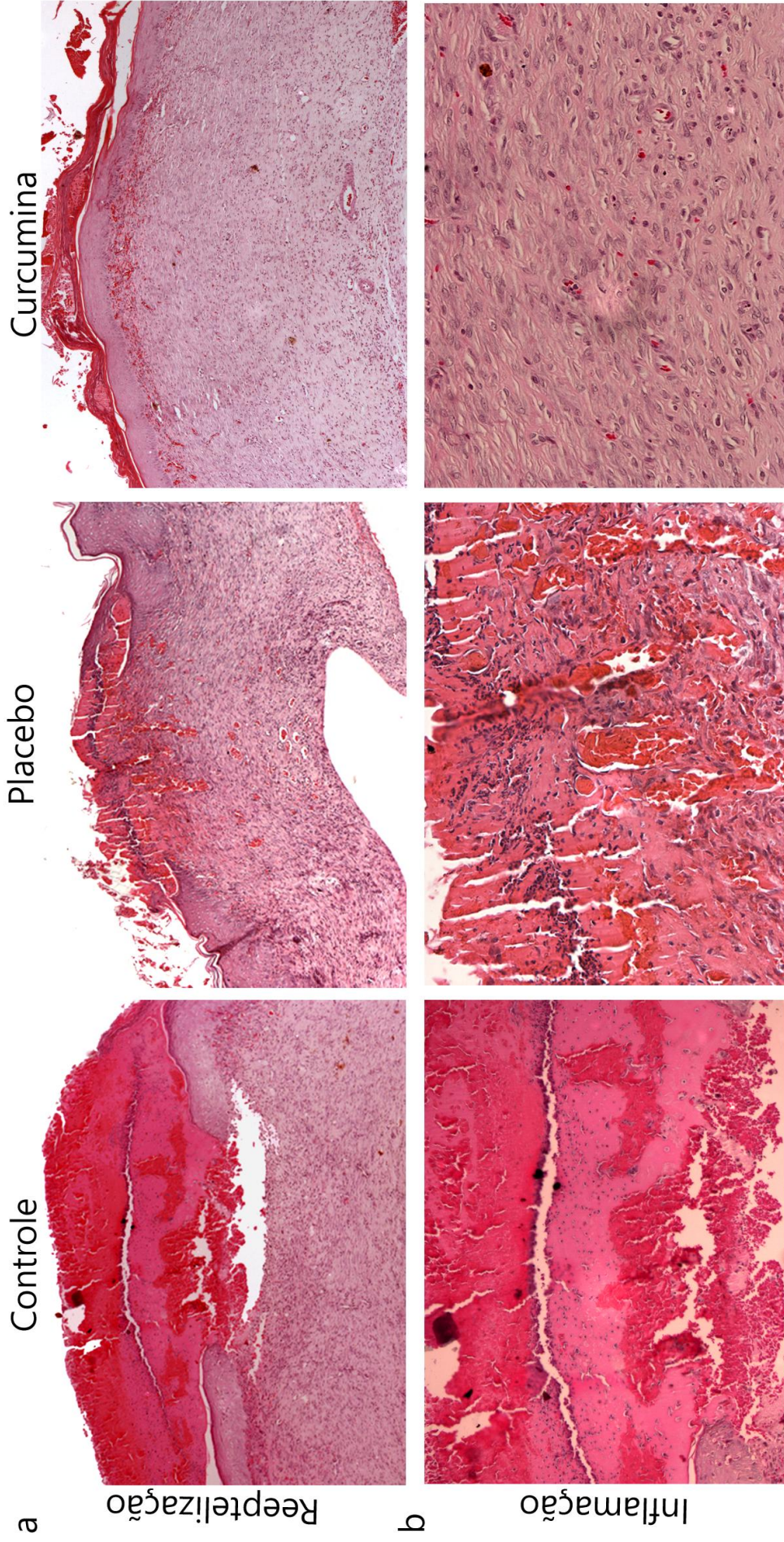


**Figura 7.** (a) Grau de inflamação das úlceras em pele dos 3 grupos experimentais ao longo do tempo. (b) Análise da inflamação no dia 10 mostrando que o GCL apresenta menor processo inflamatório neste período (\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). Teste estatístico one-way Anova.

### **Análise Histopatológicas das úlceras em pele**

Aspecto microscópico do reparo de úlceras em pele no dia 10, observamos que o GCL apresentou fechamento da ferida enquanto que, o grupo controle e placebo exibiam ulceração. Quanto ao processo inflamatório o grupo curcumina exibiam processo inflamatório crônico associado a intensa fibroblasia, enquanto que os grupo controle e placebo exibiam processo inflamatório agudo (figura 8).





**Figura 8.** Aspecto microscópico do reparo de úlceras em pele nos três grupos experimentais no dia 10. (a) Fotomicrografias ilustrando o reparo epitelial. Observar que o grupo curcumina apresentou fechamento da ferida enquanto que, o grupo controle e placebo exibiam ulceração (HE, 100x). (b) A avaliação do processo inflamatório mostrou que os grupos controle e placebo exibiam processo inflamatório agudo enquanto que, o grupo curcumina demonstrou processo inflamatório crônico associado a intensa fibroblasia (HE, 400x).

