

Artigo

Avaliação dos Extratos Hidroalcoólicos do Caule e Folhas da *Ximenia americana* L. na Cicatrização de Feridas Excisionais Aguda em Pele de Camundongos

Palma, A. F. M.; Marques, L. K. M.; Carneiro, R. S.; Carvalho, G. F. S.;
Ferreira, D. C. L.; Sant'Ana, A. E. G.; Maia-Filho, A. L. M.; Marques, R. B.;
Alves, W. S.; Uchôa, V. T.*

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (1), 37-50. Data de publicação na Web: 7 de fevereiro de 2020

<http://rvq.sbg.org.br>

Evaluation of Hydroalcoholic Extracts of Stem and Leaves of *Ximenia americana* L. in the Healing of Excisional Acute Wounds in Mice

Abstract: The healing activity of hydroalcoholic extracts at 2.5 % of leaves, wood and stem bark of *Ximenia americana* L. was experimentally investigated in surgically induced skin wounds in mice. The phytochemical study revealed the presence of tannins, flavonoids, saponins and steroids. The wound regression percentage was higher in the groups treated with the plant at 14 (80 %) and 21 days (100 %) when compared to the negative control group, and there was a significant reduction ($p < 0.05$) in mononuclear cells number. The fibroplasia process was more evident in the group treated with the stem bark evidenced by the significant increase of fibroblasts, reaching more than 150 % in 21 days period. Hydroalcoholic extracts of *X. americana* were favorable to the healing process through wound regression, inflammatory cells reduction and increase of fibroblasts number.

Keywords: *Ximenia americana*; healing; mice.

Resumo

A atividade cicatrizante dos extratos hidroalcoólicos a 2,5 % das folhas, cascas e madeira do caule de *Ximenia americana* L. foi investigada experimentalmente em feridas cutâneas cirurgicamente induzidas em camundongos. O estudo fitoquímico revelou a presença de taninos, flavonoides, saponinas e esteroides. O percentual de regressão da ferida foi maior nos grupos tratados com a planta aos 14 (80 %) e 21 dias (100 %) quando comparados ao grupo controle negativo, havendo também redução significativa ($p < 0,05$) do número de células mononucleares. O processo de fibroplasia foi mais evidente no grupo tratado com a casca do caule evidenciado pelo aumento significativo de fibroblastos, chegando a mais de 150 % no período de 21 dias. Os extratos hidroalcoólicos da *X. americana* mostraram-se favoráveis ao processo de cicatrização através da regressão da ferida, redução de células inflamatórias e aumento do número de fibroblastos.

Palavras-chave: *Ximenia americana*; cicatrização; camundongos.

* Universidade Estadual do Piauí, Centro de Ciências da Natureza - CCN, Departamento de Química, Campus Poeta Torquato Neto, Rua João Cabral 2231, CEP 64002-150, Pirajá, Teresina - PI, Brasil.

 vtuquimica@yahoo.com.br
DOI: [10.21577/1984-6835.20200005](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200005)

Avaliação dos Extratos Hidroalcoólicos do Caule e Folhas da *Ximenia americana* L. na Cicatrização de Feridas Excisionais Agudas em Pele de Camundongos

Antônia Flávia M. da Palma,^a Laura Karina M. Marques,^a Renata da S. Carneiro,^a Gilmânia F. S. Carvalho,^a Dannel C. L. Ferreira,^b Antônio E. G. Sant'Ana,^c Antônio L. M. Maia Filho,^b Rosemarie B. Marques,^b Wellington dos S. Alves,^b Valdiléia T. Uchôa^{a*}

^a Universidade Estadual do Piauí, Centro de Ciências da Natureza - CCN, Departamento de Química, Campus Poeta Torquato Neto, Rua João Cabral 2231, CEP 64002-150, Pirajá, Teresina - PI, Brasil.

^b Universidade Estadual do Piauí, Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade - NPBio, Rua Lucídio Freitas 2901, CEP 64003-985, Porenquanto, Teresina - PI, Brasil.

^c Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais - LPqRN, Campus A. C. Simões, Avenida Lourival Melo Mota S/N, CEP 57072-900, Tabuleiro dos Martins, Maceió-AL, Brasil.

*vtuquimica@yahoo.com.br

Recebido em 14 de maio de 2019. Aceito para publicação em 28 de novembro de 2019

1. Introdução

2. Metodologia

2.1. Coleta do material botânico e obtenção do extrato

2.2. Prospecção fitoquímica

2.3. Animais

2.4. Avaliação macroscópica

2.5. Avaliação microscópica

2.6. Análise estatística

3. Resultados e Discussão

3.1. Perfil fitoquímico

3.2. Regressão cicatricial

3.3. Células mononucleares

3.4. Células polimorfonucleares

3.5. Proliferação fibroblástica

4. Conclusão

1. Introdução

A utilização de plantas com atividades medicinais e farmacológicas é um hábito forte e cultural em toda a população brasileira. A busca na natureza por soluções para combater as enfermidades cotidianas tem seguido a humanidade desde seus primórdios, e hoje essa busca se traduz através de avanços tecnológicos para o isolamento e elucidação estrutural de princípios ativos de origem vegetal.^{1,2}

No Brasil, particularmente, destaca-se a *Ximenia americana* L., popularmente conhecida como ameixã silvestre.³ É uma espécie da família Olacaceae, cosmopolita tropical, com ocorrência no Nordeste do país, principalmente nos estados do Ceará, Piauí e Bahia.⁴ No estado do Piauí é comum a sua comercialização em mercados municipais como preparações na forma de pó, garrafadas e *in natura*.⁵ As raízes pulverizadas possuem propriedades antissépticas, anti-inflamatórias e são usadas no tratamento de febres e cefaleias.⁶ As folhas são empregadas como laxante e no tratamento de sarampo.⁷ As cascas do caule vêm sendo utilizadas no uso contra hanseníase, malária, infecções, inflamações e na cicatrização da pele.⁸ Sua ação cicatrizante pode ser explicada pela presença de taninos,⁹ substâncias avermelhadas que agem retirando a água do interior da célula e formando uma ligação complexa com as proteínas, propiciando uma proteção na ferida e colaborando na reparação tecidual.^{10,11}

A cicatrização é a resposta fundamental do organismo às injúrias na pele, sejam causadas por intervenções cirúrgicas ou traumáticas. A maioria dos autores considera esse processo como sendo dividido em três fases que se sobrepõem, acontecendo de forma interativa e dinâmica: inflamação, proliferação e remodelação. Através de eventos tissulares, celulares e facilitadas por mediadores químicos e fatores de crescimento, o processo cicatricial de uma lesão se mostra como um evento global com o objetivo de restaurar a completude tecidual.^{12,13}

Conhecer o processo de cicatrização permite o desenvolvimento de técnicas e métodos que minimizem os problemas e acelerem a reparação tecidual. A preocupação da ciência com o melhoramento desse processo data da antiguidade e o investimento em pesquisas e desenvolvimento de melhorias na recuperação funcional e estética do paciente é crescente.^{14,15}

Nesta pesquisa, a atividade cicatrizante de soluções hidroalcoólicas a 2,5 % das folhas, cascas e madeira do caule da *X. americana* foram avaliadas experimentalmente no processo de reparo tecidual de lesões cutâneas abertas cirurgicamente induzidas em camundongos.

