

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E AÇÃO CICATRIZANTE *IN VIVO* DE CREME A BASE DO EXTRATO ETANÓLICO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DA *Platonia insignis* Mart.

Jorge M. M. Albuquerque¹; Adna M. O. Silva¹; Sávio R. Soares¹; Girlene S. de Figueirêdo²; Ticiano G. do Nascimento³; Johnnatan D. de Freitas⁴; Marly L. de Oliveira¹; Gerardo M. Vieira Junior⁵; Sâmia D. L. de Freitas⁵; Valdiléia T. Uchôa¹

¹Departamento de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual do Piauí – UESPI, Campus Torquato Neto, 2231, Pirajá, Teresina, Piauí, Brasil.

²Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Ministro Petrônio Portella, Ininga, Teresina, Piauí, Brasil.

³Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Campus Tabuleiro dos Martins, Maceió, Alagoas, Brasil.

⁴Departamento de Química, Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Campus Centro, Maceió, Alagoas, Brasil.

⁵Departamento de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Ministro Petrônio Portella, Ininga, Teresina, Piauí, Brasil.

Palavras-Chave: Cicatrização, In Vivo, Antibacteriana.

Introdução

A cicatrização constitui conjunto dinâmico de alterações teciduais importantes na manutenção da integridade do organismo, que envolve inflamação, quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação (Leite et al., 2012). Portanto, a cicatrização surge como resposta tecidual às lesões, sejam induzidas por traumatismo ou por procedimentos cirúrgicos. É componente necessário ao processo de reparação, por proporcionar os mecanismos pelos quais o tecido lesado é preparado para a reconstrução (Garros et al., 2006).

No Brasil, o Ministério da Saúde vem criando meios de inclusão de tratamentos complementares no sistema oficial de saúde, como por exemplo, a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) em 2006 e a adoção pelo Sistema Único de Saúde (SUS) da resolução da diretoria colegiada número 10/2010 que lista plantas medicinais com ações terapêuticas comprovadas na saúde humana. (Piriz et al, 2014)

Vários foram os fitoterápicos testados e usados no processo de cicatrização de feridas cutâneas que se mostraram promissoras. A Aloe vera (babosa) foi eficaz no tratamento de feridas cutâneas abertas em ratos diabéticos e normais (Contrera et al., 1985). O uso tópico da solução de Papaína a 2% também apresentou bons resultados em feridas cutâneas abertas em ratos (Sanchez et al., 1993). A emulsão contendo o polissacarídeo de Anacardium occidentale (caju) teve resultados satisfatórios como cicatrizante em lesões cutâneas de camundongos (Schirato et al, 2006). O extrato das folhas de Crajiru (*Arrabidaea chica* Verlot) apresentou ação cicatrizante em estudos *in vitro* e *in vivo* (Jorge et al, 2008; Aro et al, 2013).

A *Platonia insignis* Mart., é uma grande árvore da família das *Clusiáceas*. É nativa das regiões das Guianas, do Brasil, Paraguai e partes da Colômbia. No Brasil é conhecida popularmente por bacuri ou bacurizeiro e é uma espécie frutífera que se destaca por sua importância econômica para as regiões Norte e Nordeste, considerada relevante para o manejo

e para o desenvolvimento sustentável. O óleo das sementes do bacuri é utilizado como matéria prima para produção de sabão, para o tratamento de várias doenças de pele e para a manipulação de remédios cicatrizantes para ferimentos de animais (LIMA, 2007). Pesquisas têm demonstrado interesse crescente sobre *P. insignis* e suas partes, na intenção de comprovar seus efeitos biológicos.