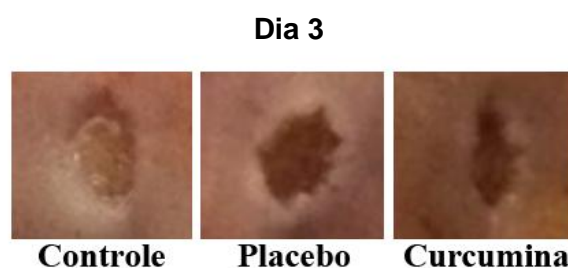


### 3. ANÁLISE DO REPARO DAS ÚLCERAS EM MUCOSA BUCAL

#### Análise Clínica

A avaliação clínica das áreas das úlceras na língua nos três grupos experimentais mostrou que, no dia 3, houve uma diferença significativa entre os grupos. O GCL apresentou redução da área de ulceração quando comparado ao GC e GP (Figura 9 , Figura 10 e Tabela 2).

No dia 5, metade dos animais do GCL exibiam clinicamente o fechamento completo das lesões em mucosa bucal enquanto que, os GP e GC demonstraram esse mesmo aspecto apenas aos 10 dias (Tabela 2).



**Figura 9.** Avaliação clínica do reparo de úlceras em mucosa bucal no dia 3 mostrando menor área da ferida no GCL.

**Tabela 2.** Número de animais com lesões em mucosa bucal abertas ou fechadas por grupo e por período experimental.

		Dia 3	Dia 5	Dia 10	Dia 14	Dia 21
Controle	Aberto	6	6	0	0	0
	Fechado	0	0	6	6	6
Placebo	Aberto	6	6	0	0	0
	Fechado	0	0	6	6	6
Curcumina	Aberto	6	3	0	0	0
	Fechado	0	3	6	6	6

**Figura 10.** (a) Gráfico demonstrando o padrão de fechamento das feridas em mucosa bucal de acordo com o grupo experimental ao longo do tempo. (\* indica diferença estatística entre os grupos). Nota-se redução da área da ferida no GCL no dia 3 (a e b) (\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). Teste estatístico one-way Anova.

### **Análise descritiva do reparo das úlceras em mucosa bucal**

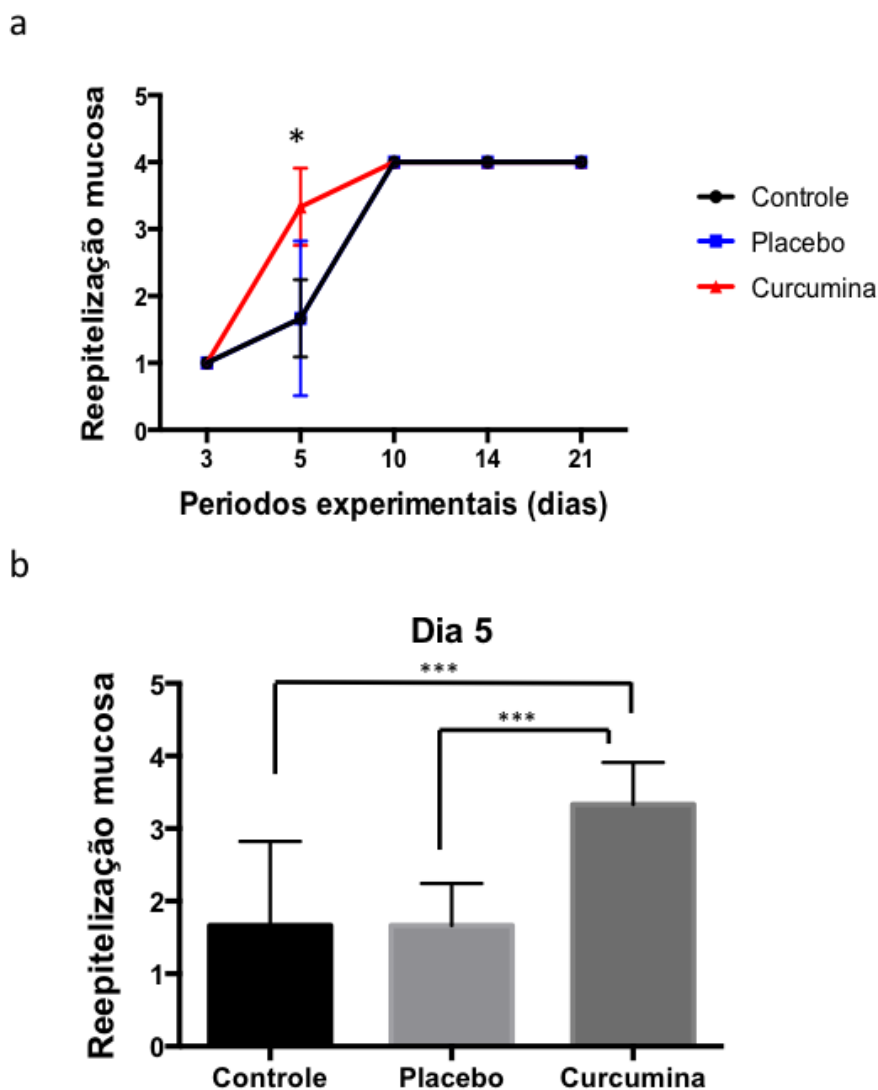
No dia 3, todos os grupos exibiam área de ulceração com reepitelização cobrindo menos da metade da ferida. O conjuntivo exposto exibia intenso infiltrado inflamatório agudo (infiltrado de polimorfonucleares) e na profundidade notava-se pouca deposição de fibras colágenas e angiogênese.

