



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - Unioeste
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS
PPGCA

**PRODUÇÃO DE MEMBRANA COMPOSTA POR POLI (ÁLCOOL
VINÍLICO) ASSOCIADA À NEROLIDOL E AVALIAÇÃO DE SUA
CAPACIDADE ANTIMICROBIANA**

Paola Amanda Paradella Machado

Toledo – Paraná – Brasil

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - Unioeste
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS
PPGCA

**PRODUÇÃO DE MEMBRANA COMPOSTA POR POLI (ÁLCOOL
VINÍLICO) ASSOCIADA À NEROLIDOL E AVALIAÇÃO DE SUA
CAPACIDADE ANTIMICROBIANA**

Paola Amanda Paradella Machado

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/Campus Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais.

**Orientadora: Josiane Caetano
Dragunski**

Toledo – Paraná – Brasil

2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Machado, Paola Amanda Paradella
Produção de membrana composta por poli(álcool vinílico) associada à nerolidol e avaliação de sua capacidade antimicrobiana / Paola Amanda Paradella Machado; orientador(a), Josiane Caetano Dragunski, 2020.
65 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, 2020.

1. Nerolidol. 2. Eletrofiliação. 3. Capacidade Antimicrobiana. 4. Poli (Álcool Vinílico). I. Dragunski, Josiane Caetano . II. Título.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4. METODOLOGIA DE PESQUISA	35
4.1 REAGENTES UTILIZADOS	35
4.2 PREPARO DA SOLUÇÃO POLIMÉRICA COM E SEM O PRINCÍPIO ATIVO NEROLIDOL	35
4.3 PARÂMETROS PARA A ELETROFIAÇÃO	35
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS FIBRAS	36
4.4.1 INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	36
4.4.2 ANÁLISE DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	36
4.4.3 TGA	36
4.4.4 DRX	36
4.4.5 MEV	37
4.4.6 ÂNGULO DE CONTATO	37
4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
6. CONCLUSÃO	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

- Figura 1: Estrutura química dos isômeros cis (A) e trans (B) do nerolidol.pág. 20
- Figura 2: Principais fontes vegetais de nerolidol, juntamente com sua porcentagem de nerolidol e métodos de extração.....pág. 23
- Figura 3: Vista esquemática de um equipamento de eletrofição: fonte de alta tensão, uma agulha de diâmetro pequeno, um coletor, uma bomba de infusão e uma seringa com a solução polimérica.....pág. 31
- Figura 4: estrutura molecular do Poli (Álcool Vinílico)pág. 32
- Figura 5: Teste de difusão em disco para avaliação da ação antimicrobiana usando discos de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25%, Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%, Cloranfenicol 30 µg e Penicilina G 10 µg.....pág. 38
- Figura 6: Microscopia Eletrônica de Varredura. Letras A, D e G ampliação de 10000 X; Letras B, E e H ampliação de 20000 X. As imagens A e B, referem-se ao Poli (Álcool Vinílico) puro; D e F na presença de 25% de Nerolidol; G e H na presença de 50% de Nerolidol. As letras C, F e I referem-se aos histogramas de frequência para os diâmetros das fibras Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) com 25% de Nerolidol e Poli (Álcool Vinílico) com 50% de Nerolidol, respectivamente.....pág. 40
- Figura 7: Imagens de ângulo de contato para a fibra poliméricas: Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) com Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) com Nerolidol 50% para os tempos 0 e 5 minutospág. 41
- Figura 8: Espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier a partir da reflectância atenuada para as fibras poliméricas de Poli (Álcool Vinílico).....pág. 43

Figura 9: Curva de Calorimetria Exploratória Diferencial de membranas de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%.....pág. 44

Figura 10: Termograma da análise termogravimétrica e sua primeira derivada Poli (Álcool Vinílico) (A e B), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% (C e D), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50% (E e F).....pág. 45

Figura 11: Difratoograma de Raios X de amostras de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%.....pág. 47

Figura 12: Controle negativo contendo apenas os filmes de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%, sem inoculação de microrganismo em meio Mueller-Hinton.....pág. 48

Figura 13: Análise antimicrobiana *in vitro* de sensibilidade de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* para os agentes antimicrobianos Penicilina G 10 µg e Cloranfenicol 30µg.....pág. 48

Figura 14: Análise antimicrobiana *in vitro* dos microrganismos: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* para a membranas de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%.....pág. 49



LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Principais mecanismos de ação antibiótica (WALSH, 2003)...pág. 17

Tabela 02: Resultados do teste de difusão de discos de Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%, Cloranfenicol 30 µg e Penicilina G 10 µg sobre os microrganismos patogênicos *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.....pág. 50

DEDICATÓRIA

À minha família, seja ela nascida de mim,
escolhida por mim ou nascida comigo,
que me ajudou a chegar até aqui.
Vocês são a minha força.

*“Crescer é caótico.
A busca pelos nossos sonhos não tem boa aparência.
Ser quem a gente quer ser não é glamoroso.
Porque adaptações e mudanças não são.
Ideais audaciosos muito menos.
Sonho, bagunça, vergonha, orgulho.
Precisamos expor essa sequência e o que acontece no meio dela.
Adaptar o ‘busque seus sonhos’, adicionando:
e será confuso, badernoso, desconexo e muito custoso.
Mas calma minha amiga. Erga a cabeça.
É só olhar para o céu.
Tudo que lá brilha, nasce assim.
De um colapso.”
(Rafaela Carvalho)*



AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela dádiva da vida e por me dar forças em madrugadas silenciosas, onde no silêncio da escrita ele sussurrava que sou capaz de tudo que tanto sonho.

Agradeço ao meu marido, que embora tenha visto o caos na minha mente e o medo do fracasso, nunca me deixou desistir e sempre me impulsionou com palavras de encorajamento para que eu atingisse meu objetivo.

Agradeço ao meu pequeno Dominic, que chegou me ensinando qual era minha verdadeira missão nessa Terra, e que com seus beijos doces me fez esquecer todo o cansaço das madrugadas de escrita.

Agradeço a todos os membros da minha família que testemunharam de perto as olheiras e o cansaço mas sempre me incentivaram, certos do meu sucesso.

Agradeço à minha orientadora Josiane Caetano Dragunski por toda ajuda dispensada e todo o auxílio quando eu precisava de um direcionamento. Agradeço ao Professor Douglas Dragunski pelo cuidado e interesse em vários momentos em que precisei de ajuda, sempre auxiliando como possível.

Agradeço aos meus colegas Paula, Fernando e Jean por serem a minha tábua de salvação em vários momentos que precisei de ajuda e sempre estiveram dispostos a me auxiliar com o máximo de força de vontade, que só amigos verdadeiros dispensam. Vocês foram o meu presente desse Mestrado e pretendo levá-los para a minha vida toda.

Agradeço aos colegas Leonardo Ferrari e Gabriel Nardi por todo o auxílio com as análises e interpretações quando não pude me dedicar exclusivamente ao mestrado. Agradeço também aos técnicos de laboratório da Unioeste que sempre muito prestativos foram essenciais no desenvolvimento do trabalho.

Agradeço com muito carinho a UNIPAR, que me acolheu como egressa e pela ajuda especial da Professora Maria Graciela no meu momento mais atribulado de análises.

RESUMO

A análise do processo de cicatrização sob os pontos de vista clínico, macroscópico e histológico de feridas cutâneas mostra que o tratamento das feridas cutâneas é dinâmico e depende, a cada momento, da evolução das fases de cicatrização, em busca de facilitar e acelerar a evolução natural do processo de cicatrização da ferida o uso de substâncias extraídas de plantas, têm crescido. Desta forma, este trabalho visa produzir uma membrana de Poli (Álcool Vinílico) (PVA) obtida por eletrofiação, associada ao princípio ativo Nerolidol, um sesquiterpeno extraído de plantas e avaliar sua capacidade antimicrobiana, para utilização como curativo biodegradável em feridas cutâneas de mamíferos. Para obtenção da membrana, foi utilizada uma solução polimérica de (PVA) na concentração de 8% (m/v), usando água como solvente. Posteriormente, foi adicionado cerca de 5% de etanol, com a finalidade de diminuir a tensão superficial da solução polimérica. Nestes 5% de etanol, foi adicionada a quantidade de 25 e 50% (v/m) de nerolidol. A eletrofiação foi realizada nos parâmetros: diferença de potencial de 15kV; distância da agulha ao coletor de 12 cm e fluxo da solução de 0,75 mL.h⁻¹. As membranas obtidas foram caracterizadas usando a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), que mostrou uma coalescência das fibras após a incorporação do Nerolidol, ficando mais acentuada para membrana contendo 50% do princípio ativo, com um aumento de 61,4% no diâmetro das fibras em relação a membrana de PVA pura. As análises de ângulo de contato mostraram que apesar das membranas serem hidrofílicas, houve um aumento no ângulo de contato na presença do Nerolidol, indicando que esta substância encontra-se, principalmente, na superfície das fibras. Além disso, as técnicas de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) , Calorimetria Exploratório Diferencial (DSC), Análise Termogravimétrica (TGA) e raio X, indicam que o PVA não encapsulou o Nerolidol, sendo que este provavelmente permaneceu sob a superfície do PVA. As análises antimicrobianas mostraram que os principais microrganismos causadores de infecção em feridas cutâneas: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram inibidos frente a membrana contendo o Nerolidol. Desta forma o trabalho é promissor no estudo desse novo curativo biodegradável formado a partir de PVA e Nerolidol com efeito antimicrobiano em feridas cutâneas de mamíferos.

Palavras-chaves: eletrofiação; feridas cutâneas, princípio ativo.

ABSTRACT

The analysis of the healing process from the clinical, macroscopic and histological points of view of cutaneous wounds shows that the treatment of cutaneous wounds is dynamic and depends, at each moment, on the evolution of the healing phases, in search of facilitating and accelerating the natural evolution of the wound healing process, the use of substances extracted from plants has been increasing. Therefore, this work intends to produce a polyvinyl alcohol (PVA) membrane obtained by electrospinning, associated with the active principle Nerolidol, a sesquiterpene extracted from plants and evaluate its antimicrobial capacity, to be used as biodegradable dressing in mammalian skin wounds. To obtain the membrane, a polymeric solution of (PVA) was used at a concentration of 8% (w/v), using water as solvent. Subsequently, about 5% ethanol was added, in order to decrease the surface tension of the polymeric solution. In this 5% ethanol, the amount of 25 and 50% (v/m) of nerolidol was added. The electrospinning was performed in the parameters: potential difference of 15kV; distance from the needle to the collector of 12 cm and solution flow of 0.75 mL.h⁻¹. The membranes obtained were characterized using the technique of Scanning Electron Microscopy (SEM), which showed a coalescence of fibers after the incorporation of Nerolidol, being more pronounced for membrane containing 50% of the active principle, with an increase of 61.4% in fiber diameter compared to pure PVA membrane. The contact angle analysis showed that although the membranes are hydrophilic, there was an increase in the contact angle in the presence of Nerolidol, indicating that this substance is mainly found on the surface of the fibers. Furthermore, the Fourier Transform Infrared (FTIR), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermogravimetric Analysis (TGA) and X-ray techniques indicate that the PVA did not encapsulate the Nerolidol, which probably stayed under the PVA surface. The antimicrobial analyses showed that the most important microorganisms causing infection in skin wounds: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were inhibited against the membrane containing Nerolidol. Therefore, the work is promising in the study of this new biodegradable dressing formed from PVA and Nerolidol with antimicrobial effect on mammalian skin wounds.

Key-words: electrospinning, cutaneous wounds, active principle.

1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais e o uso da medicina popular têm sido a primeira opção de tratamento para diversas doenças desde o início da humanidade. Com o surgimento da medicina moderna casos mais extremos de enfermidades passaram a ser tratados por soluções, drogas, procedimentos, máquinas e protocolos específicos para quase todas as doenças conhecidas.

Porém nesta especificidade da medicina moderna reside seu maior perigo: a superexposição a drogas medicamentosas, que tem sido a responsável por uma resistência por parte dos microrganismos causadores de doenças. Conforme novos microrganismos foram sendo apontados como patogênicos, aumentou-se a procura por antibioticoterapias para essas doenças.

Todos os dias, a ciência apresenta novos microrganismos que se tornaram resistentes aos medicamentos especificamente criados para destruí-los e com isso a quantidade administrada vem sendo aumentada para tentar evitar essa resistência, o que pode causar um acúmulo de substâncias no organismo humano e animal.

No ponto em que a medicina moderna volta-se para onde tudo teve origem, no caso a medicina tradicional, que essa pesquisa se aplica, ao voltar-se para as raízes da medicina encontram-se inúmeras plantas com capacidades tão boas quanto, senão até melhores, do que os medicamentos sintetizados utilizados atualmente.

Ao se estudarem plantas medicinais popularmente utilizadas pela população mais de perto e do ponto de vista científico pode-se obter delas inúmeras propriedades fitoterápicas que, ao serem incorporadas à medicina atual, podem auxiliar muito nos processos de saúde.

Essa ponte entre a planta no seu estado natural e modos em que sua capacidade fitoterápica possa ser utilizada varia muito de planta a planta, e até mesmo entre as partes da planta que podem ser utilizadas. Este trabalho irá tratar de uma forma que vem sendo muito utilizada: os princípios ativos.



Neste contexto, não basta apenas o conhecimento de cada planta, das suas propriedades e do que ela é capaz, deve-se encontrar uma maneira plausível, econômica, fácil e rápida de associá-la a algo que possa ser efetivamente aplicado, o que também se tornou objeto de estudo deste trabalho, que visa obter membranas compostas por nanofibras poliméricas de Poli (Álcool Vinílico) contendo o princípio ativo extraídos de plantas nerolidol com o intuito de substituir o uso de curativos em feridas cutâneas de mamíferos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Produzir membrana composta por Poli (Álcool Vinílico) contendo nanofibras poliméricas associada com o princípio ativo vegetal Nerolidol, que seja capaz de prevenir ou atenuar infecções microbianas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Especificar a capacidade antimicrobiana do princípio ativo vegetal Nerolidol associado à membrana contendo nanofibras poliméricas por meio de testes microbiológicos.
- Desenvolver membranas compostas de Poli(Álcool Vinílico) através do processo de eletrofiação com a incorporação do princípio ativo Nerolidol.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Desde o momento em que o homem começou a desenvolver a consciência de si mesmo, as dores, feridas, enfermidades e a morte o incomodam. A busca por mitigar as dores, tratar as feridas, afastar as doenças e protelar a morte é o que tem levado a ciência por trás da medicina a pensar soluções que tornem o viver mais fácil para todos (VIEIRA, 2012)

A medicina atual surgiu com Hipócrates, que foi, segundo a tradição, o maior médico da Grécia Antiga e possivelmente de toda a Medicina Ocidental. Com ele, foi estabelecido o procedimento padrão do médico que é ter habilidade para escutar as queixas e para examinar os pacientes, ter raciocínio lógico para formular hipóteses de diagnóstico e ter habilidade para preparar remédios e atuar cirurgicamente (VIEIRA, 2012). Os gregos e romanos antigos desenvolveram toda uma gama de abordagens a assuntos relacionados à saúde como tentar evitar doenças na comunidade, ter instituições simples para cuidar de escravos e soldados, locais onde reunir textos médicos, tentar aprimorar o conhecimento de medicina por meio de pesquisa e, é claro, cuidar de pacientes à beira do leito. Mas as categorias modernas de medicina hospitalar, comunitária e laboratorial surgiram em sua forma atual durante o século XIX (BYNUM, 2011).