A ação cicatrizante relatada na literatura pode ser justificada pela presença de algumas substâncias, como os taninos, que são substâncias corantes (avermelhadas) e adstringentes que atuam eliminando a água intracelular e formando um revestimento protetor pela precipitação das proteínas no leito lesionado, pela formação complexa de tanino-proteína (Veras e Morais, 2004). Criando uma camada protetora no leito da ferida, evitando assim a multiplicação bacteriana, favorecendo a reparação tecidual pela reestruturação do epitélio, estimulando a angiogênese, diminuindo a permeabilidade e exsudação da ferida e ainda estimulando os miofibroblastos, fundamentais na cicatrização (Joshi e Joshi, 2000). Em estudos fitoquímicos realizados com *P. insignis* indicam-se que o extrato alcoólico da casca do fruto e do Látex (resina) presente também na casca, demonstrou ocorrência metabólica secundárias: fenóis, taninos, chalconas, flavanoides, antocianinas e triperpenóides. Estes compostos secundários são as substâncias responsáveis por esta gama de benefícios na medicina popular e atividades farmacológicas.

Diante desta perspectiva e com crescente uso popular de *P. insignis* despertou um grande interesse no desenvolvimento dessa pesquisa, que tem como objetivo principal avaliar a eficácia do extrato etanólico e frações a partir das folhas de *P. insignis* o seu potencial cicatrizante empregando testes experimentais, in vivo. Os resultados obtidos possibilitarão aprofundar o conhecimento sobre a eficácia dessas ferramentas visando sua aplicação na prática clínica, bem como evidenciar a importância da utilização de novos cicatrizantes biológicos para o tratamento de lesões da pele.

Material e Métodos

Coleta do material vegetal

Inicialmente, foi realizado o cadastro na plataforma do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SISGEN, sob o número ACB65D0. As folhas de *P. insignis* foram coletadas no mês setembro, na cidade de Timon no Maranhão, Brasil, nas seguintes coordenadas (04° 50' 56,6" S 042° 05' 04,8" W). Uma excisata foi depositada no Herbário Graziela Barroso – UFPI, sob o registro TEPB 31.718.

Preparação do extrato

As folhas (794 g) foram limpas com água corrente, secas à temperatura ambiente e trituradas por um moinho de facas. Em seguida, o material vegetal foi submetido à maceração com etanol (4 L) 8 vezes, em intervalos de 48 h. O solvente foi removido em um evaporador rotativo sob pressão reduzida e liofilizado para obter o extrato etanólico das folhas de *P. insignis* (80 g).

Preparação das frações

Utilizando-se do extrato bruto seco obtido, foi realizado o processo de fracionamento, com a técnica de partição líquido/líquido, que foram fracionados por solventes com diferentes polaridades, incluindo acetato de etila e metanol sequencialmente.

Preparação de creme à base de extrato etanólico e frações das folhas de *P. insignis*

Preparo dos animais e procedimento de tratamento no reparo tecidual

Foram realizados dois procedimentos de excisão cirúrgica da pele na região dorsolateral de ratos de forma padronizada, com área e profundidade iguais para todos os animais, com posterior aplicação tópica de creme do extrato etanólico das folhas da *P. insignis* e demais tratamentos com seringa de plástico de 1 mL, sem agulha, na lesão.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Estadual do Piauí sob protocolo 006122/2023-81 – CEUA/UESPI. Foram utilizados 30 ratos da linhagem Wistar, machos e fêmeas com idade entre 12 a 16 semanas, pesando entre 250 a 300 g, cedidos pelo Biotério do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade (NPBio – UESPI). Os ratos foram divididos em 5 grupos experimentais, com 6 ratos em cada grupo, como descritos na Tabela 1.

| Grupo | Descrição |
|------------------------|--|
| G1 – Controle negativo | Tratado com veículo: creme base. |
| G2 – Controle positivo | Tratado com o Fármaco Irujolmono (colagenase 1.2u) |
| G3 - EEPi | Tratado com creme do extrato de concentração 5% |
| G4 - FMPi | Tratado com o creme da fração metanólica de concentração 5% |
| G5 - FAPi | Tratado com o creme da fração acetanólica de concentração 5% |

Tabela 1. Divisão dos animais em grupos experimentais

Cepas microbianas utilizadas e preparo do inóculo

Foram selecionados para avaliar a atividade antimicrobiana dos cremes, as espécies bacterianas *Staphylococcus aureus* – ATCC25923 (bactéria gram-positiva) e *Escherichia coli* – ATCC25922 (bactéria gram-negativa).

