



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



VITOR LOPES CHAGAS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE
ALGINATO E QUITOSANA PARA ADMINISTRAÇÃO LOCAL DE
ANTIBIÓTICO/ANESTÉSICO**

Recife

2024

VITOR LOPES CHAGAS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE
ALGINATO E QUITOSANA PARA ADMINISTRAÇÃO LOCAL DE
ANTIBIÓTICO/ANESTÉSICO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Ciências
Biológicas

Área de concentração:
Sistemas biológicos.

Orientador (a): Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientador (a): Luís Cláudio Nascimento da Silva

Recife

2024

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Chagas, Vitor Lopes.

Desenvolvimento e caracterização de filmes híbrido de alginato e quitosana para administração local de antibiótico/anestésico. / Vitor Lopes Chagas. – 2024.

52 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia.
Coorientador: Luís Cláudio Nascimento da Silva.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, 2024.

Inclui referências.

1. Filmes. 2. Alginato. 3. Quitosana. 4. Neomicina. 5. Feridas. I. Correia, Maria Tereza dos Santos (Orient.). II. Silva, Luís Cláudio Nascimento da Silva (Coorient.). III. Título.

VITOR LOPES CHAGAS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE
ALGINATO E QUITOSANA PARA ADMINISTRAÇÃO LOCAL DE
ANTIBIÓTICO/ANESTÉSICO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Ciências
Biológicas.

Aprovada em: 04/07/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Adrielle Zagmignan (Examinadora Externa)
Universidade Ceuma

Prof^a. Dr^a. Sergio Murilo da Silva Braga Martins Junior (Examinador Externo)
Universidade Ceuma

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela vida e saúde. Aos meus avós, **Clarice Lopes** e **Baltazar Lopes**, meus pais **Antônio Vilomar** e **Marcia Andréa** por todo amor, incentivo e apoio incondicional ao longo de minha vida. Agradeço a minha esposa **Fernanda Fernandes** por todo o amor, companheirismo e apoio prestado, tenho certeza que você não mediu esforços para fazer o possível e o impossível por mim, te amo. Aos meus sogros **João Pedro** e **Josineia Fernandes**, por todo cuidado, amparo e carinho. Sem vocês, este momento não seria possível.

Agradeço em especial aos meu grandes amigos e irmãos científicos **Lucas Silva**, **Simeone Castelo Branco** e também ao meu Co-Orientador/Pai científico **Luís Cláudio Nascimento** por todo suporte e atenção prestada, aos atos de irmandade, solidariedade e companheirismo, principalmente, por não desistirem de mim. Guardarei vocês em meu coração. Aos meus amigos de laboratório, **Izadora Soeiro**, **Eduardo Moraes**, **João Lucas**, **Raphael Guedes** e **Layse Ribeiro** pelas discussões enriquecedoras e pela troca de experiências que tornaram esta jornada mais leve e prazerosa.

Agradeço a minha orientadora, **Maria Tereza dos Santos Correia**, pela oportunidade, orientação, e paciência ao longo de todo o processo. Aos coordenadores do programa de Ciências Biológicas, **Thiago Napoleão** e **Márcia Vanusa**, pelo suporte acadêmico e estrutural proporcionado, agradeço também por toda compreensão dos fatos durante essa jornada.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciências Biológicas - PPGCB, pelo compartilhamento de conhecimentos e pela inspiração ao longo do curso. Suas aulas e orientações foram essenciais para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

A CAPES pelo suporte financeiro fornecido. Viva a ciencia!

Por fim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, e que não foram mencionados nominalmente, mas que tiveram papel importante nesta trajetória.

A todos, o meu humilde e sincero agradecimento.

“Não importa o que aconteça, nunca perca a fé em si mesmo. Você é mais forte do que imagina”

- Shanks

RESUMO

O tratamento de feridas tem sido prejudicado pela presença de infecções, que frequentemente atrasam a recuperação natural e afetam de maneira substancial a qualidade de vida das pessoas afetadas. Frequentemente bactérias como *Staphylococcus aureus* são encontradas nos locais acometidos, resultando em um quadro inflamatório exacerbado. Este trabalho descreve o desenvolvimento e a caracterização de filmes híbridos de alginato e quitosana incorporados com neomicina e lidocaína para a administração local de antibiótico/anestésico. Inicialmente foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), em seguida os filmes foram avaliados de acordo com a uniformidade, rachaduras, presença de bolhas, desprendimento da placa, transparência e consistência, após avaliar a melhor formulação, os agentes farmacológicos foram incorporados. Para a caracterização dos filmes, foram realizados, os ensaios de rugosidade, umidade, coloração, inchaço, espessura, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA). Já referente a biocompatibilidade e potencial antimicrobiano, foram realizados os testes de hemólise relativa, padrão de liberação da neomicina, atividade antimicrobiana dos filmes por difusão em ágar e em modelo *ex-vivo*. Em relação a rugosidade a combinação farmacológica AQ+Lido+Neo teve como resultado $1,8 \pm 0,19 \mu\text{m}$, uma diferença significativa deste parâmetro em relação aos outros grupos. Os filmes apresentam percentuais de umidade estatisticamente similares, entorno de 70%, já o intumescimento foi avaliado por gravimetria, onde os filmes AQ+Neo e AQ+Lido+Neo, conseguiram absorver 100,7% e 69,4% do seu peso, respectivamente, após 300s. Para o ensaio de coloração, os valores médios de ΔE giram em torno de $2,05 \pm 0,72$, logo as diferenças colorimétricas entre os filmes foram praticamente imperceptíveis. A espessura dos filmes AQ, AQ+Lido, AQ+Neo e AQ+Lido+Neo, em torno de $99,1 \pm 5,8 \mu\text{m}$, $125 \pm 5 \mu\text{m}$, $98,0 \pm 2,3 \mu\text{m}$, e $106,2 \pm 2,7 \mu\text{m}$, respectivamente. Ao realizar o MEV, foi possível visualizar a incorporação dos fármacos. O Espectro FTIR dos filmes é característico de um polissacarídeo, no qual observa-se a presença de grupos hidroxila (OH) abundantes e vibrações de estiramento NH. Para o TGA os grupos testados tiveram perfis semelhantes, sugerindo que a estabilidade química é preservada após a incorporação dos antibióticos nos filmes híbridos. A hemólise relativa foi nula, com isso, os filmes podem ser considerados biocompatíveis. A atividade frente *S. aureus* foi determinada por difusão em ágar, onde AQ+Neo e AQ+Lid+Neo apresentaram as respectivas áreas de inibição, $20,66 \pm 1,5 \text{mm}$ e $26,16 \pm 0,28 \text{mm}$. Ao que se refere ao padrão de liberação da neomicina, nos filmes AQ+Lido+Neo a presença da lidocaína parece facilitar a dissociação de neomicina da matriz polimérica dos filmes. Em conclusão, um filme a base de biopolímeros com atividade antimicrobiana e anestésica foi desenvolvido, apresentando biocompatibilidade, atoxicidade e a capacidade de absorver líquidos, tornando-se um curativo promissor.