Enquanto a medicina praticada em hospitais foi se desenvolvendo e criando raízes pela ciência, um outro tipo de medicina, que vem antes até mesmo dos registros existirem, também evoluiu, a medicina baseada em observações ao passar dos anos, das vivências, experiências e convivências dos médicos e pacientes no meio, cujo conhecimento foi passado de geração para geração, e que podem ser denominadas saber popular ou saber de senso comum. No saber popular as plantas têm uma papel fundamental no tratamento e cura de doenças, sendo muito conhecidas pela população em geral (VIEIRA, 2012).

Grande parte da população mundial tem confiança nos métodos tradicionais relativos aos cuidados diários com a saúde e cerca de 80 % dessa

população, principalmente dos países em desenvolvimento, confiam nos derivados de plantas medicinais para seus cuidados com a saúde. Aproximadamente 25 % de todas as prescrições médicas são formulações baseadas em substâncias derivadas de plantas ou análogos sintéticos derivados destas (GURIB-FAKIM, 2006).

A utilização de produtos naturais com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007). Existem registros de 4.000 a. C sobre a utilização das plantas para tratamento de doenças. Entretanto, o primeiro registro médico que inclui uma coleção de fórmulas de trinta diferentes drogas de origem vegetal, animal ou mineral encontra-se depositado no Museu da Pensilvânia que é datado de 2.100 a. C. Pode-se afirmar que 2.000 anos antes do aparecimento dos primeiros médicos gregos, já existia uma medicina egípcia organizada (HELFAND; COWEN, 1990).

O uso de plantas medicinais pode ser entendido como uma prática que atravessa milênios, estando historicamente presente na sabedoria popular, articulando cultura e saúde, uma vez que estes aspectos não ocorrem isoladamente, mas inseridos em um contexto histórico determinado (ALVIM et al., 2006). Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças, quer de forma tradicional, devido ao conhecimento das propriedades de determinada planta, que é passado de geração a geração, quer pela utilização de espécies vegetais como fonte de moléculas ativas (CARVALHO; SILVEIRA, 2010).

Com a valorização da medicina popular, houve um aumento no interesse em pesquisas com fitoterápicos, objetivando a produção de fármacos mais baratos e com efeitos semelhantes aos dos medicamentos tradicionais. Esse conhecimento foi construído empiricamente, ao longo de milênios,

constituindo gradualmente a medicina tradicional (ALLEN; BOND; MAIN, 2012). A necessidade exige e a ciência busca a unificação do progresso com aquilo que a natureza oferece, respeitando a cultura do povo em torno do uso de produtos ou ervas medicinais para curar os males (ACCORSI, 2000).

A maioria dessas plantas é utilizada com base no conhecimento popular, observando-se a carência do conhecimento científico de suas propriedades farmacológicas e toxicológicas. Muitas vezes, entretanto, as propriedades farmacológicas anunciadas não possuem validação científica, por não terem sido investigadas ou comprovadas em testes pré-clínicos e clínicos. Além disso, verifica-se também escasso conhecimento a respeito dos constituintes responsáveis pela atividade farmacológica, ou as possíveis interações que envolvam as inúmeras moléculas presentes no extrato da planta (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). A procura por produtos naturais derivados de plantas como alternativa para a utilização em terapias tem crescido (FIGUEIREDO; GURGEL; GURGEL JÚNIOR, 2014).

Apesar da descoberta dos antibióticos na terapêutica médica permitir curar infecções que antigamente tinham 100% de mortalidade (RIGATTI, 2010), o tratamento antibioticoterápico errôneo é um fator responsável pelo desenvolvimento de resistência bacteriana e que contribui para a ocorrência de infecções recorrentes (VIANA et al., 2011).

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003). Os antibióticos ideais definem-se por diversas características, tais como, alvo seletivo, alcançar rapidamente o alvo, bactericida, espectro estreito de forma a não afetar a flora saprófita, com baixo nível tóxico e elevados níveis terapêuticos, poucas reações adversas, quer seja toxicidade ou alergia, várias vias de administração, tais como, oral, intravenosa (IV) e intramuscular (IM). Deve ter uma boa absorção e caso seja administrado por via oral, ter uma boa absorção intestinal, boa distribuição no local de infecção e

ser um antibiótico pró-hospedeiro, isto é, que não contraria as defesas imunológicas, não deve induzir resistências e deve ter uma boa relação custo/eficácia. No entanto, nem todas estas características conseguem ser obtidas, pois a relação entre os antibióticos e as bactérias não é linear. (KATZUNG, 2007).

Como meio de classificação dos antibióticos em uso clínico temos os antibióticos de origem natural e seus derivados semi-sintéticos (que compreendem a maioria dos antibióticos em uso clínico) e podem ser classificados em β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, oxapeninas e monobactamas), tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, peptídicos cíclicos (glicopeptídeos, lipodepsipeptídeos), estreptograminas, entre outros (lincosamidas, cloranfenicol, rifamicinas etc). Já os antibióticos de origem sintética são classificados em sulfonamidas, fluoroquinolonas e oxazolidinonas (PUPO et al., 2006).

Os mecanismos de ação estão descritos de acordo com a classificação dos antibióticos na Tabela 01:

Tabela 01: Principais mecanismos de ação antibiótica (WALSH, 2003).

Antibióticos	Alvo	Mecanismo de ação
b-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, monobactamas)	Enzima transpeptidase	Inibição da formação de ligação cruzada entre cadeias de peptídeoglicano, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana.
b-lactâmicos (oxapeninas, sulfoxapeninas)	Enzima b-lactamase	Inibição da enzima de resistência bacteriana, que degrada antibióticos b-lactâmicos
Macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas (dalfopristina e quinupristina), cloranfenicol, oxazolidinonas (linezolida)	Subunidade 50S ribossômica	Inibição da síntese proteica bacteriana.
Aminoglicosídeos, tetraciclina	Subunidade 30S ribossômica	Inibição da síntese proteica bacteriana
Glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina).	Dipeptídeo terminal D-Ala-D-Ala do peptídeoglicano	Complexação com as cadeias peptídicas não ligadas e bloqueio da transpeptidação, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana.

Lipopepsipeptídeos (daptomicina)	Membrana plasmática	Afeta permeabilidade da membrana bacteriana e bloqueia síntese de ácido pipoteicoico, componente da membrana externa de bactérias Gram positivo.
Rifampicina	RNA polimerase dependente de DNA	Inibição da síntese de RNA.
Fluoroquinolonas	Enzima DNA girase	Bloqueio da replicação e reparo do DNA.
Sulfonamidas	Enzima di-hidropteroato sintetase	Bloqueio da formação de cofatores do ácido fólico, importantes para síntese de ácidos nucleicos.

O uso de antimicrobianos promove adaptação ou morte de microrganismos, em um fenômeno conhecido como pressão de seleção. Os microrganismos que sobrevivem possuem genes de resistência que podem ser transmitidos a outros microrganismos da mesma espécie ou de espécies diferentes. A disseminação desses genes de resistência está relacionada com o uso indiscriminado de antibióticos como, por exemplo, a prescrição empírica de antibióticos sem análise dos dados epidemiológicos locais (MCLSAAC et al., 2002). O monitoramento da microbiota patogênica que predomina em determinada região, bem como seu comportamento diante dos antimicrobianos utilizados, é de extrema importância para o clínico no acompanhamento terapêutico dos pacientes e também para o farmacêutico que deve participar na aquisição do antimicrobiano e na orientação ao paciente (BAIL; ITO; ESMERINO, 2006).

Assim, torna-se necessário restringir o uso de antimicrobianos, ampliar pesquisas relacionadas aos mecanismos genéticos de resistência microbiana e desenvolver estudos relativos a novos medicamentos, sintéticos ou naturais, capazes de combater esses microrganismos. O emprego de plantas medicinais para o tratamento de algumas doenças tem sido apoiado há algum tempo pela classe médica e por programas oficiais de saúde (COSTA et al, 2009).

A incorporação do uso de plantas medicinais no Sistema de Saúde Pública brasileiro tem como marco inicial o ano de 1988, no qual a Comissão Interministerial de Planejamento e Coordenação (CIPLAN), por meio da

Resolução nº 08, disciplinou a introdução da Fitoterapia nos serviços de saúde. Outro marco legal importante é representado por resoluções da ANVISA, datadas de 2004 que regulam os padrões de qualidade e segurança dos produtos fitoterápicos (FIGUEIREDO; GURGEL; GURGEL JÚNIOR, 2014). O Brasil é o país que apresenta a maior biodiversidade do planeta, possuindo cerca de 60.000 espécies vegetais catalogadas. A ampla biodiversidade brasileira está atrelada à longa aceitação de uso de plantas medicinais, visto que, atualmente, cerca de 50% dos medicamentos utilizados são originados, direta ou indiretamente, de produtos naturais, principalmente de plantas medicinais (SILVA et al. 2010).

As plantas medicinais têm contribuído fortemente para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas por meio de seus metabólitos secundários. Estes são conhecidos por atuar de forma direta ou indireta no organismo, podendo inibir ou ativar importantes alvos moleculares e celulares (CALIXTO, 2005). Exemplos de formas de utilização dessa propriedades são os óleos essenciais, extratos alcoólicos, extratos aquosos, extratos hidroalcoólicos e princípios ativos extraídos destes que podem ser utilizados em diferentes segmentos, abrangendo principalmente a indústria alimentícia e a farmacêutica, de acordo com suas propriedades (PERRICONE, 2015).

Os óleos essenciais são compostos bioativos voláteis, naturais e complexos, que são caracterizados por um odor forte, e seus efeitos biológicos são associados a uma série de interações complexas com células, tecidos e organismos inteiros (BAKKALI et al, 2008). Os usos dos óleos essenciais têm se estendido às indústrias alimentícia, agrícola e farmacêutica (PERRICONE, 2015).

Vários compostos de origem vegetal encontrados em abundância na natureza têm sido estudados, dentre eles o nerolidol (Figura 1) que é um sesquiterpeno comumente encontrado de forma majoritária em óleos essenciais obtidos das folhas, flores, hastes, partes aéreas, raízes, resinas, galhos, sementes e frutos de diferentes plantas medicinais como nerol (*Citrus*

aurantium), gengibre (*Zingiber officinale*), lavanda (*Lavandula angustifolia*) e capim limão (*Cymbopogon citratus*) e devido as suas variadas propriedades biológicas têm sido postos em evidência para pesquisas no âmbito científico (CHAN et al., 2016; BALDISSERA, 2018).

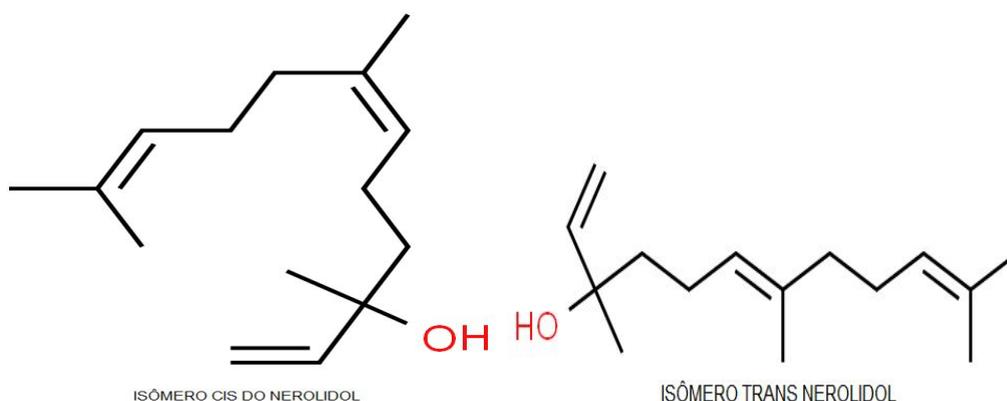


Figura 1: Estrutura química do isômeros cis e trans do nerolidol

Fonte: NIGMATOV; SEREBRYAKOV; YANOVSKAYA, 1987.

O nerolidol é usado como agente aromatizante pelas indústrias alimentícias e apresenta um grande interesse para a indústria de cosméticos em virtude de ser um fixador natural (FRIZZO et al., 2000). Estudos já o colocam em testes de penetração dérmica, como um agente potencializador para permeação de drogas terapêuticas na forma transdérmica (KOUDOU et al., 2005).

Como outros compostos de sesquiterpeno, o nerolidol tem alta hidrofobicidade, permitindo assim uma penetração mais fácil através da membrana plasmática e interação com proteínas intracelulares e sítios intra-organela (PARK et al, 2009). Algumas das atividades já comprovadas do nerolidol são:

- Ação antioxidante: medeia radicais livres, prevenindo a peroxidação lipídica e aumentando a produção de enzimas antioxidantes nas células para proteção contra o estresse oxidativo (WANG; WANG; CHEN, 2008);

- Ação antibacteriana: fornece uma opção terapêutica alternativa para o desenvolvimento de combinações de medicamentos que podem ser mais eficazes no controle de bactérias resistentes a vários medicamentos (SIMÕES et al, 2008);
- Atividade antibiofilme: observada contra vários patógenos (CURVELO et al, 2014);
- Atividade antifúngica: observada contra patógenos, além de também apresentar resultados promissores no controle de infecções fúngicas em plantas causadas por fungos fitopatogênicos (PASSOS et al., 2012);
- Atividade anti parasitária: a inserção de nerolidol na bicamada lipídica atua como espaçador para aumentar a fluidez das membranas, uma vez que o nerolidol tem alta hidrofobicidade, causando grande reorganização nas membranas celulares (MENDANHA; ALONSO, 2015). Esse mecanismo do nerolidol é o responsável pela observação de atividade antiparasitária contra a leishmaniose (COUTO et al, 1999), tripanossomíase (MOHD-SHUKRI; ZAINAL-ABIDIN, 2011), esquistossomose (PIRIZ et al., 2014), malária (DA SILVA et al, 2015), dentre outros (ABDEL-RAHMAN; ALANIZ; SALEH, 2013);
- Atividade anti úlcera: óleos essenciais com a presença de nerolidol, estão sendo recentemente explorados, pois demonstraram produzir resultados promissores para terapias alternativas para o tratamento de úlceras gástricas com menores efeitos colaterais (CHAN, LEUNG, 2002);
- Atividade repelente de insetos: óleos essenciais com a presença de nerolidol, são eficazes não apenas na repelência de insetos, mas têm atividade inseticida de contato e fumigantes contra pragas específicas, sem efeitos colaterais prejudiciais aos seres humanos e animais (PRAJAPATI et al., 2005);
- Atividade potenciadora de penetração na pele: os terpenos contidos no nerolidol são frequentemente usados como intensificadores tópicos de penetração na pele devido à sua ampla gama de propriedades

físico-químicas, como baixa irritação cutânea e perfil toxicológico que apresenta baixa toxicidade, além da capacidade de melhorar a adsorção (GAO; SINGH, 1998)

A Figura 2 demonstra quais as principais fontes vegetais de nerolidol, juntamente com sua porcentagem de nerolidol e métodos de extração.