A análise da atividade antimicrobiana dos materiais frente às bactérias, foi executado pelo método de difusão em poço (CLSI, 2009) com adaptações. Foram realizados 4 orifícios de 6 mm de diâmetro na superfície do meio de cultura contido nas placas de Petri com auxílio de um molde formando os poços.

Os halos de inibição do crescimento, quando formados, tiveram os diâmetros mensurados por meio de uma régua milimetrada. Os testes foram realizados em triplicata e foram considerados a média das três repetições.

Resultados e Discussão

Regressão cicatricial

O surgimento da lesão cutânea nos grupos de Controle Negativo, EEPi, FMPi e FAPI da *P. insignis* resultou na formação de crostas leves por volta do 7º dia após a cirurgia. A partir desse momento, a cicatriz se fortaleceu, tornando-se mais rígida e começou a se destacar espontaneamente a partir do 14º dia, progredindo até o 21º dia após a cirurgia, com crescimento de pelos ao redor da área afetada (Imagem 1).

Na avaliação macroscópica, é considerado a regressão da cicatriz, ou seja, a contração da ferida. Essa é fase do processo de cicatrização que é caracterizada pelo movimento centrípeto das bordas, podendo chegar a 62% em comparação com a lesão inicial em feridas de segunda intenção.³² Essa fase também é predominada pela proliferação, na qual o tecido de granulação é desenvolvido e enriquecido com fibras colágenas por meio da angiogênese e fibroplasia, proporcionando o início da cicatrização na região afetada (Oliveira, 2012).

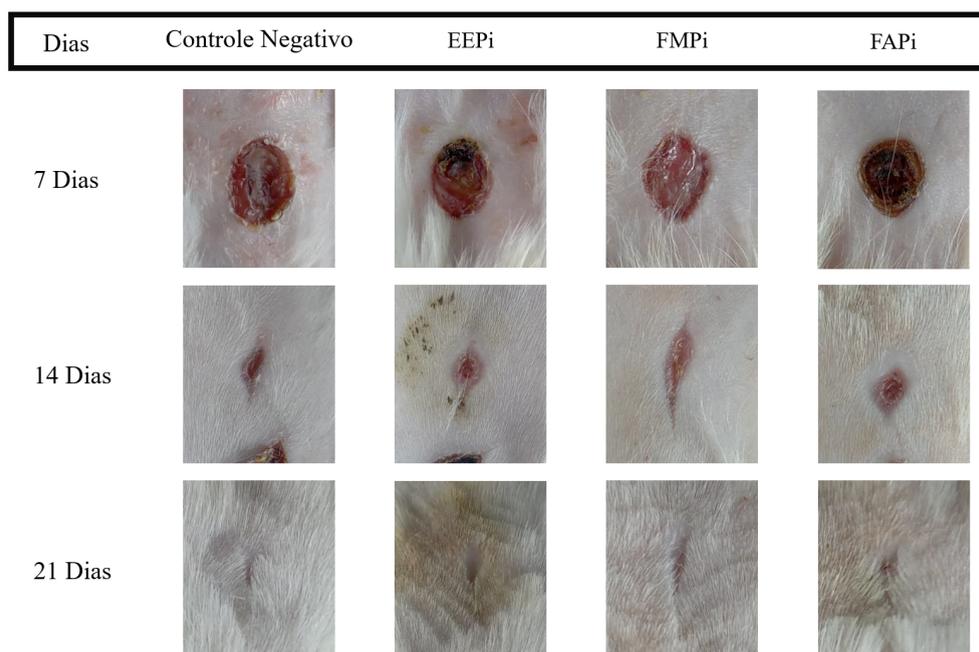


Imagem 1: Fotos comparativas dos animais do grupo controle negativo com os grupos tratados com extratos da *P. insignis* mostrando as lesões (7, 14 e 21 dias) no pós-operatório. **Fonte:** Arquivo Pessoal.