2. Metodologia

Este estudo foi realizado no laboratório de pesquisa Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) e Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade (NPBio) da Universidade Estadual do Piauí (UESPI), em condições experimentais com potencial para aplicação clínica em seres humanos. Foram obedecidos os princípios éticos de experimentação animal preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O protocolo de pesquisa foi aprovado sob nº 0038/2017 pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UESPI. Foi realizado o cadastro na plataforma do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob o número A2EF00B.

2.1. Coleta do material botânico e obtenção do extrato

As folhas, cascas e madeira do caule da *X. americana* L. foram coletados em abril de 2012 na cidade de Campo Maior-PI. Um espécime de comprovante sob o número de referência 14407 foi depositado no Herbário Graziela Barroso na Universidade Federal do Piauí. O material coletado (1 Kg) foi seco à temperatura ambiente até desidratação total e pulverizados. Os pós foram extraídos três vezes consecutivas com etanol 95 % (3 L) em um extrator de aço inoxidável à temperatura ambiente pelo método de maceração.

Os extratos etanólicos foram obtidos após concentração no evaporador rotativo a baixa pressão e a eliminação da umidade residual por liofilização. Após a obtenção dos extratos etanólicos das folhas, cascas e madeira do caule, foram pesados 2,5 gramas de cada extrato e solubilizados com 97,5 mL de álcool 70 % (soluções hidroalcoólicas 2,5 %). Além das soluções hidroalcoólicas dos extratos foi produzido solução do controle negativo (álcool 70 %), ambos foram acondicionados em borrifadores plásticos conforme a Figura 1.



Figura 1. Soluções hidroalcoólicas 2,5 % do controle negativo e dos extratos de *X. americana*

2.2. Prospecção fitoquímica

Os extratos etanólicos da *X. americana* foram submetidos à prospecção fitoquímica para identificação de flavonoides, taninos, saponinas, esteroides/triterpenoides e alcaloides conforme Matos (2009).¹⁶

2.3. Animais

Foram utilizados 60 camundongos da espécie *Mus musculus* com peso médio de 30 g, provenientes do Biotério da UESPI divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais: Grupo controle negativo (veículo), Grupo EECC (Casca do Caule), Grupo EEMC (Madeira do Caule), Grupo EEF (Folhas), sendo subdivididos ainda em três subgrupos iguais de acordo com o período de tratamento (7, 14 e 21 dias). Permaneceram acondicionados em gaiolas de plástico, em condições de temperatura e umidade controladas, com livre acesso a água e ração industrial apropriada.

Os animais foram previamente pesados e receberam por via subcutânea, um pré-tratamento com atropina na dose de 0,01 mL para cada 100 g de peso corpóreo, aguardando repouso de 15 minutos para o procedimento anestésico. Em seguida, foram submetidos à droga anestésica

por via intramuscular, cloridrato de cetamina 10 % utilizando a dose de 0,1 mL para cada 100 g de peso corpóreo e cloridrato de xilazina 2 % com dose de 0,1 mL para cada 100 g de peso corpóreo. Após a anestesia, cada animal foi posicionado em decúbito dorsal, imobilizado em prancha operatória, submetido à tricotomia na região dorsal e assepsia com povidine tópico (Figura 2A).

As lesões cirúrgicas foram realizadas de forma padronizada, na mesma região anatômica do dorso, com área e profundidade iguais para todos os animais. Para a realização da ferida foi utilizado um “punch” dermatológico de 8 mm (Figura 2B). Com a ajuda de pinça e tesoura, a lesão foi induzida permitindo a retirada completa da epiderme e parte da derme (Figura 2C), expondo-se a fáscia muscular (Figura 2D). A homeostasia da região da ferida foi realizada por compressão suave digital, durante 2 min, com gaze estéril umedecida em solução de cloreto de sódio a 0,9 %.

Após o procedimento cirúrgico, os animais dos grupos experimentais foram tratados com as soluções hidroalcoólicas dos extratos a 2,5 % e controle negativo sob borrifação direto na ferida, na frequência de uma vez ao dia com duração de 7, 14 e 21 dias. Em seguida, foram recondicionados nas caixas específicas e receberam duas doses de 50 mg/kg de 12 em 12 horas de dipirona para procedimento de analgesia.

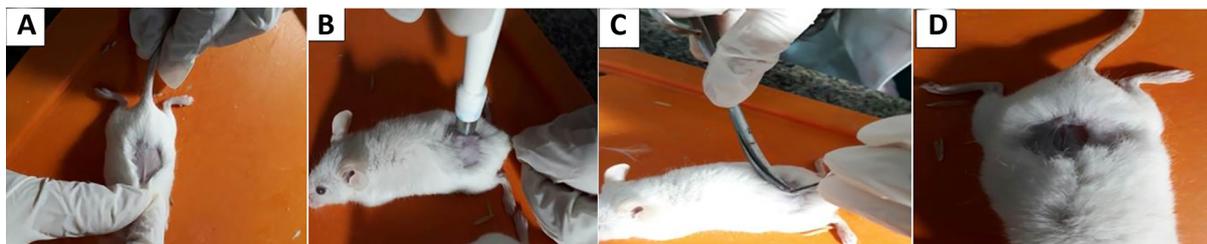


Figura 2. A- Tricotomia; B- Demarcação do tamanho da ferida; C- incisão para retirada da derme; D- ferida cutânea com 1 cm² de área

2.4. Avaliação macroscópica

Os animais tiveram a área de suas lesões aferidas a partir de imagens capturadas com câmera digital Nikon Coolpix P100, com 10,3 megapixels de resolução, fixada em tripé e mantida à distância constante de 30 cm da ferida cirúrgica. As imagens foram obtidas no pós-operatório e no dia da eutanásia de cada grupo e posteriormente importadas para o software *Image J*[®] para a avaliação macroscópica do reparo tecidual. A área inicial foi comparada com a final em todos os animais dos diferentes grupos, seguindo a equação 1. Após tratamentos dos dados no programa Excel, a regressão cicatricial foi mensurada em porcentagem.

$$\text{Equação 1: } \frac{\text{Área inicial} - \text{Área final}}{\text{Área inicial}} \times 100$$

2.5. Avaliação microscópica

Nos dias 7, 14 e 21 após o experimento, os animais dos subgrupos foram submetidos à eutanásia por excesso de anestesia de acordo com as orientações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Uma amostra da pele da região dorsal correspondente à área da ferida foi removida, tendo como padronização 1 cm em relação às margens superior e inferior e 1 cm das margens laterais. As peças foram fixadas em formol 10 % e posteriormente submetidas a processo laboratorial de rotina para inclusão em parafina. As lâminas produzidas foram coradas com hematoxilina-eosina e submetidas a estudo histopatológico por microscopia óptica. Os critérios avaliados levaram em consideração a presença de células inflamatórias e fibroblastos.

2.6. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada de maneira descritiva, através das médias \pm desvio padrão e inferencial, utilizando teste ANOVA para comparação entre grupos. O intervalo de confiança foi de 95 % e o nível de significância $p < 0,05$. Os resultados foram quantificados e expressos através de gráficos produzidos no software estatístico GraphPad Prism 5.0.

