

# POTENCIAL TERAPÊUTICO DE COMPOSTOS DE URUCUM (*Bixa orellana* L.) NO REPARO DE TECIDOS

## THERAPEUTIC POTENTIAL OF ANNATTO COMPOUNDS (*Bixa orellana* L.) IN TISSUE REPAIR

LEANDRO FERREIRA FRADE SOARES<sup>1\*</sup>, ARTHUR GOMES LEITE<sup>1</sup>, KARINNE SOUSA DE ARAÚJO<sup>2</sup>

1. Cirurgião-Dentista pelo Centro Universitário UniFacid; 2. Cirurgiã-Dentista, Doutora pela Universidade Federal do Piauí, Docente do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário UniFacid.

\* Rua Nilo Peçanha, 2431, Lourival Parente, Teresina, Piauí, Brasil. CEP: 64023-420. [leandro\\_frade30@hotmail.com](mailto:leandro_frade30@hotmail.com)

Recebido em 21/08/2021. Aceito para publicação em 21/09/2021

### RESUMO

O reparo tecidual é um processo sistêmico dividido em diferentes etapas moleculares, bioquímicas e celulares. Alternativas que auxiliem esse processo são constantemente estudadas, assim como maneiras de evitar complicações ao paciente. Dessa forma, é importante ressaltar o uso terapêutico do urucum, que apresenta compostos com excelentes propriedades terapêuticas que permitem uma evolução positiva na reparação dessas lesões. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre potencial terapêutico de compostos de urucum (*Bixa orellana* L.) no reparo de lesões em pele e osso. A pesquisa foi feita por meio da consulta nas bases de dados online: Pubmed, Lilacs, BVS, EBSCO e Periódicos da Capes. Foram selecionados trabalhos publicados nos últimos 10 anos, nos idiomas português, inglês ou espanhol. Os resultados foram organizados em forma descritiva, apontando em cada obra os dados relevantes a respeito da temática. Os resultados demonstraram que podem-se obter compostos bioativos, como trocotrienóis e carotenoides (bixina e norbixina), a partir do extrato de urucum. Essas substâncias apresentam propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, osteogênicas e antiosteoporóticas e estão sendo utilizados no tratamento de agravos à saúde. Portanto, conclui-se que compostos encontrados no urucum (*Bixa orellana* L.) apresentam potencial terapêutico no processo de reparação lesões em pele e osso.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bixa orellana, urucum, cicatrização, regeneração.

### ABSTRACT

Tissue repair is a systemic process divided into different molecular, biochemical, and cellular steps. Alternatives that aid tissue repair are constantly being studied, as well as ways to avoid complications to the patient. Thus, it is important to highlight the therapeutic use of annatto, which has compounds with excellent therapeutic properties that allow a positive evolution in the repair of these lesions. The aim of this study was to conduct a literature review on the therapeutic potential of annatto compounds (*Bixa orellana* L.) in tissue repair. The research was carried out by consulting the online databases: Pubmed, Lilacs, BVS, EBSCO and Capes Journals. Works published in the last 10 years in

Portuguese, English or Spanish were selected. The results were organized in a descriptive way, pointing out in each study the relevant data regarding the theme. The results showed that bioactive compounds, such as trochotrienols and carotenoids (bixin and norbixin), can be obtained from annatto extract. These substances have anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, osteogenic and antiosteoporotic properties and are being used in the treatment of health problems. Therefore, it was concluded that compounds found in annatto (*Bixa orellana* L.) have therapeutic potential in the process of repairing skin and bone injuries.

**KEYWORDS:** Bixa orellana, bixaceae, wound healing, regeneration.

### 1. INTRODUÇÃO

A reparação tecidual é comum a todas as feridas, independentemente do agente que a causou. É um processo sistêmico e dinâmico e está diretamente relacionado às condições gerais do organismo<sup>1</sup>. Corresponde a uma série de eventos moleculares, bioquímicos e celulares<sup>2,3</sup>.

O mecanismo do reparo tecidual é dividido em etapas de limites não muito distintos, mas sobrepostas num processo de envolvimento eminente e dinâmico: hemostasia, fase inflamatória, formação do tecido de granulação, com deposição de matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares) e remodelação<sup>4,5</sup>.