Os dados sobre a diminuição das cicatrizes nos grupos que receberam os extratos de *P. insignis* e no grupo controle negativo são apresentados na Imagem 2. Na Imagem 2I, observa-se que os índices de redução nas cicatrizes para os grupos tratados com a planta durante o período de 7 dias não apresentaram diferença considerável em comparação com o grupo Controle Negativo. No entanto, na comparação entre os grupos, o grupo FMPi, com aproximadamente 60% de diminuição, mostrou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo FAPI. Ao analisar as Imagens 2II e 2III, nota-se que nos períodos de 14 e 21 dias, os grupos EEPi, FMPi e FAPI de *P. insignis* apresentaram uma maior redução percentual das cicatrizes em comparação com o grupo Controle Negativo, com diferença significativa de $p < 0,05$.

Nos grupos tratados por 21 dias, a reepitelização atingiu aproximadamente 100%. O fenômeno de contração da ferida ocorre devido à presença de miofibroblastos, que são células diferenciadas originadas de fibroblastos, compostas de actina e com função contrátil, contribuindo para a secagem da crosta superficial da ferida, reduzindo seu tamanho e contraindo o tecido adjacente (Junqueira, 2013).

A análise e comparação dos resultados indicam que todos os componentes da planta utilizada resultaram em áreas menores de cicatrização em comparação com o grupo controle negativo, evidenciando que os extratos tiveram um efeito positivo no processo de cicatrização. A contribuição benéfica das soluções das folhas de *P. insignis* está associada exclusivamente à ação cicatrizante já conhecida dessa espécie.

Tratamento do ferimento – regressão da ferida

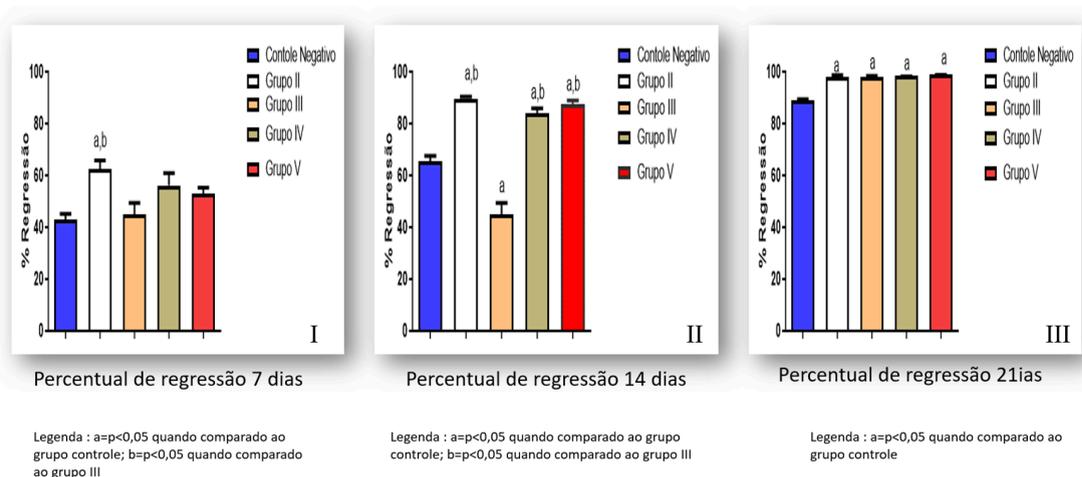


Imagem 2: Gráficos de barras representando a porcentagem de regressão da ferida (indicando o reparo tecidual) em três períodos diferentes (7, 14 e 21 dias) após a excisão cirúrgica da pele em ratos Wistar. **Fonte:** Arquivo Pessoal.

Avaliação da atividade antibacteriana do creme base (veículo) e dos cremes do EEPi, FAPI e FMPi pelo método de difusão em poço

Na avaliação da atividade antibacteriana dos cremes do extrato etanólico e frações das folhas da *P. insignis*, observou-se que para a bactéria *Staphylococcus aureus* houve inibição do crescimento microbiano em todas as amostras testadas, conforme mostra a Imagem 3A, onde o creme da FMPi apresentou melhor resultado com halo de inibição de 14mm. Nos

testes dos cremes com a bactéria *Escherichia coli*, não apresentou halo de inibição do crescimento microbiano com o creme do EEPi.

Contudo, os demais cremes apresentaram halos de inibição, conforme mostra a Imagem 3B, onde o melhor resultado apareceu frente ao creme da FMPi com halo de inibição de 15mm. Esses resultados demonstram que o extrato e frações das folhas de *Platonia insignis* possui atividade antimicrobiana tanto para bactérias gram-positivas quanto gram-negativas.

