

1 **COMPÓSITO FORMADO POR Ag-NP/ZnO/AMEIXA BRAVA (*Ximения***  
2 ***americana* L.): PREPARO, CARACTERIZAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DA**  
3 **ATIVIDADE CICATRIZANTE**

4 Composite formed of Ag-NP / ZnO / ameixa brava (*Ximения americana* L.):  
5 Preparation, characterization and investigation of healing activity.

6 Marta Rejane CANUTO<sup>1\*</sup>; Renata da Silva CARNEIRO<sup>1</sup>; Daniel Cabral Leão  
7 MARTINS<sup>1</sup>; Antônio Luís Martins MAIA FILHO<sup>1</sup>; José Figueredo SILVA<sup>1</sup>; Valdiléa  
8 Teixeira UCHÔA<sup>1</sup>; Reginaldo da Silva SANTOS<sup>1\*</sup>

9 <sup>1</sup> Universidade Estadual do Piauí, Rua: João Cabral, N. 2231, P.O. Box 381, 64002-150,  
10 Teresina, PI, Brasil; [\\*rsantos.uespi@gmail.com](mailto:*rsantos.uespi@gmail.com)

11 **RESUMO**

12 A atividade cicatrizante do compósito formado por de nanopartículas de prata (Ag-NP),  
13 óxido de zinco (ZnO) e extrato das folhas de ameixa brava (*Ximения americana* L.) foi  
14 investigada. Testes de cicatrização foram conduzidos utilizando-se 210 camundongos  
15 divididos em 7 grupos experimentais, contendo dois tipos de lesões: circular ou  
16 longitudinal no dorso do animal. Os valores médios de redução das áreas dos ferimentos  
17 não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Contudo, no grupo tratado com o  
18 compósito, a partir do 14º dia, observaram-se fibroblastos e fibras colágenos mais  
19 organizados que os demais grupos. Além disso, no 21º dia de tratamento, os ferimentos  
20 tratados com o compósito de Ag-NP/ZnO/Ameixa apresentou uma resistência tecidual  
21 cicatricial muito superior, demonstrando que compósito contribuiu para uma  
22 cicatrização mais efetiva dos ferimentos.

23 **Palavras-chave:** *Ximения americana*; nanopartículas de prata; atividade cicatrizante.

24 **ABSTRACT**

25 Healing activity of the composite formed by silver nanoparticles (Ag-NP), zinc oxide  
26 (ZnO) and extract of wild plum leaves (*Ximения americana* L.) was investigated.  
27 Healing tests were conducted using 210 mice divided into 7 experimental groups,  
28 containing two types of lesions: circular or longitudinal on the animal's back. The mean  
29 values of reduction in the areas of injuries did not show statistically significant  
30 differences. However, in the group treated with the composite, from the 14th day  
31 onwards, fibroblasts and collagen fibers were more organized than the other groups. In  
32 addition, on the 21st day of treatment, wounds treated with the Ag-NP/ZnO/*Ximения*  
33 composite showed much higher tissue healing resistance, demonstrating that the  
34 composite contributed to more effective wound healing.

35 **Keywords:** *Ximenia americana*; silver nanoparticles; healing activity.

## 36 INTRODUÇÃO

37 No Brasil, a ameixa brava (*Ximenia americana* L.) é uma das diversas espécies  
38 vegetais que apresenta grande versatilidade quanto ao seu uso na medicina tradicional  
39 para o tratamento de uma série de enfermidade, incluindo inflamação, infecções,  
40 ferimento, prisão de ventre (FRANCO BARROS, 2006).

41 O feito positivo da ameixa no tratamento de lesões pode estar associado ao efeito  
42 bactericida dos constituintes presentes na planta. Estudos também apontam que  
43 nanopartículas de prata (Ag-NP) possuem atividade antimicrobiana porque podem  
44 interagir com as paredes celulares de bactérias, fungos e vírus, promovendo a morte  
45 desses micro-organismos (RAJESHKUMAR e BHARATH, 2017). Além disso, estudos  
46 apontam que Ag-NP também se podem minimizar os processos inflamatórios locais e  
47 facilitar a cicatrização de feridas (ARAÚJO, 2017).

48 Além das Ag-NP, o óxido de zinco (ZnO) é outro material inorgânico que é  
49 comumente encontrado em formulações farmacêutica, como incipiente ou base de  
50 pomadas com atividade anti-inflamatória e protetores solares. Por apresentar baixíssima  
51 toxicidade, biocompatibilidade e não ser considerado metal pesado, o ZnO vem sendo  
52 utilizado como material para tratamento dentário (FERNANDES, 2011).

53 O presente estudo investigou o efeito sinérgico de uma formulação baseada na  
54 associação de Ag-NP, ZnO e extrato da folha da *X. americana* (Ag-NP/ZnO/Ameixa)  
55 na cicatrização e processo de reparo tecidual. Para o estudo, o processo de reparação  
56 tecidual foi avaliado em lesões cutâneas provocadas em um modelo animal.