As tentativas do homem de intervir no processo de reparo de lesões retomam a antiguidade, quando foi descoberta a importância de protegê-las com a fim de evitar complicações ao paciente. A partir desses princípios, foi-se possível obter avanços e novas alternativas para esse tipo de tratamento<sup>4</sup>.

A utilização de fitoterápicos em diversos tipos de enfermidades é comum no Brasil. São elementos naturais e correspondem a uma alternativa de baixo custo e de fácil acesso à população. A *Bixa orellana* L. é uma planta nativa brasileira, conhecida popularmente por urucum. O seu uso é amplamente diversificado em nossa cultura, particularmente na alimentação, sendo muito utilizada na produção de corantes. Também é utilizada na medicina popular para o tratamento

diversos tipos de doenças, das quais podemos destacar as lesões teciduais, onde apresenta grande potencial terapêutico interferindo positivamente no processo de cicatrização<sup>6,7</sup>.

Vários protocolos medicinais visam aperfeiçoar o reparo de tecidos. Entre eles, vale ressaltar o uso do urucum e suas excelentes características como fitoterápico. Isso é atribuído à rica composição das suas sementes, onde podem ser encontrados diversos carotenoides, como a bixina, norbixina, isobixina, alfa e beta carotenos e criptoxantina, além dos tocotrienóis<sup>8</sup>.

Este estudo justifica-se pelo fato de que a partir da averiguação do potencial terapêutico de compostos de urucum no reparo de tecidos é possível demonstrar a sua viabilidade de uso no tratamento das lesões teciduais. Neste sentido a análise do potencial terapêutico de compostos de urucum (*Bixa orellana* L.) no reparo de tecidos pode contribuir para o desenvolvimento de biomateriais de baixo custo e de fácil acesso à população em geral.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre potencial terapêutico de compostos de urucum (*Bixa orellana* L.) no reparo de lesões em pele e osso, verificando as propriedades terapêuticas de compostos do urucum, investigando a utilização na cicatrização de feridas de pele e averiguando o uso no reparo ósseo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo tratou-se de uma pesquisa bibliográfica integrativa ou sistematizada, com abordagem qualitativa, exploratória quanto aos objetivos e segundo aos procedimentos técnicos ele é um estudo bibliográfico. A pesquisa foi feita por meio da consulta nas bases de dados online: Pubmed, Lilacs, BVS, EBSCO e Periódicos da Capes. A busca ocorreu no período de agosto a dezembro de 2020. Utilizaram-se os seguintes descritores: *bixa orellana*, *bixaceae*, *wound healing* e *regeneration*.

Foram incluídas revisões de literatura, pesquisas experimentais com modelo animal, relatos de caso, monografias, dissertações e teses. Os quais apresentaram disponibilidade de texto completo, em idiomas português, inglês ou espanhol, que apresentavam coerência com a temática, publicados nos últimos 10 anos, compreendendo o período entre 2011 e 2020. No entanto, eventualmente, foram incluídos alguns estudos de suma importância para compreensão do histórico ou das pesquisas acerca do tema que datem de um período anterior ao estabelecido. Foram excluídas da pesquisa, publicações cujos títulos e/ou objetivos não possuíam ligação direta com a temática ou que fugiam do objeto de estudo.

A coleta de dados se baseou em um levantamento sistemático do material, o qual foi obtido por meio de downloads dos arquivos disponíveis em PDF. Os dados coletados obedeceram aos critérios de inclusão, objetivos propostos na pesquisa e a temática em estudo. Em seguida, foi feita uma análise das pesquisas a fim de verificar quais artigos corroboravam e/ou

discordavam do assunto. Os resultados foram organizados em forma descritiva, apontando em cada obra os dados relevantes a respeito da temática.

## 3. DESENVOLVIMENTO

O mecanismo de reparação tecidual é dividido em etapas de limites não muito distintos, mas sobrepostas num processo de envolvimento eminente e dinâmico: hemostasia, fase inflamatória, proliferativa, com deposição de matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares) e remodelação<sup>4,5</sup>. Esses eventos são intercedidos e sustentados por mediadores bioquímicos, descritos nas diferentes fases desse processo, que correspondem aos principais episódios observados em determinado período<sup>2</sup>.