3. Resultados e Discussão

3.1. Perfil fitoquímico

No estudo fitoquímico dos extratos etanólicos do caule e folhas de *X. americana* por prospecção preliminar foram identificados classes de compostos secundários através dos resultados de coloração e precipitação, baseado nas propriedades químicas e físico-químicas das substâncias que constituem o material vegetal. Após análise, observou-se que os extratos das folhas, cascas e madeira do caule apresentaram resultados positivos para as 4 classes investigadas, exceto alcaloides, conforme mostrados na Tabela 1.

A presença de taninos, flavonoides, saponinas, esteroides/triterpenoides nos extratos etanólicos de *X. americana* corroboram com os resultados encontrados por Onguleye & Ibitoye 2003,¹⁷ Shettar *et al.* 2015¹⁸ e James *et al.* 2007.¹⁹ Uchôa *et al.* 2016²⁰ identificaram e isolaram os flavonoides (-) *epi*-catequina e quercetina da fração acetato de etila das folhas. Resultados semelhantes foram encontrados por Maia 2018²¹, Carvalho *et al.* 2020²² e Da Silva *et al.* 2018.³

Os taninos são apontados como principais responsáveis pela ação cicatrizante dessa espécie. Além de possuírem atividade antimicrobiana, esses metabólitos precipitam-se com proteínas

Tabela 1. Triagem fitoquímica dos extratos etanólicos da *Ximenia americana L*

Classes de Compostos	Cascas do Caule	Madeira do Caule	Folhas	Coloração
Taninos	Positivo	Positivo	Positivo	Verde
Flavonoides	Positivo	Positivo	Positivo	Vermelha
Saponinas	Positivo	Positivo	Positivo	Amarela
Esteroides/ triterpenoides	Positivo	Positivo	Positivo	Avermelhada
Alcaloides	Não detectado	Não detectado	Não detectado	Não detectado

em uma ligação complexa, conferindo à área da lesão uma crosta que a reveste, favorecendo a cicatrização.¹¹ Seu mecanismo de ação contra microrganismos pode ser explicado pelo poder de inibição das enzimas microbianas extracelulares, o que leva a um comprometimento da multiplicação celular desses organismos.²³

Todos os outros fitoconstituintes presentes na *X. americana* também são compostos bioativos, com atividades farmacológicas conhecidas, o que dá a essa planta grande potencial para a produção de fitoterápicos. A esses constituintes são atribuídas as suas atividades antioxidante,²⁴ anti-inflamatória,^{18,25} antinociceptiva,^{26,27} antimicrobiana,²⁸ moluscicida,²⁹ gastroprotetiva,³⁰ hepatoprotetora e hipoglicemiante.³¹

3.2. Regressão cicatricial

Durante o ato operatório e todo o período de tratamento, nenhuma complicação foi observada.

Nas avaliações diárias, os animais demonstraram recuperação adequada, com estado geral de saúde estável e com disposição para a alimentação.

O desenvolvimento da ferida cutânea nos grupos controle negativo, EECC, EEMC e EEF da *X. americana* resultou em formação de crostas leves por volta do 7º dia de pós-operatório. A partir desse período, a cicatriz foi reforçada, tornando-se mais rígida e passou a destacar-se espontaneamente a partir do 14º dia, progredindo para o remodelamento até o 21º de pós-operatório, com crescimento de pelos em volta da área lesada (Figura 3).

Na análise macroscópica é levada em consideração a regressão cicatricial, ou seja, a contração da ferida. Essa é uma fase do processo de cicatrização que se caracteriza pelo movimento centrípeto das bordas, podendo chegar até 62 % quando comparado à lesão inicial em feridas de segunda intenção.³² Essa fase é antecipada pela proliferação, que através da angiogênese e

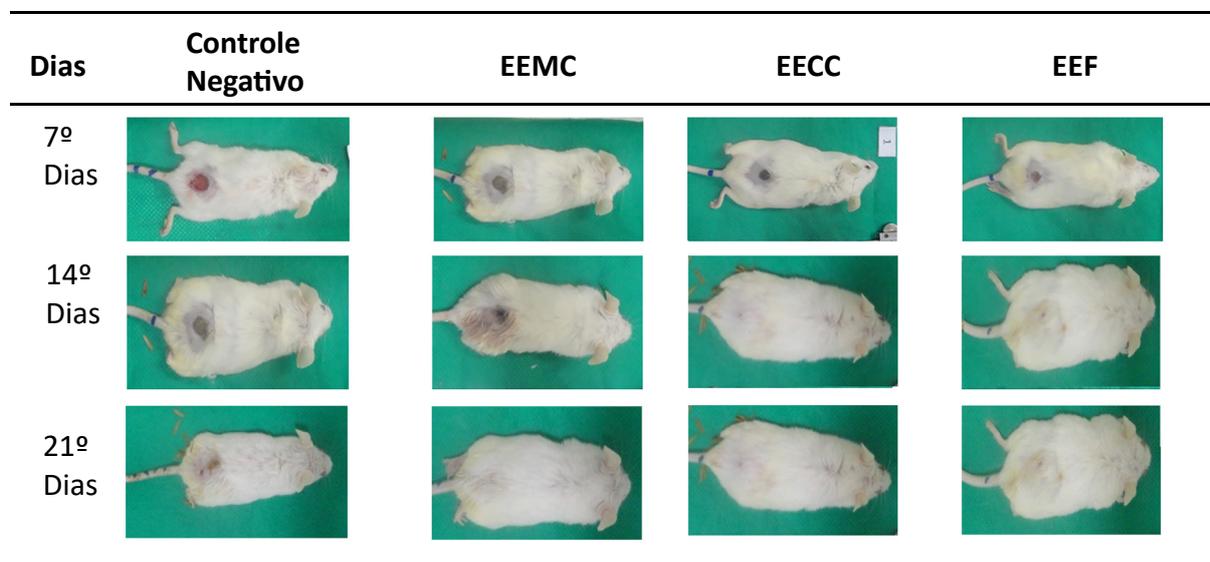


Figura 3. Fotos comparativas dos animais do grupo controle negativo com os grupos tratados com extratos da *X. americana* mostrando as lesões no 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório

fibroplasia, o tecido de granulação é desenvolvido e enriquecido com fibras colágenas, concedendo à região lesada um início de cicatriz.¹⁴

Os resultados da regressão cicatricial dos grupos tratados com os extratos de *X. americana* e o grupo controle negativo são apresentados na Figura 4.

Na figura 4A, observa-se que os percentuais de regressão para os grupos tratados com a planta no período de 7 dias não apresentaram diferença significativa quando comparados ao grupo controle negativo. Na comparação intergrupos, o grupo EEF, com aproximadamente 60 % de regressão, teve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo EEMC.

Entretanto, ao observar as Figuras 4B e 4C, percebe-se que nos períodos de 14 e 21 dias os grupos EECC, EEMC e EEF de *X. americana* tiveram um maior percentual de regressão da ferida quando comparados ao grupo controle negativo, apresentando diferença significativa de $p < 0,05$. Nos grupos tratados por 21 dias, a reepitelização atingiu aproximadamente 100 %.

