

## **Efeito cicatrizante do creme à base de *Moringa oleífera* (Lam.) e *Maythenus ilicifolia* (Mart.) ex Reiss. sobre lesões dérmicas em Camundongos Swiss: uma análise comparativa**

Healing effect of Moringa oil-based cream (Lam.) And Maythenus ilicifolia (Mart.) Ex Reiss. on skin lesions in Swiss mice: a comparative analysis

Efecto curativo de la crema a base de aceite de Moringa (Lam.) Y Maythenus ilicifolia (Mart.) Ex Reiss. sobre lesiones cutáneas en ratones suizos: un análisis comparativo

Recebido: 19/09/2022 | Revisado: 03/10/2022 | Aceitado: 06/10/2022 | Publicado: 12/10/2022

**Caio José Florêncio Dos Anjos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8410-7539>  
Centro Universitário UNIFACISA, Brasil  
E-mail: caioanjosfcm@gmail.com

**Mariana Plácido Brandão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3740-0724>  
Centro Universitário UNIFACISA, Brasil  
E-mail: marianaplacido.jrf@gmail.com

**Bruna Silva Andrade**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9826-161X>  
Centro Universitário UNIFACISA, Brasil  
E-mail: brunaandrade137@gmail.com

**Daniela de Araújo Vilar**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0264-0381>  
Centro Universitário UNIFACISA, Brasil  
E-mail: dani\_1011@yahoo.com.br

**Marina Suênia de Araújo Vilar Soares**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4957-0752>  
Centro Universitário UNIFACISA, Brasil  
E-mail: peritaquimica@yahoo.com.br

### **Resumo**

As feridas cutâneas afetam diretamente a qualidade de vida das populações gerando complicações e altos custos na saúde pública, com isso, pesquisadores buscam nos produtos naturais alternativas para aprimorar o cuidado em saúde com base na etnofarmacologia. Avaliar o potencial cicatrizante da *Moringa oleífera* (Lam.) e *Maythenus ilicifolia* (Mart.) Ex Reiss em lesões de camundongos da linhagem Swiss. Para elaboração da formulação, foi utilizado o extrato hidroalcoólico das folhas da moringa e da espinheira santa obtido através de um processo de maceração dinâmica. No experimento foram utilizados 40 camundongos, sendo distribuídos em quatro grupos de dez animais cada (n=10): GCP- Grupo Controle Positivo utilizando Fibrinase®, GCN- Grupo Controle Negativo utilizando o creme base sem extrato, GT-MI- Grupo Tratamento *Maythenus Ilicifolia* e GT-MO Grupo tratamento *Moringa oleífera*. Os resultados demonstram boa evolução clínica em todos os grupos; na evolução macroscópica os grupos tratamentos apresentaram crosta fibrinoleucocitária densa que se fizeram presentes em alguns animais até a segunda metade da pesquisa, não influenciando no processo de reparo tecidual; o GCP apresentou boa evolução cicatricial até o final dos testes; o GCN expressou eventos que vão de encontro com a cicatrização, como edema exsudação e processo ulcerativo. Os grupos tratamentos expressaram uma porcentagem de contração de bordas satisfatória de maneira comparativa ao GCP. Dessa forma, os resultados explanados demonstram que o tratamento tópico das espécies supracitadas à 10% contribui efetivamente com a cicatrização, contribuindo em todas as etapas acelerando e prevenindo possíveis interferências externas na reparação tecidual de feridas excisionais experimentais.

**Palavras- chave:** Ferimentos e lesões; Produtos biológicos; Farmacologia; Fitoterapia.

### **Abstract**

Skin wounds directly affect the quality of life of populations, generating complications and high costs in public health, with this, researchers look to natural products for alternatives to improve health care based on ethnopharmacology. To evaluate the healing potential of *Moringa oleífera* (Lam.) And *Maythenus ilicifolia* (Mart.) Ex Reiss in lesions of Swiss mice. To prepare the formulation, the hydroalcoholic extract of the leaves of the moringa and the espinheira

santa was obtained through a process of dynamic maceration. In the experiment, 40 mice were used, distributed in four groups of ten animals each (n = 10): GCP- Positive Control Group using Fibrinase®, GCN- Negative Control Group using the base cream without extract, GT-MI- Maythenus Treatment Group *Ilicifolia* and GT-MO Moringa oil treatment group. The results demonstrate good clinical evolution in all groups; in the macroscopic evolution, the treatment groups presented a dense fibrinoleucocyte crust that were present in some animals until the second half of the research, without influencing the tissue repair process; the GCP showed good healing evolution until the end of the tests; the GCN expressed events that meet healing, such as edema, exudation and ulcerative process. The treatment groups expressed a satisfactory percentage of edge contraction compared to the GCP. Thus, the results explained demonstrate that the topical treatment of the aforementioned species at 10% effectively contributes to healing, contributing in all stages to accelerate and prevent possible external interferences in the tissue repair of experimental excisional wounds.

**Keywords:** Wounds and injuries; Biological products; Pharmacology; Phytotherapy.

### Resumen

Las heridas en la piel afectan directamente la calidad de vida de las poblaciones, generando complicaciones y altos costos en la salud pública, con esto, los investigadores buscan en los productos naturales alternativas para mejorar la atención de la salud basadas en la etnofarmacología. Evaluar el potencial curativo de Moringa oleífera (Lam.) Y Maythenus ilicifolia (Mart.) Ex Reiss en lesiones de ratones suizos. Para la elaboración de la formulación se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las hojas de la moringa y la espinheira santa mediante un proceso de maceración dinámica. En el experimento se utilizaron 40 ratones, distribuidos en cuatro grupos de diez animales cada uno (n = 10): GCP- Grupo Control Positivo usando Fibrinase®, GCN- Grupo Control Negativo usando la crema base sin extracto, GT-MI- Tratamiento Maythenus Grupo *Ilicifolia* y GT-MO Grupo de tratamiento de aceite de Moringa. Los resultados demuestran una buena evolución clínica en todos los grupos; en la evolución macroscópica, los grupos de tratamiento presentaron una densa costra de fibrinoleucocitos que estuvieron presentes en algunos animales hasta la segunda mitad de la investigación, sin influir en el proceso de reparación tisular; el GCP mostró una buena evolución de cicatrización hasta el final de las pruebas; la GCN expresó eventos que se encuentran con la curación, como edema, exudación y proceso ulcerativo. Los grupos de tratamiento expresaron un porcentaje satisfactorio de contracción del borde en comparación con el GCP. Así, los resultados explicados demuestran que el tratamiento tópico de las especies antes mencionadas al 10% contribuye efectivamente a la cicatrización, contribuyendo en todas las etapas a acelerar y prevenir posibles interferencias externas en la reparación tisular de heridas excisionales experimentales.