## 57 MATERIAIS E MÉTODOS

58 O protocolo de pesquisa foi deferido pela Comissão de Ética do Uso em Animais  
59 (CEUA/UESPI) da Universidade Estadual do Piauí com o nº 0161/2018. E está  
60 cadastrada na plataforma do Sistema Nacional de Gerenciamento de Patrimônio  
61 Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o nº A811623.

62 Para a síntese do ZnO foram preparadas duas soluções aquosas a 0,5 mol L<sup>-1</sup> de  
63 Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O e NaOH. Em um béquer de 400 mL adicionou-se 100 mL da solução de  
64 NaOH, e gotejou-se 100 mL de Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O à solução da base, sob agitação  
65 magnética a 70°C por 2 horas. Preparou-se as Ag-NP pelo método de fotorredução

66 diretamente sobre as partículas de ZnO, considerando o método proposto por COSTA *et*  
67 *al.*, 2019.

68 Para o preparo do extrato da Ameixa brava, coletaram-se as folhas da *X.*  
69 *americana* no município de Domingos Mourão – PI, coordenada latitude 4°09'14.8"e  
70 longitude 41°18'28.3"W. Preparou-se o extrato conforme estudos anteriores do grupo  
71 (PALMA *et al.*,2020). Para realizar o processo de tratamento das lesões cutâneas em  
72 camundongos, o compósito de Ag-NP/ZnO/ameixa brava foi preparado com 5mg de  
73 Ag-NP para cada 1g de ZnO em 5% do extrato da folha da ameixa.

74 Nos estudos de cicatrização foram utilizados 210 camundongos da espécie *Mus*  
75 *musculus* divididos em 7 grupos experimentais: Grupo A (Controle negativo), Grupo B  
76 (Controle positivo – Sulfato de neomicina), Grupo C (ZnO), Grupo D (extrato da  
77 ameixa), Grupo E (ZnO e extrato da ameixa), Grupo F (Ag-NP/ZnO), Grupo G  
78 (Compósito), sendo subdivididos em três subgrupos iguais de acordo com o período de  
79 tratamento (7,14 e 21 dias). Na avaliação macroscópica, os animais tiveram a área das  
80 lesões circulares aferidas conforme procedimento descrito por RAMSEY *et al.*, 1995.

81 Cinco animais de cada grupo experimental de lesão cutânea foram eutanasiados  
82 nos dias 7, 14 e 21 após o procedimento cirúrgico. As feridas circulares foram  
83 removidas para a análise histológica conforme procedimento descrito por BARRETO,  
84 2017. Para a avaliação da força de tração foi utilizada a máquina universal de ensaio  
85 mecânico. A tração ocorreu com velocidade constante. A análise estatística dos dados  
86 coletados foi realizada conforme procedimentos já descritos (LEAL *et al.*,2016).

## 87 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

88 As caracterizações estruturais do ZnO revelaram que o material já apresenta boa  
89 cristalinidade, logo após a síntese, permitindo seu uso como base da formulação.  
90 Imagens de microscopia mostraram ainda que o ZnO é formado por nanopartículas que  
91 se agregam em partículas maiores e Espectros de Energia Dispersiva de raios X (EDX)  
92 revelaram a presença da Ag no material.

93 Nos estudos da atividade de cicatrização, observou-se que a partir do 7º dia nos  
94 grupos A, B, C e E as crostas estavam amareladas e com menor firmeza. Os demais  
95 grupos a crosta era mais escura e com maior firmeza. Ao comparar os grupos  
96 experimentais, as médias de contração não apresentaram diferenças estatísticas

97 significativas. Depois de completado 21 dias, após a cirurgia, reepitelização total e  
98 surgimento de novos pelos.

99 Os resultados da resistência cicatricial com 7 dias sugerem que os grupos C, E, F  
100 e G apresentaram uma resistência da pele, estatisticamente significativa. O grupo G  
101 (compósito) apresentou resistência somente ligeiramente superior. Considerando apenas  
102 esses resultados coletados após 7 dias da cirurgia, poderia-se inferir que inicialmente  
103 todas as formulações atuam de forma semelhante. Contudo, com 21 dias de tratamento  
104 percebeu-se que o grupo G apresentou valores estatísticos mais elevados para os testes  
105 de resistência do tecido reparado, quando comparados a todos os outros grupos.

106 No intervalo de sete dias, na análise histológica, não foram observadas  
107 diferenças expressivas entre os grupos. Com 14 dias, ocorreu reepitelização completa  
108 em todos os grupos, o tecido de granulação se apresentou mais maduro, sendo a MEC  
109 mais densa. Os fibroblastos se tornaram mais evidentes, notadamente nos Grupos D, F e  
110 G. No grupo do Compósito (G), os fibroblastos se organizaram em feixes paralelos à  
111 superfície cutânea. Aos 21 dias, observou-se em todos os grupos redução intensa dos  
112 capilares sanguíneos neoformados. Os resultados observados corroboram com a  
113 pesquisa realizada por Pessoa *et al.* (2012).