No dia 5, pode-se verificar um melhor padrão de reparo nos animais do GCL que exibiam reepitelização recobrindo toda a ferida na maior parte das amostras e processo inflamatório crônico quando comparados ao GP e GC.

Nos dias 10,14 e 21 todos os grupos demonstraram padrão semelhante microscopicamente. Pode-se observar recobrimento da ferida por epitélio estratificado pavimentoso e redução gradual do processo inflamatório crônico no tecido conjuntivo subjacente.

### **Grau de reepitelização das úlceras em mucosa bucal**

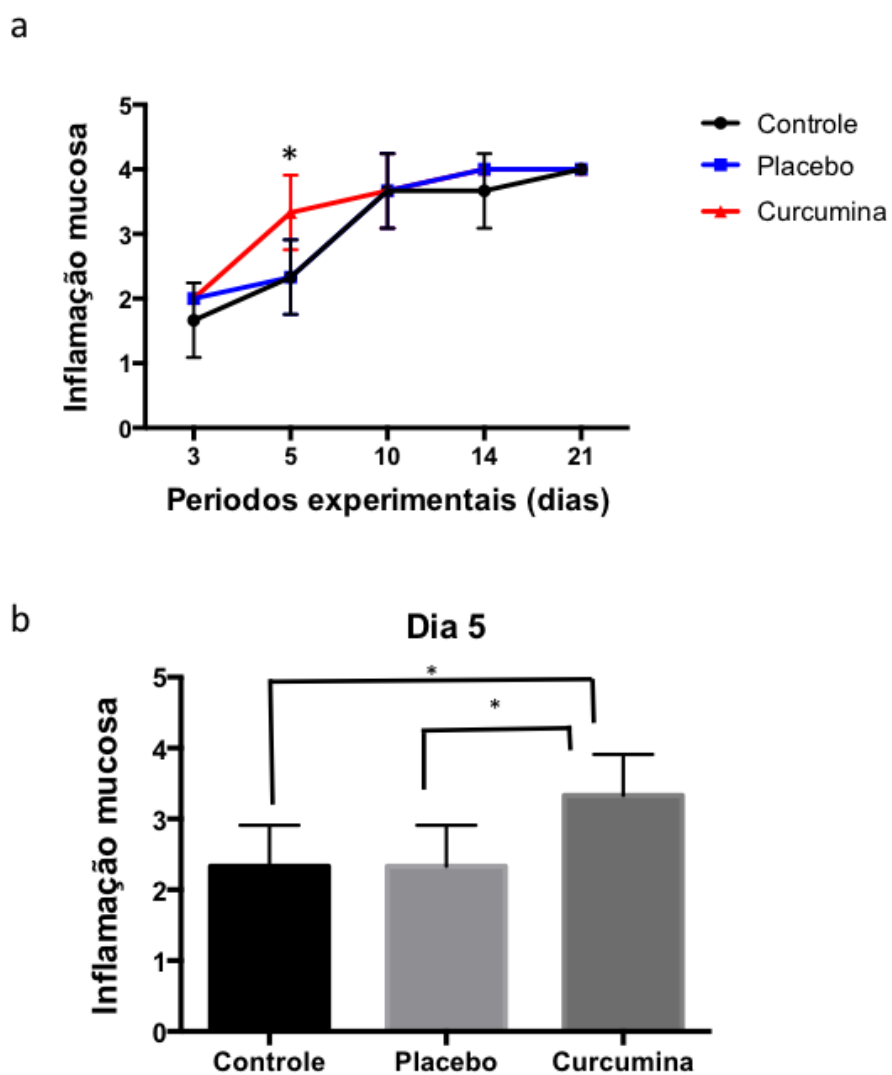
O GCL apresentou melhor padrão de reepitelização quando comparado com o GC e GP, especialmente no dia 5. No dia 10 todos os grupos demonstraram fechamento completo da ferida (Figura 11).



**Figura 11.** (a) Grau de reepitelização das úlceras em mucosa bucal dos 3 grupos experimentais ao longo do tempo. (b) Análise da reepitelização no dia 5 mostrando que o GCL apresentou reepitelização significativamente maior que o GC e GP (\*\* $p < 0.001$ ). Teste estatístico one-way Anova.

### Grau de inflamação das úlceras em mucosa bucal

O GCL apresentou melhor resolução do processo inflamatório quando comparado aos GC e CP principalmente no dia 5 (Figura 12) evidenciado pela cronificação do processo inflamatório e maior angiogênese e deposição de fibras colágenas.