A pele é o maior órgão do corpo humano e atua como a barreira primordial do organismo contra o ambiente externo<sup>9</sup>. Consiste principalmente em dois componentes principais: uma epiderme estratificada e uma camada subjacente de tecido conjuntivo de suporte, a derme<sup>10</sup>.

Quando a pele é agredida por algum agente estranho pode resultar em feridas agudas que, em várias ocasiões ao longo da vida, desafiam a capacidade das linhas de frente teciduais. Mecanismos de reparação tecidual têm sido estudados por décadas com o objetivo de compreender seu funcionamento e diminuir os efeitos negativos nos domínios físico, emocional e financeiro da qualidade de vida<sup>11,12</sup>.

Na maioria dos casos, é acionada uma resposta de emergência imediata para estabelecer um ambiente fechado e evitar a perda de sangue e infecção, caracterizando mecanismos de reparo mais lentos e duradouros. Estes últimos envolvem vários tipos de células para reconstituir, pelo menos parcialmente, as propriedades biológicas iniciais do local lesionado<sup>13</sup>.

Já o tecido ósseo possui capacidade de se reparar de lesões ou defeitos em virtude de estímulos fisiológicos adequados que levam ao fechamento da lesão<sup>14</sup>. Porém, os defeitos de tamanho crítico no tecido ósseo, resultante de doenças metabólicas, de traumas ou câncer constituem grandes desafios para os cirurgiões de modo geral, pois são defeitos que em virtude de sua extensão, não se fecham<sup>15,16</sup>.

O dano ao tecido após uma lesão desencadeia os processos de coagulação, inflamação e cura. Nos tecidos que circundam o osso, o resultado do processo de cicatrização é uma cicatriz, enquanto o tecido ósseo tem uma capacidade única de atingir forma, força e função pré-lesão. A cura óssea é um processo de regeneração e não de recuperação clássica. O resultado desse processo é a formação de um tecido ósseo novo e saudável, em vez de uma cicatriz. O curso da cicatrização óssea inclui a formação óssea, angiogênese e cicatrização do tecido mole e pode ser afetado por muitos fatores, dependendo do grau dos distúrbios<sup>17</sup>.

Ao longo do tempo, têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais, por conta da sua fácil obtenção e efeitos benéficos para a população<sup>18</sup>. A *Bixa orellana* L.,

também conhecida como urucum ou urucu, é uma espécie arbustiva originária da América tropical, que vem ganhando espaço no mercado agrícola mundial, sendo cultivada nos trópicos de todo o mundo. Seus frutos são cápsulas ovóides, que contêm de 30 a 40 sementes<sup>19,20</sup>.

O extrato de urucum possui propriedades inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas. Estas atividades farmacológicas são devidas a diversos compostos bioativos, tais como polifenóis e carotenóides<sup>21</sup>.

A bixina é um apocarotenóide éster monometílico dicarboxílico extraído das sementes da árvore *Bixa orellana* L. que é muito abundante na América do Sul. Algumas sementes contêm bixina em níveis de até 80% do pigmento total. É utilizado como aditivo corante na indústria alimentícia. Vários relatórios científicos têm mostrado as atividades anticolesterolêmica, microbicida, antioxidante e analgésica da bixina<sup>22,23</sup>.

Além disso, podemos destacar o uso da norbixina, que é um carotenóide dicarboxílico hidrofílico encontrado em pequena quantidade no Urucum, que pode ser obtida a partir da bixina, através da hidrólise alcalina do grupamento éster em uma reação de saponificação<sup>24,25,26</sup>. Essa substância possui ação antioxidante, podendo assim reagir com os radicais livres que são formados em decorrência de processos fisiológicos e patológicos e que promovem danos teciduais<sup>27</sup>.

Outros metabólitos secundários produzidos pelo urucum incluem diversos compostos fenólicos, em particular os flavonóides, que em conjunto com a bixina e norbixina, conferem potencial antioxidante às sementes de urucum<sup>7</sup>.

Quando utilizado no tratamento de feridas cutâneas, o urucum evidenciou uma variação na média da quantidade de fibroblastos, obtendo um aumento significativo na proliferação destes. Pode-se observar que o extrato apresentou efeitos positivos em todas as fases do reparo tecidual nos estudos realizados, com um relevante processo de reepitelização, fibroplasia e indução de angiogênese<sup>6</sup>.