**Palabras clave:** Heridas y lesiones; Productos biológicos; Farmacología; Fitoterapia.

## 1. Introdução

O tecido epitelial de revestimento é considerado a primeira barreira de proteção contra agentes externos, radiação uv, perda de água, por isso está submetida a constantes traumas e agressões, fazendo com que a cicatrização e mecanismos envolvidos seja muito importante para sobrevivência (Oliveira & Dias, 2012; Szwed & Santos, 2016). O sistema tegumentar - o conjunto de estruturas que formam o revestimento externo dos seres vivos - é o maior órgão do corpo humano sendo responsável principalmente pela proteção dos órgãos, formando assim uma barreira física contra o meio externo, como também mantendo o equilíbrio térmico e a percepção sensorial através das terminações nervosas. Sendo ele formado por três camadas: epiderme, derme e hipoderme. (Qing, 2017; Tazima, Vicente & Moriya, 2018).

O processo de cicatrização é desencadeado após o incidente de uma lesão, tendo uma sequência de eventos biológicos, complexos e dinâmicos, a fim de que o tecido lesionado seja alterado por um tecido conjuntivo vascularizado, o que irá proporcionar o reestabelecimento da homeostase tecidual, ou seja, iniciará o processo de reparo da lesão (Oliveira & Dias, 2012; Souza, 2013). A cicatrização, tem sido convenientemente subdividida em três fases que se sequenciam de forma harmonizada: fase inflamatória, proliferativa e de remodelagem. (Mendonça & Coutinho-netto, 2009).

A fase inflamatória antecede todas as outras, inicia-se logo após a lesão, tem finalidade de deter o sangramento, por isso é particularizada pela constrição dos vasos sanguíneos, atuando juntamente com a ação plaquetária de coagulação sanguínea. Nesta fase, o sistema imunológico é estimulado a levar as células de defesa como os macrófagos para o local da lesão com o intuito de proteger e de reparar (Paula, 2016; Qing, 2017; Furtado et al., 2019).

A princípio desta outra fase, a proliferativa, é caracterizada pelo aumento da produção de tecido fibroso, do mesmo modo é responsável pela deposição da matriz extracelular que é constituída por colágeno, proteoglicanos, glicoproteínas e integrinas, além de formação de neo-angiogênese (Cabral, 2015; Szwed & Santos, 2016; Moura, 2017).

O estágio final da cicatrização é chamado de fase de maturação ou remodelamento, essa última etapa de cicatrização acontece no colágeno e na matriz; dura meses e é encarregado pelo aumento da força de tensão e pela redução do tamanho da cicatriz, ou seja, quando se inicia o aperfeiçoamento do tecido granulado e a reestruturação das fibras de colágeno para que tenha um suporte nas forças de tração no período do remodelamento tecidual (Souza, 2015; Szwed & Santos, 2016).

Frente ao tema, alguns fatores são a causa pela procura por tratamentos com plantas medicinais no manejo de feridas. Tendo em vista que o uso de produtos naturais possibilita menores custos, conseqüentemente é mais acessível à população, estudos buscam na prática milenar desenvolver e validar produtos naturais que tenham mecanismos de proliferação celular, menor tempo de reparo e melhores condições na qualidade da recuperação da pele através dos metabólitos secundários presentes nas plantas; e neste âmbito possibilitam aos pacientes alternativas para os tratamentos em diversas particularidades, promovendo uma eficiente terapia tópica, deixando assim o cuidado em saúde mais universal e acessível (Souza, 2013; Souza, 2015).

Em consequência disto, uma das árvores nativas do noroeste da Índia é a *Moringa oleífera* (Lam), pertencente à família Moringaceae, e é conhecida popularmente pelo nome de lírio, quiabo-de-quina, como Ben, árvore baqueta, árvore benzolive ou árvore óleo ben ou simplesmente moringa (Agamou, Fombang, & Mbofung, 2015).

A moringa é valorizada por seus diversos efeitos terapêuticos e propriedades químicas, onde é encontrada principalmente em suas folhas, vagens tenras, sementes e flores, é considerada uma rica fonte expressiva de  $\beta$ -caroteno, vitamina C, minerais e fitoquímicos que indicam uma atividade antioxidante bastante presente na planta. A espécie apresenta diversos benefícios medicinais, utilizados no combate e prevenção de várias doenças a exemplo de hipovitaminoses A e C, doenças parasitárias, doenças geniturinárias, hipertensão, doenças inflamatórias, inchaços, doenças de pele, hipoglicemia e diabetes, como também é eficaz nos tratamentos de reumatismo e gota, como cicatrizante de feridas, antibiose ou malária e tratamento da febre tifoide, além de atuar também na purificação da água e ainda como alimento (Oliveira, 2019; Nobossé, Fombang, & Mbofung, 2018).

Dano seguimento, a *Maytenus Illicifolia*, sendo comumente chamada de espinheira-santa é uma espécie nativa da Região Sul do Brasil, encontrando-se normalmente na Mata Atlântica, localizada principalmente nas matas originais. Na qual pertence à família da Celastraceae (Almeida *et al.*, 2015). É conhecida popularmente como “espinheira-santa”, “espinheira-divina”, “cancorosa”, “cancerosa” e “cancrosa”, dependendo da região (Brasil, 2011; Almeida *et al.*, 2015). Segundo as evidências a espinheira-santa expressa atividades comprovadas com propriedades antiulcerogênicas, justificando essa atividade pela presença dos grupos dos taninos e flavonóides encontradas na planta. Também se apresenta como antiespasmódica, anti-inflamatória e cicatrizante, entre outras atividades (Mariño *et al.*, 2019).

Sendo assim baseado nas crescentes buscas e pesquisas que avaliam o uso farmacológico à base de componentes naturais, este trabalho tem por objetivo avaliar o potencial cicatrizante dessas duas espécies em lesões de camundongos da linhagem *Swiss*.

## 2. Metodologia

### 2.1 Tipo de pesquisa

Trata-se de uma pesquisa experimental de natureza exploratória, longitudinal, do tipo pré-clínica em modelo murino.

## 2.2 Local e período

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Farmacologia, no Biotério da UNIFACISA, e no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos- LABDEM/UEPB, na cidade de Campina Grande – PB, no período de fevereiro de 2019 a março de 2020.