O fenômeno de contração da ferida se dá pela presença dos miofibroblastos, que são células

diferenciadas a partir de fibroblastos, compostos de actina e com função contrátil que colaboram com o ressecamento da crosta superficial da ferida, diminuindo o tamanho e contraindo o tecido nela aderido.^{33,34}

A análise e comparação dos achados para regressão cicatricial mostram que todas as partes da planta utilizada resultaram em valores de áreas menores quando comparados ao grupo controle negativo, evidenciando assim que os extratos atuaram positivamente no processo de cicatrização. Resultados semelhantes com as cascas do caule e folhas da mesma espécie foram encontrados por Brasileiro 2008³⁵ e Priyanka 2010.³⁶

A contribuição positiva das soluções hidroalcoólicas das folhas, cascas e madeira do caule de *X. americana* podem ser associadas exclusivamente a ação cicatrizante já conhecida dessa espécie. Trabalhos desenvolvidos com outras espécies indicam que o veículo (álcool 70 %), apesar de possuir propriedades antissépticas, não interfere no processo de cicatrização quando avaliados os aspectos macroscópicos de regressão.³⁷

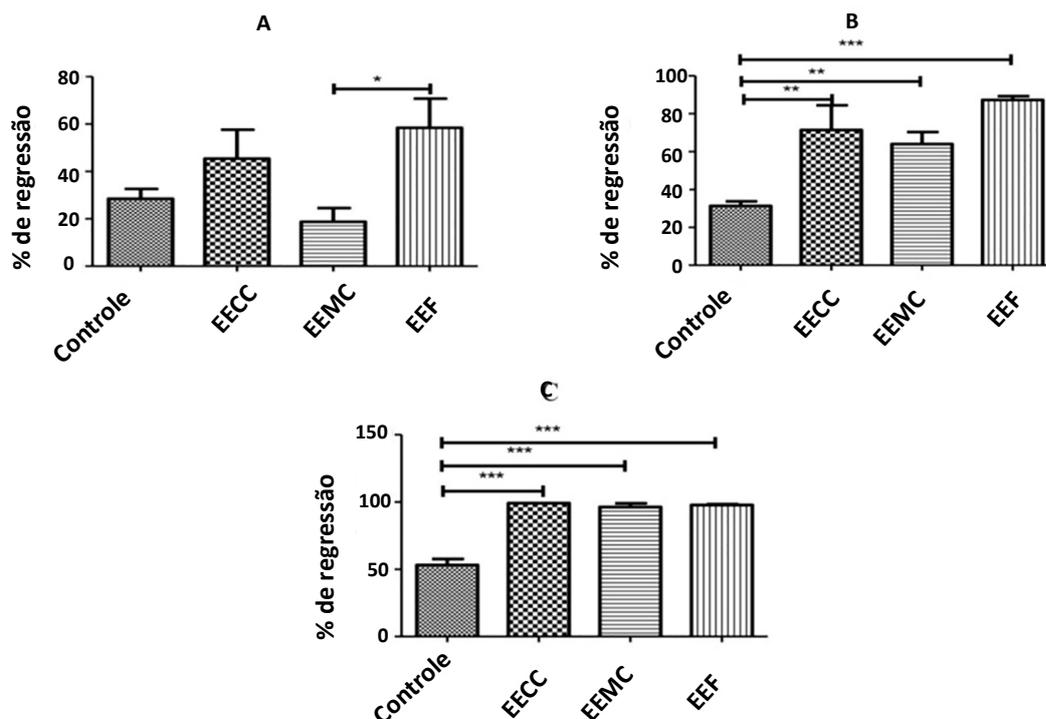


Figura 4. Percentual de regressão da ferida dos grupos controle negativo e tratados com extratos hidroalcoólicos de *X. americana* nos períodos de 7(A), 14(B) e 21(C) dias. *, ** e *** estatisticamente significativo, $p < 0,05$

3.3. Células mononucleares

A primeira reação do organismo a um dano tissular é o processo de hemostasia, onde há a formação de um trombo, inicialmente plaquetário, instituído com a função de evitar que o material sanguíneo seja extravasado. Em continuidade, o processo inflamatório na região da lesão se caracteriza, principalmente, pela presença de células imunes (neutrófilos e macrófagos), que por fagocitose limpam o local e previnem contra microrganismos patogênicos. Os eventos seguintes são marcados pela presença e ação dos fibroblastos, que através da síntese de colágeno contribuem para a formação do tecido de granulação, o que virá a ser o início do remodelamento da ferida.³⁸

Os dados mostram que há uma redução no número de células mononucleares de forma significativa ($p < 0,05$) quando comparados os grupos EECC, EEF e EEMC em relação ao grupo

controle negativo no período de 7 dias (Fig. 5A). Não há diferença, no entanto, entre os grupos experimentais.

Analisando o período de 14 dias de tratamento, observa-se que houve redução no número de células mononucleares em todos os grupos, não havendo, no entanto, diferença significativa entre esses. Na figura 5C, evidencia-se, novamente, uma redução do número de células mononucleares para todos os grupos no período de 21 dias, com decréscimo significativo do grupo EECC quando comparado ao grupo controle negativo.

O material celular mononucleado encontrado na área das lesões pode ser associado à presença de macrófagos. Estes estão presentes na primeira fase da cicatrização, a fase inflamatória. Logo após a chegada e ação dos neutrófilos, os macrófagos surgem na região com uma função semelhante, que é a realização da limpeza local por fagocitose como mecanismo de defesa contra microrganismos.³⁹