Partes da planta	Tipo de Nerolidol	Plantas	% nerolidol purificado a partir do óleo essencial	Referências
Partes aéreas	trans nerolidol	<i>Warionia saharae</i>	23%	LIMA et al, 2012; ZNINI et al, 2013; NIBRET, WINK, 2010; SKAL TSA et al, 2000
		<i>Scutellaria abida</i>	9,03%	
		<i>Piper aleyreanu</i>	1,20%	
		<i>Leonotis ocyimifolia</i>	0,41%	
Folha	nerolidol (ns)	<i>Capparis tomentosa</i>	5,14%	LOPES et al, 1999; NDUNG'U, GITU, 2013; TAO et al, 2013; CURVELO et al, 2014; PASSOS et al, 2012; RAHMAN et al, 2011; HOET et al, 2006; PARK et al, 2011; ARAUJO et al, 2012; PINHEIRO et al, 2011; COSTA et al, 2015; AMBROZ et al, 2015; SIMIONATTO et al, 2005; TZAKOU et al, 2007; STASHENKO et al, 2015; PARREIRA et al, 2010; MARQUES et al, 2011.
		<i>Virola surinamensis</i>	3%	
		<i>Ginkgo biloba</i>	0,12%	
	trans nerolidol	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	33,51%	
		<i>Cassia fistula</i>	2,20%	
		<i>Comptonia peregrina</i>	2,11%	
		<i>Melaleuca quinquenervia</i>	24,19%	
		<i>Myrica rubra</i>	2%	
		<i>Lantana radula</i>	19%	
		<i>Peperomia serpens</i>	38%	
		<i>Piper aduncum</i>	0,20%	
		<i>Piper chaba</i>	5,10%	
		<i>Piper claussonianum</i>	81,40%	
		<i>Strychnos spinosa</i>	0,70%	
		<i>Swinglea glutinosa</i>	28,40%	
<i>Zanthoxylum hyemale</i>	51%			
<i>Zomia brasiliensis</i>	48%			
Haste	trans nerolidol	<i>Oplopanax horridus</i>	54,50%	GARNEUAU et al, 2006
Flor	trans nerolidol	<i>Achillea millefolium</i>	11,6% - 31,9%	LEE et al, 2014; TZAKOU et al, 2007; JUDZENTIENE, MOCKUTE, 2004.
		<i>Cananga odorata</i>	0,32%	
		<i>Cassia fistula</i>	38%	
Raiz	trans nerolidol	<i>Oplopanax horridus</i>	54,60%	GARNEUAU et al, 2006
Semente	nerolidol (ns)	<i>Magnolia denudata</i>	2,18%	WANG et al, 2015; KAPOOR et al, 2008; BRACA et al, 2008.
	trans nerolidol	<i>Elettaria cardamomum</i>	3,60%	
		<i>Momordica charantia</i>	61,60%	
Fruta	trans nerolidol	<i>Swinglea glutinosa</i>	19,10%	STASHENKO et al, 2015;
Resina	trans nerolidol	<i>Canarium schweinfurthii</i>	14%	KOUDOU et al, 2005
Madeira	trans nerolidol	<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	1,05%	TUNG et al, 2008; GRETCHEN et al, 2009; MAURER et al, 1986.
		<i>Fokienia hodginsii</i>	34,80%	
	cis nerolidol	<i>Myrocarpus fastigiatus</i>	80%	

Figura 02: Principais fontes vegetais de nerolidol, juntamente com sua porcentagem de nerolidol e métodos de extração.

Devido às características do Nerolidol já apresentadas, ele é elegível para uso em membranas com o propósito de serem curativos biodegradáveis em feridas cutâneas de mamíferos. Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica (ARAÚJO et al, 2015). As feridas podem ser classificadas em limpas, contaminadas, colonizadas, criticamente colonizadas e infectadas e de acordo com essa classificação uma abordagem diferente será adotada no tratamento da lesão (BOWLER; DUERDEN; ARMSTRONG, 2001).

Já a cicatrização constitui um conjunto dinâmico de alterações teciduais importantes na manutenção da integridade do organismo, que envolve inflamação, quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação (CARRICO; MEHROF; COHEN, 1984). Surge como resposta tecidual às lesões, e é componente necessário ao processo de reparação, por proporcionar os mecanismos pelos quais o tecido lesado é preparado para a reconstrução (BANKS, 1992). Este fenômeno é usualmente multimediado, localizado, transitório e autolimitado.

No entanto, quando o estímulo inflamatório não pode ser eliminado ou removido, desencadeia-se resposta complexa, envolvendo todo o organismo e levando a processo inflamatório crônico, o qual muitas vezes pode ser deletério (CONTRERA et al, 1985). A infecção ocorre na presença e replicação dos microrganismos na ferida, que acarretam danos a toda extensão da lesão. É determinada pela presença, tipo, número (acima de 10⁵ UFC/g), e fatores de resistência dos microrganismos colonizadores, os quais afetam as condições gerais, nutricionais, de perfusão e oxigenação dos tecidos, favorecendo a cronificação da lesão, de forma direta e indireta (KINGSLEY, 2003).

O mecanismo direto da infecção inclui basicamente a produção de toxinas que induzem um aumento da quantidade de citocinas pró-inflamatórias. As exotoxinas microbianas produzidas lesam diferentes células, levando a necrose tecidual. As bactérias contribuem ainda para a diminuição das

proteínas que favorecem quimiotaxia; aumentam a produção de enzimas citotóxicas e dos radicais livres; acentuam a hipóxia, que é exacerbada pelos metabólitos vaso constritivos, promovendo aumento da lesão tecidual (SIBBALD et al, 2003).

Os sinais clássicos de infecção em feridas incluem calor, exsudação purulenta, hiperemia, dor e edema. Observa-se ainda, nas lesões infectadas: atraso na cicatrização, a presença de friabilidade do tecido de granulação com pigmentações e despigmentações patológicas, ausência de tecido de granulação no leito ou presença de tecido anormal, formação de bolsas ou pontes nas bases da ferida, alteração no odor, deterioração e reabertura da ferida, aumento na drenagem do exsudato, maceração, inflamação e celulite, desconforto ou aumento da dor na região da lesão e formação de abscesso. O diagnóstico de infecção em feridas, além de obedecer aos sinais clínicos, deve ser confirmado pela cultura microbiana. (SCHULTZ et al, 2003).

A ocorrência de infecção em feridas leva ao aumento de custos tanto na assistência prestada no contexto hospitalar, como para o paciente quando cuidado em domicílio; ao uso elevado de antimicrobianos, que por sua vez são acompanhados de repercussões nem sempre desejadas; a alterações de ordem física, emocional, psicológica, social e econômica para os pacientes; ao receio, medo e preconceito dos profissionais de saúde, no contato com a pessoa que apresenta infecção; aos riscos aumentados para a saúde do paciente tanto pela cronificação da lesão, bem como pelo risco de sepse, entre outros agravos e cujas conseqüências podem ser incompatíveis com a vida do paciente (BORGES et al, 2008).

As infecções cutâneas mais citadas nas publicações científicas são causadas principalmente por: *Staphylococcus aureus* (39,28%), *Escherichia coli* (30,35%), *Pseudomonas aeruginosa* (19,64%), *Staphylococcus epidermidis* (17,85%), *Klebsiella* spp (12,50%), *Enterobacter* spp (10,71%), *Morganella morganii* (8,92%) e *Bacteroides* spp (7,14%). Observa-se que o principal microrganismo nas infecções das feridas são as bactérias Gram-negativas, que possuem uma tendência à resistência à terapêutica (SANTOS et al, 2016).

São variados os produtos que podem ser utilizados em feridas infectadas, entre os quais podem ser citados: alginatos de cálcio; carvão ativado; carvão ativado com prata, solução fisiológica 0,9%; sulfadiazina de prata, que pode ser acrescida de cério; açúcar; pomadas enzimáticas contendo papaína; curativos de espumas de poliuretano (hidropolímeros); ácidos graxos essenciais (AGE); biomembrana de látex; bota ou pata de Unna (BORGES et al, 2008).

Inúmeros são os tipos de curativos usados para tratamento das feridas cutâneas, com diferentes indicações, vantagens e desvantagens. A escolha do curativo a ser utilizado deve ser baseada essencialmente nos fatores eficácia, segurança e custo, para que o paciente possa mantê-lo e, assim, conseguir um resultado satisfatório (CAETANO et al, 2009).

Apesar da predominância, no arsenal terapêutico, de substâncias sintéticas, inclusive as anti inflamatórias, nos últimos anos têm-se verificado retomada à valorização de práticas terapêuticas consideradas por muitos profissionais de saúde como populares ou não científicas, inclusive a lenta reincorporação das ervas medicinais como alternativa ou complemento terapêutico. Vários foram os fitoterápicos testados e usados no processo de cicatrização de feridas cutâneas que se mostraram promissoras (SANTOS; VIEIRA; KAMADA, 2009).

Estudos *in vitro* já relacionaram o potencial cicatrizante de extratos aquosos de *Phyllanthus muellerianus* (Quebra-pedra) e *Pycnanthus angolensis* (Ilomba), que exibiram uma significativa influência sobre a viabilidade celular e da proliferação de queratinócitos e fibroblastos dérmicos, confirmando o poder cicatrizante de feridas, destas espécies vegetais (AGYARE et al, 2009). A planta Crajiru (*Arrabidaea chica* Verlot.), também vem sendo estudada. Em vista da grande utilização popular, estudos *in vitro* e *in vivo* obtiveram resultados positivos com as ações cicatrizantes do extrato de suas folhas (JORGE et al., 2008; ARO et al, 2013). Esta planta está na relação nacional de espécies medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS) e já conta com um medicamento sendo desenvolvido com alto teor

cicatrizante, para ulcerações diabéticas (BRASIL, 2009). A *Orbignya phalerata*, conhecida como babaçu, se apresentou, em pesquisas experimentais *in vivo*, detentora de propriedades antifúngicas e antibacterianas, bem como, alto poder cicatrizante em feridas induzidas em ratos (BATISTA et al., 2006).

A planta *Anacardium occidentale* L., também têm tido o seu efeito avaliado em ratos. A avaliação histopatológica do grupo tratado com polissacarídeo da planta demonstrou a presença de tecido de granulação fibrovascular no sexto dia pós-operatório, sugerindo a possível utilização clínica da emulsão (SCHIRATO et al, 2006).

O extrato alcoólico preparado com a casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) demonstrou ser bactericida em concentrações iguais ou inferiores a $12,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ para a cepa-padrão *S. aureus* ATCC 25923 e todas as cepas de *S. aureus* isoladas de feridas crônicas de pacientes ambulatoriais (HASENACK et al., 2008). Pereira, Moreno e Carvalho (2013) estudaram a farmacologia preliminar do barbatimão e observaram que o extrato aquoso da casca tem significativo efeito cicatrizante sobre a ferida. Os mesmos autores demonstraram que o extrato aquoso de barbatimão possui atividade anti-inflamatória, analgésica e uma atividade protetora da mucosa gástrica.

De acordo com Gazola, Freitas e Coimbra (2014) a *Calendula officinalis* tem uma vasta gama de ações, dentre elas a de cicatrizante, re-epitelizadora, anti inflamatória, anti tumorigena e antisséptica. A ação anti-inflamatória e cicatrizante decorrente do uso do óleo de copaíba deve-se à presença de dipertenos. A literatura designa que os mecanismos que estão relacionados com a atividade anti-inflamatória e cicatrizante é devido à inibição do edema, aumento da permeabilidade capilar e aumento do tecido de granulação, sendo utilizado por via oral e tópica (LIMA et al., 2012).

Estudos utilizando extrato da casca de *Musa paradisiaca* relataram a presença de alcaloides e taninos em quantidades apreciáveis indicando que estes compostos promovem o processo de cicatrização de feridas devido a atividades antioxidantes do extrato da casca deste vegetal

(PADILLA-CAMBEROS et al., 2016). Romero-Cerecero et al (2014) demonstraram que o uso tópico de plantas medicinais como *Ageratina pichinchensis* na cicatrização de feridas em ratos diabéticos estimulam um aumento na celularidade e vascularização do tecido lesionado. Resultados semelhantes foram encontrados na aplicação tópica de curcumina, um pigmento presente na espécie *Curcuma longa* L. (KANT et al., 2015) e também em estudos com o componente ativo asiaticoside isolados de *Centella asiatica* (SHUKLA et al. 1999), sendo observado um aumento da reepitelização e vascularização em ratos diabéticos.

A partir dos anos 1980, os avanços técnicos e o desenvolvimento de novos métodos de isolamento de substâncias ativas a partir de fontes naturais, permitiram maior rapidez na identificação de substâncias em amostras complexas como os extratos vegetais, ressurgindo o interesse pela pesquisa dessas substâncias como protótipos para obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes à dos compostos originais (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

O uso de plantas tem envolvido não somente o seu uso como tal, mas também como matéria-prima para o isolamento de compostos ativos, como a morfina, isolada do ópio ainda no início do século XIX. O isolamento dessa substância da *Papaver somniferum* em 1803, pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sertürner, marcou o início do processo de extração de princípios ativos de plantas. A partir de então, outras substâncias foram isoladas, como por exemplo a quinina, isolada em 1819 de espécies de *Cinchona* sp., nativa dos Andes, a atropina e escopolamina em 1831 a partir da *Atropa belladonna*, planta da família das Solanáceas empregada pelos antigos gregos, e a reserpina, isolada de *Rauwolfia serpentina*, de uso popular na Índia (BALUNAS; KINGHORN, 2005).

Como observado, os extratos vegetais e os componentes específicos extraídos de plantas já têm suas capacidades antimicrobianas comprovadas, o objetivo deve ser torná-lo de fácil acesso e fácil de ser utilizado em feridas cutâneas de mamíferos e uma opção para isso são as membranas

biológicas. Constituídas de nanofibras poliméricas, elas são capazes de fazer a liberação controlada do princípio ativo escolhido - nesse caso específico, o nerolidol - de maneira a comprovar o efeito antimicrobiano do princípio, o que as tornam os curativos ideais para esse tipo de ferimento.

Quando esse princípio ativo que já tem apresentado evidências de capacidade fitoterápica é associado a membranas contendo nanofibras poliméricas torna-se um novo curativo biodegradável que deixa de agredir a natureza ao ser descartado e também evita uma superexposição a medicamentos sintéticos.

Os biomateriais têm sido largamente utilizados em sistemas diagnósticos e terapêuticos (AMARAL et al, 2003), de natureza natural ou sintética, podem ser usados temporário ou definitivamente, com a finalidade de melhorar ou substituir, parcial ou totalmente, tecidos ou órgãos (LANGER; TIRRELL, 2004). Esses biomateriais possuem uma matriz tridimensional, porosa e nanometricamente arquitetada para aumentar a interação entre as células e tecidos (NERURKAR; ELLIOTT; MAUCK, 2007) e otimizar o papel de carreadores de funções biológicas que ocorrem em escala molecular com alto grau de especificidade (SUI; MURPHY, 2007).

Dentre os princípios do emprego de membranas originárias de diferentes espécies animais, assim como de implantes sintéticos, salienta-se a característica de fornecer arcabouço para orientação e desenvolvimento de novos tecidos, mediante processos de reparação que estabeleçam a estrutura e a função do órgão atingido (BATISTA et al., 1996), além de permitir aderência celular e estimular os vários tipos celulares, especialmente os polimorfo nucleares envolvidos nos processos de cicatrização de feridas (SOUSA; PIZA; NETTO, 2007).