Palavras-chave: Filmes; Alginato; Quitosana; Neomicina; Feridas.

ABSTRACT

Wound care has been hampered by the presence of infections, which often delay natural recovery and substantially affect the quality of life of those affected. Bacteria such as *Staphylococcus aureus* are often found at the affected sites, resulting in an exacerbated inflammatory condition. This work describes the development and characterization of hybrid alginate and chitosan films incorporated with neomycin and lidocaine for the local administration of antibiotics/anesthetics. Initially, a rotational central composite design (RCCD) was carried out, then the films were evaluated according to uniformity, cracking, presence of bubbles, detachment from the plate, transparency and consistency, after evaluating the best formulation, the pharmacological agents were incorporated. To characterize the films, the following tests were carried out: roughness, humidity, color, swelling, thickness, scanning electron microscopy (SEM), fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA). With regard to biocompatibility and antimicrobial potential, relative hemolysis tests, neomycin release pattern, antimicrobial activity of the films by agar diffusion and in an ex-vivo model were carried out. In terms of roughness, the pharmacological combination AQ+Lido+Neo resulted in $1.8 \pm 0.19 \mu\text{m}$, a significant difference in this parameter compared to the other groups. The films showed statistically similar percentages of humidity, around 70%, while swelling was assessed by gravimetry, where the AQ+Neo and AQ+Lido+Neo films were able to absorb 100.7% and 69.4% of their weight, respectively, after 300s. For the staining test, the average ΔE values were around 2.05 ± 0.72 , so the colorimetric differences between the films were practically imperceptible. The thickness of the AQ, AQ+Lido, AQ+Neo and AQ+Lido+Neo films was around $99.1 \pm 5.8 \mu\text{m}$, $125 \pm 5 \mu\text{m}$, $98.0 \pm 2.3 \mu\text{m}$, and $106.2 \pm 2.7 \mu\text{m}$, respectively. When the SEM was carried out, it was possible to visualize the incorporation of the drugs. The FTIR spectrum of the films is characteristic of a polysaccharide, in which the presence of abundant hydroxyl groups (OH) and NH stretching vibrations can be observed. For TGA, the groups tested had similar profiles, suggesting that chemical stability is preserved after incorporating the antibiotics into the hybrid films. Relative hemolysis was zero, so the films can be considered biocompatible. The activity against *S. aureus* was determined by agar diffusion, where AQ+Neo and AQ+Lid+Neo showed respective inhibition areas of $20.66 \pm 1.5 \text{mm}$ and $26.16 \pm 0.28 \text{mm}$. As far as the neomycin release pattern is concerned, in the AQ+Lid+Neo films the presence of lidocaine seems to facilitate the dissociation of neomycin from the polymeric matrix of the films. In conclusion, a biopolymer-based film with antimicrobial and anesthetic activity was developed, showing biocompatibility, non-toxicity and the ability to absorb liquids, making it a promising dressing.

Keywords: Films; Alginate; Chitosan; Neomycin; Wounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Estrutura anatômica das camadas da pele	18
Figura 2 –	Estrutura química do alginato. Bloco M (ácido β -D-manurônico), Bloco G (ácido α -L-gulurônico) e Blocos 1,4 M-G	21
Figura 3 –	Ilustração do modelo “caixa de ovos” na reticulação do alginato	22
Figura 4 –	Estrutura química da quitosana	23
Figura 5 –	Estereoisômeros: Neomicina C e Neomicina B	24
Figura 6 -	Avaliação do índice de qualidade filmes híbridos de alginato e quitosana	31
Figura 7 -	Morfologia e espessura de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina	33
Figura 8 -	Caracterização de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina	34
Figura 9 -	A) Análise da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier. B) Análise Termogravimétrica	36
Figura 10 -	Hemólise relativa de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina	38
Figura 11 -	Perfil de liberação e atividade antimicrobiana de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Níveis codificados e decodificados das variáveis independentes	26
Tabela 2 –	Influência das concentrações de alginato e quitosana sobre o índice de qualidade dos filmes	26
Tabela 3 –	Análise do pH e dos parâmetros de coloração dos diferentes filmes formulados	37
Tabela 4 –	Potencial antimicrobiano de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina em ensaio de difusão em ágar	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a e b – Índices de Cor

BFGF – Fator de Crescimento Fibroblástico Básico

Cr – Croma métrico

DAMPS – Padrões Moleculares Associados ao dano

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

EGF – Fator de Crescimento Epidérmico

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Hue – Tonalidade métrica

IL-1 – Interleucina 1

IL-10 – Interleucina 10

IL-13 – Interleucina 13

IL-1 β – Interleucina 1 beta

IL-4 – Interleucina 4

IL-6 – Interleucina 6

L - Luminosidade

M1 – Macrófago M1

M2 – Macrófago M2

MEC – Matriz Extracelular

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MHA – Ágar Muller-Hinton

NO – Óxido nítrico

PBS – Tampão Fosfato-salino

PDGF – Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PAMPS – Padrões Moleculares Associados a Patógenos