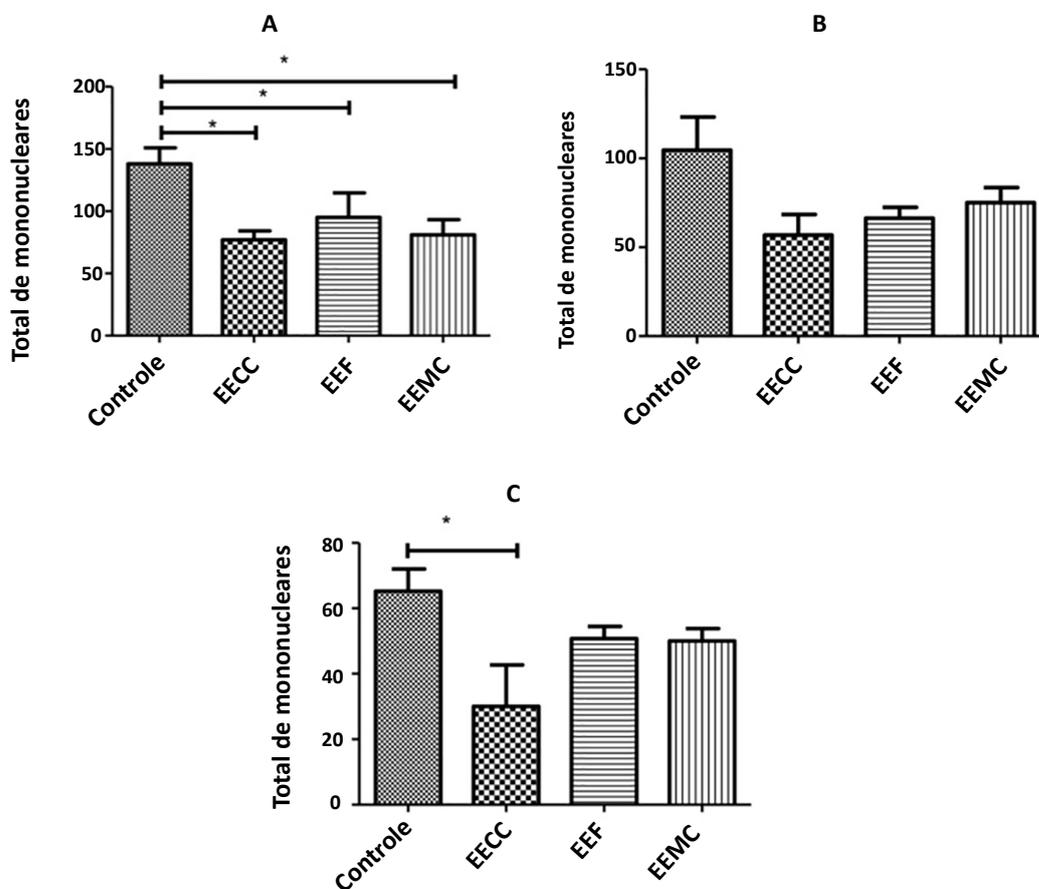


Figura 5. Contagem de células mononucleares na derme de camundongos para os grupos controle negativo e tratados com extratos hidroalcoólicos de *X. americana* nos períodos de 7(A), 14(B) e 21 dias(C). Os valores apresentados representam a média ± E.P.M. do número de células (n = 05). * estatisticamente significativo, $p < 0,05$

A observação dos dados indica que a presença de células inflamatórias foi reduzida significativamente nos grupos tratados com *X. americana* no 7º dia pós-operatório. Esse fato pode ser explicado pela ação anti-inflamatória da espécie já proposta por Leal et al. 2016.²⁴ Os resultados encontrados corroboram com outros estudos já feitos com a utilização de plantas medicinais para cicatrização. Garros et al. 2006⁴⁰ investigaram o poder cicatrizante da *Passiflora edulis* em feridas cutâneas abertas em ratos e os achados histológicos indicam a redução de material celular mononucleado à medida que aumenta o período de tratamento. Os leucócitos estão presentes na fase inicial de inflamação da lesão e possuem vida curta naquela região, sendo posteriormente substituídos por outras células.

3.4. Células polimorfonucleares

A Figura 6, resume o número de células polimorfonucleares encontradas para os animais

tratados com as folhas, cascas e madeira do caule de *Ximenia americana* L. nos tempos experimentais de 7, 14 e 21 dias. Os dados mostram que no 7º dia de pós-operatório (Fig. 6A) há uma redução no número de células polimorfonucleares de forma significativa ($p < 0,05$) quando comparados os grupos EEFC e EECC. Há um aumento significativo do grupo EECC em relação ao grupo controle negativo. Não há diferença, no entanto, entre os grupos controle negativo, EEFC e EECC.

Na Figura 6B, é possível perceber que há uma redução no número dessas células de forma significativa ($p < 0,05$) quando comparados o grupo EEFC com os demais grupos, mostrando que a folha foi a que mais contribuiu para a redução de células inflamatórias no tempo de quatorze dias. Há ainda um aumento significativo do grupo EECC em relação ao grupo controle negativo e EECC.

Já na Figura 6C, evidencia-se um decréscimo no número de material celular polimorfonucleado significativamente quando comparados o grupo

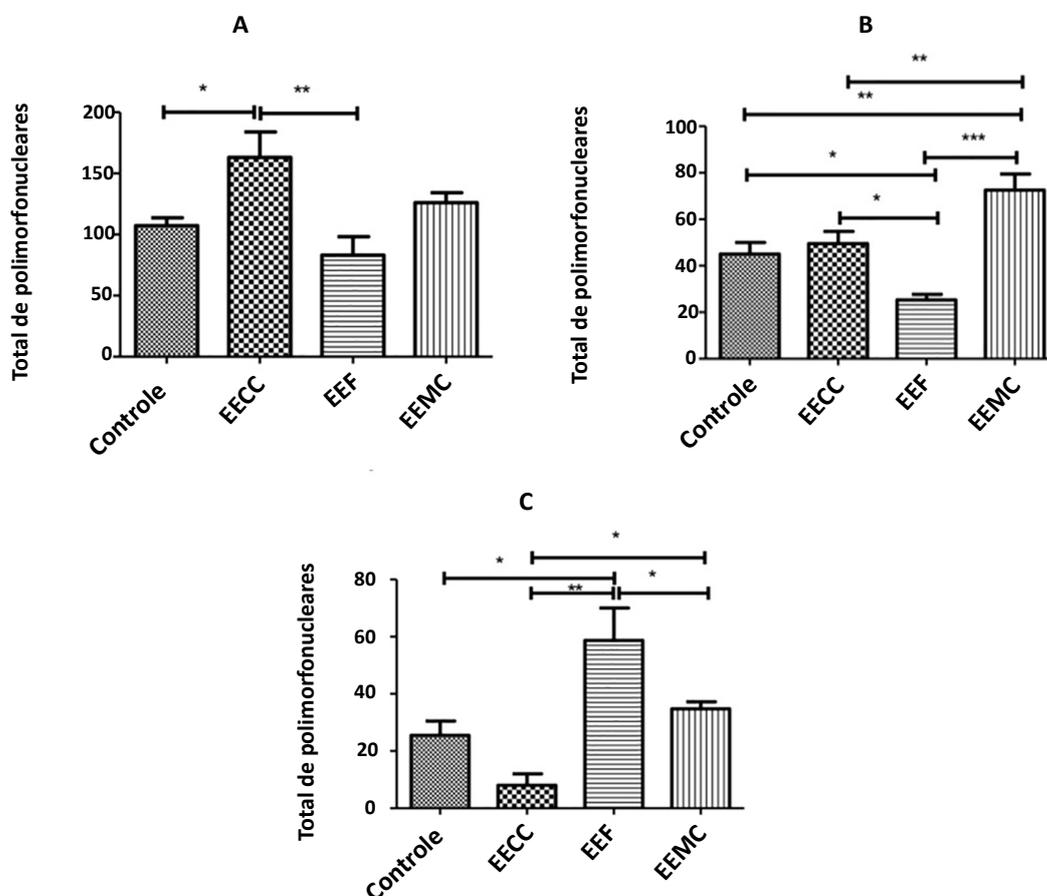


Figura 6. Contagem de células polimorfonucleares na derme de camundongos para os grupos controle negativo e tratados com extratos hidroalcoólicos de *X. americana* nos períodos de 7 (A), 14 (B) e 21 dias (C). Os valores apresentados representam a média \pm E.P.M. do número de células ($n = 05$). *, ** e *** estatisticamente significativo ($p < 0,05$)

EECC com os demais grupos, mostrando que, dentro do período de 21 dias, esse foi o extrato que mais contribuiu para amenizar o processo inflamatório nos animais.

Em suma, pode-se afirmar que na avaliação da intensidade da inflamação aguda, os grupos EECC e EEMC da *X. americana* não foram eficazes no processo de cicatrização no período de 7 e 14 dias de tratamento, respectivamente, apresentando maior índice inflamatório quando comparadas com o grupo controle negativo. Em contrapartida, o extrato da folha (EEF) mostrou-se eficaz no processo de cicatrização nesses mesmos períodos, através da redução do processo inflamatório.