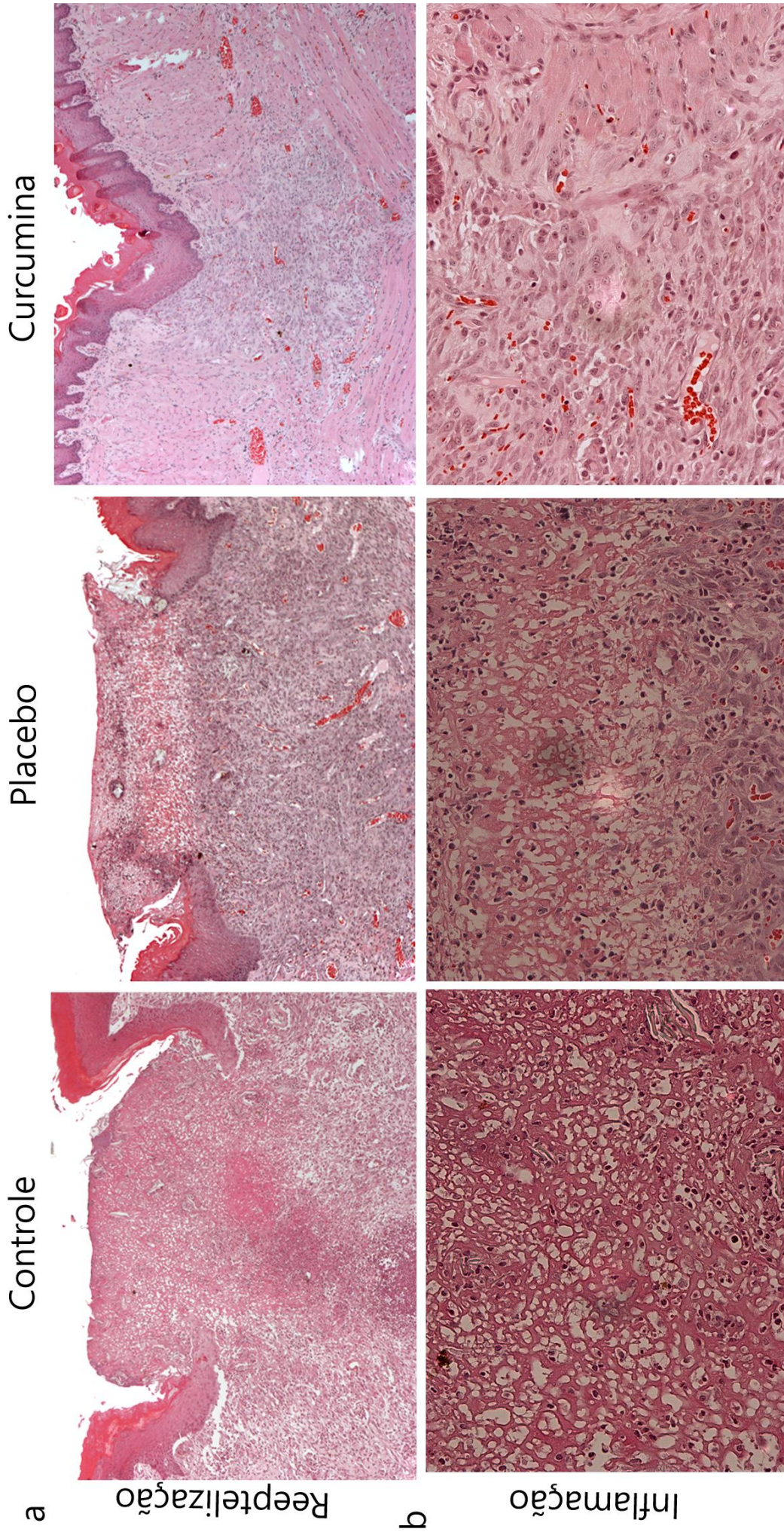


**Figura 12.** (a) Grau de inflamação das úlceras em mucosa bucal dos 3 grupos experimentais ao longo do tempo. (b) Análise da inflamação no dia 5 mostrando que o GCL apresenta maior resolução do processo inflamatório neste período ( $*p < 0.05$ ). Teste estatístico one-way Anova.

## **Análise Histopatológica**

Aspecto microscópico do reparo de úlceras em mucosa bucal no dia 3, observamos que o GCL apresentou fechamento da ferida enquanto que, o grupo controle e placebo exibiam manutenção da ulceração. Quanto ao processo inflamatório o grupo curcumina Quanto ao processo inflamatório o grupo curcumina apresentou cronificação neste período enquanto que, os demais grupo ainda exibiam processo inflamatório agudo (figura 13).





**Figura 13.** Aspecto microscópico do reparo de úlceras em mucosa bucal nos três grupos experimentais no dia 5. (a) A avaliação do reparo epitelial demonstrou fechamento das úlceras no grupo tratado com curcumina e manutenção da ulceração nos grupos controle e placebo. (HE, 100x). (b) Fotomicrografias ilustrando o processo inflamatório. Observar que o grupo curcumina apresentou cronificação do processo inflamatório neste período enquanto que, os demais grupos ainda exibiam processo inflamatório agudo (HE, 400x).



## Discussão

A pele e a mucosa bucal são sítios frequentemente acometidos por ulceração de várias origens dentre elas: traumática, infecciosa e imunológica. Estas lesões podem exibir tamanhos variados, usualmente são sintomáticas e podem interferir na no bem-estar do seu portador. Nas últimas décadas, inúmeros trabalhos foram desenvolvidos na busca de terapia efetivas para o manejo dessas lesões, principalmente envolvendo o uso de analgésicos, anestésicos, antissépticos, anti-inflamatórios esteroidais e não esteroidais (MARTINS, M.D. et al., 2009; CURRA, M. et al., 2013). A busca por novos tratamentos farmacológicos para resolução de lesões ulceradas em pele e mucosa bucal tem sido um crescente, especialmente envolvendo o uso de fitoterápicos que usualmente apresentam baixa ou nula reações adversas, interações medicamentosas e um excelente perfil de segurança (MLCEK, 2016; GUAN, 2016). Desta forma, no presente estudo avaliamos a ação tópica da formulação mucoadesiva com extrato de *Curcuma longa* L. (FMC) no reparo de úlceras em pele e em mucosa bucal. Nossos principais resultados demonstram que a FMC acelerou o processo de reparo tecidual tanto em úlceras em pele como em mucosa bucal melhorando o processo de reepitelização e modulando o processo inflamatório.