As nanofibras poliméricas, que são uma importante classe dos nanomateriais, têm atraído grande interesse a partir da década de 1990, estas vêm sendo utilizadas para uso como uma espécie de esqueleto para engenharia de tecidos como cartilagens, ossos, vasos sanguíneos arteriais,

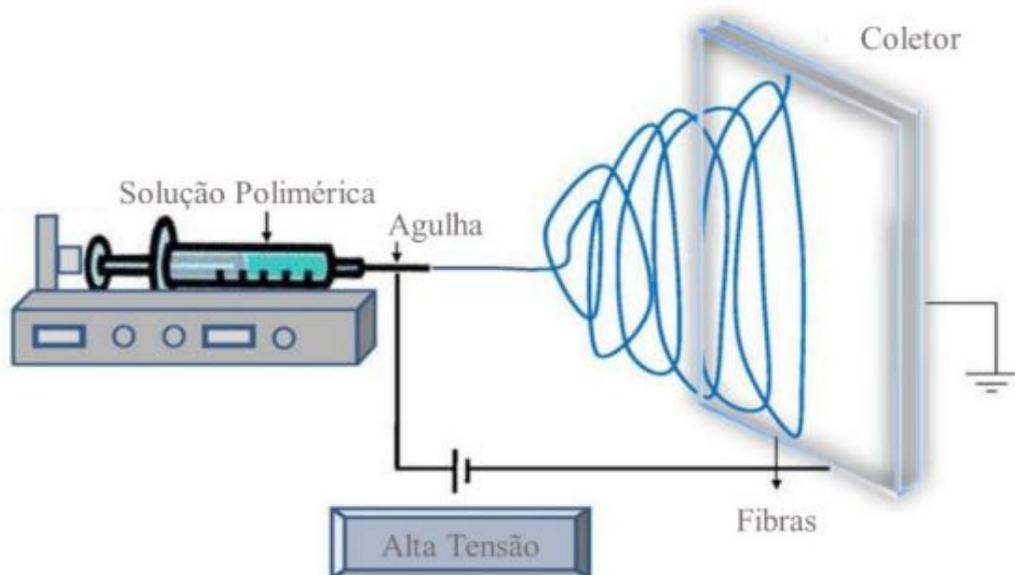
coração e nervos (GUERRINI; BRANCIFORT; BRETAS, 2006). Existem muitas pesquisas sobre métodos de produção das nanofibras, sendo que o método mais simples, econômico e capaz de produzir nanofibras contínuas de diversos materiais a partir de polímeros utilizados em aplicações industriais é a eletrofiação (BUTAFFOCO et al., 2006; BURGER; HSIAO; CHU, 2006).

A espessura e a morfologia das fibras obtidas por eletrofiação a partir de soluções poliméricas dependem das propriedades físico-químicas destas soluções: viscosidade, concentração das soluções, tensão superficial, condutividade elétrica, viscoelasticidade; dependem dos parâmetros do processo: campo elétrico aplicado, distância de trabalho e velocidade de injeção da solução; e dependem de fatores ambientais, como temperatura, umidade e composição do ar (BEACHLEY; WEN, 2009; VAQUETTE et al., 2008, COSTA et al., 2012).

A eletrofiação (Figura 3), também conhecida como *electrospinning* (FORMHALS, 1934) apresenta algumas vantagens e tem recebido bastante atenção no campo das nanotecnologias, primeiramente pela facilidade em se produzir nanofibras, com alta razão de aspecto superfície/volume sem a necessidade de uma instrumentação cara e complexa (RENEKER; CHUN, 1996); segundo por se aplicar a uma grande variedade de polímeros, naturais ou sintéticos; e terceiro, pela possibilidade de se controlar o diâmetro, a disposição aleatória ou alinhada dos filamentos, a porosidade e a topografia das fibras, variando-se as condições do processo e da solução polimérica (RAMAKRISHNA et al, 2005).

Apesar do equipamento de eletrofiação ser relativamente simples, ele possui um grande potencial em diversas áreas de aplicação, sendo objeto de muitos estudos. Já o processo de formação das fibras tem uma complexidade considerável, e embora haja um avanço das teorias e modelos utilizados, as explicações dos fenômenos envolvidos ainda não permitem uma clara compreensão da formação das fibras. No entanto estes modelos auxiliam no controle e otimização das diversas variáveis envolvidas na produção de fibras. Como base para o desenvolvimento de nanofibras, a eletrofiação vem

sendo amplamente estudada para uma melhor compreensão dos fatores que influenciam a formação de diferentes morfologias das fibras (nanotubos, alinhadas, porosas, nanofitas e ramificadas, dentre outras). Basicamente, o arranjo experimental utilizado em eletrofiação consiste numa fonte de alta tensão, solução polimérica e num sistema de aterramento (COSTA et al., 2012).



Fonte: ADAPTADA DE POLYMER PHYSICS LABORATORY (KOOMBHONGSE; LIU; RENEKER, 2001)

Figura 3: Vista esquemática de um equipamento de eletrofiação: fonte de alta tensão, uma agulha, um coletor, uma bomba de infusão e uma seringa com a solução polimérica.

Dentre os polímeros utilizados na eletrofiação o escolhido para o estudo foi o Poli (Álcool Vinílico) (PVA) (Figura 4), ele é o principal polímero sintético solúvel em água produzido no mundo (RAMARAJ, 2007). A principal matéria-prima utilizada na fabricação de álcool polivinílico é o monômero acetato de vinila, que é produzido pela polimerização do acetato de vinila seguido por uma hidrólise parcial. O processo de hidrólise é baseado na substituição parcial do grupo éster de acetato de vinila pelo grupo hidroxila, e é concluído na presença de hidróxido de sódio aquoso. Após a adição gradual do agente aquoso de saponificação, o álcool polivinílico é precipitado, lavado e

seco. O grau de hidrólise é determinado pelo tempo em que a reação de saponificação é interrompida. (SOUZA, 2010)

O PVA é resistente a óleos, graxas e solventes. É inodoro e não tóxico. Tem alta elasticidade e flexibilidade, bem como resistência à permeabilidade de oxigênio e aroma. No entanto, estas propriedades são dependentes da umidade ou da água, que age como um plastificante e irá reduzir a sua resistência à tração, mas em contrapartida, aumenta o seu alongamento e resistência ao rasgamento. O PVA é totalmente biodegradável e é um dissolvente rápido. O PVA tem um ponto de fusão de 230 °C e 180-190 °C para as classes totalmente hidrolisadas e parcialmente hidrolisadas, respectivamente. Ele se decompõe rapidamente acima de 200 °C, e pode ser submetido à pirólise a altas temperaturas (SOUZA, 2010)

As propriedades físico-químicas do PVA dependem do grau de hidrólise e de polimerização. O PVA encontra um grande número de aplicações em várias áreas, tais como adesivos, têxteis ou papel. Na área biomédica, o PVA é utilizado na obtenção de membranas anfifílicas para imobilização de enzimas e como excipiente para formulação de medicamentos e cosméticos (em pó ou comprimidos), por sua estabilidade física, química, microbiológica e biodegradabilidade. Faz parte dos polímeros empregados na preparação de nanopartículas poliméricas (nanocápsulas ou nanoesferas) para vetorização de fármacos tais como os anticancerígenos. Sua característica semicristalina propicia uma resistência mecânica adequada para arcabouços e não apresenta toxicidade a tecidos biológicos (DEMERLIS, SCHONEKER, 2003).

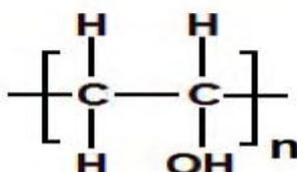


Figura 4: estrutura molecular do Poli (Álcool Vinílico) (PVA).

Fonte: BERGAMASCO, 2013.

Kenawy et al. (2002) estudaram a liberação de 5% de hidrócloro de tetraciclina em PLA, PVA e suas misturas. As taxas iniciais de liberação de todas as formulações foram altas (efeito burst) durante as primeiras 10-12h. Kriegel et al (2009) descreveram uma nanofibra polimérica produzida por eletrofição, utilizando uma microemulsão de Poli (Vinil Álcool) e Eugenol, um dos componentes com propriedade antimicrobiana da citronela.

A patente WO2009133059 de 27/04/2009 descreve nanofibras poliméricas produzidas pela tecnologia de eletrofição incorporadas com agentes ativos, como cosméticos, drogas e óleos ou extratos naturais de plantas para liberação controlada de substâncias. A patente WO2009/045042 de 09/04/2009 descreve nanofibras poliméricas incorporadas com óleos essenciais produzidos pela técnica de eletrofição. A patente US8048446 de 10/05/2006 trata de nanofibras poliméricas aplicadas na produção de arcabouços para reparo de danos teciduais (BITTENCOURT; MILLAS; SILVEIRA, 2014).

Como se pode observar, a associação do PVA com uma molécula biológica, como é o caso do nerolidol, deve ser aprofundada para que se possa utilizá-la no controle microbiano das feridas pelo efeito antimicrobiano do nerolidol, visto que o uso dessa membrana como um curativo biodegradável ajudará não só o meio ambiente como também os usuários que terão essa facilidade a sua disposição.

4. METODOLOGIA DE PESQUISA

O trabalho foi organizado em duas etapas básicas: 1) Fabricação de uma membrana contendo nanofibras poliméricas; 2) Testes microbiológicos do princípio ativo Nerolidol associado à membrana contendo nanofibras poliméricas. Os testes foram conduzidos na Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Câmpus Toledo e na Universidade Paranaense - Câmpus Umuarama.

4.1. REAGENTES UTILIZADOS

O sesquiterpeno Nerolidol (Sigma-Aldrich) consiste em mistura estabilizada dos isômeros cis e trans, com pureza >97%.

O polímero Poli (Álcool Vinílico) (PVA) foi adquirido da Sigma-Aldrich Brasil Brasil Ltda (São Paulo - Brasil) – Mw 146.000-186.000, 99% hidrolisado.

O solvente etanol foi adquirido da Neon Comercial (95% PA/ACS).

Os reagentes utilizados para os testes microbiológicos foram fornecidos pela Universidade Paranaense - Câmpus Umuarama.

4.2. PREPARO DA SOLUÇÃO POLIMÉRICA COM E SEM O PRINCÍPIO ATIVO NEROLIDOL

A solução polimérica de álcool polivinílico (PVA) foi preparada na concentração de 8% (m/v), usando água como solvente. Essa solução ficou sob agitação constante, aquecendo em banho-maria até 80°C até total homogeneização, posteriormente, foi adicionado cerca de 5% de volume total de etanol, com a finalidade de diminuir a tensão superficial da solução polimérica. Para os filmes que continham nerolidol, foi adicionada a quantidade de 25 e 50% (m/v) de nerolidol nestes 5% de etanol.

4.3. PARÂMETROS PARA A ELETROFIAÇÃO

Dentre os fatores que podem influenciar a formação das fibras obtidas quando utilizada a técnica da eletrofiação pode-se destacar a concentração do polímero, a diferença de potencial e a distância entre agulha e

o coletor. Assim, foi utilizada a diferença de potencial de 15kV e distância da agulha ao coletor de 12 cm e fluxo da solução de 0,75 mL.h⁻¹. Parâmetros definidos em estudos anteriores.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS FIBRAS

4.4.1. INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Para observar a incorporação do princípio ativo nas fibras realizou-se a análise de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), utilizando o módulo de Refletância Total Atenuada (ATR). As análises foram realizadas em um Espectrômetro Perkin-Elmer FTIR na região de 400 a 4000 cm⁻¹ (8 varreduras, 8 acumulações e resolução de 1 cm⁻¹).

4.4.2. ANÁLISE DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Para avaliar as propriedades de degradação, fusão e cristalização, investigar alterações nas propriedades físico-químicas do polímero, e possíveis alterações na estabilidade térmica dos componentes após o processo de obtenção de fibras das membranas poliméricas com e sem a incorporação de Nerolidol, as membranas foram submetidos à análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A mesma foi realizada em analisador térmico Shimadzu DSC-60 em atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL.min⁻¹; razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ até a temperatura de 190°C; cadinho de alumínio e massa de amostra entre 5 e 10 mg.

4.4.3. TGA

A estabilidade térmica do polímero com e sem o nerolidol foi determinada através de análises termogravimétricas (TGA). Foi utilizado um analisador térmico Perkin Elmer STA 6000 com célula cerâmica, em atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL min⁻¹; razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ intervalo de temperatura de 25 a 600°C; cadinho de porcelana e massa de amostra de aproximadamente 10 mg.

4.4.4. DRX

Para a caracterização da estrutura cristalina das membranas formadas apenas de PVA e as que foram formadas com a incorporação do princípio ativo, submeteu-se os mesmos à técnica de difração de Raios-X. Utilizou-se um difratômetro Bruker®, com difração em ângulo 2θ , variando de 7° a 80° , usando radiação $\text{CuK}\alpha$ de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, como monocromador de grafite.

4.4.5. MEV

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada como método para avaliação da distribuição dos diâmetros das fibras, além de permitir observar as características morfológicas do material obtido. O equipamento utilizado foi da marca FEI da linha QUANTA série 250. Para tornar as amostras eletricamente condutoras as mesmas foram depositadas em fita adesiva de dupla face de carbono e metalizadas com ouro até a espessura de 30 nm. As imagens foram obtidas aplicando uma tensão de aceleração de elétrons variando de 12 a 20 kV em ampliações diferentes. As amostras foram analisadas com ampliação de 1000, 10000 e 20000 vezes.

Para a análise do diâmetro das fibras foi utilizado o Programa ImageJ e foram feitas as medidas para 50 fibras distintas de cada um dos filmes, após isso os dados foram tratados em forma de Histograma no Excel com Curva de Distribuição Normal.

4.4.6. ÂNGULO DE CONTATO

Ao realizar as medidas de ângulo de contato dos filmes, obteve-se o molhamento na ausência e presença de Nerolidol (25 e 50%). Essas medidas foram realizadas seguindo a metodologia descrita por Gomes et al. (2019). Sobre o filme fixado em lâminas de vidro, foi depositado $5 \mu\text{L}$ de água destilada, utilizando uma seringa (Agilent®), as imagens da gota foram obtidas por um microscópio monocular (Opton®) com ampliação de 10x. O ângulo formado pelo depósito da gota de água na superfície do filme foi medido

utilizando o software AmScope . A medição foi realizada em duplicata com tempos de 0 e 5 minutos.

4.4.7. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes foi utilizado a metodologia de disco difusão (Figura 5), baseado nos normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) com modificações (CLSI, 2019). Foram utilizadas as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, obtidas e mantidas pela Universidade Paranaense - Câmpus Umuarama.

Colônias provenientes de cultura de 24 h a 35° C em meio de crescimento, foram adicionadas com alça bacteriológica em salina estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com a Escala 0,5 de Mac Farland (1,5x10⁸ UFC/mL), sem necessidade de incubação. Para confirmação da concentração de microrganismos no inóculo foi realizada leitura em espectrofotômetro a 625 nm com as seguintes absorbâncias observadas nos inóculos: *S. aureus*: 0,1; *S. epidermidis*: 0,081; *P. aeruginosa*: 0,084.

Para a preparação do meio de cultura Mueller-Hinton foi suspenso 38 g do Agar Mueller Hinton em 1 L de água destilada, homogeneizado e dissolvido o meio por aquecimento e frequente agitação. Dispensado em recipientes apropriados e esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfriado a 45°C - 50°C. O meio preparado foi armazenado entre 8°C a 15°C.

Às placas de Petri com diâmetro de 150mm foi vertido o meio de cultura Mueller-Hinton. Meia hora após o meio ter sido vertido em placas de Petri e após os inóculos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* estarem padronizados, embebeu-se swab estéril na suspensão bacteriana, comprimindo-o contra as paredes do tubo para tirar o excesso. Foi semeado de forma suave em pelo menos 5 direções nas placas de Petri, abrangendo toda a superfície, garantindo que os microrganismos patogênicos fossem inoculados nas placas.