Com base nos vários estudos realizados para avaliar o seu potencial na reparação óssea, os resultados sugerem a possibilidade de uma nova função para os compostos encontrados no urucum (como a norbixina, bixina e tocotrienol), caracterizando-os como componentes de melhoria da qualidade óssea através do aumento da síntese e prevenção da deterioração da matriz óssea<sup>8</sup>.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do extrato de urucum podem-se obter compostos bioativos como os polifenóis, tocotrienóis e carotenóides (bixina e norbixina) que são substâncias que possuem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas. Essas substâncias são amplamente difundidas no tratamento de enfermos e desenvolvimento de novos biomateriais<sup>8,21</sup>.

A propriedade antioxidante dos compostos de

urucum tem sido um dos efeitos mais relatados na literatura. Os polissacarídeos mucilaginosos da folha de *Bixa orellana* L. apresentaram maior atividade antioxidante do que as amostras de galho com todos os radicais analisados. O que substância suas aplicações industriais, como suas aplicações alimentares, formulação de gel e na distribuição de drogas<sup>19</sup>.

Entre os metabólitos encontrados no urucum pode-se incluir a bixina e vários compostos fenólicos, em particular os flavonóides, que em conjunto conferem potencial antioxidante às sementes de urucum<sup>23</sup>. Experimentos *in vitro* mostraram que extratos das sementes têm uma alta capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio, que se correlacionam com a concentração de bixina nos extratos<sup>7</sup>.

Além disso, sugere-se que a bixina é hipoglicêmica, o que foi confirmado pelos resultados obtidos nos testes, correlacionando esse efeito com uma possível ligação aos receptores gama ativado por proliferador de peroxissoma, podendo atuar por outras vias para controlar a glicemia. O efeito foi estatisticamente significativo, confirmando a capacidade hipoglicêmica e o nível glicêmico dos animais diabéticos após o tratamento com bixina coincidiu com os dados da literatura. Porém, mais estudos sobre a atividade e toxicidade da bixina são necessários para avaliar o uso clínico futuro<sup>22</sup>.

Os tocotrienóis possuem poderosas propriedades de redução do colesterol, anticâncer e neuroprotetoras que muitas vezes não são exibidas pelos tocoferóis. O que tornam os estudos sobre os efeitos desses compostos e suas diferentes aplicabilidades ainda mais necessários<sup>29</sup>.

A atividade cicatrizante dessa planta está correlacionada com os metabólitos secundários presentes em sua composição química. Tanto a pomada com 30% de extrato aquoso *Bixa orellana* L. quanto a pomada com 10% apresentaram porcentagem de cicatrização 60% maior que o grupo controle. A pomada a 30% permite um processo normal de cicatrização de feridas sem evidências de infecção<sup>30</sup>.

Em um estudo brasileiro, notou-se que nos animais tratados com extrato aquoso do urucum promoveu um aumento significativo do infiltrado inflamatório, inicialmente com predomínio de polimorfonucleares (neutrófilos e eosinófilos) e em seguida de mononucleares (macrófagos e linfócitos), no 3º dia e a partir do 14º dia pós-operatório, respectivamente. Ainda foi constatado que a aplicação tópica do extrato de urucum no leito cruento da ferida induziu ao maior recrutamento e acúmulo de células inflamatórias até as fases mais tardias do processo de cicatrização<sup>20</sup>.

Outros resultados constataram que as lesões cutâneas em camundongos tratados com extrato oleoso de urucum apresentaram parâmetros de exsudato, crosta e epitelização em percentuais esperados no processo cicatricial. Além disso, foi observada a aproximação das bordas da ferida ao longo do período experimental e menor tensão. Histologicamente, após o 7º dia, verificou-se a prevalência da fase inflamatória e

abundante quantidade de fibrina<sup>6</sup>.

Outros estudos têm demonstrado a atividade anti-inflamatória da bixina por meio da ativação do fator de transcrição antioxidante Nrf2<sup>31,32</sup>, e sua eficiência em acelerar a cicatrização de feridas, bem como reduzir a área de tecido cicatricial<sup>33</sup>. Estudos relataram dados que validam o uso da bixina como mecanismo anti-inflamatório relacionado à redução da migração de neutrófilos. Também foram os pioneiros a mostrarem a propriedade antinociceptiva da bixina, que não parece estar relacionada ao efeito sedativo<sup>8</sup>.