A *Curcuma longa* L. é uma espécie bastante conhecida na medicina popular, tem seu uso descrito centenário e mundialmente, devido a inúmeras atividades biológicas, como: antioxidante, antineoplásica, anti-aterosclerótica, antidepressiva, anti-envelhecimento, antidiabética, antimicrobiana, cicatrizante, anti-inflamatória, entre outras (GUPTA et al., 2012). O farmacógeno que é responsável pelas propriedades farmacológicas está presente na raiz da planta que por sua vez, apresenta três curcuminóides na sua composição, sendo a curcumina o mais

abundante (GOEL et al., 2008; GUPTA et al., 2012; AGGARWAL et al., 2013). A curcumina é um polifenol que apresenta grupamentos metóxi, hidroxilo fenólicos e duplos conjugados, que parecem ser responsáveis pela atividade anti-inflamatória, atuando também na quimioprevenção e promovendo a reparação tecidual (SURH, 2001; AGGARWAL et al., 2013; AGGARWAL et al. 2008; AHSAN et al., 1999; RAMSEWAK et al., 2000; MAHESHWARI et al., 2006; LI et al., 2011).

As análises clínicas e histopatológicas do presente estudo mostraram que FMC apresenta efeito positivos acelerando o reparo de úlceras de pele e mucosa bucal tanto clínica quanto histologicamente. Clinicamente, o GCL revelou uma medida da área de úlcera quando comparado ao GC e GPs, em ambas lesões, tanto em pele quanto em mucosa bucal. Histologicamente, estes dados foram evidenciados em pele no dia 10, onde o GCL exibiu maior reepitelização e menor processo inflamatório quando comparado aos GC e GP, enquanto na mucosa bucal resultados semelhantes foram observados aos 5 dias. Os animais tratados com FMC apresentaram redução do tempo de reparação das úlceras associado à aceleração do reparo epitelial, diminuição do infiltrado neutrofílico e aumento da inflamação crônica com proliferação de fibroblastos. Diversos estudos têm demonstrado os efeitos benéficos da curcumina, como propriedades anti-inflamatórias (BALASUBRAMANYAM et al., 2003; HENROTIN et al., 2013). Edvande et al., utilizando a mesma FMC observaram que *Curcuma longa* L. exerceu ação protetora frente as injúrias produzidas na mucosa intestinal pelo 5-FU, além de ter ação estimulante de proliferação celular, de redução nos níveis de mieloperoxidase (MPO), associado a um menor infiltrado neutrofílico, redução de malondialdeído (MDA), possivelmente relacionado a uma redução na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) devido à ação antioxidante.



PATIL et al., avaliaram a eficácia da curcumina no uso clínico, em pacientes com câncer submetidos ao tratamento por radio-quimioterapia. Esses pacientes, após serem avaliados quanto aos sinais e sintomas de mucosite oral, foram divididos em dois grupos, randomicamente, e submetidos a três bochechos diários com clorexidina 0,2% ( grupo 1) e bochechos com solução contendo curcumina à 0,004% (grupo 2) durante dez dias. O grupo submetido aos bochechos com a solução de curcumina apresentou cicatrização mais rápida e melhor adesão ao tratamento de radio-quimioterapia. O presente estudo não observou quaisquer complicações orais ou sistêmicas.

Analises moleculares indicam que a curcumina parece atuar ativando fatores de transcrição, fatores de crescimento e seus receptores, modulando a síntese de citocinas, e regulando os genes envolvidos na proliferação celular e apoptose (AGGARWAL, 2008). O curcuminóide atua modulando diversos fatores de transcrição, especialmente o fator nuclear kappa B (NF-kB) e da cicloxigenase-2 (COX-2). (GOEL, 2008) o que justifica sua ação pró-inflamatória.

Outro ponto importante relacionado ao uso da curcumina é sua segurança. Os curcuminoides presentes na *Curcuma longa* L. apresentam um bom perfil de segurança tanto em humanos (12g/dia) (LAO et al., 2006) quanto em animais (100mg/kg/dia) (TEITEN et al., 2010), podendo ser utilizada tanto na forma tópica quanto sistêmica (LÜER et al., 2014; REDDY et al., 2014) além de não manifestar toxicidade mesmo em altas doses. Porém, quando utilizada sistêmicamente, apresenta um ponto negativo que é a metabolização por glucuronidação hepática o que gera baixa disponibilidade (HENROTIN et al., 2013). No presente estudo optamos pelo uso tópico com formulação mucoadesiva que não possui como limitante o metabolismo de primeira passagem, uma vez que o ativo é depositado

diretamente sob as áreas lesões, o que torna a FMC mais atraente frente aos demais usos dos curcumoinóides na terapêutica.

Com base neste estudo, concluiu-se que a FMC estimula o reparo de úlceras em pele e mucosa bucal. Novos estudos se fazem necessários para avaliar sua eficácia em humanos.

## REFERÊNCIAS

AGGARWAL, B. B.; YUAN, W.; LI, S.; GUPTA, S. C. Multitargeting by turmeric, the golden spice: From kitchen to clinic. **Molecular Nutrition & Food Research**. v. 00, p. 1–14, 2013.