No entanto, o grupo EECC obteve melhores resultados no 21º dia de pós-operatório, indicando que essa parte da planta age como um bom estimulante do processo cicatricial à medida que o tempo de recuperação aumenta, o que nos leva a acreditar que o extrato hidroalcoólico das cascas do caule da *X. americana* possuem efeito cicatrizante quando avaliados à longo prazo.

A medicina popular utiliza várias espécies vegetais como estimulantes da cicatrização,

muitos destes por agirem na redução do processo inflamatório. Algumas plantas nativas da flora brasileira já foram estudadas quanto à sua atividade cicatrizantes, tais como *Aloe vera*,⁴¹ *pfaffia glomerata*,⁴² *Platonia insignis Mart.*,⁴³ *Bryophyllum calycinum Salisb*,⁴⁴ *Passiflora edulis*,⁴⁰ *Stryphnodendron adstringens*.¹⁰

3.5. Proliferação fibroblástica

A avaliação da presença de células fibroblásticas na área da lesão permite entender como a substância investigada atua no processo de remodelação. Por volta do terceiro dia, a concentração de fibroblastos é aumentada na região da ferida e desse momento até a fase final de cicatrização, os fibroblastos são responsáveis pela síntese do tecido de granulação, de proteínas integrantes da matriz extracelular e o mais importante, síntese do colágeno. Este é o principal componente encarregado de conceder ao tecido neoformado a sua força necessária.⁴⁵

A figura 7, traz os aspectos histológicos das dermes dos animais submetidos à avaliação de cicatrização.

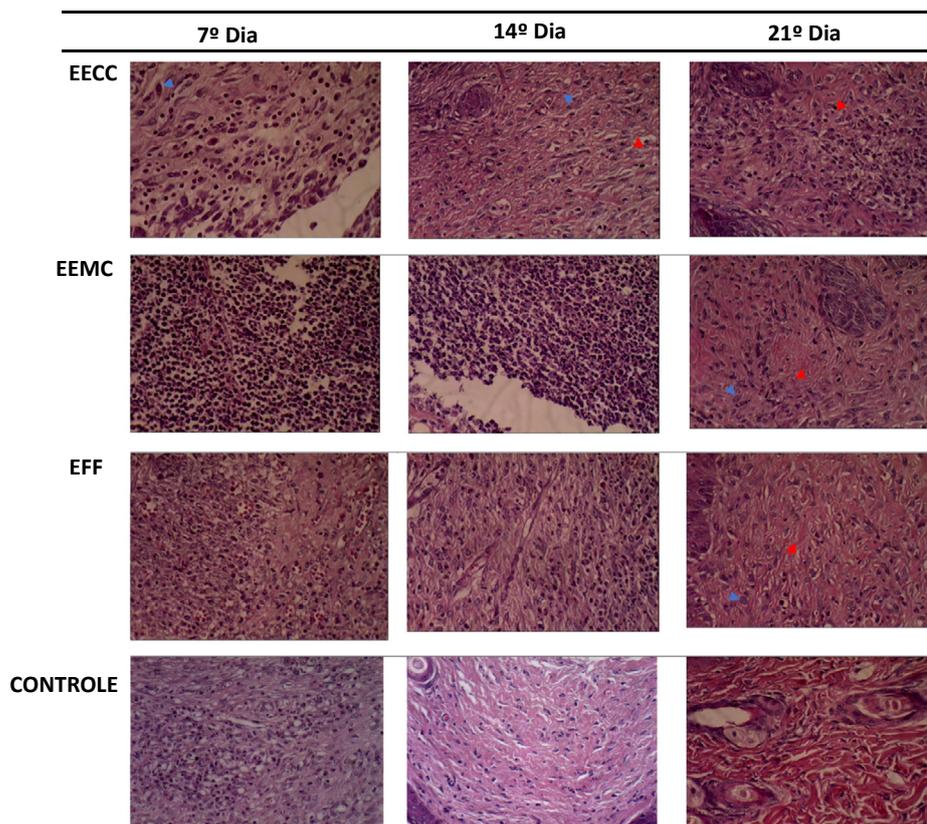


Figura 7. Fotomicrografias histológicas da derme dos grupos controle negativo e experimental. Coloração H.E. Aumento 10x10

Observa-se que o grupo EECC possui uma maior presença de fibroblastos, evidenciada pelas setas azuis, nos períodos de 7 e 14 dia de pós-operatório. Aos 21 dias de tratamento, uma maior deposição de fibras colágenas (setas vermelhas) é observada nos grupos EECC, EEMC e EEF, indicando que os grupos experimentais apresentam processo de fibroplasia mais acentuado quando comparados ao grupo controle negativo.

A estimativa do número de fibroblastos presentes na derme dos animais é apresentada na Figura 8. Observa-se na Fig. 8A que, ao sétimo dia, a presença dessas células é significativamente maior no grupo EECC quando comparados aos grupos EEF e EEMC. Com 14 dias de tratamento (8B), o grupo EECC continua sendo o melhor em número de fibroblastos, apresentando agora

diferença significativa ($p < 0,05$) com os demais grupos, incluindo o controle negativo. Após 21 dias de lesão (8C), não houve diferença significativa no número de fibroblastos entre os grupos.

O aumento significativo do número de fibroblastos no grupo EECC indica que esse extrato é o que mais contribui para a reepitelização, favorecendo o processo cicatricial através de maior produção de colágeno e miofibroblastos, os responsáveis pela contração da ferida e qualidade da pele regenerada. Esses dados concordam com os achados por Júnior 2016⁴⁶, que ao usar extratos hidroalcoólicos 10 % da mesma espécie incorporados em creme, obteve um aumento do número de fibroblastos, neovascularização e diminuição de mastócitos em feridas abertas de ratos *Wistar*.