RA – Rugosidade Média

TGA - Termogravimétrica

TGF- β – Fator de Crescimento Transformante Beta

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

TLR – Receptores Toll Like

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

ΔE – Diferença de Cor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Composição da Pele e Feridas.....	17
3.2	Cicatrização e Processos moleculares na cura das feridas	19
3.3	Biopolímeros e suas propriedades	21
3.3.1	Alginate	21
3.3.2	Quitosana	22
3.4	Neomicina	24
3.5	Lidocaína	25
4	METODOLOGIA.....	26
4.1	Desenvolvimento dos filmes híbridos de alginate e quitosana	26
4.1.1	Otimização do processo de formulação	26
4.1.2	Incorporação de agentes farmacológicos.....	27
4.2	Caracterização de filmes híbridos de alginate e quitosana	27
4.2.1	Avaliação da morfologia e da espessura por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	27
4.2.2	Teor de umidade, rugosidade e inchaço	27
4.2.3	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Análise termogravimétrica (TGA)	28
4.2.4	Coloração.....	28
4.3	Biocompatibilidade de filmes híbridos de alginate e quitosana	29
4.3.1	Efeito de filmes híbridos na integridade da membrana plasmáticas de hemácias	29
4.4	Efeito antimicrobiano de filmes híbridos de alginate e quitosana	29
4.4.1	Liberação de Neomicina.....	29
4.4.2	Avaliação <i>in vitro</i> do efeito antimicrobiano dos filmes híbridos	29
4.4.2.1	Avaliação do efeito antimicrobiano dos filmes híbridos de alginate e quitosana em modelo <i>ex vivo</i> de feridas infectadas	30
4.4.2.2	Obtenção e desinfecção de pele suína.....	30
4.4.2.3	Indução e infecção das feridas	30
4.4.2.4	Tratamento das feridas	30
4.4.2.5	Quantificação de UFC de <i>S. aureus</i> nas feridas <i>ex vivo</i>	30

4.5	Análise estatística.....	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1	Otimização do processo de formulação dos filmes híbridos de alginato e quitosana.....	31
5.2	Caracterização de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e/ou lidocaína	32
5.2.1	Morfologia, rugosidade, umidade e inchaço	32
5.2.2	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Análise termogravimétrica (TGA)	35
5.2.3	Coloração	37
5.3	Biocompatibilidade de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e/ou lidocaína.....	38
5.4	Potencial antimicrobiano de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e/ou lidocaína.....	39
6.	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS.....	42
	SÚMULA CURRICULAR (2022 – 2024).....	52

1 INTRODUÇÃO

O tratamento de feridas tem sido dificultado pela presença de infecções, que geralmente prolongam a cicatrização fisiológica e impactam significativamente a qualidade de vida dos indivíduos acometidos (SHARMA et al., 2024). Frequentemente, *Staphylococcus aureus* é encontrado causando doenças em sítios tópicos, induzindo o desenvolvimento de lesões com aspectos clínicos anormais e aumentando a dor local (LINZ et al., 2023). Neste sentido, a indústria farmacêutica tem utilizado a neomicina, um aminoglicosídeo de amplo espectro altamente eficaz no tratamento de infecções tópicas. Entretanto, embora o combate à infecção mereça grandes esforços, o controle da dor também precisa ser considerado (DALLO; PATEL; HEBERT, 2023; FALCONE et al., 2021).

O uso de agentes sistêmicos para o controle da dor é geralmente empregado, entretanto, os anestésicos locais são evidenciados como uma alternativa viável, diminuindo os efeitos adversos sistêmicos e permitindo um controle de dor localizada (NAVARRO-RODRIGUEZ et al., 2021; RUSSO; FIEGEL; BROGDEN, 2020). Neste sentido, tem-se a lidocaína, que exerce efeitos anestésicos pelo bloqueio reversível da propagação do impulso nervoso. Além disso, um potente efeito anti-inflamatório tem sido associado a este agente, atuando em processos como fagocitose, migração, exocitose e metabolismo celular (KARNINA et al., 2021).

Um sistema combinado para administração de antibiótico/anestésico pode atuar simultaneamente no tratamento de infecções e no controle da dor em feridas, porém, esta abordagem ainda é pouco explorada (SANCHEZ et al., 2021). Neste âmbito, pode-se citar a caracterização de hidrogéis contendo levofloxacin/lidocaína (SHARMA et al., 2024), a produção de nanofibras carregadas com mupirocina/bupivacaína (HABIBI et al., 2023) e de biomembranas com polimixina B/lidocaína com potencial aplicação em feridas (OLIVEIRA et al., 2020).

Filmes poliméricos também podem ser funcionalizados e usados em sistemas de entrega, sendo vantajosos no tratamento de feridas por sua baixa imunogenicidade, flexibilidade, fácil manuseio, além de permitir a troca de umidade entre a ferida e o ambiente (SANCHEZ et al., 2021). Novas tendências de filmes curativos têm se voltado à associação de dois ou mais agentes para a formulação de materiais híbridos (PRIYA et al., 2024). Uma opção é a combinação de alginato e

quitosana, que geram produtos com melhores propriedades mecânicas e favoráveis na carga/liberação de medicamentos (LI et al., 2019; SEIDI et al., 2021a).

O alginato é extraído principalmente de algas marinhas, formado por uma cadeia linear de blocos G (ácido L-gulurônico) unidos por ligações glicosídicas a blocos M (ácido D-manurônico) (RIBEIRO et al., 2024). Já a quitosana é um aminopolissacarídeo derivado da quitina, sendo constituída por unidades de D-glucosamina e N -acetil-D-glucosamina (ALMAJIDI et al., 2024). A combinação de alginato e quitosana tem sido importante na criação de plataformas de distribuição inteligente. No entanto, raramente são funcionalizadas com neomicina, um antimicrobiano com destaque em formulações tópicas (SEIDI et al., 2021).

Entendendo que pesquisas no campo dos biomateriais têm se voltado para a produção de filmes visando a entrega medicamentosa localizada, este estudo se propõe a desenvolver um filme híbrido (alginato e quitosana) para administração tópica de neomicina (agente antimicrobiano) e lidocaína (agente anestésico), com o intuito de gerar um curativo que possa melhorar a sensibilidade e combater a infecção de feridas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um filme cicatrizante à base de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína para o tratamento de lesões cutâneas infectadas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as melhores formulações dos filmes a base de alginato e quitosana;
- Avaliar a ação da melhor formulação frente aos isolados de *S. aureus*;
- Determinar a curva de liberação da neomicina;
- Avaliar a integridade da membrana plasmática de hemácias em contato com os filmes;
- Analisar o arranjo e a incorporação dos fármacos no filme através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) e Termogravimetria (TGA) ;
- Avaliar o teor de umidade, rugosidade e inchaço dos filmes;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Composição da Pele e Feridas

A pele, um dos órgãos mais impressionantes do corpo humano, desempenha um papel multifuncional vital, atuando como barreira física, química e imunológica contra agentes externos nocivos e microrganismos potencialmente patogênicos, além disso efetua outras funções como termorregulação, absorção e excreção de líquidos, eliminação de metabólitos e consciência sensorial (DE ANDRADE RIBEIRO, 2020; DYRING-ANDERSEN et al., 2020; FEARNs et al., 2017).