## 2.3 Obtenção do material vegetal

As folhas da *Moringa Oleífera* (Lam.) e *Maythenus Illicifolia* (Mart.) foram compradas em um ervanário (CNPJ: 32.075.880/0001-51) localizado no município de Campina Grande- PB.

## 2.4 Produção de extrato

As folhas da *Moringa Oleífera* (Lam.) e da *Maythenus Illicifolia* (Mart.) foram levadas ao Laboratório de Farmacologia da UNIFACISA para análise. Para a elaboração do extrato hidroalcoólico, foram utilizadas 400g das folhas da *Moringa Oleífera* (Lam.) e *Maythenus Illicifolia* (Mart.), onde foram devidamente higienizadas. Após isto, as folhas foram submetidas a uma secagem em estufa de circulação de ar à 40°C até que as amostras estivessem completamente secas. Em seguida as cascas secas foram fragmentadas em porções menores e colocadas em maceração em uma solução extratora (álcool - água 70/30), durante 10 dias com agitação diária. Após este tempo, o resultado da maceração foi encaminhada ao LABDEM/UEPB, onde foi rotaevaporado à pressão reduzida sob temperatura de 60°C para obtenção do extrato bruto. Em seguida, o extrato bruto foi pesado para a determinação da concentração final. Adaptado de Gonçalves, Almeida, Gomes, & Almeida (2014, p. 42).

## 2.5 Preparação das formulações estudadas

A formulação base cremosa não-iônica foi formulada pela empresa Farmafórmula (CNPJ: 09.625.312/0001-65), localizada em Recife-PE. Para os grupos experimentais utilizando o creme contendo o extrato bruto das folhas da *Moringa Oleífera* (Lam.) e *Maythenus Illicifolia* (Mart.) foi agregado a porcentagem à 10% (m/m) junto a referida base em grall e pistillo de porcelana, obtendo a preparação homogênea, sendo mantida em recipiente de vidro, devidamente selado à 8°C. As formulações foram produzidas no anexo do núcleo de investigação experimental.

O Grupo controle positivo (GCP) foi tratado com Fibrinase® (Cristália), no qual cada grama do produto possui:

- O equivalente a 1U (Loomis) de fibrinolisinase, 666 U de desoxirribonuclease e 10g de cloranfenicol;
- Excipiente: petrolato base;

## 2.6 Amostra

### 2.6.1 Delineamento experimental

No estudo foram utilizados 40 camundongos (*Mus musculus*) machos da linhagem Swiss, com idade de aproximadamente 90 dias, provenientes do Biotério da UNIFACISA. Estes ficaram agrupados em gaiolas de polietileno, respeitando o limite de cinco animais por gaiola, mantendo suas condições ideais de temperatura, iluminação com ciclo de claro/escuro de 12h, com alimentação controlada e adequada (tipo *pellets*) bem como água disponível em garrafas graduadas de polietileno. Esses animais foram agrupados em quatro grupos conforme a Tabela 1.

**Tabela 1** - Agrupamento dos Camundongos *Swiss* escolhidos para a pesquisa.

| GRUPO                                                          | AMOSTRA    | SUBSTÂNCIA                                                 |
|----------------------------------------------------------------|------------|------------------------------------------------------------|
| Grupo Controle Positivo- GCP                                   | 10 animais | Fibrinase®.                                                |
| Grupo Tratamento- <i>Maythenus Illicifolia</i> (Mart.) - GT-MI | 10 animais | Creme à base da <i>Maythenus Illicifolia</i> (Mart.) à 10% |
| Grupo Tratamento <i>Moringa Oleifera</i> (Lam.) - GT-MO        | 10 animais | Creme à base da <i>Moringa Oleifera</i> (Lam.) à 10%       |
| Grupo Controle Negativo - GCN                                  | 10 animais | Creme Base não-iônica sem extrato.                         |

Fonte: Autores (2020).

## 2.7 Procedimento cirúrgico

Para o experimento, os ratos foram subdivididos em grupos, escolhidos aleatoriamente. O processo cirúrgico de lesão tecidual foi iniciado após a sedação dos animais, a solução anestésica foi preparada conforme preconizado por Massone (2011), através da sinergia de cloridrato de Cetamina a 5% e cloridrato de xilazina a 2%, na proporção de 1:1. A partir desta solução, foram calculadas as doses individuais de cada animal obedecendo a proporção de 0,2 ml da referida mistura para cada 50 g de peso do animal, injetadas via intraperitoneal do animal. Após um período de latência média de 2 minutos, foi verificada a prostração completa de cada animal, confirmada pela diurese espontânea comumente apresentada, respiração superficial e acelerada, além de abolição total de reflexos palpebrais.

## 2.8 Indução de feridas

Os animais anestesiados ficaram mantidos em decúbito ventral para a realização da antisepsia com solução de clorexidina aquosa, sendo em seguida o campo operatório delimitado com o uso de uma gaze, e após isto a tricotomia manual do dorso foi realizada com a ajuda de uma lâmina para expor o tegumento. Com a utilização de um punch metálico (diâmetro = 6,3 mm) com lâmina cortante na sua borda inferior, foi demarcado e delimitado uma área na região dorsal do tórax para a remoção de um segmento circular de pele com o uso de força manual, e com o auxílio de uma tesoura de íris curva e uma pinça dente de rato, expondo as fáscias musculares e padronizando desta forma o tamanho da ferida (Ramos, 2018).

Logo após a realização do procedimento cirúrgico, os animais receberam as formulações com o auxílio de uma alça de platina, como forma de padronizar as soluções em cada animal. As doses foram administradas diariamente até total cicatrização da lesão. Estes procedimentos foram acompanhados por uma médica veterinária, conforme preconiza a resolução do CFMV (2008), Nº 879, de 15 de fevereiro de 2008.

## 2.9 Critérios de inclusão e exclusão

Foram excluídas da pesquisa os animais portadores de algum tipo de patologia, com algum problema congênito e as fêmeas.

## 2.10 Avaliação de dados

Os animais foram avaliados a cada 24 horas durante 14 dias para a reaplicação dos tratamentos tópicos. Adicionalmente, a mensuração das áreas das feridas foram realizadas após a indução da lesão (dia 0) e nos dias 3, 5, 7, 9, 11 e 14 com auxílio de um paquímetro digital antes das aplicações dos tratamentos, medindo o diâmetro látero-lateral (r) e crânio caudal (R), obtendo assim a medida do maior e menor diâmetro para cálculo da área total da ferida. Além disso, nos períodos supracitados foram analisados parâmetros clínicos macroscópicos referentes às lesões, como: edema, inflamação, exsudação, formação de crosta fibrino-leucocitária, hiperemia e sensibilidade ao toque.