Nos casos de ratos diabéticos, efeitos benéficos também são observados. Foi observado que o tratamento com nanofibra produzida a partir da bixina exibiu um aumento significativo na porcentagem de fechamento da ferida em comparação com outras nanofibras no dia 7 pós-ferimento. O que indica um bom efeito de remodelação. Porém, foi relevada uma diminuição na deposição de colágeno em relação à outras nanofibras puras<sup>33</sup>.

Os resultados são compatíveis com outro estudo, onde feridas causadas por queimaduras tratadas com nanopartícula de prata com norbixina (que também é um carotenoide encontrado no urucum) obtiveram um aumento no percentual de regressão das lesões, pois houve redução do processo inflamatório, indução da formação de tecido de granulação e reepitelização da área lesada. Concluindo que o gel teste de nanop prata/norbixina apresenta indícios de eficácia no processo de cicatrização de queimaduras<sup>27</sup>.

Sobre a atividade antimicrobiana, resultados mostraram que a carga bacteriana em feridas de camundongos que receberam tocotrienóis derivados de urucum foi menor em comparação com o grupo infectado não tratado. Tocotrienóis mais daptomicina mostraram a maior eficácia, alcançando uma redução na carga bacteriana. Este maior efeito antimicrobiano foi associado a níveis aumentados de citotoxicidade e marcadores de reparo de feridas<sup>34</sup>.

Pesquisas investigaram os efeitos do urucum na reparação óssea e avaliaram o tratamento de defeitos ósseos com membrana de poliestireno revestida com colágeno e norbixina associada com laser de fotobiomodulação. Foi constatado, após 15 dias, maior quantidade de osso trabecular não lamelar com distribuição irregular e formação de novos vasos sanguíneos. No entanto, no 30º dia, as bordas da lesão ainda eram evidentes, sendo preenchida com grande quantidade de infiltrado inflamatório e menos neoformação óssea ao final do defeito cirúrgico. Assim, concluíram que esses materiais foram eficazes na redução do processo inflamatório, aumento da deposição e organização do osso neoformado<sup>35</sup>.

Uma fração rica em tocotrienol, o óleo rico extraído do urucum, foi o mais eficaz e aumentou significativamente a expressão de lisil oxidase. O tratamento com esse composto diminuiu as *de-novo* metiltransferases. Além disso, o tocotrienol inibiu significativamente a ativação da proteína Janus Kinase 2 e diminuiu a expressão do gene Fli1, um fator de

transcrição de *de-novo* metiltransferases. Isso sugere a possibilidade de uma nova função para o tocotrienol do urucum como componente de melhoria da qualidade óssea, por conta do seu auxílio na regulação dos osteoblastos, gerando um efeito protetor contra danos ósseos<sup>28</sup>.

O urucum também é apontado como um importante fitoterápico no auxílio do tratamento de lesões ósseas associadas à presença de osteoporose. O tocotrienol derivado da *Bixa orellana* L. aumenta a diferenciação dos osteoblastos ao regular positivamente a expressão de osterix, fosfatase alcalina e osteocalcina. Isso se traduz em um aumento na síntese e mineralização da matriz óssea. Portanto, a ação antiosteoporose do tocotrienol demonstrada em estudos anteriores com animais pode ser explicada por suas ações anabólicas ósseas. Tendo potencial para ser desenvolvido como uma terapia antiosteoporose em humanos<sup>36</sup>.

Resultados similares constataram que o tocotrienol da *Bixa orellana* L. oferece proteção contra a osteoporose, exercendo efeitos anabólicos nos ossos. Em conclusão, o tocotrienol a 60 mg/kg de peso corporal mostra efeitos antiosteoporóticos promissores em um modelo de rato com osteoporose induzida por busrelina. A prevenção da perda óssea pode ser atribuída à sua capacidade de aumentar o número de osteoblastos e os locais de deposição mineral ativa. Porém, ressaltam que mais estudos devem ser realizados para ilustrar a deposição de tocotrienol do urucum e seu mecanismo de ação no osso<sup>37</sup>.