AGGARWAL, B.B. et al. Pharmacological Basis for the Role of Curcumin in Chronic Diseases: an Age-old Spice With Modern Targets. **Trends in Pharmacological Sciences**, Vol.30 No.2, p.85-94, 2008.

AHSAN, H.; PARVEEN, N.; KHAN, N. U.; HADI, S. M. Pro-oxidant, antioxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. **Chemico-Biological Interactions**. v. 121, p. 161–175, 1999.

AKHTAR, F.; RIZVI, M. M. A.; KAR, S. K. Oral delivery of curcumin bound to chitosan nanoparticles cured Plasmodium yoelii infected mice. **Biotechnology advances**, v.30, n.1, p. 310–20, 2012.

ANNADURAI, R. S. et al. De Novo transcriptome assembly (NGS) of Curcuma longa L. rhizome reveals novel transcripts related to anticancer and antimalarial terpenoids. **PLoS One**. v. 8, n. 2, 2013.

ARAUJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of Curcuma longa L. **do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 96, n. 5, p. 723–728, 2001.

ARAÚJO, L.U. et al. Profile of wound healing process induced by allantoin. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Ouro Preto - Mg, p.460-466, 2010.

BALASUBRAMANYAM, M. et al. Curcumin-induced inhibition of cellular reactive oxygen species generation: Novel therapeutic implications. **Bioscience Journal**. v. 28, p. 715–721, 2003.

BATISTA, L.L.V et al. Estudo comparativo do uso tópico de própolis verde e vermelha na reparação de feridas em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 39, n.6, p.515520, 2012.

BEN AMAR, M.; WU, M. Re-epithelialization: advancing epithelium frontier during wound healing. **J R Soc Interface**. v. 11, n. 93, 2014.

BRASILEIRO-FILHO, G. **Bogliolo Patologia Geral**. 8a edição, 2011.

CAMACHO-ALONSO, F.; LOPEZ-JORNET, P. Clinical-pathological study of the healing of wounds provoked on the dorso-lingual mucosa in 186 albino rats. **Otolaryngol Head Neck Surg**. v.136, n.1, p.119-24, 2007.

CHAUDHARI, M.; MENGI, S. Evaluation of Phytoconstituents of Terminaliaarjuna for Wound Healing Activity in Rats. **PhytotherapyResearch**, Mumbai, p.799-805, 2006.

CHEN, J, M; CHENG, M.Y; LAI, H,P; WU, F. J; HSU, C.Y. In vitro biocompatibility of thermally gelling liquid mucoadhesive loaded curcuminoids in colorectal cancer chemoprevention. **The International Journal of Colorectal Disease**, v.27, n.7, p 869- 878, 2012.

COELHO, Fernanda Hack. Uso Tópico do Extrato de Aloe Vera no Reparo de Úlceras Bucais em Ratos. 2011. 25 f. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Ufrgs**, Porto Alegre, 2013.

CREAL. rocedimentos para estesia de animais de laboratório. 2013. Disponível em:<[www.ufrgs.br/creal/animais-e-alojamento.../procedimentos-para-anestesia](http://www.ufrgs.br/creal/animais-e-alojamento.../procedimentos-para-anestesia)>. Acessado em: 20/02/2015).

CURRA, M. et al. Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. **Cancer Chemother Pharmacol**. v. 71, n.2, p. 293-299, 2013.

FARAZUDDIN, M. et al. Healing and cytotoxic effects of Psidiumguajava (Myrtaceae) leaf extracts. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 9, p. 449-454, 2010.

FARAZUDDIN, M., DUA B., ZIA Q., KHAN A.A., JOSHI B., OWAIS M. Chemotherapeutic potential of curcumin-bearing microcells against hepatocellular carcinoma in model animals. **Int J Nanomedicine**. v. 3, n. 9, p. 1139-52, 2014.

FARAZUDDIN, M., DUA, B., ZIA, Q., KHAN, A.A., JOSHI, B., OWAIS, M. Chemotherapeutic potential of curcumin-bearing microcells against hepatocellular carcinoma in model animals. **Int J Nanomedicine**. v.3, n. 9 p.1139-1152, 2014.

FERNANDES, K.P.S. et al. Healing and cytotoxic effects of *Psidium guajava* (Myrtaceae) leaf extracts. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 9, p. 449-454, 2010.

FIELD, E.A.; ALLAN, R.B. Review article: oral ulceration – etiopathogenesis, clinical diagnosis and management in the gastrointestinal clinic. **Aliment Pharmacol Ther**, **Liverpool**, p.949-962, 15 ago. 2003.

FUJISAWA, S.; ATSUMI, T.; ISHIHARA, M.; KADOMA, Y. Cytotoxicity, reactive oxygen species-generation activity and radical scavenging activity of curcumin and other related compounds. **Anti-Cancer Research**. v. 24, p. 563–570, 2004.

GEN, R.; AKBAY, E.; SEZER, K. Cushing syndrome caused by topical corticosteroid: a case report. **Am J Med Sci**. v. 333, n.3, p.173-174, 2007.

GOEL, A. et al. Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v.75, p.787–809, 2008.

GUAN, L.P. et al. Antidepressant-like effects and mechanisms of flavonoids and related analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**.p.47-57, 2016.