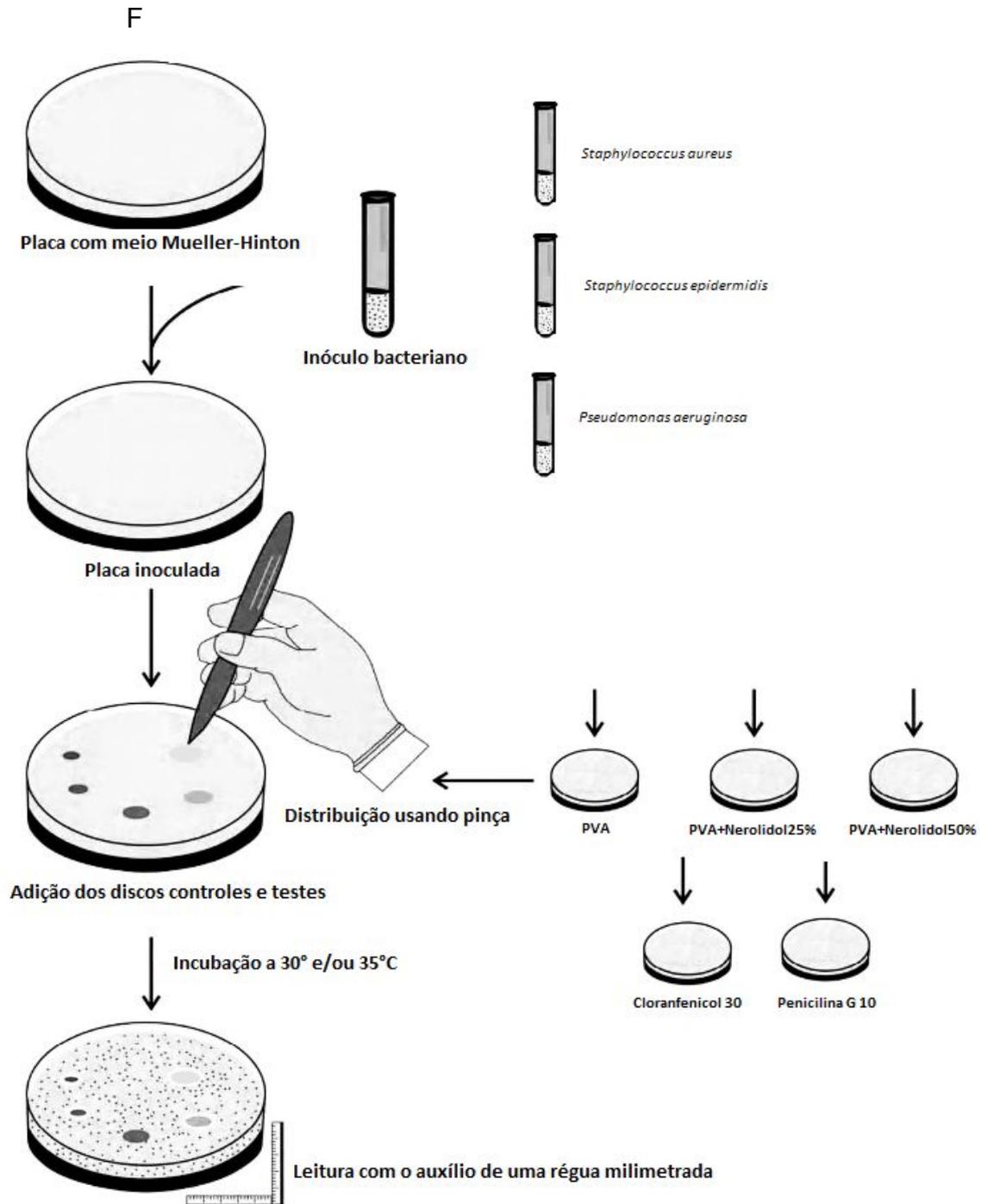


Figura 05: Teste de difusão em disco para avaliação da ação antimicrobiana usando discos de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25%, Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%, Cloranfenicol 30 µg e Penicilina G 10 µg.

Com auxílio de uma pinça flambada e resfriada, foram adicionados em triplicata os discos dos filmes com 0,8 mm de diâmetro de PVA, PVA + Nerolidol 25% e PVA + Nerolidol 50%, sobre a superfície do meio inoculado,

em pontos equidistantes. Após os procedimentos, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35° C por 24 h. Como controle positivo foram utilizados discos de Penicilina G (10 µg) e Cloranfenicol (30 µg). O experimento foi realizado em triplicata. A leitura de cada teste foi realizada com o auxílio de uma régua milimetrada, usando-se a medida do tamanho do diâmetro dos halos de inibição em volta de cada disco, por meio do fundo da placa, com iluminação contra um fundo escuro, sendo incluído na medição o próprio disco de 8 mm de diâmetro.

Os resultados foram organizados em tabelas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após a obtenção das fibras de PVA com e sem a presença do Nerolidol, realizou-se a análise morfológica do material utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) sendo que as comparações das morfologias foram realizadas variando a concentração do princípio ativo. Os resultados podem ser observados na Figura 6.

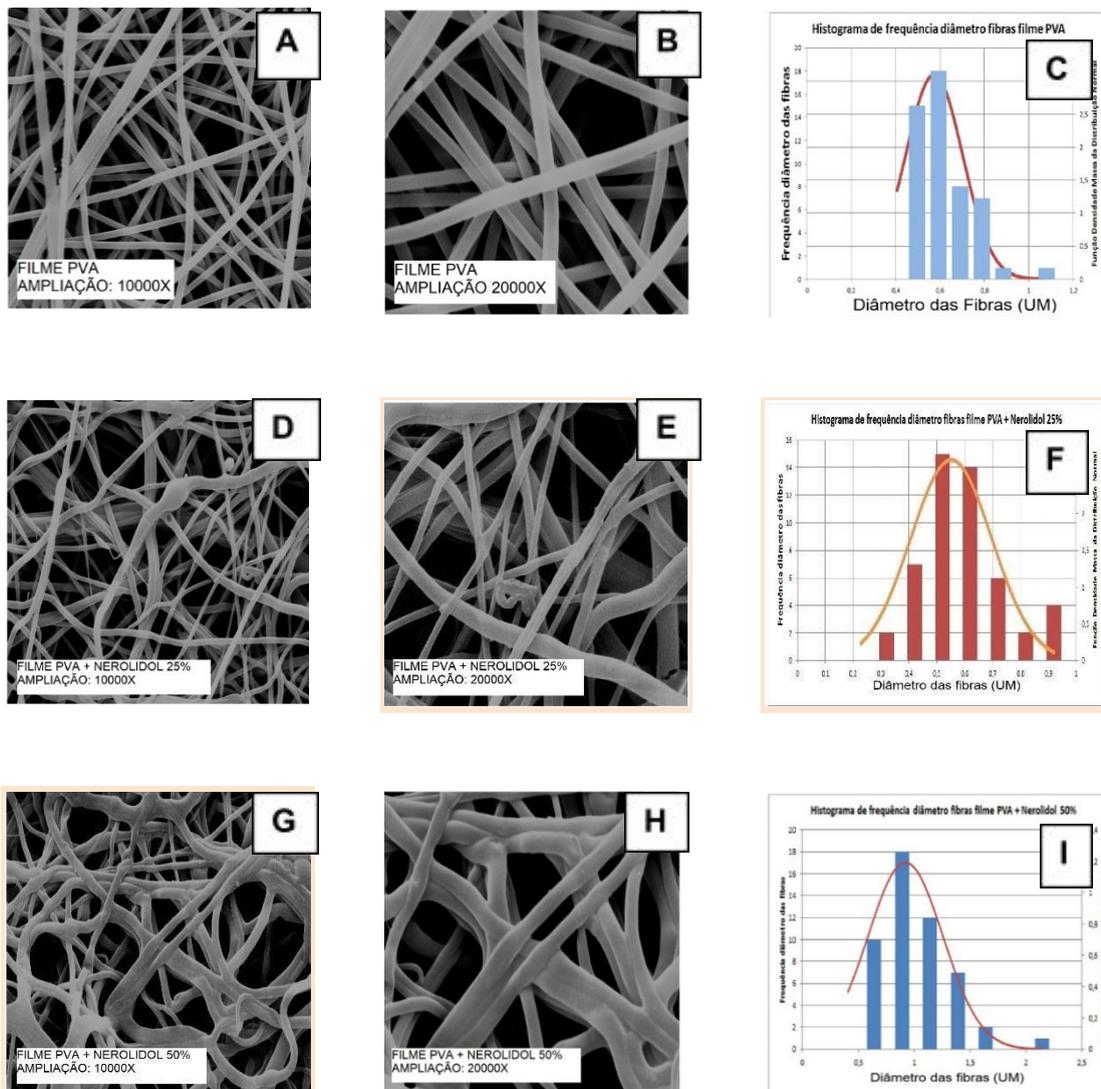
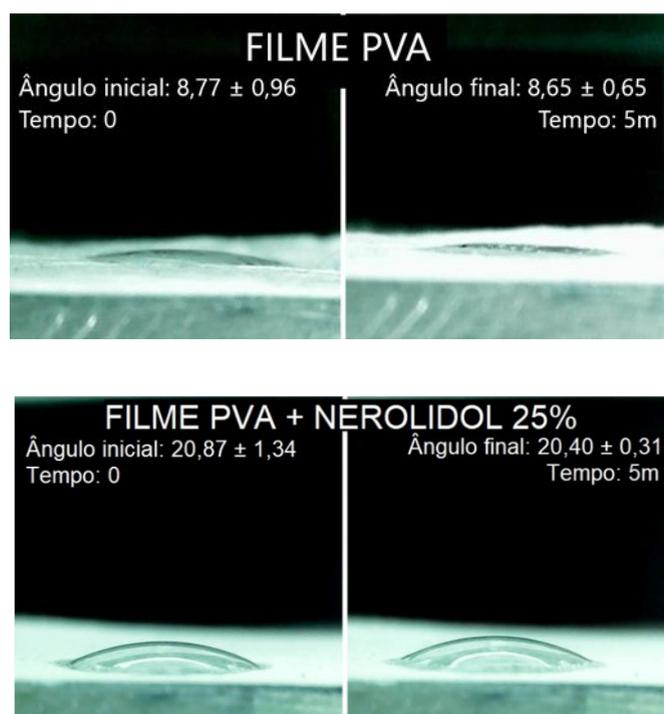


Figura 6: Microscopia Eletrônica de Varredura. Letras A, D e G ampliação de 10000 X; Letras B, E e H ampliação de 20000 X. As imagens A e B, referem-se ao Poli (Álcool Vinílico) puro; D e F na presença de 25% de Nerolidol; G e H na presença de 50% de Nerolidol. As letras C, F e I referem-se aos histogramas de frequência para os diâmetros das fibras Poli (Álcool Vinílico),

Poli (Álcool Vinílico) com 25% de Nerolidol e Poli (Álcool Vinílico) com 50% de Nerolidol, respectivamente.

Pode-se observar nas imagens de MEV, que o PVA na ausência do princípio ativo apresentou-se mais homogêneo e sem *beads* (imperfeições no formato de uma esfera). No entanto, após a adição de Nerolidol, ocorreu uma coalescência das fibras, sendo mais acentuada para 50%. Isso pode ter ocorrido pois o Nerolidol é um princípio ativo com características apolares, podendo diminuir a evaporação da água durante o processo de eletrofiação. Os histogramas de frequência de diâmetros, corroboram com as imagens de MEV, mostrando distribuição mais homogênea (distribuição normal mais estreita) no diâmetro das fibras na ausência do Nerolidol ($0,57 \mu\text{m}$), seguido pelas fibras contendo 25% de Nerolidol ($0,55 \mu\text{m}$). Pode-se observar que as fibras com 50% de Nerolidol tiveram aumento acentuado do diâmetro ($0,92 \mu\text{m}$).

Foram realizadas também, medidas de ângulo de contato de molhamento (θ_c) (GOMES et al., 2019), no intuito de avaliar o comportamento da molhabilidade e as interações sólido-líquido da superfície das fibras. A Figura 7, mostra o ângulo de contato na ausência e presença do Nerolidol (25 e 50%) em dois tempos distintos (0 e 5 minutos).



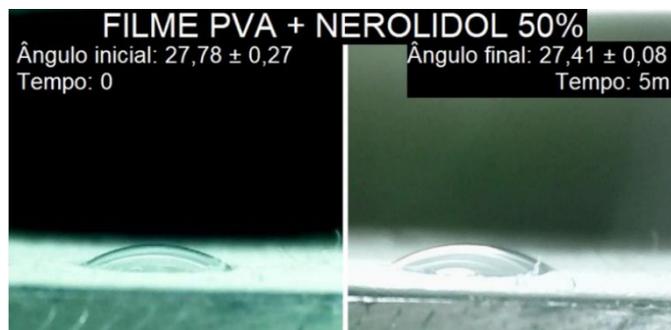


Figura 7: Imagens de ângulo de contato para a fibra poliméricas: Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) com Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) com Nerolidol 50% para os tempos 0 e 5 minutos.

Segundo GOMES (2019), para um ângulo de contato de molhamento $\theta_c < 90^\circ$, uma superfície sólida é dita hidrofílica, se $90^\circ \leq \theta_c \leq 150^\circ$ é caracterizada como hidrofóbica e para $\theta_c > 150^\circ$ uma superfície é denominada super-hidrofóbica.

Como pode-se observar na figura 7, todos os filmes obtidos apresentaram uma pequena diminuição no ângulo após 5 minutos, o que indica que eles possuem caráter hidrofílico, entretanto a hidroflicidade foi diminuída após a adição do princípio ativo, corroborando com os dados de MEV, que mostram a coalescências das fibras com o aumento na concentração de Nerolidol, indicando que o mesmo encontra-se na superfície do polímero e por possui caráter hidrofóbico, diminui a interação com a água.

Para avaliar possíveis interações, realizou-se a caracterização das mesmas usando as técnicas de Espectros de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). A Figura 8 mostra os espectros de FTIR para o Nerolidol e as membranas de PVA na ausência do Nerolidol e contendo 25% e 50%.

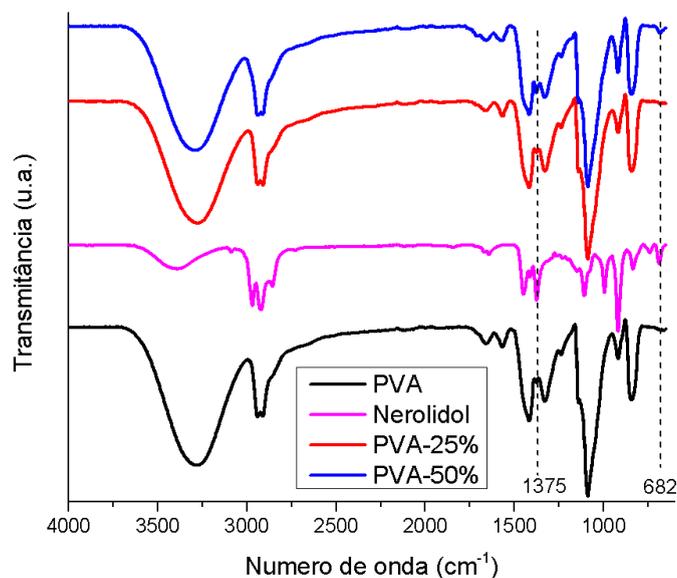


Figura 8: Espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier a partir da reflectância atenuada para as fibras poliméricas de Poli (Álcool Vinílico).