Esse complexo órgão é formado por duas camadas justapostas: epiderme e derme (ŻWIEREŁŁO et al., 2023). Acompanhada de suas estruturas acessórias, que a conceituam como o maior órgão do corpo humano, compreendendo cerca de 16% do peso corporal (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019). A epiderme é a camada mais superficial da pele, sendo constituída por epitélio escamoso simples queratinizado, onde as células majoritárias são os queratinócitos e melanócitos (NASCIMENTO, 2023).

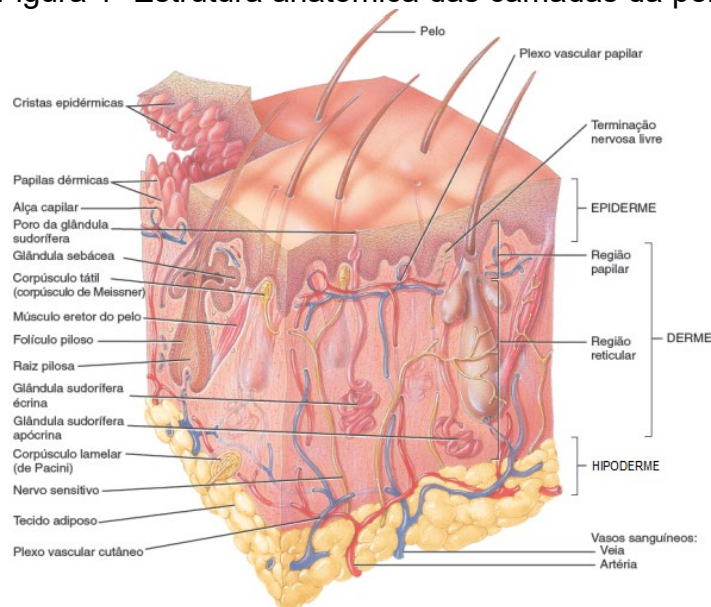
A derme é a camada intermediária, constituída por tecido conjuntivo denso, possuindo fibroblastos, células dendríticas, mastócitos e macrófagos como representantes celulares, assim como, glândulas sebáceas, folículos pilosos, fibras de colágeno, elastina, vasos sanguíneos e linfáticos como componentes estruturais (BHARTIYA et al., 2021; LEME, 2023)

Abaixo dessas duas camadas está localizado o tecido adiposo, essa região é composta por tecido conjuntivo frouxo e adipócitos (CESTARI, 2018; PAWLINA, 2021). O adipócito é considerado uma glândula endócrina, devido a secreção de leptina - hormônio responsável pelo controle do apetite e do regimento do balanço energético do organismo (DE CASTRO; GARCIA; GASQUES, 2023).

A saúde da pele desempenha um papel crucial na preservação da vida, visto que é responsável por uma ampla gama de funções fisiológicas (JOHNER; NETO, 2021). Diversos elementos podem prejudicar a pele, ocasionando danos. O envelhecimento inerente provoca algumas alterações na pele que impactam diretamente a configuração e o funcionamento do tegumento (MANGELA; MARTINS, 2021).

Algumas influências do ambiente também podem desencadear essas mudanças, sobretudo a prolongada exposição à radiação ultravioleta (ZOUBOULIS et al., 2019). No entanto, é de conhecimento geral que o tabagismo, o consumo de álcool, a poluição e o estresse também podem colaborar com esse fenômeno (FEITOSA; DA SILVA, 2023)

Figura 1- Estrutura anatômica das camadas da pele.



Fonte: (TORTORA; DERRICKSON, 2016).

Quando ocorre uma modificação na integridade da pele, se torna menos resistente, aumentando a probabilidade de ocorrência de lesões (OLIVEIRA, 2021). Essas alterações podem surgir adjunto as patologias de base do indivíduo, tal como, doenças autoimunes, diabetes, doenças vasculares e hipertensão, da mesma forma que, pode ser originada por fatores externos, como, trauma, pressão, temperatura, agentes químicos e biológicos (OLIVEIRA et al., 2019).

As alterações na integridade da pele adjunto de fatores intrínsecos e extrínsecos podem desencadear o surgimento de feridas. A ferida é descrita como a modificação da integridade da pele que se desenvolve desde a epiderme até tecidos mais internos (PIMENTA, 2023). Essas lesões podem ser classificadas quanto ao período de duração (aguda ou crônica), a sua causa (incisas, escoriações, perfurantes) e nível de contaminação (infectadas ou assépticas) (GALDINO JÚNIOR et al., 2018; VIANA DE SOUSA et al., 2020).

Percebe-se que a prevalência desse imbróglio prejudica milhões de pessoas

em todo o mundo, influenciando de maneira significativa a vida dos indivíduos afetados e gerando consequências físicas, psicológicas, financeiras e sociais. Portanto, torna-se crucial o conhecimento desse assunto, considerando sua relevância e procurando o melhor método de solucioná-lo (BRITO; ALMEIDA, 2023; LENTSCK et al., 2018; PALAMIN, 2018).

3.2 Cicatrização e Processos moleculares na cura das feridas

A cicatrização é um processo crucial para preservar a função de proteção da pele, dessa forma, é pertinente evidenciar que esse reparo ocorre de modo altamente orquestrado e complexo, através de recursos celulares e moleculares (SANTANA, 2021). Esses processos estão ordenados em quatro etapas consecutivas e fundamentais para a cicatrização, iniciando na fase de hemostasia continuada das fases inflamatória, proliferativa e por último remodelação (KORDESTANI, 2019).

A hemostasia é a resposta inicial à lesão, caracterizada pela vasoconstrição, agregação de plaquetas e a conjugação fibrina no local lesado. A cascata de coagulação é iniciada formando um tampão hemostático composto por plaquetas e fibrina, tendo como função primordial cessar a hemorragia (RODRIGUES et al., 2019a).

Para além de sua função na criação do coágulo, as plaquetas também liberam substâncias bioativas, tais como citocinas e fatores de crescimento que promovem o estímulo de queratinócitos e fibroblastos, interagem com receptores Toll-Like (TLR) na regulação da síntese de peptídeos antimicrobianos e impulsionam a quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos (WANG et al., 2018; WILKINSON; HARDMAN, 2020).