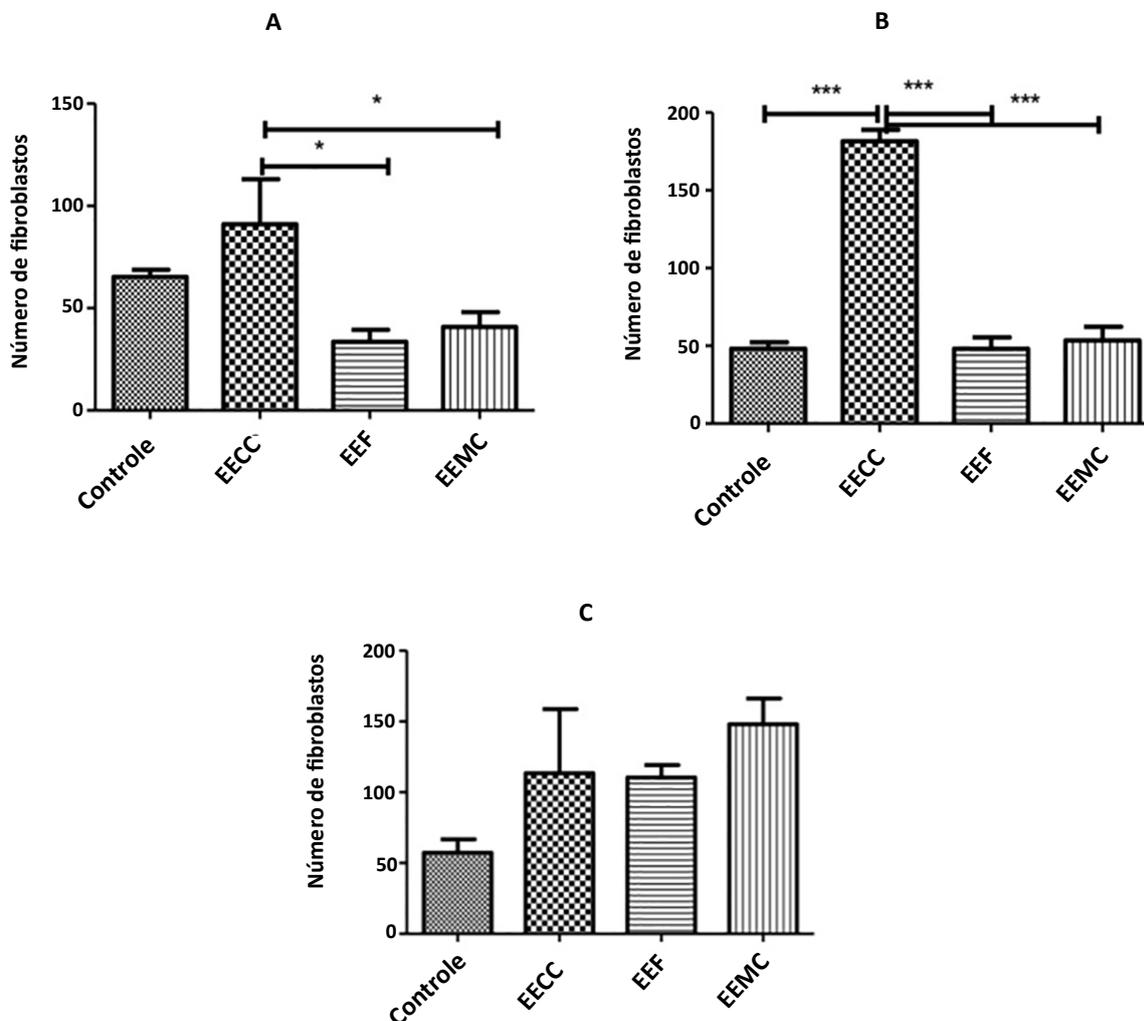


Figura 8. Contagem de fibroblastos na derme dos animais tratados com extratos hidroalcoólicos da *X. americana* aos 7(A), 14(B) e 21(C) dias. Os valores apresentados representam a média \pm E.P.M. do número de células ($n = 05$). *, ** e *** estatisticamente significativo ($p < 0,05$)

4. Conclusão

No presente estudo, verificou-se que os extratos hidroalcoólicos 2,5 % das folhas, cascas e madeira do caule de *Ximenia americana* L. atuaram positivamente no processo de cicatrização de feridas de segunda intenção cirurgicamente induzidas em camundongos, através de redução de áreas das feridas e diminuição de células inflamatórias. O extrato das cascas do caule apresentou resultados superiores aos demais grupos no processo de fibroplasia, evidenciado pelo aumento do número de fibroblastos. O estudo fitoquímico revelou ainda a presença de taninos, flavonoides, saponinas e esteroides, confirmando a existência de constituintes bioativos na planta com potenciais anti-inflamatório e cicatrizante.

Referências Bibliográficas

- ¹ Sepúlveda, G. J.; Porta, H. D.; Rocha, M. S. La participación de los metabolitos secundários em la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* **2003**, *21*, 355. [[Link](#)]
- ² Martelli, A.; Andrade, T. A. M.; Santos, G. M. T. Perspectivas na utilização de fitoterápicos na cicatrização tecidual: revisão sistemática. *Archives of Health Investigation* **2018**, *7*, 344. [[CrossRef](#)]
- ³ Silva, B. A. F.; Costa, R. H. S.; Fernandes, C. N.; Leite, L. H. I.; Filho, J. R. Garcia, T. R.; Coutinho, H. D. C.; Wanderley, A. G.; Menezes, I. R. A. HPLC profile and antiedematogenic activity of *Ximenia americana* L. (Olacaceae) in mice models of skin inflammation. *Food and Chemical Toxicology* **2018**, *119*, 199. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴ Matos, F. J. A.; *Plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*, 3a. ed., Imprensa Universitária: Fortaleza, 2007.
- ⁵ Santos, M. V.; Vieira, I. R.; Ilva, M. F. S.; de Andrade, I. M. Commercialization of medicinal plants in the public markets of the municipality of Paranaíba, Piauí, Brazil. *Espacios* **2019**, *40*, 13. [[Link](#)]
- ⁶ Souza, R. K. D.; Silva, M. A. P.; Menezes, I. R. A.; Ribeiro, D. A.; Bezerra, L. R.; Almeida, S. M. M. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* **2014**, *157*, 99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷ Omer, M.E. F. A.; Elnima, E. I. Antimicrobial Activity of *Ximenia americana*. *Fitoterapia* **2003**, *74*, 122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸ Brasileiro, M. T.; Egito, A. A.; Lima, J. R.; Randau, K. P.; Pereira, G. C.; Neto, P. J. R. *Ximenia americana* L.: botânica, química e farmacologia no interesse da tecnologia farmacêutica. *Revista Brasileira de Farmácia*, **2008**, *39*, 164. [[Link](#)]
- ⁹ Veras A. O. M.; Morais S. M.; *Anais da 9ª Semana Universitária e Anais do 13º Encontro de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Ceará*, Fortaleza, Brasil, 2004.
- ¹⁰ Rodrigues, D. F.; Mendes, F. F.; Filho, A. D. F. N.; Silva, J. A.; Silva, L. A. F. O extrato da casca de barbatimão, *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville, na cicatrização de feridas em animais. *Enciclopedia Biosfera, Centro Científico Conhecer* **2013**, *9*, 1586. [[Link](#)]
- ¹¹ Haslam, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products* **1996**, *59*, 205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹² Leal, E. C.; Carvalho, E. Cicatrização de Feridas: O Fisiológico e o Patológico. *Revista Portuguesa de Diabetes* **2014**, *9*, 133. [[Link](#)]
- ¹³ Balbino, C. A.; Pereira, L. M.; Curi, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2005**, *41*, 27. [[Link](#)]
- ¹⁴ Oliveira, I. V. P. D. M.; Dias, R. V. D. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. *Acta Veterinaria Brasilica* **2012**, *6*, 267. [[Link](#)]
- ¹⁵ Alves, H.; Machado, M. T.; Noronha, A. N. W. Análise qualitativa do processo de reparo em cicatriz cirúrgica de ratos tratados com extrato de *Musa sapientum*, *Aloe vera*, Colagenase e Placebo. *Revista Ciências em Saúde* **2011**, *1*. [[Link](#)]
- ¹⁶ Matos, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*, 3a. ed., Editora UFC: Fortaleza, 2009.
- ¹⁷ Ogunleye, D. S.; Ibitoye, S. F. Studies of antimicrobial activity and chemical constituents of *Ximenia americana*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **2003**, *2*, 239. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Shettar, A. K.; Kotresha, K.; Kaliwal, B. B.; Vedamurthy, A. B. Evaluation of *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ximenia americana* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **2015**, *5*, 918. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ James, D. B.; Abu, E. A.; Wurochekke, A. U.; Orji, G. N. Phytochemical and antimicrobial investigation of the aqueous and methanolic extracts of *Ximenia americana*. *Journal of Medical Sciences*, **2007**, *2*, 284. [[Link](#)]
- ²⁰ Uchôa, V. T.; Sousa, C. M. M.; Carvalho, A. A.; Santana, A. E. G.; Chaves, M. H. Free radical scavenging ability of *Ximenia americana* L. stem bark and leaf extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2016**, *6*, 91. [[CrossRef](#)]