A banda em 3261 cm^{-1} foi atribuída às vibrações de grupos OH presentes no PVA e no Nerolidol. Atribui-se a banda em 2941 cm^{-1} ao estiramento assimétrico de $-\text{CH}$ e $-\text{CH}_2$, e a banda em 1420 cm^{-1} referente a metilas adjacentes a carbonila. A banda a 1085 cm^{-1} pode ser atribuída ao grupamento C-O-C, de grupos acetatos do PVA (ORTOLAN, 2014). Nota-se o surgimento de uma banda em 1375 cm^{-1} , a qual refere-se à sobreposição de bandas (C-H) de alcanos dos grupos CH_3 e CH_2 presentes no Nerolidol. Também, foi possível observar, para PVA 50%, uma nova banda em 682 cm^{-1} , referente a vibração de dobramento no plano do C-H, referente ao CH_2 (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Estes fatos corroboram com a inserção desta substância nas fibras poliméricas.

Para avaliar a estabilidade térmica da membrana após a adição o princípio ativo, realizou-se análises de DSC, como pode ser visto na Figura 9.

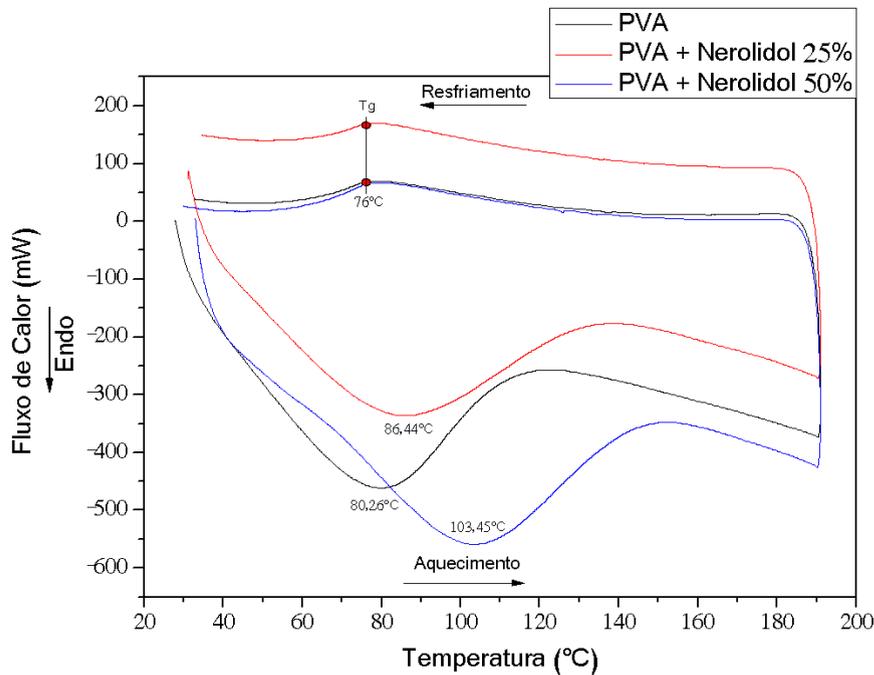


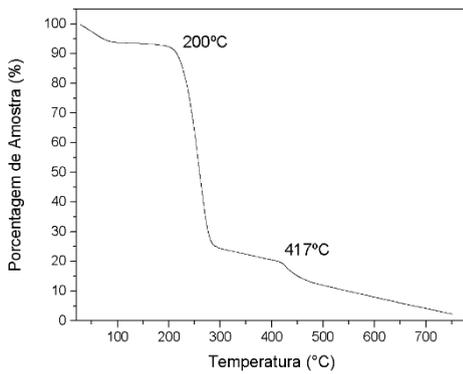
Figura 9: Curva de Calorimetria Exploratória Diferencial de membranas de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%.

Na curva de DSC, pode-se observar um pico largo e endotérmico referente a saída de água do material. Nota-se que ao inserir o nerolidol 50% ocorreu alteração na temperatura deste pico, passando de 80°C para 105°C. Isto pode ser explicado pelo efeito de ebulioscopia, pois a mistura nerolidol e água faz com que ocorra, segundo os princípios das propriedades coligativas, um aumento da temperatura de ebulição da água. Este fato corrobora com as análises de MEV para PVA 50%, indicando uma dificuldade da saída de água durante o processo de eletrofiação, ocorrendo assim, uma coalescência da fibra. No resfriamento do material, com a perda de água remanescente, pode-se observar a temperatura de transição vítrea (T_g). Nestas temperaturas o material deixa de ser um material rígido e se torna um material mais flexível, por conta do relaxamento das cadeias poliméricas.

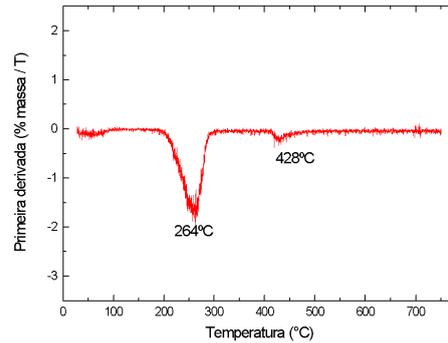
Ao observar o gráfico, constatou-se que o valor de T_g não teve alterações após a inserção do nerolidol, indicando que este não promoveu a separação ou agregação das cadeias poliméricas, fomentando assim a hipótese que o nerolidol não está interagindo com a cadeia de PVA,

permanecendo principalmente na superfície da fibra, corroborando com as análises de ângulo de contato.

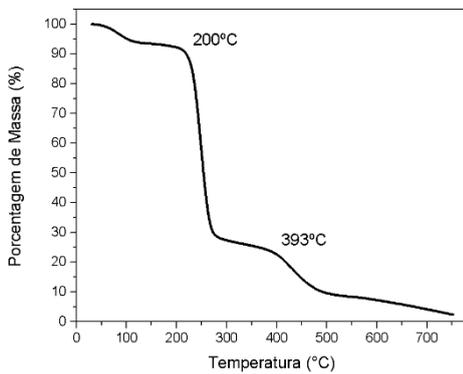
Foi possível avaliar também se a temperatura de degradação da membrana polimérica sofreu modificação na presença do princípio ativo. Por meio dos termogramas das membranas (PVA, PVA + Nerolidol 25% e 50%) e suas respectivas derivadas (Figura 10).



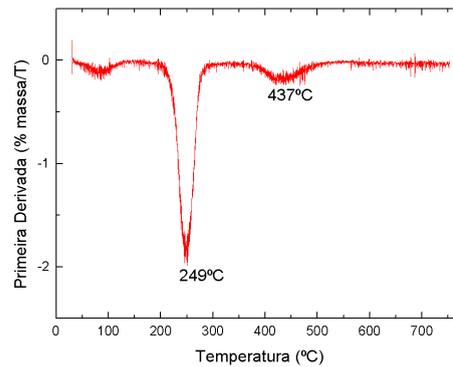
A



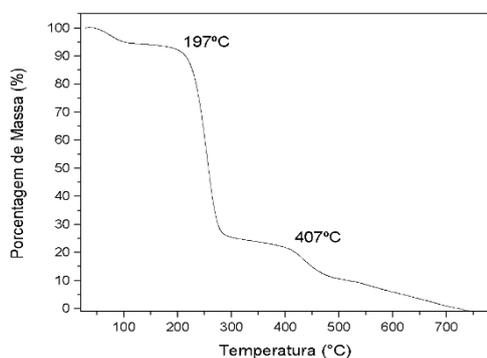
B



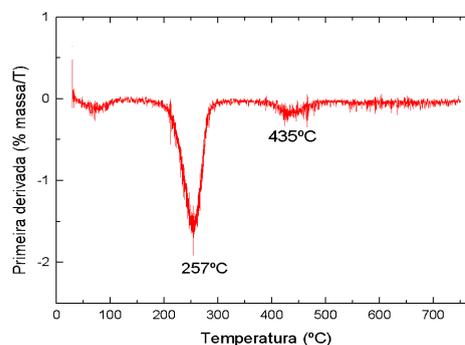
C



D



E



F

Figura 10: Termograma da análise termogravimétrica e sua primeira derivada Poli (Álcool Vinílico) (A e B), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% (C e D), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50% (E e F).

Verificou-se 3 estágios de perda de massa nos materiais. A 1ª perda de massa, que ocorre até 100°C, pode ser atribuída à perda de água. A 2ª perda de massa está diretamente relacionada à decomposição térmica do PVA que inicia em 200°C. Ou seja, refere-se à desidratação do PVA e despolimerização, seguida pela formação de polieno. Já o terceiro estágio, aproximadamente em 400°C, está relacionado a ciclização intramolecular e reações que produzem compostos voláteis orgânicos (KUMAR et al., 2019).

Não foi possível identificar alteração acentuada na estabilidade térmica do material com a incorporação do Nerolidol nas concentrações de 25% e 50%, corroborando com os dados de FTIR e DSC, indicando que o PVA não interagiu de maneira significativa com o Nerolidol. Em todos os termogramas observou-se o início de degradação próximo a 200°C. No último estágio de degradação ocorreu alteração de aproximadamente 24°C, quando adicionado 25% de Nerolidol e de 10°C para 50%. Esta alteração pode estar relacionada aos compostos formados a partir do primeiro estágio de degradação serem diferentes quando foi adicionado o Nerolidol, promovendo uma alteração nos estágios subsequentes.

Para verificar possível mudança no grau de cristalinidade das membranas após adição do Nerolidol, pela Difração de Raio X (Figura 11).

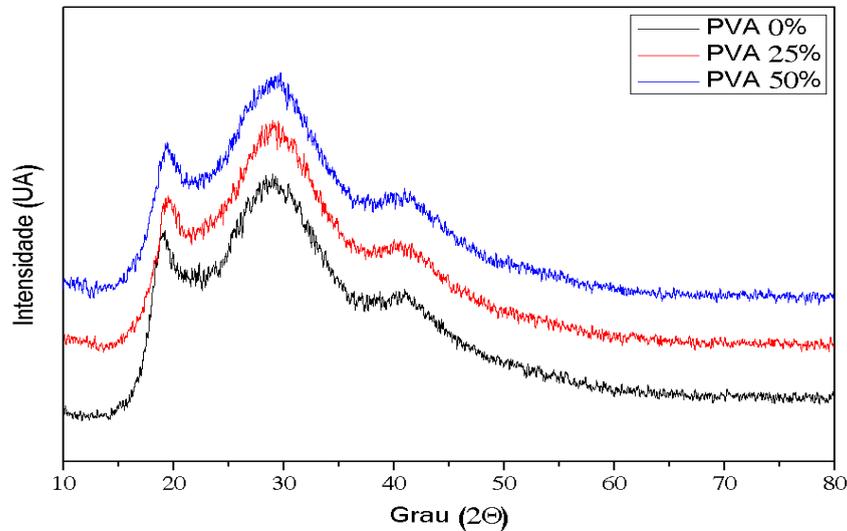


Figura 11: Difratoograma de Raios X de amostras de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%.

Foi possível observar um padrão de difração com 3 picos nas regiões de $19,30^\circ$, $29,08^\circ$ e $41,28^\circ$, não havendo alteração na cristalinidade do material após adição do princípio ativo. Estes dados corroboram com os apresentados anteriormente, indicando que não houve interação entre o polímero e o Nerolidol.

5.1. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Após a caracterização mostrar a incorporação do Nerolidol as fibras, iniciaram-se as análises microbiológicas.

Para o controle negativo (Figura 12), nenhum dos filmes apresentou crescimento microbiano, comprovando que embora não tivessem sido feitos e manuseados em ambiente estéril, nenhum deles apresentou contaminação bacteriana.

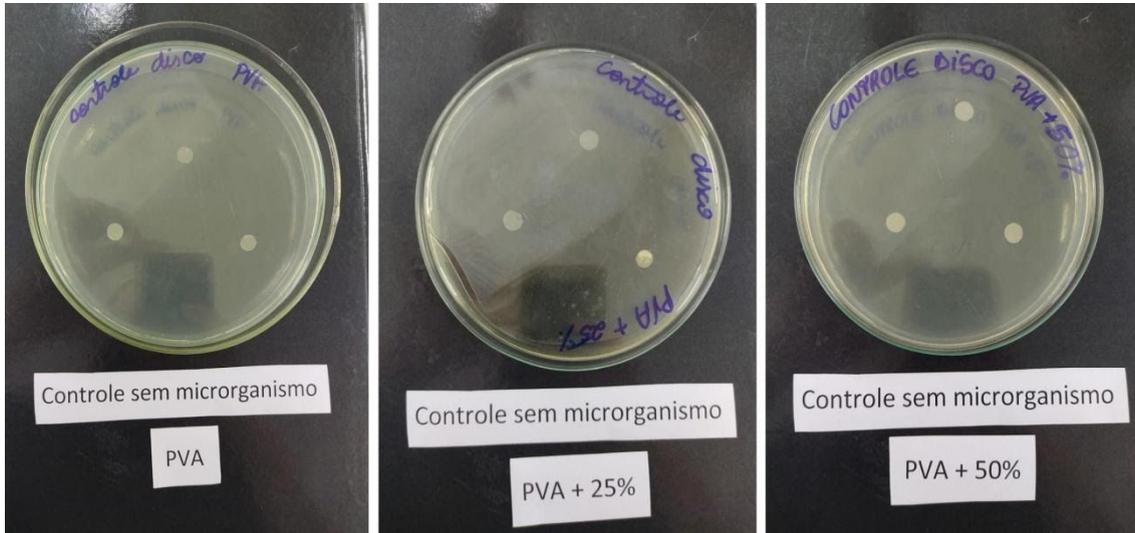


Figura 12: Controle negativo contendo apenas os filmes de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%, sem inoculação de microrganismo em meio Mueller-Hinton.

Após observar que na ausência dos microrganismos não houve alterações, realizou-se o controle positivo. A Figura 13, mostra os testes de controle positivo para os antibióticos comerciais Penicilina G 10 µg e Cloranfenicol 30µg.