Em sequência, inicia-se a fase inflamatória. Nessa fase ocorrem eventos de alta complexidade, que são regulados por múltiplos fatores intrínsecos e extrínsecos (BARON; GLATZ; PROKSCH, 2020). A fase inflamatória é descrita pela migração de células do sistema imunológico, como neutrófilos, mastócitos, monócitos e linfócitos para o local alvo, devido a presença exacerbada de mediadores pró-inflamatórios e substâncias quimiotáticas (MITTAL et al., 2017).

Para iniciar a vasodilatação os mastócitos liberam histamina e prostaglandinas que interagem com receptores para impulsionar as vias inflamatórias e os sinais cardinais da inflamação, como calor, rubor, edema e dor (KOMI; KHOMTCHOUK;

SANTA MARIA, 2020). Os neutrófilos são as primeiras células a migrarem para o local de injúria, convocados por interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral α (TNF- α), fatores moleculares associados a danos (DAMPs) e/ou a patógenos (PAMPs), no qual, desempenham o papel de fagocitar patógenos e resíduos teciduais (NOSENKO; AMBARYAN; DRUTSKAYA, 2019).

Os monócitos circulantes são atraídos por quimiotaxia maturando-se em macrófagos (KIM; NAIR, 2019). Essas células são cruciais para o processo inflamatório e reparo tecidual, são muito versáteis, onde a depender dos estímulos submetidos, podem ser divididos em fenótipos pró-inflamatórios (M1) ou anti-inflamatórios (M2) (NGUYEN; SOULIKA, 2019; YUNNA et al., 2020).

O macrófago atua na formação de óxido nítrico (NO), secreção citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α), anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13) e fatores de crescimento como VEGF, EGF, PDGF, bFGF, e TGF- β (WANG et al., 2021). Os quais, modulam a angiogênese, a proliferação e migração de fibroblastos, promovendo a re-epitelização e fibroplasia do tecido, além de fagocitarem neutrófilos apoptóticos por esferocitose, gerando um cenário favorável de transição para a fase proliferativa (KIMURA; TSUJI, 2021; STONE; LEAVITT; VARACALLO, 2024).

A fase proliferativa é marcada pela acentuada migração celular, angiogênese e a formação do tecido de granulação (MONY et al., 2023). O VEGF induz as células endoteliais a originarem novos vasos, PDGF e EGF estimulam os fibroblastos a produzirem uma matriz extracelular rica em colágeno tipo III, proteoglicanos e fibronectina, compondo o tecido de granulação, em seguida, os fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos, promovendo a contração e o fechamento da ferida (SHOOK et al., 2018).

A remodelação é a etapa final do processo de cicatrização, onde a finalidade é restaurar a morfologia natural do tecido danificado (LANDÉN; LI; STÄHLE, 2016). Essa fase se evidencia pela reorganização da matriz extracelular (MEC) e conversão do tecido de granulação em tecido cicatricial, em que as fibras de colágeno tipo III (imaturas) majoritariamente presentes na fase proliferativa são substituídas por colágeno tipo I (maduras), proporcionando o aumento da força tênsil do tecido (RODRIGUES et al., 2019b). Ao final da restauração tecidual, a cicatriz terá até 80% de resistência a tração em comparação ao tecido original (WILKINSON; HARDMAN,

2020),

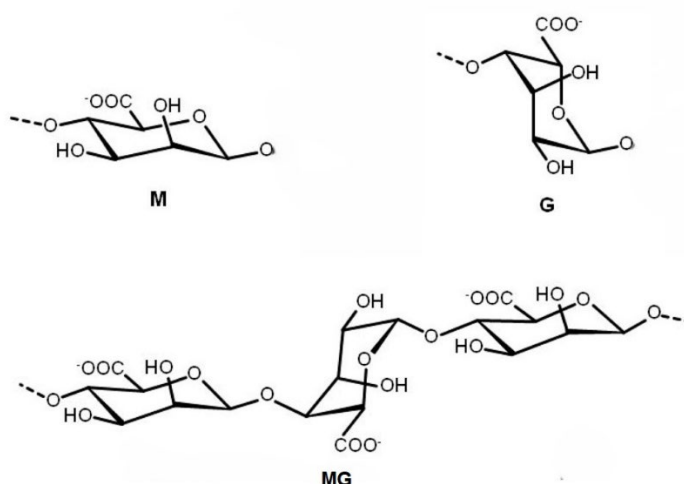
3.3 Biopolímeros e suas propriedades

3.3.1 Alginato

O Alginato é um polissacarídeo aniônico extraído da parede celular de algas marrons das espécies, *Laminaria hyperborean*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*, no estado de sal sódico do ácido algínico (VARAPRASAD et al., 2020). É classificado como um composto atóxico, biocompatível, de baixo custo, biodegradável, acessível e com alta capacidade de absorção (GUNES; ZIYLAN ALBAYRAK, 2021).

É um copolímero linear formado por dois monômeros, o ácido β -D-manurônico (M) e o ácido α -L-gulurônico (G), unidos por ligações glicosídicas 1,4, onde os monômeros estão distribuídos em proporções e arranjos variados, como mostra a Figura 2 (SEVERINO et al., 2019). As características físico-químicas do alginato obedecem a disposição e proporção da sequência monomérica, dos quais varia entre as espécies de algas marrons. A estrutura molecular do alginato apresenta numerosos grupos hidroxilas (-OH) e carboxila (-COOH) livres, possibilitando a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares (CAO et al., 2020)

Figura 2 – Estrutura química do alginato. Bloco M (ácido β -D-manurônico), Bloco G (ácido α -L-gulurônico) e Blocos 1,4 M-G.

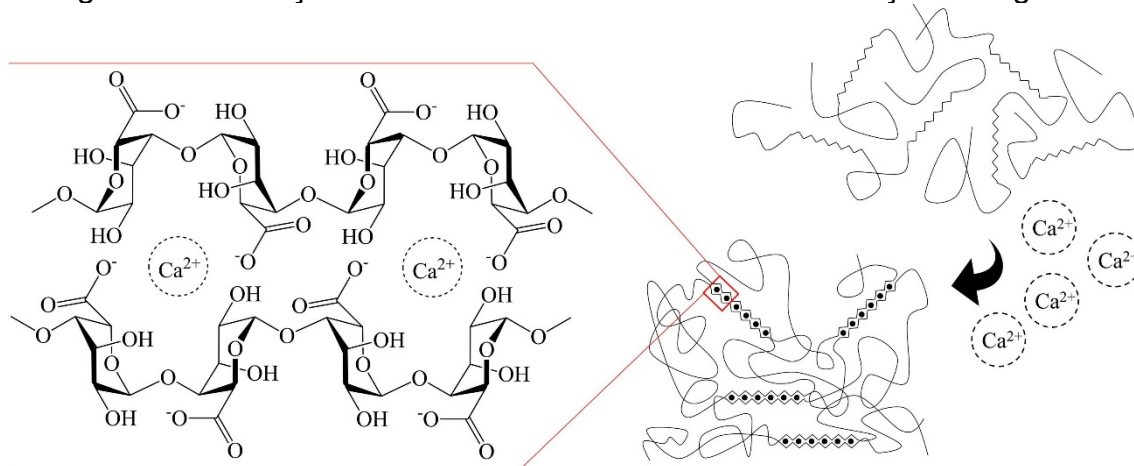


Fonte: (LEE; MOONEY, 2012) adaptado.