- ²¹ Maia, C. E. G.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2018. [[Link](#)]
- ²² Carvalho, G. F. S.; Marques, L. K.; Souza, H. G.; Silva, L. R.; Ferreira, D. C. L.; Amaral, F. P. M.; Filho, A. L. M. M.; Figueredo-Silva, J.; Alves, W. S.; Oliveira, M. D. A.; Júnior, J. S. C.; Júnior, F. L. C. C.; Ramos, R. M.; Rai, M.; Uchôa, V. T. Phytochemical study, molecular docking, genotoxicity and therapeutic efficacy of the aqueous extract of the stem bark of *Ximenia americana* L. in the treatment of experimental COPD in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **2020**, *247*, 112259. [[CrossRef](#)]
- ²³ Monteiro, J. M.; Amorim, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova* **2005**, *28*, 892. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Almeida, M. L. B.; Freitas, W. E. S.; Morais, P. L. D.; Sarmiento, J. D. A.; Alves, R. B. Bioactive compounds and antioxidant potential fruit of *Ximenia americana* L. *Food Chemistry* **2016**, *192*, 1078. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵ Leal, S. S.; Uchôa, V. T.; Silva, J. F.; Soares, R. B.; Mota, D. M.; Alencar, R. C.; Filho, A. L. M. M.; Santana, A. E. G.; Júnior, M. B. Eficácia da fonoforese com *Ximenia americana* L. na inflamação de tendão de ratos. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* **2016**, *22*, 355. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ da Silva-Leite, K. E. S.; Assreuy, A. M. S.; Mendonça, L. F.; Damasceno, L. E. A.; Queiroz, M. G. R.; Mourão, P. A. S.; Pires, A. F.; Pereira, M. G. Polysaccharide rich fractions from barks of *Ximenia americana* inhibit peripheral inflammatory nociception in mice: Antinociceptive effect of *Ximenia americana* polysaccharide rich fractions. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2017**, *27*, 339. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Dias, T. L. M. F.; Melo, G. M. A.; da Silva, Y. K. C.; Queiroz, A. C.; Goulart, H. F.; Alexandre-Moreira, M. S.; Santana, A. E. G.; Uchôa, V. T. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, of fractions and of epicatechin isolated from the stem bark of *Ximenia americana* L. (Oleaceae). *Revista Virtual de Química* **2018**, *10*, 86. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Costa, E. M. M. B.; Barbosa, A. S.; Arruda, T. A.; Oliveira, P. T.; Dametto, F. R.; Carvalho, R. A.; Melo, M. D. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* **2010**, *46*, 175. [[Link](#)]
- ²⁹ Uchoa, V. T.; Júnior, R. A.; Carvalho, C. M.; Abreu, F. C.; Goulart, H. F.; Sant'Ana, A. E. G.; *29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia, Brasil, 2006.
- ³⁰ Aragão, T. P.; Prazeres, L. D. K. T.; Brito, S. A.; Neto, P. J. R.; Rolim, L. A.; Almeida, J. R. G. S.; Caldas, G. F. R.; Wanderley, A. G. Contribution of secondary metabolites to the gastroprotective effect of aqueous extract of *Ximenia americana* L. (Oleaceae) stem bark in rats. *Molecules* **2018**, *23*, 112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Sobeh, M.; Mahmoud, M. F.; Abdelfattah, M. A. O.; El-Beshbishy, H. A.; El-Shazly, A. M.; Wink, M. Hepatoprotective and hypoglycemic effects of a tannin rich extract from *Ximenia americana* var. *caffra* root. *Phytomedicine* **2017**, *3*, 36. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Mandelbaum, S. H.; Di Santis, E. P.; Mandelbaum, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *Anais Brasileiro de Dermatologia* **2003**, *78*, 393. [[Link](#)]
- ³³ Majno, G.; Joris, I.; *Cells, tissues and disease: principles of general pathology*, Blackwell Science: Cambridge, 1996.
- ³⁴ Junqueira, L. C.; Carneiro, J.; *Histologia básica: texto e atlas*, 12a. ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2013.
- ³⁵ Brasileiro, M. T.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2008. [[Link](#)]
- ³⁶ Priyanka, S.; *Dissertação de Mestrado*, Rajiv Gandhi University of Health Sciences, Índia, 2010. [[Link](#)]
- ³⁷ Baracho, N. C. V.; Oliveira, H. C.; Magalhães, I. N.; Gil, B. L.; Irulegui, R. S. C. Extrato hidroalcoólico de própolis e cicatrização de feridas no diabetes tipo I: Estudo experimental. *Revista Científica@Universitas*, **2009**, *1*. [[Link](#)]
- ³⁸ Enoch, S.; Leaper, D. J. Basic Science of wound healing. *Surgery* **2008**, *26*, 31. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Di Pietro, L. A. Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. *Shock* **1995**, *4*, 233. [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Garros, I. C.; Campos, A. C. L.; Tâmbara, E. M.; Tenório, S. B.; Torres, O. J. M.; Agulham, M. A.; Araújo, A. C. F.; Santis-Isolan, P. M. B.; Oliveira, R. M.; Arruda, E. C. M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cirúrgica Brasileira* **2006**, *21*, 55. [[Link](#)]
- ⁴¹ Faleiro, C. C.; Sandro, T. H. E.; Cavalcanti, L. C.; Cavalcanti, A. S. S. O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo, *Natureza Online* **2009**, *7*, 56. [[Link](#)]

⁴² Carneiro, M. I. S.; Ribas Filho, O.; Ribas, C. A. P. M. Estudo comparativo do uso de extrato de *Pfaf-fia glomerata* e do laser de baixa potência (hélio–neônio) na cicatrização de feridas em ratos. *ABCD: Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva* **2010**, *23*, 163. [[Link](#)]

⁴³ Júnior, R. Q. S.; Soares, L. C.; Filho, A. L. M. M.; Araujo, K. S.; Santos, I. M. S. P.; Júnior, J. S. C.; Saffi, J. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis Mart.*). *ConScientiae Saúde* **2010**, *9*, 575. [[Link](#)]

⁴⁴ Sousa, J. L.; Costa, P. D. L.; Filho, A. L. M. M.; Batista, N. J. C.; Uchoa, V. T.; Alves, W. S. Análise da ação do gel da *Bryophyllum calycinum Salisb* (folha santa) associado ao ultrassom na cicatrização de feridas cutânea. *ConScientiae Saúde* **2015**, *14*, 213. [[Link](#)]

⁴⁵ Young, A.; McNaught, C.E. The physiology of wound healing. *Surgery* **2011**, *29*, 475. [[CrossRef](#)]

⁴⁶ Júnior, J. C. S. N.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil, 2016. [[Link](#)]