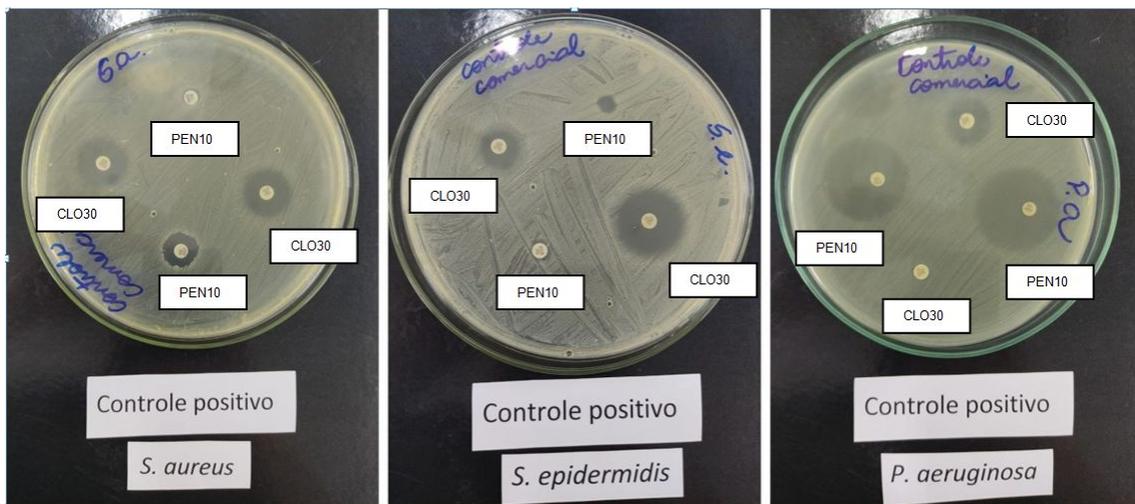
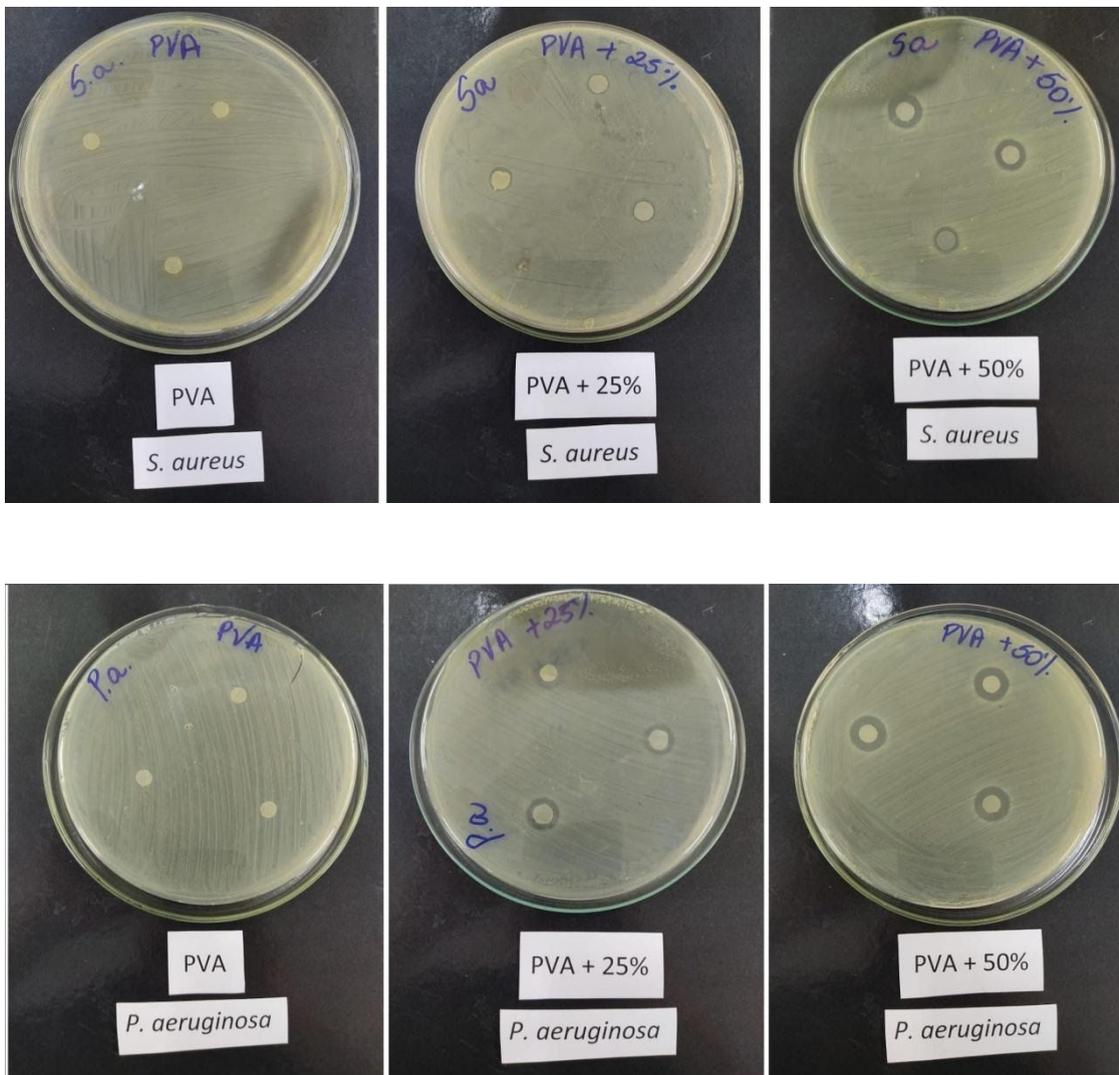


Figura 13: Análise antimicrobiana in vitro de sensibilidade de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* para os agentes antimicrobianos Penicilina G 10 µg e Cloranfenicol 30µg.

Pode-se observar que a Penicilina G 10 µg foi mais efetiva para inibição do microrganismo *P. aeruginosa*, entretanto, apresentou um halo pequeno frente aos microrganismos *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*. O antimicrobiano Cloranfenicol 30µg, apresentou melhor resposta para os microrganismos *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*, sendo menos efetivo para *P. aeruginosa*.

Avaliado o estudo com o controle positivo, foram feitos os testes com os filmes obtidos na presença e ausência do Nerolidol. A Figura 14 mostra os testes *in vitro* realizados para os microrganismos *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*.



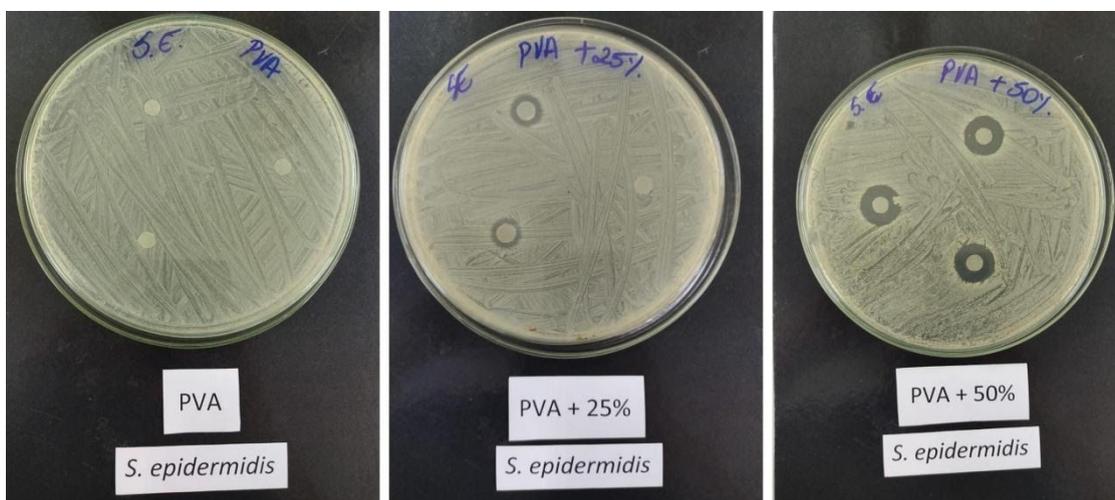


Figura 14: Análise antimicrobiana *in vitro* dos microrganismos: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* para a membranas de Poli (Álcool Vinílico), Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%.

Pode-se observar que as análise *in vitro* para a membrana composta apenas de PVA não foi efetiva contra a proliferação de nenhum dos microrganismos, inclusive havendo crescimento microbiano no filme depositado sobre a placa. Já para as membranas na presença de Nerolidol, todos apresentaram respostas efetivas contra a proliferação dos microrganismos, entretanto a resposta para a membrana contendo 50% foi superior as membranas contendo 25% de Nerolidol para todos os microrganismos estudados.

A Tabela 1, apresenta as médias das medidas dos diâmetros dos halos de inibição

MICROORGANISMOS	ANTIBIÓTICOS	FILMES			
		PEN	CLO	PVA+NEROLIDOL	PVA+NEROLIDOL
	Halos (mm)	10 µg	30 µg	25%	50%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	média	10	27,5	12	21,33
	D.P*	0	0,35	3,6	0,57
<i>Staphylococcus aureus</i>	média	8,5	23	10,66	14
	D.P*	1,2	0	1,15	1,73

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	média	38,5	11	14,3	17,3
	D.P*	0,07	1,55	0,57	0,57

*D.P.= Desvio Padrão

Tabela 2: Resultados do teste de difusão de discos de Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 25% e Poli (Álcool Vinílico) + Nerolidol 50%, Cloranfenicol 30 µg (CLO 30) e Penicilina G 10 µg (PEN 10) sobre os microrganismos patogênicos *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Nota-se que a membrana com 50% de Nerolidol, mostrou valores semelhantes ao Cloranfenicol 30 µg para o *Staphylococcus epidermidis*, entretanto apesar de apresentar um halo de inibição satisfatório, foi inferior para os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Frente ao exposto, essas membranas apresentaram-se promissoras para serem utilizadas em curativos, com a finalidade de evitar a proliferação de microrganismos patogênicos. Além de evitar o crescimento microbiano devido ao Nerolidol, as membranas são compostas por PVA, que embora não tenha desenvolvido atividade antimicrobiana quando aplicado isoladamente, possui características específicas como ser mecanicamente resistente, não-adesivo, transparente, também sendo capaz de manter a lesão hidratada e absorver exsudato (LUO et al., 2009), o que o elege como um candidato a curativo cutâneo, podendo servir como substituto epidérmico temporário. Entretanto para trabalhos futuros, será necessário realizar estudos de citotoxicidade e teste *in vivo*.

6. CONCLUSÃO

O princípio ativo Nerolidol foi eletrofiado com sucesso juntamente com o PVA e formaram um filme com características excelentes para futuro uso em pesquisas. O nerolidol permaneceu principalmente na superfície do filme, promovendo aumento na hidrofobicidade da membrana, bem como, na atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, com essa atividade sendo equiparável ou até mesmo superior a dois antimicrobianos comerciais com efeito comprovado, Penicilina G e Cloranfenicol.

A membrana obtida apresentou-se promissora para utilização como curativo cutâneo, além disso, esta se mostrou de fácil manuseio e ainda permaneceu com sua hidrofiliabilidade, podendo adsorver exsudatos das feridas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAHMAN, F. H.; ALANIZ, N. M.. SALEH, M. A. Nematicidal activity of terpenoids. **J. Environ. Sci. Health B** 2013, 48, 16–22.

ACCORSI, W. R. Medicina natural, um novo conceito: a fórmula: guia de negócios. **Revista Espaço para a Saúde**, v. 2, n. 4, p. 5-8, 2000.

AGYARE, C.; ASASE, A.; LECHTENBERG, M.; NIEHUES, M.; DETERS, A.; HENSEL, A. An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound healing in BosomtwiAtwima-Kwanwoma area, Ghana. **J. Ethnopharmacol.** 2009; 125(3):399-403.

ALLEN, G. M.; BOND, M. D.; MAIN, M. B.. 50 **Common native important plants in Florida's ethnobotanical history**. University of Florida. Circular 1439, p. 1-21, 2012.

ALVIM, N. A. T. et al. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n.3, p.316-323, 2006.

AMARAL, I. F.; BARBOSA, M. A.; BARRIAS, C. C.; CAVALHEIRO, J.; FERRAZ, M. P.; GRANJA, P. L.; LOPES, M. A.; MARTINS, M. C. L.; MONTEIRO, F. J.; RIBEIRO, C. C.; SANTOS, J. D.; SOUSA, S. R.; QUEIROZ, A. C. Biomateriais. In: **Biotecnologia**, Lidel, 377-397. 2003.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ARAÚJO, M. A.; LEMOS, I. C. S.; MENEZES, I. R. A.; FERNANDES, G. P.; KENRTOPF, M. R. Uso de plantas medicinais para o tratamento de feridas. **Revista Interdisciplinar**, v. 8, n. 2, p. 60-67, abr./maio/jun. 2015.

ARO, A.A.; FREITAS, K. M.; FOGGIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; DOLDER, H.; GOMES, L.; VIDAL, B. C.; PIMENTEL, E. R. 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.

BAIL, L.; ITO, C. A. S.; ESMERINO, L. A. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. **RBAC**. 38(1): 51-56. 2006.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food Chem. Toxicol.** 2008, 46, 446–475.

BALDISSERA, M. D. **A nanotecnologia potencializa uma ação tripanocida do nerolidol em camundongos infectados com *Trypanosoma evansi*: interação da barreira hematoencefálica.** 60f. Tese (Doutorado em Farmacologia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2018.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sci.** 2005; 78: 431-41.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada.** São Paulo: Manole; 1992.

BATISTA, C. P.; TORRES, O. J. M.; MATIAS, J. E. F.; MOREIRA, A. T. R.; COLMAN, D.; LIMA, J. H. F.; MACRI, M. M. Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cir Bras.** 2006; 21(Supl 3):26-32.

BATISTA, L. C.; DALECK, C. R.; SHIMANO, A. C.; ALESSI, A. C.; ABRAHÃO, M. S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, equino, suíno e canino) a fresco e conservado em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.33, p.305-312, 1996.

BEACHLEY, V.; WEN, X. Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. **Materials Science and Engineering**. Vol. 29 (2009), pp. 663.

BERGAMASCO, J. **Sínteses e caracterização de microesferas de poli (álcool vinílico) e sua utilização como suportes para imobilização de lipase produzida por *Rhizomucor miehei* e seu estudo catalítico na reação de transesterificação do óleo de soja para a produção de biodiesel via rota etílica**. 2013. 116 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/94804>>

BITTENCOURT, Edison; MILLAS, Ana Luiza Garcia; SILVEIRA, João Vinicius Wirbitzki. **Nanofibras poliméricas incorporadas com óleos essenciais e uso das mesmas**. Depositante: Edison Bittencourt, Ana Luiza Garcia Millas, João Vinicius Wirbitzki Silveira. BR102012020812-1A2. Depósito: 20/08/2012. Concessão: 26/08/2014.

BORGES, E. L.; SAAR, S. R. C.; MAGALHÃES, M. B. B.; GOMES, F. S. L.; LIMA, V. L. A. N. **Feridas: como tratar**. 2ª edição. Belo Horizonte: Coopmed; 2008.

BOWLER, P. G.; DUERDEN, B. I.; ARMSTRONG, D. G. Wound microbiology and associated approaches to wound management. **Clin Microbiol Rev**. 2001;14(2):244-69.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS - Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BURGER, C.; HSIAO, B. S.; CHU, B. Functional nanofibrous scaffolds for bone reconstruction. **Annu. Rev. Mater. Res**. Vol. 36 (2006), pp. 333.

BUTAFFOCO, L.; KOLKMAN, N. G.; ENGBERS-BUIJTENHUIJS, P.; POOT, A. A.; DIJKSTRA, O. J.; VERMES, I.; FEIJEN, J. Electrospinning of collagen and

elastin for tissue engineering applications. **Biomaterials**. Vol. 27 (2006), pp. 724.

BYNUM, W. **História da medicina**. Trad. Flavia Souto Maior. Porto Alegre: L&PM, 2011.

CAETANO K. S.; FRADE, M. A.; MINATEL, D. G.; SANTANA, L. A.; ENWEMEKA, C. S. et al. Phototherapy improves healing of chronic venous ulcers. **Photomedicine and Laser Surgery**. 2009;27:111-8.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CARRICO, T. J.; MEHROF, A. J.; COHEN, I. K. Biology of wound healing. **Surg Clin North Am**. 1984; 4(4):721-33.

CARVALHO, A. C. B.; SILVEIRA, D. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Médica**, v.48, n.2, p.219-237, 2010.

CHAN, F. K. L.; LEUNG, W. K. Peptic-ulcer disease. **Lancet** 2002, 360, 933–941.

CHAN, L. T. H.; CHAN, K. G.; LEE, L. H.; GOH, B. H. Nerolidol: A Sesquiterpene Alcohol with Multi-Faceted Pharmacological and Biological Activities. **Molecules** 2016, 21, 529.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 29th ed. **CLSI supplement M100**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019.

CONTRERA, A.; BERNARDI, A. C.; POZETTI, G. L.; LOPES, R. A.; CONTRERA, M. G. D. 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.