A contração da lesão foi avaliada mediante cálculo da área da ferida por meio da medição dos diâmetros maior e menor, utilizando a seguinte equação matemática:

$$\text{Área da ferida} = R \times r \times \pi$$

Onde A representa a área (mm<sup>2</sup>), “R” o raio maior e “r” o raio menor. O cálculo do percentual de contração (%) foi expresso através da equação matemática por Póvoas (2015), onde A<sub>0</sub> representa a área inicial da ferida, ou seja, obtida logo após o procedimento cirúrgico, e A<sub>i</sub> área da ferida no dia avaliado:

$$\text{Percentual de contração (\%)} = A_0 - A_i / A_0 \times 100$$

Foram realizadas diariamente com auxílio de paquímetro digital, a medição das extremidades da lesão, seguindo o padrão de face lateral direita e borda inferior. Após o cálculo da área, o processo cicatricial foi avaliado em porcentagem seguindo a fórmula (área inicial - área do dia da medida) ÷ área inicial x 100 = % da redução no dia da medida (Teo & Naylor, 1995).

Também foi analisado o aspecto inflamatório/ reparativo observando as características físicas e teciduais da cicatrização bem como se há presença de secreção purulenta. Para isto, serão comparados os achados entre os grupos experimentais e os grupos controle.

### 2.11 Considerações bioéticas

O protocolo experimental foi submetido e **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA do Centro de Pesquisa da UNIFACISA, e obteve o **CIAEP/CONCEA N°: 008105022019**.

### 2.12 Análise estatística

Os dados foram analisados e tabulados utilizando o programa Microsoft Excel 2007. Os resultados de área e contração das feridas, expressos em média ± E.P.M (erro padrão da média), foram submetidos à análise de variância ANOVA e ao teste de Turkey.

## 3. Resultados

Na análise macroscópica das lesões os grupos tratados (GT-MI e GT-MO) apresentaram aspectos clínicos relevantes, demonstrando feridas com formação de crosta com característica densa, se fazendo presente em alguns animais até a segunda fase do experimento.

Ao compararmos os achados da Tabela 2, na primeira fase do experimento os grupos controle apresentaram crosta com aparência delgada até a fase dois do experimento.

Como exposto na Tabela 2 abaixo, foi possível observar que nos grupos tratados no término do experimento as cicatrizes apresentaram tonalidade róseo e os grupos controles a coloração pálida.

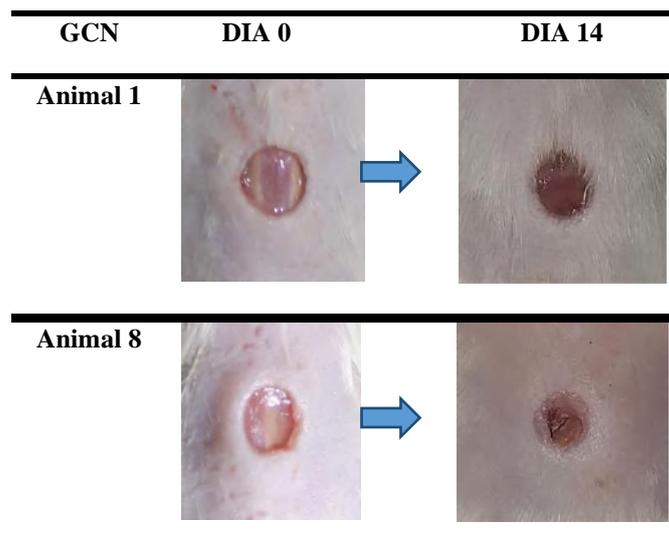
**Tabela 2** - Aspectos macroscópicos apresentados pelos diferentes grupos tratados durante o experimento de lesões excisionais dos camundongos.

| TRATAMENTO         | GT-MI                                                                                                                                                                                           | GT-MO                                                                                                                                                                                       | GCP                                                                                                                                           | GCN                                                                                                                                               |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>0 – 7 DIAS</b>  | As feridas apresentaram aspecto limpo, ausência de sinais de infecção e aparecimento de uma crosta fibrinoleucocitária densa a partir do 1º dia pós-cirúrgico.                                  | Feridas com aspecto limpo, sem sinais de infecção. Aparecimento da crosta fibrinoleucocitária densa a partir do 3º dia pós-cirúrgico, algumas feridas apresentaram coloração vermelho vivo. | Aspecto limpo, seco, ausência de secreções. Presença de crosta de aparência delgada e em franca progressão para oclusão, com coloração clara. | Ferida com aspecto limpo. Alguns animais apresentaram edema periborda, crosta leve e exsudato.                                                    |
| <b>8 – 14 DIAS</b> | Feridas limpas em evolução. Ao 11º dias 70% dos animais apresentaram crostas aderidas as lesões. Ao término o grupo apresentou feridas com resquícios de crostas e lesões com tonalidade rósea. | Neste período apenas dois animais apresentaram crosta. Os demais animais apresentaram feridas com completa cicatrização com tonalidade rósea.                                               | Feridas de aspecto limpo, com presença de crosta. Cicatrizes apresentando tonalidade róseo pálido.                                            | Feridas com diferentes evoluções. Alguns apresentaram cicatrização completa, ferida ulcerativa, presença de exsudato moderado e não epitelização. |

Os animais foram divididos em grupos, sendo eles, Grupo tratamento *Maythenus ilicifolia* (Mart.) ex *Reiss* - GT-MI, Grupo Tratamento *Moringa oleifera* (Lam.) - GT- MO, Grupo controle positivo- GCP e Grupo controle negativo- GCN. Fonte: Autores (2020).

No GCN foi possível perceber eventos importantes no processo cicatricial em dois animais (animal 1 e 8), apresentando edema periborda e exsudato brando, sinais de contaminação, apresentando a inflamação e infecção, que interferem diretamente no curso do reparo do tecido. Desse modo também foi possível destacar durante a segunda fase de teste a evolução clínica de uma ferida para o processo ulcerativo (animal 1) o que possibilitou o aumento exsudação, conforme expressa as imagens da Tabela 3 abaixo.

**Tabela 3** - Retardo do processo de cicatrização do grupo controle negativo.



Fonte: Arquivo da pesquisa (2020).