114 Notou-se uma expressiva diferença na disposição das fibras colágenas do grupo  
115 G em relação aos demais grupos, com significativo aumento na quantidade das fibras  
116 nos 14º dia de pós-operatório (PO), ( $p < 0,05$ ), corroborando com os resultados  
117 encontrados por Carvalho *et al.* (2009) ao utilizar o extrato aquoso de *X. americana* a  
118 20% em feridas de camundongos. Segundo Moura *et al.* (2014), a colagenização de uma  
119 ferida representa um dos fatores mais significativos para a recuperação dérmica após a  
120 agressão. Durante o processo de cicatrização, a síntese do colágeno ocorre pela ação dos  
121 fibroblastos. A deposição continuada de colágeno no sítio cicatricial contribui para a  
122 gradativa elevação da resistência do tecido no local da ferida. O que pode ser  
123 comprovado que o grupo G obteve maior resistência cicatricial no intervalo de 7 e 21  
124 dias.

## 125 CONCLUSÃO

126 Conclui-se que o compósito formado pelo extrato da folha da ameixa óxido de  
127 zinco e nanopartículas de prata promove um reparo tecidual de resistência cicatricial  
128 superior às demais amostras, superando a apresentada pelo sulfato de neomicina (grupo

129 controle). Esse dado revela o efeito sinérgico dos componentes do compósito. Portanto,  
130 o compósito apresenta potencial aplicação como formulação para tratamento de  
131 ferimentos.

## 132 REFERÊNCIAS

133 BARRETO, M. P. V. Efeito da laseterapia e propólis na cicatrização de feridas de ratos  
134 diabéticos. Dissertação. Pós-graduação em Biologia Estrutural e Funcional da  
135 Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), p. 29-30, 2017.

136 COSTA, M. J. S. et al. Photocurrent Response and Progesterone Degradation by  
137 Employing WO<sub>3</sub> Films Modified with Platinum and Silver Nanoparticles.  
138 **ChemPlusChem**, v. 83, p. 1153-1161, 2018.

139 DE ARAÚJO, J. C. Eficácia do curativo de hidrogel com nanopartículas de prata na  
140 cicatrização de feridas crônicas: estudo clínico randomizado. **Dissertação**. Pós-  
141 Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), p. 45,  
142 2017.

143 FERNANDES, L. H. M.G.; ABAD, E.; MAIA, K. D.; FREIRE, M.L.P. B.; FREIRE,  
144 M. V. Resposta da polpa dental humana protegida com óxido de zinco em apicogênese.  
145 **Rev. bras. odontol**, v. 68, n. 1, p. 86-90, jan./jun. 2011.

146 FRANCO, E.A.P.; BARROS, R.F.M. Uso e diversificação de plantas medicinais no  
147 quilombo olho d'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Plantas**  
148 **Medicinais**, Botucatu, v.8, n.9, p.78-88, 2006.

149 LEAL, Seânia Santos et al . EFICÁCIA DA FONOFORSE COM *XIMENIA*  
150 *AMERICANA* L. NA INFLAMAÇÃO DE TENDÃO DE RATOS. **Rev Bras Med**  
151 **Esporte**, São Paulo , v. 22, n. 5, p. 355-360, Oct. 2016.

152 MOURA-JÚNIOR M. J, ARISAWA E. Â, MARTIN A. A, DE CARVALHO J.P, DA  
153 SILVA J. M, SILVA J. F. Effects of low-power LED and therapeutic ultrasound in the  
154 tissue healing and inflammation in a tendinitis experimental model in rats. **Lasers Med**  
155 **Sci**. v.29, n.1, p. 301-11, 2014.

156 PALMA, A. F. M.; MARQUES, L. K. M.; CARNEIRO, R. S.; CARVALHO, G. F. S.;  
157 FERREIRA, D. C. L.; SANT'ANA, A. E. G.; MAIA FILHO, A. L. M.; MARQUES,  
158 R.B.; ALVES, W. S.; UCHÔA, V. T. Avaliação dos Extratos do caule e Folhas da  
159 *Ximena americana* L. na Cicatrização de Feridas Excisionais Aguda em Pele de  
160 Camundongo. **Revista Virtual de Química**, v.12, n.1, p. 1-14, 2020.

161 PESSOA, W. S.; ESTEVÃO, L. R. M; MENDONÇA, F. S.; BARATELLA-EVÊNCIO,  
162 L.; SIMÕES, R. S.; BARROS, M. E. G.; ARANTES, R. M. E.; RA-CHID, M. A.;  
163 EVÊNCIO-NETO, J. Effects of angico extract( *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) in  
164 cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 27, n.10, p. 655 – 670,  
165 2012.

166 RAMSEY, D.T.; POPE, E. R., WAGNER-MANN, C., BERG, J.N., SWAIM, S. F..  
167 Effects of three occlusive dressing materials on healing of fullthickness skin wounds in  
168 dogs. **Am J Vet Res**.v.56, n.7, p. 941-9, 1995.

169 RAJESHKUMAR S. and BHARATH L.V. Mechanism of plant-mediated synthesis of  
170 silver nanoparticles A review on biomolecules involved, characterisation and  
171 antibacterial activity. **Chemico-Biological Interactions**, v.273, p. 219- 227, 2017.