Em outro estudo foi descrito que o tocotrienol, com a mesma dosagem, pode prevenir a deterioração do osso trabecular induzida com busrelina, preservando a integridade microestrutural, o conteúdo de cálcio e a resistência biomecânica do osso. O tocotrienol pode ser útil para prevenir a perda óssea em pacientes do sexo masculino usando agonistas de GnRH<sup>38</sup>.

## 5. CONCLUSÃO

A planta do urucum apresenta compostos de bixina, norbixina e tocotrienol que, por meio de suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, osteogênicas e antiosteoporóticas, demonstraram efeitos positivos quando utilizados no reparo de tecidos.

Em feridas na pele, contribuíram fundamentalmente para a redução do infiltrado inflamatório e formação de tecido de granulação, elevando o percentual de regressão das feridas e acelerando a reepitelização em todas as etapas de cicatrização, o que permitiu o progresso no processo de reparação.

No tecido ósseo, ajudou no aumento do número de osteoblastos e osso neoformado, resultando em aumento na síntese e mineralização da matriz óssea, além de prevenir a sua deterioração, justificando sua ação anabólica e protetora contra a osteoporose.

Portanto, conclui-se que compostos encontrados no urucum (*Bixa orellana* L.) apresentam potencial terapêutico no processo de reparação lesões em pele e osso.