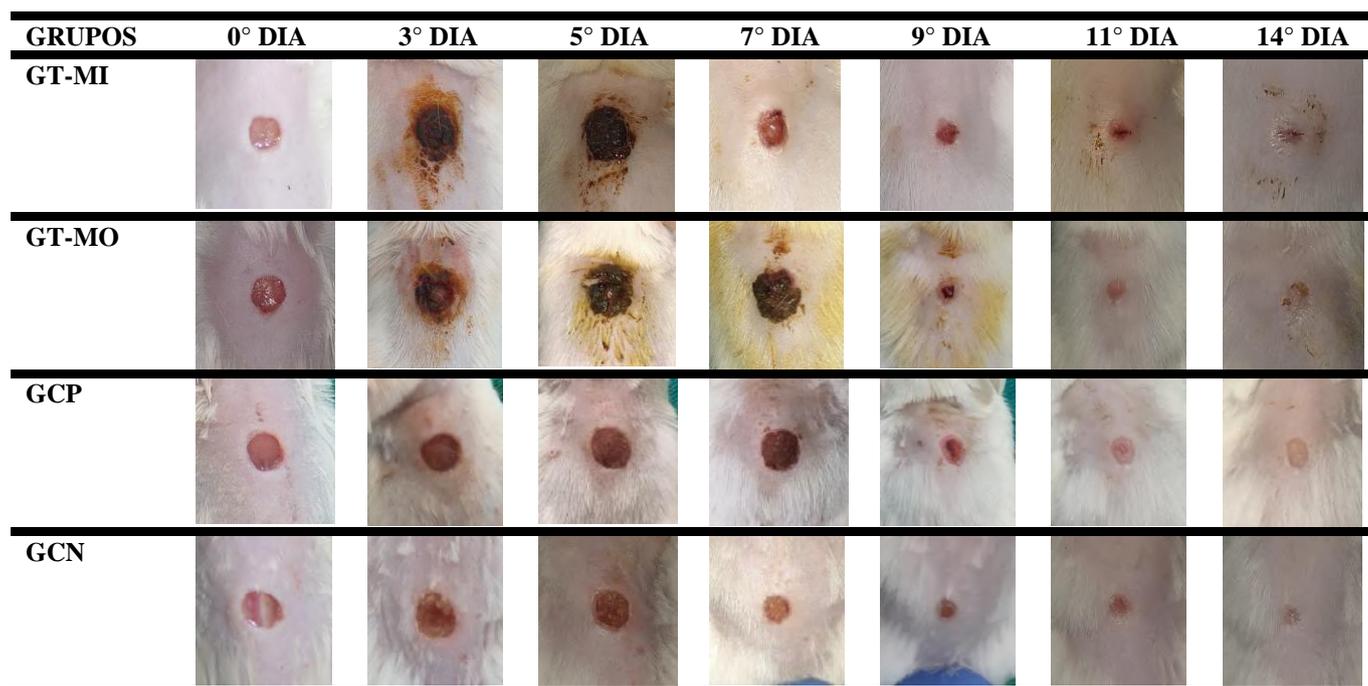
Mediante os dados contidos na Tabela 4, os animais apresentaram formação da crosta a partir do 3º dia pós-cirúrgico.

Quanto aos grupos tratados, é perceptível que houve intensa estimulação da crosta fibrinoleucocitária, evidenciado pela coloração escurecida exposta nas fotos expostas abaixo.

De forma geral houve evolução clínica para a epitelização de todos os grupos.

Apesar do GCN apresentar fatores que interferem no processo cicatricial o grupo apresentou boa evolução ao término da pesquisa.

**Tabela 4** - Avaliação macroscópica das feridas dos grupos tratados no intervalo de 14 dias.



As imagens representam aspectos do processo cicatricial em feridas excisionais. O tratamento tópico foi realizado com: Fibrinase®- GCP, Grupo tratamento *Maythenus ilicifolia* (Mart.) *ex Reiss* - GT-MI, e Grupo Tratamento *Moringa oleifera* (Lam.)- GT- MO . Os animais pertencentes ao grupo GCN foram sujeitos ao procedimento cirúrgico, mas não foram receberem nenhum tratamento. Fonte: Arquivo da pesquisa (2020).

Nos dados morfométricos expressados na Tabela 5, durante o experimento o GT-MI apresentou os maiores indicadores, chegando ao pico no 5° dia (E.P.M:  $64,43 \pm$ ), bem como um aumento no resultado de variância ao 9° dia de 10,52 ( $p < 0,05$ ), indicando diferentes valores de paquimetria na área das feridas.

O GT-MO apresentou o erro padrão da média com o pico no 5° dia (E.P.M:  $46,59 \pm$ ) pós-cirúrgico, concomitantemente sua variância no valor de 5,14 ( $p < 0,05$ ).

Os grupos controle após do 3° dia apresentaram valores (E.P.M) decrescentes em decorrência das crostas que prosseguiram em formato uniforme e em evolução para a cicatrização durante todo o período da pesquisa.

Os valores de variância expressados na Tabela 5, demonstram uma discrepância entre os grupos tratados, estes valores são explicados pelo tamanho da crosta, indicando que na medida que ainda havia crescimento e estimulação, outras diminuíram de tamanho, se desprenderam e caíram, causando assim variação na Anova.

Os valores dos grupos GT-MI e GCN expostos no 14° dia apresentaram maior variação, mas vale ressaltar que as lesões de alguns animais já se apresentavam cicatrizadas, outras com crostas aderidas em tamanhos variados em todos os grupos durante o teste.