Esse biopolímero tem a capacidade formar um gel pelo processo de reticulação, quando exposto a cátions bivalentes, como Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} e Sr^{2+} , onde

os grupos hidroxilas e carboxilas presentes nos resíduos de ácido α -L-gulurônico e β -D-manurônico formam ligações cruzadas, criando uma malha tridimensional, levando a uma estrutura de “caixa de ovo” como pode ser observado na Figura 3 (DODERO et al., 2021; GUNES; ZIYLAN ALBAYRAK, 2021).

Figura 3 – Ilustração do modelo “caixa de ovos” na reticulação do alginato



Fonte: (FERNANDO et al., 2020)

Os atributos excepcionais do alginato, descritos acima, torna-o promissor, podendo ser utilizado como base para criação de curativos biocompatíveis, aumentando a absorção do exsudato de feridas, formando géis e filmes, acelerando o processo de cicatrização e minimizando ou erradicando infecções bacterianas quando incorporado um agente antibiótico (ZHANG; ZHAO, 2020; ZHANG et al., 2023).

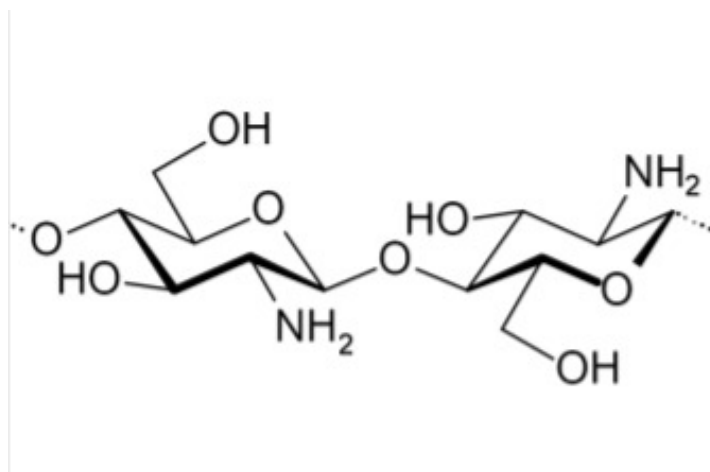
No estudo de MAO e colaboradores (2023) ratos Wistar foram submetidos a uma incisão na região dorsal com 15mm de diâmetro, em seguida foram tratados com filmes a base de alginato e arginina reticulados com íons de zinco. No 7º e 14º dia de tratamento a taxa de fechamento da ferida foi de 80% e 100%, respectivamente. No ensaio da dosagem de citocinas, foram obtidas altas expressões de TGF- β e VEGF, que contribuíram intensamente para formação de uma MEC mais densa, maior angiogênese e organização celular, conforme constatado no histológico (MAO et al., 2023).

3.3.2 Quitosana

A Quitosana é um polissacarídeo obtido através do processo de desacetilação da quitina (TANG et al., 2023). É formada por monômeros de D-glicosamina e N-Acetil-

D-glicosamina unidas por ligação glicosídica $\beta(1\rightarrow4)$, como pode ser observado na figura 4 (BI et al., 2021). O grau de desacetilação é crucial para a organização, distribuição e proporção dos monômeros, influenciando também nas características biológicas, mecânicas e físico-químicas, como solubilidade, transparência, massa molar e atividade antimicrobiana (H. ROLIM et al., 2018).

Figura 4 – Estrutura química da quitosana.



Fonte: (YOUNES; RINAUDO, 2015)

Os grupamentos amino configuram a quitosana como um polieletrólito com carga positiva, facilitando a sua solubilidade em soluções ácidas (ZHANG et al., 2021). Existe uma correlação entre o peso molecular da quitosana e a sua solubilidade, onde a quitosana se torna mais solúvel quando o seu peso molecular diminui (KOU; PETERS; MUCALO, 2022; THOMAS; PIUS; GOPI, 2020).

Se trata de um biopolímero não tóxico, biocompatível, biodegradável, com atividade antimicrobiana, imunorreguladora, hemostática, facilitando a cicatrização de feridas (BENVIDI; NIKMANESH; DEGHAN TEZERJANI, 2022; KE et al., 2021). Assim como o alginato, a quitosana também tem um grande potencial de aplicação, na cicatrização de feridas, liberação controlada de fármacos e indústria alimentícia (WANG et al., 2020). Uma das aplicações mais recorrentes é a elaboração de filmes antibacterianos e cicatrizantes (MATICA et al., 2019).

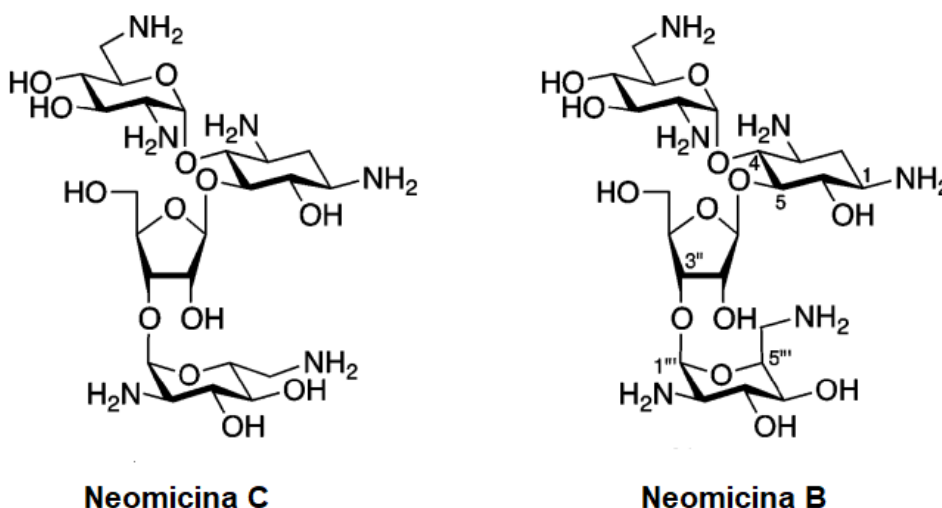
(STEFANOWSKA et al., 2023) desenvolveram filmes a base de quitosana incorporados com cafeína e extrato de própolis. Esses filmes apresentaram atividade antimicrobiana frente a maioria dos microrganismos testados, dando o destaque para o combate à *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, onde o halo de inibição foi de 28mm, 28mm e 27mm, respectivamente.