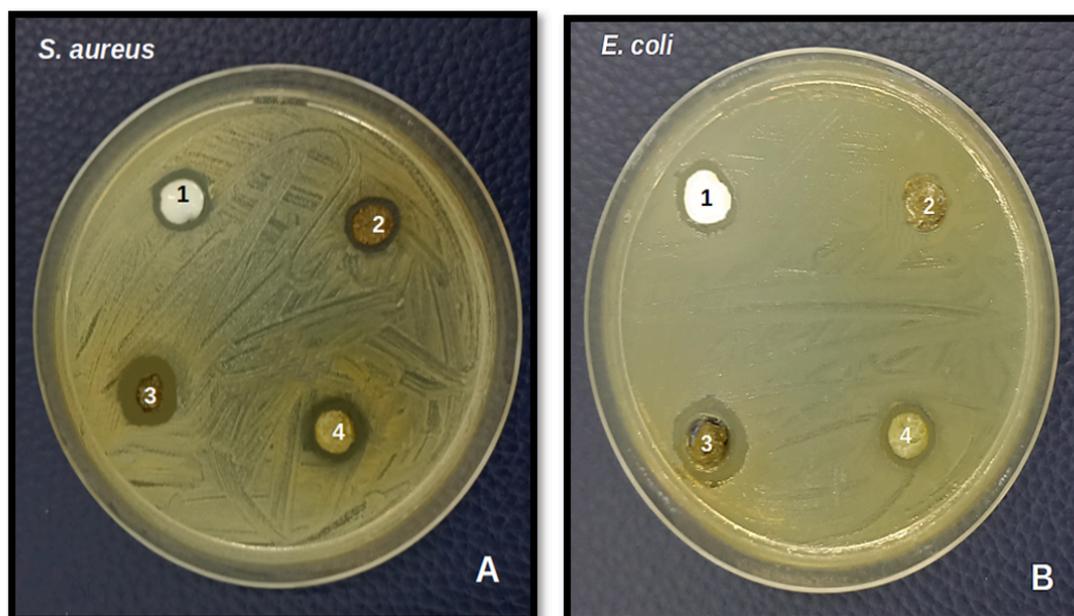


Figura 3. Teste de difusão em poços contendo os cremes (Base-1, EEPi-2, FMPi-3 e FAPi-4) contra (A) *Staphylococcus aureus*, (B) *Escherichia coli*. **Fonte:** Arquivo Pessoal.

Esses resultados corroboram com os estudos realizados por ROCHA et al. (2017) com extrato hidroetanólico das folhas da *P. insignis* que apresentaram ação antimicrobiana frente a bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, onde houve uma atividade inibitória de moderada a alta²⁹. A tabela 2 mostra os valores de halos de inibição dos cremes do extrato e frações da *P. insignis* frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

| | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | | <i>Escherichia coli</i> | | | |
|----------------|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-------------------------|----------|-----------|-------------|
| | Cremes | | | | Cremes | | | |
| | Base | EEPi | FMPi | FAPi | Base | EEPi | FMPi | FAPi |
| Placa 1 | 13 | 11 | 15 | 11 | 10 | 0 | 15 | 12 |
| Placa 2 | 12 | 10 | 15 | 13 | 12 | 0 | 15 | 13 |
| Placa 3 | 0 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 15 | 10 |
| Média | 8,3 | 11 | 14 | 12 | 7,3 | 0 | 15 | 11,6 |

Tabela 2. valores de halos de inibição (mm) dos cremes do extrato e frações da *P. insignis* contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Fonte:** Arquivo Pessoal.

Conclusões

Este estudo preliminar sugere que o creme do extrato das folhas da *P. insignis* e suas frações metanólica e acetanólica podem promover o reparo tecidual em ratos após a excisão cirúrgica da pele. Observou-se uma melhoria significativa no reparo tecidual a partir do 14º dia, com um aumento notável no 21º dia. Já na parte antibacteriana, os resultados

demonstram que o extrato e frações das folhas de *Platonia insignis* possui atividade antimicrobiana tanto para bactérias gram-positivas quanto para as gram-negativas.