**Tabela 5** - Indicadores morfométricos da evolução cicatricial dos diferentes grupos tratados.

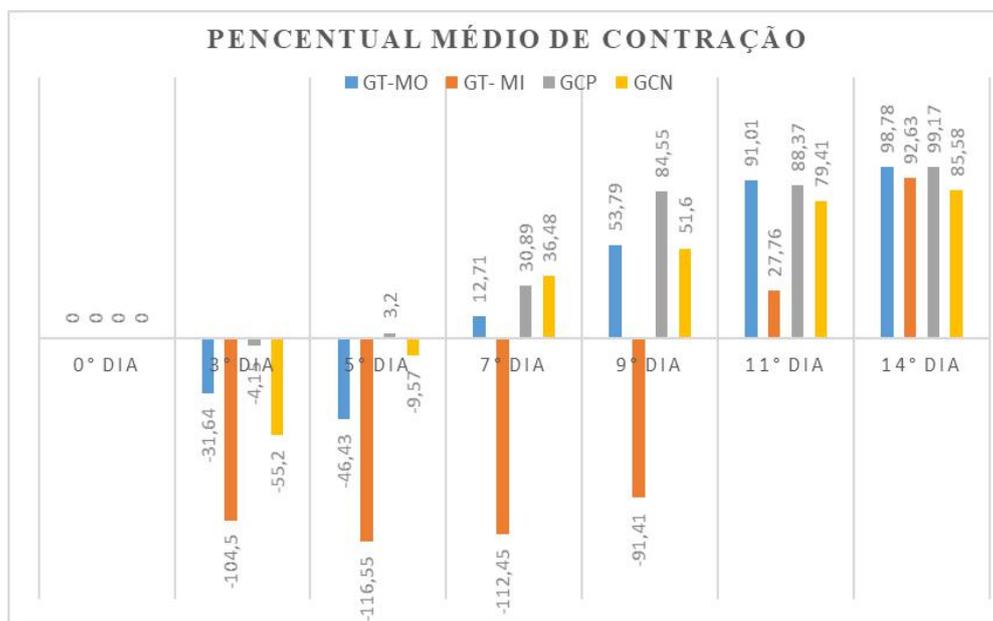
| GRUPOS       | 0° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) | 3° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) | 5° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) | 7° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) | 9° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) | 11° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) | 14° DIA<br>(mm <sup>2</sup> ) |
|--------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>GT-MI</b> | 29,75±<br>1,01               | 60,84±<br>8,92               | 64,43±<br>8,32               | 41,66±<br>9,19               | 31,29±<br>10,52              | 21,49±<br>2,99                | 2,19±<br>0,83                 |
| <b>GT-MO</b> | 31,81±<br>0,97               | 41,88±<br>2,95               | 46,59±<br>5,14               | 27,76±<br>4,58               | 10,51±<br>3,38               | 2,85±<br>2,47                 | 0,38±<br>0,27                 |
| <b>GCP</b>   | 31,23±<br>1,03               | 32,10±<br>2,27               | 27,13±<br>4,49               | 21,36±<br>4,14               | 10,04±<br>3,71               | 3,53±<br>1,16                 | 0,23±<br>0,16                 |
| <b>GCN</b>   | 28,98±<br>0,75               | 35,34±<br>2,62               | 31,72±<br>3,48               | 18,47±<br>3,48               | 11,06±<br>3,42               | 5,92±<br>1,96                 | 3,90±<br>1,55                 |

Grupo tratamento *Maythenus ilicifolia* (Mart.) *ex Reiss* - GT-MI, Grupo Tratamento *Moringa oleífera* (Lam.)- GT- MO, Grupo controle positivo- GCP e Grupo controle negativo- GCN. Os valores representam média ± E.P.M. (N=10/grupo). \*p<0,05 em comparação ao GCN. Fonte: Autores (2020).

Nas análises do percentual médio de contração (Gráfico 1), do dia 3 ao 9° dia, o gráfico expressa valores divergentes entre os grupos tratados e os grupos controle, no primeiro momento o GT-MI apresentou valores negativados, expressando -104,5% (8,92) ao 3° dia, -116,5% (8,32) ao 5° dia, -112,4% (9,19) ao 7° dia e -91,4% (10,52) ao 9° dia. Após isto deram segmento de forma positiva no gráfico; do mesmo modo o grupo do extrato da *Moringa Oleífera* (GT-MO) apresentou discordância frente aos dados, demonstrando valores negativos, -31,64% (2,95) ao 3° dia e -46,43% (5,14) ao 5° dia. O GCN também expressou valores ao 3° dia -55,2% (2,62) e ao 5° de -9,57% (3,86).

O grupo utilizando o creme à base da espinheira santa apresentou os valores mais relevantes quanto a média de contração até o 9° dia pós-cirúrgico quando comparamos com os grupos controle, sendo explicado pela crosta ainda estar aderida ao leito da ferida, bem como pelas fórmulas matemáticas utilizadas na metodologia deste estudo que tem como base a área do dia 0 e a área do dia da análise que corresponde aos dias 0, 3, 5, 7, 9, 11 e 14, indicando que na medida que as crostas vão se desprendendo ou diminuindo os valores se tornam positivos em todos os grupos, conforme mostra o Gráfico 1.

**Gráfico 1** - Efeito do tratamento tópico do creme à base da *Moringa oleífera* (Lam.) e *Maythenus ilicifolia* (Mart.) ex Reiss., Fibrinase® e base não-iônica sobre feridas cutâneas durante 14 dias de tratamento.



As barras representam o percentual médio de contração da área das lesões das feridas de cada grupo desde o procedimento cirúrgico (dia 0) até o 14º dia de tratamento. Fonte: Autores (2020).

É relevante destacar que, até o 9º dia o Gráfico 1 expressa valores negativados, apresentando supostos índices não favoráveis para a cicatrização. Estes achados indicam que as plantas utilizadas nos grupos tratamento induziram a formação de crosta de maneira intensa alterando assim a linearidade quanto aos números e as colunas, mostrando que após a diminuição e queda das crostas os números deram segmento com tendência positiva e se tornaram positivos, assim, não influenciando nos valores finais nem no reparo tecidual, havendo aproximação dos resultados ao término, como mostra o Gráfico 1.

#### 4. Discussão

Nos últimos anos a utilização dos produtos naturais tem crescido, fazendo com que a pesquisadores busquem nos produtos naturais moléculas ativas ou metabólitos secundários com atividades biológicas que contribuam com diversas finalidades, como: atividade cicatrizante, anti-inflamatória, antibacteriana, antioxidante, dentre outras, com objetivo de validar o uso empírico das plantas medicinais e seus efeitos farmacológicos reais (Souza, 2015).

Diante da necessidade, o Ministério da Saúde aprovou em 2006 a Portaria Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos que tem como objetivo fornecer o acesso seguro e racional das plantas medicinais (Brasil 2016). Com isso, houve direcionamento para novos estudos com plantas medicinais. Desse modo, foi publicada Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema único de Saúde - SUS (RENISUS), em 2009, baseada nas espécies de maior utilização popular e com potencial terapêutico que podem gerar produtos de interesse à saúde pública (Brasil, 2009). Considerando importante a investigação experimental em produtos naturais a fim de validar seus princípios ativos, com intuito de garantir sua eficácia e segurança.