3.4 Neomicina

A neomicina é um antibiótico de amplo espectro da classe dos aminoglicosídeos, que atua inibindo a subunidade 30s do ribossomo bacteriano, interrompendo a síntese proteica. Essa intervenção desordena o processo de tradução, resultando no efeito bactericida (BANDYOPADHYAY, 2021).

A neomicina é formada pelo conjunto de dois estereoisômeros, neomicina B e neomicina C, como ilustrado na Figura 5. A neomicina B é majoritariamente mais ativa que a neomicina C frente a uma diversidade maior de microrganismos (ZHENG et al., 2020). É efetiva contra bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* e *Proteus vulgaris*) (BERCEA et al., 2023).

Figura 5 – Estereoisômeros: Neomicina C e Neomicina B



Fonte: (KUDO et al., 2014)

O sulfato de neomicina é um complexo antibiótico solúvel em água, empregado em diversas formulações farmacêuticas, incluindo preparações oftálmicas, tópicas, orais e para administração intravenosa (CHOI et al., 2016). É comumente utilizado no tratamento de diversas infecções de pele ou mucosas, como queimaduras, úlceras, ceratites e otite externa, no qual é frequentemente associada com corticoides e antifúngicos (SCHERRER; ABREU; ROCHA, 2023).

A atividade sistêmica é limitada, pois apresenta baixa absorção gastrointestinal, onde cerca de 97% da dose oral não é absorvida, sendo eliminado de forma inalterada pelas fezes. Quando utilizada por via oral apresenta apenas ação local sobre as bactérias intestinais (LIU et al., 2021).

3.5 Lidocaína

A lidocaína é um anestésico do tipo aminoamida, tem utilidade sistêmica e tópica como agente anestésico e analgésico (AGARWAL et al., 2022; WEI et al., 2015; XU et al., 2023). Comercialmente está disponível em formulações de géis, cremes, sprays e emplastos (BAHAR; YOON, 2021). Tem como mecanismo de ação o bloqueio dos canais iônicos na membrana neuronal, impedindo a neurotransmissão do potencial de ação, resultando em uma anestesia local (BARLETTA; REED, 2019).

A lidocaína possui ações antinociceptivas, anti-hiperalgésicas e anti-inflamatórias, e são essas ações, ao invés de um único efeito anestésico local direto, que provavelmente explicam o seu aparente efeito prolongado por horas após o término de uma infusão (CASTRO et al., 2023). Inicialmente as infusões intravenosas de lidocaína estavam sendo utilizadas para fornecer analgesia pós-operatória. Atualmente é utilizada como analgésico perioperatório.(WALL; BUGGY, 2021).

Como uma amina, a lidocaína está em equilíbrio entre um cátion carregado positivamente e uma base livre, lipossolúvel e sem carga. A base livre e sem carga da lidocaína pode penetrar facilmente na matriz lipídica da camada externa da pele (HERMANNNS et al., 2019; KARNINA et al., 2021). A lidocaína tem pKa de 7,9 e condições levemente básicas favorecerão a formação da base livre e aumentarão a penetração (BAKHTIARI et al., 2023). Ao que se refere as suas características organolépticas, trata-se de um sólido estável, cristalino e incolor, cujo sal cloridrato é solúvel em água (BAKHTIARI et al., 2023).

4 METODOLOGIA

4.1 Desenvolvimento dos filmes híbridos de alginato e quitosana

4.1.1 Otimização do processo de formulação

A influência das concentrações de alginato e quitosana na qualidade final dos filmes foi investigada através de um delineamento composto central rotacional (DCCR) com dois fatores, dois níveis e dois pontos axiais (Tabela 1) com 11 experimentos (Tabela 2).

Tabela 1. Níveis codificados e decodificados das variáveis independentes.

Variáveis	- α	-1	0	1	+ α
Concentração de alginato (p/v)	1	1,58	3	4,42	5
Concentração de quitosana (p/v)	1	1,58	3	4,42	5

Soluções filmogênicas de alginato (dissolvido em água destilada) e quitosana (dissolvida em 1% de ácido acético p/v) foram preparadas com uma concentração fixa de 2% glicerol (p/v). Em seguida, os filmes foram fabricados adicionando-se 15 mL da solução de alginato em um Placa de Petri (90x15) que foi imediatamente levada a estufa (37°C por 24 horas). No dia seguinte, a solução de quitosana (15 mL) foi despejada sobre a camada de alginato recém-formada e novamente incubada a 37°C por mais 18 h, até que os filmes híbridos fossem resgatados para análise de qualidade.

A qualidade das 11 formulações produzidas foi avaliada de acordo com um score que aborda diferentes parâmetros: (i) uniformidade; (ii) rachaduras; (iii) presença de bolhas; (iv) desprendimento da placa; (v) transparência, (vi) consistência. Foi utilizada uma pontuação de classificação geral baseada nos seguintes critérios de avaliação: 0 = ausência/ruim; 1 = pouco/ruim; 2 = médio/bom; e 3 = intenso/muito bom (VALE DE MACEDO et al., 2022).

Tabela 2. Influência das concentrações de alginato e quitosana sobre o índice de qualidade dos filmes.

Formulações	Quitosana (g/100 mL)	Alginato (g/100 mL)	Qualidade (pontuação)
1	1,58	1,58	12
2	4,42	1,58	9
3	1,58	4,42	6
4	4,42	4,42	7

5	1	3	10
6	5	3	7
7	3	1	7
8	3	5	3
9	3	3	7
10	3	3	7
11	3	3	7

4.1.2 Incorporação de agentes farmacológicos

A formulação de maior qualidade foi selecionada para incorporação de um agente antimicrobiano (neomicina 1 mg/mL) e um agente anestésico (lidocaína 10 mg/mL). Estes agentes foram adicionados diretamente a ambas as soluções filmogênicas (alginato e quitosana) e os filmes foram fabricados conforme descrito na seção anterior. Neste sentido, foram fabricados quatro diferentes filmes: Alginato e Quitosana (AQ); Alginato e Quitosana contendo neomicina (AQ+Neo); Alginato e Quitosana contendo lidocaína (AQ+Lido) e; Alginato e Quitosana contendo neomicina e lidocaína (AQ+Neo+Lido).