GUPTA, S. C.; SUNG, B.; KIM, J. H.; PRASAD, S.; LI, S.; AGGARWAL, B. B. Multitargeting by tumorigenix, the golden spice: from kitchen to clinic. **Molecular Nutrition & Food Research**. v. 00, p. 1-19, 2012.

HENROTIN, Y. et al. Curcumin: a new paradigm and therapeutic opportunity for the treatment of osteoarthritis: curcumin for osteoarthritis management. **SpringerPlus**. p2-9, 2013.

HENROTIN, Y.; PRIEM, F.; MOBASHERI, A. Curcumin: a new paradigm and therapeutic opportunity for the treatment of osteoarthritis: curcumin for osteoarthritis management. **Springerplus**. v. 2, n. 1, 2013.

JORDAN, B.C., MOCK, C.D., THILAGAVATHI, R., SELVAM, C. Molecular Mechanisms of Curcumin and its Semisynthetic Analogues in Prostate Cancer Prevention and Treatment. **Life Sciences**. V.152, P.135–144. 2016.

JURENKA, J.S. Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of *Curcuma longa*: A Review of Preclinical and Clinical Research. **Alternative Medicine**. Vol. 14, Nº2, p. 141-153, 2009.

KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. Robbins basic pathology. 7th ed. **Imprenta Philadelphia, PA: Saunders**. 2003.

LAO, C. D. et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation. **BMC, Complementary and Alternative Medicine**. v. 6, p. 10, 2006.

LEÃO, J.C.; GOMES, V.B.; PORTER, S. Ulcerative Lesions of the Mouth: an update for the general medical practitioner. **Clinics**, p.769-780, 2007.

LEE, H. S. et al. The protective effects of *Curcuma longa* Linn. extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats via upregulation of Nrf2. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 20, n. 9, p. 1331–1338, 2010.

LI, S. Y.; YUAN, W.; DENG, G. R.; WANG, P.; YANG, P.; AGGARWAL, B. B. Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.). **Pharmaceutical Crops**. v. 2, p 28–54, 2011.

LÓPEZ-JORNET, P., CAMACHO-ALONSO, F., JIMÉNEZ-TORRES, M.J., ORDUÑADOMINGO, A., GÓMEZ-GARCÍA, F. Topical curcumin for the healing of carbon dioxide laser skin wounds in mice. **Photomed Laser Surg**. v. 29, n.12, p.809-814, 2011.

LÜER, S.C.; GOETTE, J.; TROLLER, R.; AEBI, C. Synthetic versus natural curcumin: bioequivalence in an in vitro oral mucositis model. **BMC Complement Altern Med**, 2014.

LUSBY, P.E.; COOMBES, A.L.; WILKINSON, J.M. A Comparasion of Wound Healing following Treatment with *Lavandula x allardii* Honey or Essential Oil. **Phytotherapy Research, WaggaWagga, Nsw**, p.755-757, 2006.

MAHESHWARI, R. K.; SINGH, A. K.; GADDIPATI, J.; SRIMAL, R. C. Multiple biological activities of curcumin: a short review. **Life Sciences**. v. 78, p. 2081–2087, 2006.

MARGARET, I. et al. Wound Healing Activity of *Gliricidiamaculata*. **Phytotherapy Research, Hyderabad, India**, p.586-588, 1998.

MARTINS, M. D. et al. Healing properties of papain-based gel on oral ulcers. **Braz J Oral Sci**, v. 10, n.1, p.120-123, 2011.

MARTINS, M.D. et al. Comparative analysis between Chamomillarecutita and corticosteroids on wound healing: An in vitro and in vivo study. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 274-278, 2009.

MENDONÇA, R.J.D., COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **An Bras Dermatol**. v. 84, p. 257-262, 2009.

MENSAH, A.Y. et al. In Vitro Evaluation of Effects of Two Ghanaian Plants Relevant to Wound Healing. **Phytotherapy Research**, London, p.941-944, 2006.

MIZIARA, I.D. O tratamento da estomatite aftóide recorrente ainda intriga. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, p.95-107, 2009.

MLCEK, J. et al. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. **Molecules**. p.2-15, 2016.

MOHAMMADI-SAMANI, S.; BAHRI-NAJAFI, R.; YOUSEFI, G. Formulation and in vitro evaluation of prednisolone buccoadhesive tablets. **Farmaco**. v. 60, n.4, p. 339344, 2005.

MUKHERJEE, P.K. et al. Evaluation of Wound Healing Activity of Some Herbal Formulations. **Phytotherapy Research**, Calcutta, India, p.265-268, 2003.

NAGPAL, M., SOOD, S. Role Of Curcumin In Systemic And Oral Health: An Overview. **Journal Of Nature Science, Biology And Medicine**. V.4, P. 3-7, 2013.

NANDAKUMAR, D. N.; NAGARAJ, V. A.; VATHSALA, P. G.; RANGARAJAN, P.; PADMANABAN, G. Curcumin-artemisin combination therapy for malaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 50, p. 1859–1860, 2006.

NAZ, S.; JABEEN, S.; ILYAS, S.; MANZOOR, F.; ASLAM, F.; ALI, A. Antibacterial activity of *Curcuma longa* varieties against different strains of bacteria. **Pakistan Journal of Botany**. v. 42, p. 455–462, 2010.

NEGRI, P. S.; JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M.; SAKARIAH, K. K. Antibacterial activity of turmeric oil: A byproduct from Curcumin manufacture. **Agricultural and Food Chemistry**. v. 47, p. 4297–4300, 2005.