Com o avanço das práticas em saúde, o mercado farmacêutico busca a cada ano aprimorar seus produtos com base na necessidade. Desse modo, o medicamento utilizado no grupo controle é composto por fibrinolisina, desoxirribonuclease e cloranfenicol. Estes compostos atuam na ferida desbridando tecidos inviáveis e células agredidas; o cloranfenicol atua como um agente antibacteriano quando em contato com os microorganismo no leito da lesão. Desse modo, a formulação tópica

escolhida nos permitiu diminuir a chance de infecção e inflamação no leito das lesões, bem como promover a granulação, sendo utilizada como grupo controle positivo (Biondo-Simoes et al., 2019).

A formulação base não-iônica apresenta compatibilidade com o pH cutâneo e possibilitando a hidratação da pele, podendo incorporar ativos e extratos sem alteração das cargas iônicas (Barzotto et al., 2009). Durante os testes, por não apresentar nenhuma atividade biológica ativa, o grupo controle negativo apresentou sinais clínicos como edema de borda e exsudato leve e moderado (animal 1 e 8), e ferida em processo ulcerativo (animal 1). As feridas excisionais apresentam grande possibilidade de infecção por causa do método cirúrgico; se durante o processo de reparo a ferida infeccionar a área lesionada irá levar mais tempo para cicatrizar, induzindo assim o processo inflamatório mais prolongado, com a formação do exsudato (Souza, 2015). O que favoreceu o GCN a apresentar feridas infectadas resultando no retardo de algumas lesões.

Durante a avaliação dos achados encontrados, observou-se que os grupos que fizeram o uso da Moringa e a Espinheira santa, GT-MO e GT-Mi apresentaram crosta de aspecto escurecido e espessura densa. Moura (2017) relata que a *Maythenus ilicifolia* apresenta atividade antioxidante, cicatrizante e anti-inflamatória. Dentre os estudos de fitoquímica da espécie, os taninos e flavonoides se destacam em maior quantidade apresentando atividades cicatrizante, antioxidante e sequestradora de radicais livres e antimicrobiana.

Através de estudos, Abd-Rani e colaboradores (2018), identificaram na Moringa oleífera mais de 119 compostos, nas folhas se encontram grande parte deles, são eles, os flavonoides, taninos, alcaloides, ácidos fenólicos e terpenos, apresentando atividades importantes para a cicatrização, como efeito anti-inflamatório, antioxidante, antiulcerogênico, antialérgico, cicatrizante, analgésico e antimicrobiano (Capeleti, 2019; Waterman et al., 2015; Paikra et al., 2017).

Desse modo, taninos presentes na composição das espécies aqui estudadas possuem a capacidade de formar pontes de hidrogênio duradouras com proteínas ou polissacarídeos favorecendo a formação do complexo tanino-proteína ou taninopolissacarídeo, que por serem insolúveis em água, formam uma crosta de aspecto denso sobre a lesão através da precipitação de proteínas; participando também na estimulação à multiplicação de queratinócitos perilesional e fibroblastos para o microambiente da lesão, fortalecendo assim a epiderme; aumentando o número de ligações entre as fibras colágenas, o que permitiu que abaixo da crosta o processo cicatricial pudesse acontecer normalmente sem interferências (Vieira et al., 2015; Moura, 2017; Ramalho et al., 2018).

Este metabólito secundário apresenta três mecanismos de ação principais contra os microorganismos: impede a ação das enzimas microbianas, impedindo a sua proliferação; limita os substratos do processo de respiração microbiana; e impede a fosforilação oxidativa sucedendo na morte do agente microbiano (Ramalho et al., 2018), assim favorecendo a cicatrização e diminuindo as probabilidades de influências externas pelas diversas propriedades biológicas e farmacológicas.

Durante a segunda fase do experimento (8-14 dias), foi possível perceber sinais nos aspectos macroscópicos das lesões, o grupo controle positivo- GCN apresentou a tonalidade róseo pálidos nas lesões (Tabela 2). Segundo Cabral (2015) e Blank (2008), estes sinais indicam a fase final da cicatrização, onde aos poucos ocorre a troca do colágeno III pelo tipo I (Souza, 2015); a cicatriz se torna acelular e hipovascularizada, fazendo com que essa região se torne deficiente em melanócitos, o que indica a maturação. Os grupos tratados GT-MI e GT-MO apresentaram de maneira similar coloração com tonalidade rósea sobre as lesões o que indica que as feridas ainda se fazem presente na fase proliferativa, caracterizando uma lesão neovascularização, com intensa proliferação de fibroblastos e perfusão tissular.

## 5. Considerações Finais

Os resultados do presente estudo validam o efeito tópico das espécies para o uso na cicatrização de feridas.

O uso do creme à base da *Moringa oleifera* (Lam.) e *Maythenus ilicifolia* (Mart.) à 10% favorecem a cicatrização de feridas, proporcionando uma cicatrização sem eventos negativos devido seus reais efeitos anti-inflamatórios, antimicrobiano, quando comparamos os grupos ao GCN devidos as manifestações clínicas.

Os resultados das avaliações morfológicas e macroscópicas são promissores quando comparamos o processo cicatricial no grupo controle positivo, onde foi a terapia tópica de controle a Fibrinase®.

Os grupos tratados com a *Moringa oleifera* (Lam.) e *Maythenus ilicifolia* (Mart.) expressaram ao final do experimento uma porcentagem de contração de bordas satisfatória de maneira comparativa ao GCP ao termino do experimento.

O emprego do creme à base da Moringa e da Espinheira santa no processo de cicatrização de feridas cutâneas permanece ainda em campo aberto à estudos, no entanto é necessário que se amplie estudos experimentais com diferentes concentrações, maior tempo de estudo, além do isolamento dos compostos presentes nos extratos.

De maneira complementar análises histológicas serão realizadas com finalidade de acrescentar e aprofundar os conhecimentos acerca da espécie frente o processo de cicatrização de feridas.

Por fim, este estudo traz para a comunidade acadêmica a necessidade de novas metodologias a partir do emprego destas espécies para a temática, propondo realizar estudos com maior gama metodológica, como o método de HPLC para quantificar as concentrações nos extratos, como também ensaios de citotoxicidade in-vitro por MTT como forma oferecer maior sustentação e segurança de uso e embasamento para futuros testes clínicos.

## Apoio Financeiro

Este estudo recebeu suporte financeiro do Centro Universitário UNIFACISA, através Núcleo de Pesquisa e Extensão NUPEX/PROFICE, edital 93/18.