## REFERÊNCIAS

- [1] Sorg H, *et al.* Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts. *European Surgical Research*. 2017; 58(1-2):81–94.
- [2] Eming SA, Wynn TA, Martin P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. *Science*. 2017; 356: 1026–1030.
- [3] Shakya S, *et al.* Cutaneous Wounds in Mice Lacking Tumor Necrosis Factorstimulated Gene-6 Exhibit Delayed Closure and an Abnormal Inflammatory Response. *The Journal of Investigative Dermatology*. 2020.
- [4] Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments. *Adv Ther*. 2017; 34:1–12.
- [5] Rousselle P, Montmasson M, Garnier C. Extracellular matrix contribution to skin wound re-epithelialization. *Matrix Biol*. 2019.
- [6] Capella SO, *et al.* Potencial cicatricial da *Bixa orellana* L. em feridas cutâneas: estudo em modelo experimental. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2016; 68(1):104- 112.
- [7] Rivera-Madrid R, *et al.* Carotenoid Derivates in Achiote (*Bixa orellana*) Seeds: Synthesis and Health Promoting Properties. *Front Plant Sci*. 2016; 7:1406.
- [8] Pacheco SDG, *et al.* Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Bixin, a Carotenoid Extracted from the Seeds of *Bixa orellana*. *Planta Medica*. 2019.
- [9] Çankirili NK, Altundag O, Çelebi-Saltik B. Skin Stem Cells, Their Niche and Tissue Engineering Approach for Skin Regeneration. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1212:107-126.
- [10] Li J, *et al.* Effects of *Periploca forrestii* Schltr on wound healing by Src mediated Mek/ Erk and PI3K/Akt signals. *Journal of Ethnopharmacology* 2019; 237:116– 127.
- [11] Childs DR, Murthy AS. Overview of wound healing and management. *Surgical Clinics of North America*. 2017; 97(1):189–207.
- [12] Kapp S, Santamaria N. The effect of self-treatment of wounds on quality of life: a qualitative study. *Journal of wound care* 2020; 29(5).
- [13] Garcia-Orue I, *et al.* Nanotechnology approaches for skin wound regeneration using drugdelivery systems. *Applications of Nanobiomaterials*. 2016; 5:31–55.
- [14] Gomes PS, Fernandes MH. Rodent models in bone-related research: the relevance of calvarial defects in the assessment of bone regeneration strategies. *Lab Anim*. 2011; 45(1):14-24.
- [15] Bighetti BB. Avaliação das citocinas TNF-a, RANKL e OPG do número de osteoclastos no reparo de defeito ósseo em calvária de ratos diabéticos tratados com Matriz Óssea Desmineralizada. [tese] São Paulo: Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo. 2016.
- [16] Breitbart EA, *et al.* Mesenchymal stem cells accelerate bone allograft incorporation in the presence of diabetes mellitus. *J Orthop Res*. 2010; 28(7):9-942.
- [17] Lisowska B, Kosson D, Domaracka K. Lights and shadows of NSAIDs in bone healing: the role of prostaglandins in bone metabolism. *Drug Des Devel Ther*. 2018; 12:1753-1758.
- [18] Medellín-Luna MF, *et al.* Medicinal Plant Extracts and Their Use As Wound Closure Inducing Agents. *Journal of Medicinal Food*. 2019; 1-9.
- [19] Kumar SS, Girish Patil BG, Giridhar P. Mucilaginous polysaccharides from vegetative parts of *Bixa orellana* L.: Their characterization and antioxidant potential. *Journal of Food Biochemistry* 2018.
- [20] Santos JAA, *et al.* Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Rev Bras*. 2014; 16:637-643.
- [21] Zhang H, *et al.* Therapeutic potential of bixin in PM2.5 particlesinduced lung injury in an Nrf2-dependent manner. *Free Radic Biol Med*. 2018; 126:166–176.
- [22] Keita H, *et al.* Assessment of the hypoglycemic effect of Bixin in alloxan-induced diabetic rats: in vivo and in silico studies. *Journal Of Biomolecular Structure & Dynamics*. 2020.
- [23] Moreira VS, *et al.* Selection and validation of reference genes for quantitative gene expression analyses in various tissues and seeds at different developmental stages in *Bixa orellana* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2018; 24:369–378.
- [24] Piriz MA, *et al.* Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. *Rev. Bras. Plantas Med*. 2014; 16:628-636.
- [25] Shahid-Ul-Islam; Rather LJ, Mohammad F. Phytochemistry, biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications - A review. *J Adv Res*. 2016; 7:499–514.
- [26] Zouari R, *et al.* Evaluation of dermal wound healing and in vitro antioxidant efficiency of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant. *Biomed Farmacother*. 2016; 84:878-891.
- [27] Leal ER, *et al.* Ação cicatrizante da nanopartícula de prata com norbixina em queimaduras. *ConScientiae Saúde*. 2017; 16(2):241-248.
- [28] Kohno K, *et al.* Tocotrienol-rich fraction from annatto ameliorates expression of lysyl oxidase in human osteoblastic MG-63 cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 2019; 1–10.
- [29] Zou L, Akoh CC. Antioxidant activities of annatto and palm tocotrienolrich fractions in fish oil and structured lipid-based infant formula emulsion. *Food Chemistry*. 2015; 168:504–511.
- [30] Alegria SS. Evaluación de la actividad cicatrizante, en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de *Bixa orellana* L. (*Achiote*), *Ocimum campechanum* Mill. (*Albahaca de monte*) y *Aloe vera* L. (*Sábila*). [tese] Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de Universidad de San Carlos de Guatemala. 2017.
- [31] Tao S, *et al.* Free radical biology and medicine systemic administration of the apocarotenoid bixin protects skin against solar UV-induced damage through activation of NRF2. *Free Radic Biol Med*. 2015; 89:690–700.
- [32] Tao S, *et al.* Bixin protects mice against ventilation-induced lung injury in an NRF2- dependent manner. *Sci Rep*. 2016; 6.
- [33] Pinzón-García AD, *et al.* Efficient cutaneous wound healing using bixin-loaded PCL nanofibers in diabetic mice. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2016; 105:1938-1949.
- [34] Pierpaoli E, *et al.* Supplementation with tocotrienols from *Bixa orellana* improves the *in vivo* efficacy of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse model of infected wound. *Phytomedicine*. 2017; 36:50-53.

- [35] Alves AMM, et al. Evaluation of bone repair after application of a norbixin membrane scaffold with and without laser photobiomodulation ( $\lambda 780\text{nm}$ ). *Lasers Medical in Science*. 2018; 33(7):1493-1504.
- [36] Wan Hasan WN, *et al.* Annatto-derived tocotrienol stimulates osteogenic activity in preosteoblastic MC3T3-E1 cells: a temporal sequential study. *Drug Design Development and Therapy*. 2018; 12.
- [37] Mohamad N, Ima-Nirwana S, Chin K. Effect of tocotrienol from *Bixa orellana* (annatto) on bone microstructure, calcium content, and biomechanical strength in a model of male osteoporosis induced by buserelin. *Drug Design Development and Therapy*. 2018; 12:555–564.
- [38] Mohamad N, Soelaiman I, Chin K. Effects of tocotrienol from *Bixa orellana* (annatto) on bone histomorphometry in a male osteoporosis model induced by buserelin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 103:453–462.
-