O'HARA, M. et al. A Review of 12 Commonly Used Medicinal Herbs. **Arch Fam Med, Washington**, p.523-536, 1998.

PAIVA, L.A.F. et al. Investigation on the Wound Healing Activity of Oleo-resin from *Copaifera Langsdorffii* in Rats. **Phytotherapy Research, Ceará**, p.737-739, 2002.

PATIL, K. , et al. Use of Curcumin Mouthrinse in Radio-Chemotherapy Induced Oral Mucositis Patients: A Pilot Study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. v.9, p.59-62, 2015.

PAVESI, V.C.S. et al. Healing action of topical chamomile on 5-fluouracil induced oral mucositis in hamster. **Supportive Care in Cancer**. v.19, p.639-646, 2010.

PELLICCIOLI, A.C.; MARTINS, M.D.; DILLENBURG, C.S.; MARQUES, M.M.; SQUARIZE, C.H.; CASTILHO, R. M. Laser phototherapy accelerates oral keratinocyte migration through the modulation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway. **J Biomed Opt**. v.19, n. 2, p. 028002, 2014

PEREZ-ARRIAGA, L.; et al. Cytotoxic effect of curcumin on *Giardia lamblia* trophozoites. **Acta Tropica**. v. 98, p. 152–161, 2006.

PRAMICK, M.; WHITMORE, S. E. Cushing's syndrome caused by mucosal corticosteroid therapy. **Int J Dermatol**. v.48, n. 1, p.100-101, 2009.

RAMSEWAK, R. S.; DeWITT, D. L.; NAIR, M. G. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins I-III from *Curcuma longa*. **Phytomedicine**. v. 7, n. 4, p. 303–308, 2000.

REDDY, C. A., et al. Mitochondrial-targeted curcuminoids: a strategy to enhance bioavailability and anticancer efficacy of curcumin. **PLoS One**. v. 12, 2014.

RUBY, A. J.; KUTTAN, G.; BABUB, K. D.; RAJASEKHARANB, K. N.; KUTTAN, R. Anti-tumor and antioxidant activity of natural curcuminoids. **Cancer Letters**. p. 79–83, 1995.



SANTOS, E. X. F. Efeitos da Formulação Mucoadesiva com Extrato de Curcuma Longa L. em Animais Portadores de Mucosite Intestinal Induzida Por 5-Fluorouracil. 2014. 87 fl. **Dissertação de Mestrado** - Programa de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás.

SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. **Journal Ethnopharmacology**. v. 71, p. 23–43, 2000.

SCULLY, C.; SHOTTS, R. Mouth ulcers and other causes of orofacial soreness and pain. **Bmj, London**, p.162-165, 15 jul. 2000.

SEMIZ, S.; BALCI, Y. I.; ERGIN, S.; CANDEMIR, M.; POLAT, A. Two cases of Cushing's syndrome due to overuse of topical steroid in the diaper area. **Pediatr Dermatol**. v. 25, n. 5 p. 544-547, 2008.

SHETTY, S.; UDUPA, S; UDUPA, L. Evaluation of Antioxidant and Wound Healing Effects of Alcoholic and Aqueous Extract of Ocimum sanctum Linn in Rats. **Ecam, India**, p.95-101, v. 4,. 2007.

SHUKLA, A.; RASIK, A.M.; DHAWAN, B.N. Asiaticoside-induced Elevation of Antioxidant Levels in Healing Wounds. **Phytotherapy Research, Lucknow**, p.50-54, 1999.

SINHA, U.K.; GALLAGHER, L.A. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. **Laryngoscope**. v. 113, n. 2 , p. 228-36, 2003.

SPERONI, E. et al. Effects of Differential Extraction of Verbena officinalis on Rat Models of Inflammation, Cicatrization and Gastric Damage. **Planta Med, Bologna**, p.227-235, 2007.

SQUARIZE, C.H.; CASTILHO, R. M.; BUGGE, T. H.; GUTKIND, J. S. Accelerated wound healing by mTOR activation in genetically defined mouse models. **PLoS One**. v. 5, n. 5, p. e10643, 2010

SUGUNA, L. et al. Influence of Terminaliachebula on Dermal Wound Healing in Rats. **Phytotherapy Research, India**, p.227-231, 2002.

SURH, Y.J. et al. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kB activation. **Mutation Research** , p. 243–268, 2001.

TEITEN, M.; EIFES, S.; DICATO, M.; DIEDERICH, M. Curcumin - The Paradigm of a Multi-Target Natural Compound with Applications in Cancer Prevention and Treatment. **Toxins**. v. 2, p. 128–162, 2010.

TIWARI, A.; GOEL, M.; PAL, P.; GOHIYA P. Topical-steroid-induced iatrogenic Cushing syndrome in the pediatric age group: A rare case report. **Indian J Endocrinol Metab**. 2013 Oct;17(Suppl 1):S257-8.

WAGNER V.P., et al. Influence of different energy densities of laser phototherapy on oral wound healing. **J Biomed Opt**. v. 18, n. 12, p.128002, 2013

YOUSSEF, K. M.; EL-SHERBENY, M. A.; EL-SHAFIE, F. S.; FARAG, H. A.; AL-DEEB, O. A.; AWADALLA, S. A. Synthesis of curcumin analogues as potential antioxidant, cancer chemopreventive agents. **Arch Pharmazine**. v. 337, p. 42–54, 2004.