Agradecimentos

O estudo foi financiado pela CAPES, com agradecimentos à UESPI, IFAL e UFPI pelo apoio.

Referências

- Aro, A.A. et al. Effect of the Arrabidaea chica extract on collagen fiber organization during healing of partially transected tendon. *Life Science*, v.92, n.13, p.799- 807, 2013.
- Braga, R. 1960. Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará. Natal, Ed. Universitária.
- Brasil. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC N° 10 de 09 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais. Brasília: Ministério da Saúde, 2010a.
- Brasil. Ministério da Saúde. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 60 p.
- Contrera A, Bernardi AC, Pozetti GL, Lopes RA, Contrera MGD. Ação da tintura-mãe de *Lichnophora ericoides*, *Aristolochia esperanzae* e *Solidago microglossa*, em feridas cutâneas de ratos. *Rev Esc Farm Odont*. 1985; 11: 157-60
- Garros, IC; Campos, ACL; Tâmbara, EM; Tenório, SB; Torres, OJM; Agulham, MA; Araújo, ACF; Santis-Isolan, PMB; Oliveira, RM; Arruda, ECM. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2006; 21(3):55-65.
- James, DB, Owolabi, AO, Ibiyeye, H, Magaji, J, Ikugiyi, YA. Assessment of the hepatic effects, hematological effect and some phytochemical constituents of *Ximenia americana* (Leaves, stem and root) extracts. *African of Journal Biotechnology*. 2008; 7:4274-4278.
- Jorge, M.P. et al. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v.118, n.3, p.361-363, 2008.
- Joshi AR, Joshi K. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;73: 175-83.
- Junqueira, L. C.; Carneiro, J.; *Histologia básica: texto e atlas*, 12a. ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2013
- Leite, AP; Oliveira, BGRB; Soares. MF; Barrocas, DLR. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. *Revista Gaúcha Enfermagem*. 2012;33(3):198-207.
- Marinho PVT. et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de *Ximenia americana* no processo cicatricial de feridas cutâneas experimentais em caprinos. *Vet. e Zootec*. 2013 dez.; 20(4): 604- 614.
- 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.

Oliveira, ST; Leme, MC; Pippi, NL; Raiser, AG; Manfron, MP. Formulações de confrei (*Symphytum officinale* L.) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. *Revista FZVA*. 2000; 7/8(1):65-74.

Omer, MEFA, Elnima, EI. 2003. Antimicrobial Activity of *Ximenia americana*. *Fitoterapia*, v.74, p.122-126.

Palma, A. F. M. et.al. Avaliação dos Extratos Hidroalcoólicos do Caule e Folhas da *Ximenia americana* L. na Cicatrização de Feridas Excisionais Agudas em Pele de Camundongos. *Revista Virtual de Química*, Volume 12, Número 01, 2020.

Passaretti, T; Guarnieri, AP; Filipini, R.; Alves, BCA; Fonseca, FLA. Eficácia do uso do Barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*) no processo de cicatrização em lesões: uma revisão de literatura. *Arquivos Brasileira de Ciências da Saúde*. 2016; 41(1):51-54.

Piriz, M.A. et al. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. *Rev. bras. plantas med.*, Set 2014, vol.16, no.3, p.628-636.

Sanchez Neto R, Barone B, Teves DC, Simões MJ, Novo NF, Juliano Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2 por cento. *Acta Cirúrgica Brasileira* 1993 8(1):18-23.

Santos Júnior, Reginaldo Queiroz dos. Et.al. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). *Conscientiae saúde* (Impr.) ; 9(4)dez. 2010.

Schirato, G.V. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. *Ciência Rural*, v.36, n.1, p.149-154, 2006.

Veras AOM, Moraes SM. Análise dos constituintes químicos de *Ximenia americana* Linn. In: *Anais da 9ª Semana Universitária e Anais do 13º Encontro de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Ceará*; 2004, Fortaleza. Fortaleza: UECE; 2004.

Wang, P.-H. et al. Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association*, v. 81, p. 94-101, 2018..