## Referências

- Abd-rani, N.Z., Husain, K., Kumolosasi, E. (2018). Moringa Genus: A Review of Phytochemistry and Pharmacology. *Front. Pharmacol.* 9, 108.
- Agamou, J. A. A., Fombang, E. N., & Mbofung, C. M. F. (2015). Benefícios particulares podem ser atribuídos às folhas de *Moringa oleifera* Lam com base na origem e estágio de maturação. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 3(6), 541–555.
- Almeida, C., Barbieri, R. L., Ribeiro, M. V., Lopes, C. V., & Heck, R. M.. (2015). Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.): saber de erveiros e feirantes em Pelotas (RS). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 17(4, Suppl. 1), 722-729.
- Barzotto, I. L. M., Oliveira, S. M. M., Tavares, B., Dallabrida, S. (2009). Stability of emulsions front of different techniques of homogenization and cooling. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.10, n.2, Jul. - Dez.
- Biondo-Simões, M. L. P., Henning Júnior, L., Boen, B. R. O., Prado, J. L., Costa, L. R., Robes, R. R., & Ioshii, S. O. (2019). Análise comparativa dos efeitos do mel, do óleo-serina de copaíba e de um produto comercial (fibrinolísina, desoxirribonuclease e cloranfenicol) na cicatrização por segunda intenção, em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 46(5), e20192245.
- Blanck, M. (2008). *Fisiopatologia das feridas*, In: Grupo ICE (Editor), *Enfermagem e úlceras por pressão: Da reflexão sobre a disciplina às evidências nos cuidados*. 261-276.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2011). *Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira*. 1. ed. Brasília, DF: Anvisa, 126 p.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2009). Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. *RENISUS – Relação Nacional de Plantas Medicinai*s de Interesse ao SUS. DAF/SCTIE/MS, fev.
- Cabral, M. S. (2015). *Avaliação da atividade cicatrizante de formulações fitoterápicas a base de Curatella americana e Costus spicatus in vivo*. Dissertação (mestrado) Programa de PósGraduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Amapá, Macapá-AP.
- Capeleti, J. P. F. (2019). *Atividade antimicrobiana in vitro de extratos da moringa oleifera lamarck sobre microrganismos de importância médica*. Monografia (Graduação em Farmácia) Faculdade de educação em meio ambiente- FAEMA, Ariquemes- RO.
- Furtado, R. A. A. et al. (2019). Ação do gel Anacardium Occidentale L. associado ao ultrassom terapêutico no processo de cicatrização em camundongos. *Saúde (Santa Maria)*, [S.l.], 15.
- Gonçalves, C. C., Almeida, F. A. C., Gomes, J. C., & Almeida, I. B. (2014). *Desenvolvimento e avaliação de extrato de maracujá (passiflora edulis) no tratamento de feridas cutâneas em Ratos Wistar*. Aracajú: 1ed. IFS.

- Mariño, P. A. *et al.* (2019). Phytochemical screening and assay of total polyphenols and flavonoids in different samples of holy thorn (*Maytenus ilicifolia* Mart.). *Braz. J. Hea. Rev.*, Curitiba, v. 2, n. 2, p. 6, 1049-1062, mar./apr.
- Mendonça, R. J., & Coutinho-netto, J. (2009). Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol.*, 84(3), 257-262.
- Moura, F. B. R. (2017). *Efeito do uso tópico do extrato etanólico de folhas de Maytenus ilicifolia no reparo de feridas cutâneas*. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG.
- Nobossé, P., Fombang, E. N., & Mbofung, C. (2018). Efeitos da idade e do solvente de extração no conteúdo fitoquímico e na atividade antioxidante de folhas frescas de *Moringa oleifera* L.. *Ciência alimentar e nutrição*, 6 (8), 2188–2198.
- Oliveira, H. S. H. (2019). *Avaliação nutricional das folhas da Moringa oleifera para aves*. 2019. 57 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal Rural de Pernambuco- UFRPE- Recife- PE.
- Oliveira, I. V. P. M., & Dias, R. V. C. (2012). Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.6, n.4, p.267-271.
- Paikra, B. K., Dhongade, H. kumar J., & Gidwani, B. (2017). Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Pharmacopuncture*, 20(3), 194– 200.
- Paula, S. (2016). Comparison of laser and led in the process of healing cutaneous wounds: a review. *Ciência & Saúde*, 9(1), 55-61.
- Qing, C. (2017). A biologia molecular na cicatrização de feridas e ferida não cicatrizante. *Revista Chinesa de Traumatologia*, 20(4), 189-193.
- Ramalho, M. P., Santos, S. L. F., Castro, N. M., Vasconcelos, L. M. O., Morais, I. C. O., & Pessoa, C. V. (2018). Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: revisão de literatura. *Rev. Expr. Catól. Saúde.*, 3(2), 1-7.
- Ramos, A. S. (2018). *Avaliação in vivo do efeito cicatrizante de Cnidioscolus quercefolius Pohl (Euphorbiaceae) sobre feridas cutâneas*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB.
- Souza, T. C. L. (2013). *Desenvolvimento de membranas bioativas de colágeno quimicamente modificado contendo própolis vermelha para aplicação em cicatrização de feridas abertas*. Dissertação de mestrado (saúde e meio ambiente)- Universidade Tiradentes, Aracajú.
- Souza, T. F. G. (2015). *Modulação da resposta inflamatória e aceleração da cicatrização de feridas cutâneas experimentais pelas proteínas isoladas do látex de Himatanthus drasticus Mart. (Plumel)*. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE.
- Szwed, D. N., & Santos, V. L. P. (2016). Growth factors involved in skin healing. *Cad. da Esc. de Saúde, Curitiba*, 1(15), 7-17.
- Tazima, M. F. G. S., Vicente, Y., & Moriya, T. (2018). Biologia da ferida e cicatrização. *Revista Medicina*, Ribeirão Preto, v. 41, n. 3, p. 259-264.
- Teo, T. C., & Naylor, I. L. (1995). Modifications to the rate of wound contraction by allopurinol. *British Journal of Plastic Surgery*, 48(4), 198-202.
- Vieira, G. T., Oliveira, T. T., Silva, C. H., Costa, M. R., Leal, D. T., & Carvalho, C. M. C. (2015). Healing effect of the of *Pseudopiptadenia contorta* (DC.) G.P. Lewis & M.P. Lima bark's extract on cutaneous wound of secondary intention. *Rev Cubana Plant Med*, 20(4), 440-452.
- Waterman, C., Rojas-Silva, P., Tumer, T. B., Kuhn, P., Richard, A. J., Wicks, S., & Raskin, I. (2015). Isothiocyanate-rich *Moringa oleifera* extract reduces weight gain, insulin resistance, and hepatic gluconeogenesis in mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(6), 1013–1024.