COSTA, E. V.; MENEZES, L. R. A.; ROCHA, S. L. A.; BALIZA, I. R. S.; DIAS, R. B.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P. Antitumor properties of the leaf essential oil of *Zornia brasiliensis*. **Planta Med.** 2009, 81, 563–567.

COSTA, R. G. F.; OLIVEIRA, J. E.; PAULA, G. F.; PICCIANI, P. H. DE S.; MEDEIROS, E. S. DE; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. Eletrofição de Polímeros em Solução: parte I: fundamentação Teórica. **Polímeros**, São Carlos, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282012000200012&lng=en&nrm=iso>. access on 01 June 2020. Epub May 08, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282012005000026>.

COUTO, A. S.; KIMURA, E. A.; PERES, V. J.; UHRIG, M. L.; KATZIN, A. M. Active isoprenoid pathway in the intra-erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*: Presence of dolichols of 11 and 12 isoprene units. **Biochem. J.** 1999, 341, 629–637.

CURVELO, J. A. R.; MARQUES, A. M.; BARRETO, A. L. S.; ROMANOS, M. T. V.; PORTELA, M. B.; KAPLAN, M. A. C.; SOARES, R. M. A. A novel nerolidol-rich essential oil from *Piper claussonianum* modulates *Candida albicans* biofilm. **J. Med. Microbiol.** 2014, 63, 697–702.

DA SILVA, M. F.; SAITO, A. Y.; PERES, V. J.; OLIVEIRA, A. C.; KATZIN, A. M. In vitro antimalarial activity of different inhibitors of the plasmodial isoprenoid synthesis pathway. **Antimicrob. Agents Chemother.** 2015, 59, 5084–5087.

DeMERLIS, C.C., SCHONEKER, D.R. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, o.319–326, mar. 2003.

FIGUEIREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JÚNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis Revista de Saúde Coletiva**, v.24, n. 2, p. 381-400, 2014.

FORMHALS, A. **Method and Apparatus for Spinning**. US Patent No. 2160962. 1934

FRIZZO, C. D.; DELLACASSA, E.; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. Extração Supercrítica do Óleo Essencial de Planta Nativa do Gênero *Baccharis*. In: XIX INTERAMERICAN CONGRESS OF CHEMICAL ENGINEERING, XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, I BRAZILIAN CONGRESS OF PHASE EQUILIBRIUM AND FLUID PROPERTIES FOR CHEMICAL PROCESS DESIGN; 2000; Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: XIII COBEQ, XIX IACChE, I EQUIPHASE, 2000.

GAO, S.; SINGH, J. In vitro percutaneous absorption enhancement of a lipophilic drug tamoxifen by terpenes. **J. Control. Release** 1998, 51, 193–199

GAZOLA, A. M. FREITAS, G.; COIMBRA, C. C. B. E. O uso da *Calendula officinalis* no tratamento da reepitelização e regeneração tecidual. **Revista Uningá Review**, v. 20, n. 3, p. 54-59, 2014.

GOMES, T. M.; BORGES, S. P. T.; NEVES, M. A.; JUNIOR, L. A. B. ENSAIO DE MOLHABILIDADE COMO INDICATIVO DA POTENCIALIDADE DE UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO DE ROCHAS ORNAMENTAIS EM CERÂMICA DE REVESTIMENTO. **Tecnologia em Metalurgia Materiais e Mineração**. 16. 10.4322/2176-1523.20191441. (2019)

GUERRINI, L.; BRANCIFORT, M.; BRETAS, R. Eletrofiação do poli(álcool vinílico) via solução aquosa. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. Vol 16 (2006), pp. 286.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday. **Molecular Aspect of Medicine**, n. 27, p. 1-93, 2006.

HASENACK, B. S.; SICHINELLI, J. M.; GARCIA, A. F.; GOMES, K. S.; SPITI, S.; COSTA, C. L. Atividade antibacteriana do extrato Barbatimão sobre cepas de *Staphylococcus Aureus* isoladas de secreções de feridas crônicas de pacientes ambulatoriais. **UNOPAR Cient, Ciênc Biol Saúde**. 2008:13-8.

HELFAND, W. H.; COWEN, D. L. **Pharmacy illustrated history**. New York: Harry N. Abrams, 1990.

JORGE, M. P.; MADJAROF, C.; RUIZ, A. L. T. G.; FERNANDES, A. T.; RODRIGUES, R. A. F.; SOUSA, I. M. O.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.118, n.3, p.361-363, 2008.

KOOMBHONGSE, S.; LIU, W.; RENEKER, D. H. Flat polymer ribbons and other shapes by electrospinning. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, 2001, v. 39: p. 2598-2606.

KANT, V.; GOPAL, A.; KUMAR, D.; PATHAK, N. N.; RAM, M.; JANGIR, B. L. Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats. **J Surg Res** 2015; 193:978-988.

KATZUNG, B. **Farmacologia Básica e Clínica** (10^a ed.). Brasil: McGraw Hill. (2007).

KENAWY, E.; BOWLIN, G. L.; MANSFIELD, K.; LAYMAN, J.; SIMPSON, D. G.; SANDERS, E. H.; WNEK, G. E. Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. **J. Control Release** 2002, 81, 57-64.

KINGSLEY, A. The wound infection continuum and its application to clinical practice. **Ostomy Wound Manage.** 2003;49(7):1-7.

KOUDOU, J.; ABENA, A. A.; NGAISSONA, P.; BESSIERE, J. M. Chemical composition and pharmacological activity of essential oil of *Canarium schweinfurthii*. **Fitoterapia** 2005, 76, 700–703.

KRIEGEL, C.; KIT, K. M.; MCCLEMENTS, D. J.; WEISS, J. Nanofibers as Carrier Systems for Antimicrobial Microemulsions. Part I: Fabrication and Characterization. **Langmuir**, v. 25, n.2, 2009.

KUMAR, V.; LAL, S.; BAGORIA, R.; ARORA, S. Thermal and Tensile Properties of PVA and Wood flour Composites. **International Journal of Applied Engineering Research**. 14. 1619-1626. 2019.

LANGER, R.; TIRRELL, D. A. Designing materials for biology and medicine. **Nature**. P. 428:487-492. 2004.

LIMA, D. K. S.; BALLICO, L. J.; ROCHA LAPA, F.; GONÇALVES, H. P.; DE SOUZA, L. M.; IACOMINI, M.; WERNER, M. F. D. P.; BAGGIO, C. H.; PEREIRA, I. T.; DA SILVA, L. M. Evaluation of the antinociceptive, anti-inflammatory and gastric antiulcer activities of the essential oil from *Piper aleyreanum* C.DC in rodents. **J. Ethnopharmacol.** 2012, 142, 274–282

LUO, F. L.; NAGEL, K. A.; ZENG, B.; SCHURR, U.; MATSUBARA, S. Photosynthetic acclimation is important for post-submergence recovery of photosynthesis and growth in two riparian species. **Ann Bot.**, 104(7): 1435-1444. 2009.

MCLSAAC, W. J; LOW, D. E; BIRINGER, A.; PIMLOTT, N.; EVANS M.; GLAZIER, R. The impact of empirical management of acute cystitis on unnecessary antibiotic use. **Arch Intern Med**. 162(5): 600-5.2002.

MENDANHA, S. A.; ALONSO, A. Effects of terpenes on fluidity and lipid extraction in phospholipid membranes. **Biophys. Chem.** 2015, 198, 45–54.

MOHD-SHUKRI, H.; ZAINAL-ABIDIN, B. The effects of nerolidol, allicin and berenil on the morphology of *Trypanosoma evansi* in mice: A comparative study using light and electron microscopic approaches. **Malays. Appl. Biol.** 2011, 40, 25–32.

NERURKAR, N. L.; ELLIOTT, D. M.; MAUCK, R. L. Mechanics of Oriented Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Annulus Fibrosus Tissue Engineering. **Journal of Orthopaedic Research**, 25 (8): 1018-28. 2007.

NIGMATOV, A. G.; SEREBRYAKOV, E. P.; YANOVSKAYA, L. A. Improved method for the isolation of geranyl esters of (4E/Z,8E)- and

(4E/Z,8Z)-farnesylacetic acid. **Pharm Chem J** 21, 529–533 (1987).
<https://doi.org/10.1007/BF00758769>

ORTOLAN, A. O. **Apostila de práticas de química computacional**. 2014. 88 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

PADILLA-CAMBEROS, E.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; CANALES-AGUIRRE, A. A.; BARRAGAN-ALVAREZ, C. P.; GUTIERREZ-MERCADO, Y.; LUGO-CERVANTES, E. Wound healing and antioxidant capacity of *Musa paradisiaca* Linn. peel extracts. **J Pharm Pharmacog Res** 2016; 4:165-173.

PARK, M. J.; GWAK, K. S.; YANG, I. KIM, K. W.; JEUNG, E. B.; CHANG, J.W.; CHOI, I. G. Effect of citral, eugenol, nerolidol and α -terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. **Fitoterapia** 2009, 80, 290–296.

PASSOS, J. L.; BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; ALVARENGA, E. S.; SILVA, C. M. D.; BARRETO, R. W. Chemical characterization of volatile compounds of *Lantana camara* L. and *L. radula* Sw. and their antifungal activity. **Molecules** 2012, 17, 11447–11455.

PEREIRA, C.; MORENO, C. S.; CARVALHO, C. Usos farmacológicos do *Stryphnodendron adstringens* Barbatimão. **Revista Panorâmica on-line**, v. 15, n. 15, p. 127-137, 2013

PERRICONE, M.; ARACE, E.; CORBO, M. R.; SINIGAGLIA, M.; BEVILACQUA, A. Bioactivity of essential oils: A review on their interaction with food components. **Front. Microbiol.** 2015.

PIRIZ, M. A.; LIMA, C. A. B.; JARDIM, V. M. R.; MESQUITA, M. K.; SOUZA, A. D. Z.; HECK, R. M. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 628-636, 2014.

PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresour. Technol.** 2005, 96, 1749–1757.

PUPO, M. T.; GUIMARÃES, D. O.; FURTADO, N. A. J. C.; BORGES, W. S. Em **Modern Biotechnology in Medicinal Chemistry and Industry**; Taft, C. A., ed.; Research Signpost: Kerala, 2006, cap. 4.

RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W. ; LIM, T.; MA, Z. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. **World Scientific**, Singapore, 2005.

RAMARAJ, B. Crosslinked poly(vinyl alcohol) and starch composite films. II. physico mechanical, thermal properties and swelling studies. **Journal of Applied Polymer Science**, v.103, p.909-916, 2007.

RENEKER, D.H.; CHUN, I. “Nanometer diameter fibers of polymer produced by electrospinning”, **Nanotechnology** 1996, 7, 216-223.

RIGATTI, F. **Detecção da resistência à oxacilina e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus coagulase negativos* isolados em um hospital escola.** [Dissertação]. Santa Maria: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina; 2010.

ROMERO-CERECERO, O.; ZAMILPA, A.; DIAZ-GARCIA, E. R.; TORTORIELLO, J. Pharmacological effect of *Ageratina pichinchensis* on wound healing in diabetic rats and genotoxicity 71 evaluation. **J. Ethnopharmacol** 2014; 156:222–227.

SANTOS, J. S.; VIEIRA, A. B. D.; KAMADA, I. A Rosa Mosqueta no tratamento de feridas abertas: uma revisão. **Rev. bras. enferm.**, Brasília , v. 62, n. 3, p. 457-462, June 2009 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-71672009000300020&lng=en&nrm=iso>. access on 05 Mar. 2021. <https://doi.org/10.1590/S0034-71672009000300020>.

SANTOS, W.; ARAUJO, M. G. S.; SILVA, J.; BERNARDO, T.; BASTOS, M.; VERISSIMO, R. Microbiota infectante de feridas cirúrgicas: análise da produção científica nacional e internacional. **Revista SOBECC**. 21. 46. 10.5327/Z1414-4425201600010007. (2016).

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; FILHO, J. L. L.; LEÃO, A. M. A. C.; PORTO, A. L. F. 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.

SCHULTZ, G. S.; SIBBALD, R. G.; FALANGA, V.; AYELLO, E. A.; DOWSETT, C.; HARDING, E. A. Wound bed preparations: a systematic approach to wound management. **Wound Rep Reg**. 2003;11 Suppl 1:S1-28.

SHUKLA, A.; RASIK, A. M.; JAIN, G. K.; SHANKAR, R.; KULSHRESTHA, D. K.; DHAWAN, B. N. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. **J. Ethnopharmacol**. 1999; 65:1–11.

SIBBALD, R. G.; ORSTED, H.; SCHULTZ, G. S.; COUTTS, P.; KEAST, D. Preparing the wound bed 2003: focus on infection and inflammation. **Ostomy Wound Manage**. 2003;49(11):24-51.

SILVA, A. B.; SILVA, T.; FRANCO, E. S.; RABELO, S. A.; LIMA, E. R.; MOTA, R. A.; CAMARA, C. G.; PONTES-FILHO, N. T. Atividade antibacteriana, composição química, e citotoxicidade do óleo essencial de folhas de árvore de pimenta brasileira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Brazilian Journal of Microbiology**, 41:158-163. 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, M.; ROCHA, S.; COIMBRA, M. A.; VIEIRA, M. J. Enhancement of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* antibiotic susceptibility using sesquiterpenoids. **Med. Chem**. 2008, 4, 616–623.

SKALTSA, H. D.; LAZARI, D. M.; MAVROMATI, A. S.; TILIGADA, E. A.; CONSTANTINIDIS, T. A. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria albida ssp. albida* from Greece. **Planta Med.** 2000.

SOUSA, L. C. A.; PIZA, M. R. T.; NETTO, J. C. Biomembrana de látex: novo método para o revestimento da cavidade aberta nas timpanomastoidectomia. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.73, p.331-336, 2007.

SOUZA, S. F **Obtenção de nanofibras de curauá e aplicação como reforço em compósitos baseados em PVA.** 2010. iii, 80 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/90547>>.

SUI, Z; MURPHY, W. L. **Nanoscale Mechanisms for Assembly of Biomaterial.** University of Wisconsin - Madison, Springer, USA, 2007.

TUROLLA, M. S.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 289-306, 2006. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322006000200015&lng=en&nrm=iso>. access on 14 Apr. 2020

VAQUETTE, C.; BABAK, V. G.; BAROS, F.; BOULANOUAR, O.; DUMAS, D.; FIEVET, P.; KILDEEVA, N. R.; MAINCENT, P.; WANG, X. Zeta-potential and morphology of electrospun nano- and microfibers from biopolymers and their blends used as scaffolds in tissue engineering. **Mendelev Communications**. Vol. 18 (2008), pp. 38.

VIANA, A. P. P.; SOARES, R. S; CASTRO, A. R. L.; KLUCZYNIK, E. M.; CATÃO, R. M. R. Incidência bacteriana em hemoculturas de recém-nascidos e perfil de suscetibilidade frente aos antimicrobianos. **Rev BioFar.** 2011;5(1):102-110.



VIEIRA, R. M. **Raízes Históricas Da Medicina Ocidental**. São Paulo: SciELO – Editora Fap-Unifesp, 2012. Accessed March 30, 2020. www.jstor.org/stable/10.7476/9788561673659.

WALSH, C.; **Antibiotics: Actions, Origins, Resistance**, ASM Press: Washington, 2003.

WANG, C. Y.; WANG, S. Y.; CHEN, C. T. Increasing antioxidant activity and reducing decay of blueberries by essential oils. **J. Agric. Food Chem.** 2008, 56, 3587–3592.