4.2 Caracterização de filmes híbridos de alginato e quitosana

4.2.1 Avaliação da morfologia e da espessura por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os filmes produzidos foram fixados em *stubs* metálicos com fita dupla-face de carbono e submetidos à análise de microscopia eletrônica de varredura (TM3030, Hitachi, Japão), com operação de elétrons retroespalhados e aceleração de tensão de 15KV. Foram obtidas imagens da superfície superior (1000x) e da seção transversal (250x) de cada filme. Imagens da seção transversal foram utilizadas na mensuração da espessura.

4.2.2 Teor de umidade, rugosidade e inchaço

A umidade dos filmes foi mesurada pela diferença entre a massa dos filmes recém formulados e a massa dos filmes secos a 105 °C por 24 h em estufa a vácuo (Lab-Line, Squaroid, EUA). Foram utilizados filmes contendo 2cm² de área. A umidade foi expressa em percentual após a realização do teste em triplicata para cada formulação. A umidade(%) foi determinada de acordo com a equação:

$$U\% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

Onde: U = umidade (%), m_i = massa inicial da amostra (g), m_f = massa seca (g) (BAZÁN et al., 2023).

A Rugosidade foi determinada por meio de rugosímetro digital (Mitutoyo SJ-201, Japão), ao serem executadas nove leituras para cada grupo. O comprimento de amostragem (cutoff) foi de 4 mm, foram analisados cinco intervalos a uma velocidade de 0,8 mm/s a 0,5 mm/s, a fim de se obter os valores de rugosidade média (RA). Os padrões adotados foram devidamente programados no equipamento antes da realização das medidas.

Para avaliar a capacidade de inchaço, filmes recém formulados (medindo 2 cm de diâmetro) foram imersos em 30 mL de tampão fosfato-salino (PBS) em suporte apropriado para pesagem. As amostras então foram retiradas em intervalos de 60 segundos e pesadas. O grau de intumescimento (%) foi determinado de acordo com a equação:

$$I\% = \frac{m_i - m_f}{m_f} \times 100$$

Onde: I = intumescimento (%), m_i = massa inicial da amostra (g), m_f = massa úmida nos diferentes tempos da amostra (g) (BAZÁN et al., 2023).

4.2.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Análise termogravimétrica (TGA)

Os filmes foram caracterizados por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) em um aparelho Shimadzu IRAffinity-1 FTIR. Os espectros foram registrados na faixa de 400 cm^{-1} a 4.000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} . Para melhorar a relação sinal-ruído, 64 varreduras foram integradas por espectro. A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada usando um instrumento TA Q-5000. O método envolveu o aquecimento da amostra em uma faixa de temperatura de 25 a 600 °C a uma taxa de 10 °C/min em uma atmosfera inerte.

4.2.4 Coloração

A coloração dos filmes foi verificada quantitativamente com auxílio de colorímetro portátil (VITA Easy Shade IV®, EUA) que adota o padrão CIELAB. Em

cada amostra foram mensurados os parâmetros L , a e b , que também foram usados para calcular a tonalidade métrica (Hue), que indica a cor do material; o croma métrico (Cr), relacionado à intensidade da cor, numa escala de 0 a 16; e a diferença de cor em relação a um padrão (ΔE), que foi definido como o filme AQ. Os cálculos foram realizados de acordo com as seguintes equações:

- $Hue = \arctan(b/a)$
- $Cr = \sqrt{a^2 + b^2}$
- $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$

4.3 Biocompatibilidade de filmes híbridos de alginato e quitosana

4.3.1 Efeito de filmes híbridos na integridade da membrana plasmáticas de hemácias

Para o procedimento, alíquotas de uma de solução de sangue a 5% foram colocadas diretamente em contato com os diferentes filmes (AQ, AQ+Neo, AQ+Lido e AQ+Neo+Lido). Uma solução de hemácias preparadas em água destilada foi usada como controle de hemólise total. Após 3 h, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm/5 min para isolar as células integras e o sobrenadante foi medido a 550 nm de absorbância. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de hemólise e calculados a partir da seguinte equação:

$$\text{Hemólise} = \frac{\text{absorbância teste} - \text{absorbância do controle negativo}}{\text{absorbância do controle de hemólise} - \text{absorbância do controle negativo}} \times 100$$

4.4 Efeito antimicrobiano de filmes híbridos de alginato e quitosana

4.4.1 Liberação de Neomicina

A medição da liberação de neomicina dos filmes híbridos foi medida por um ensaio de difusão em ágar usando uma curva padrão de sulfato de neomicina de potência conhecida (1000–6,25 µg/mL). Para o procedimento, os filmes foram imersos em 500 µL de PBS e incubados a 37 °C. Alíquotas de 50 µL foram coletadas em horários específicos (30, 60, 120 e 240 min) e colocadas em ágar MH recém-cultivado com *S. aureus* (VALE DE MACEDO et al., 2022).

4.4.2 Avaliação *in vitro* do efeito antimicrobiano dos filmes híbridos

Uma suspensão recente de *S. aureus* ATCC 6538 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) foi

espalhada ágar Mueller-Hinton (MHA), onde amostras com diâmetro de 8 mm de cada filme (AQ, AQ+Neo, AQ+Lido e AQ+Neo+Lido) foram dispostas pontualmente e fixadas. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 h até que as áreas de inibição (em mm²) fossem medidas.

4.4.2.1 Avaliação do efeito antimicrobiano dos filmes híbridos de alginato e quitosana em modelo *ex vivo* de feridas infectadas

4.4.2.2 Obtenção e desinfecção de pele suína

A pele suína foi coletada em frigorífico regulamentado na cidade de São Luís (Maranhão, São Luís) e armazenada a -20°C até a realização do experimento. A pele descongelada foi dividida em pequenos fragmentos (2 x 2 cm) e submetida ao processo de desinfecção. Para este processo, as peles foram mergulhadas em tubos estéreis contendo álcool etílico 70% (30 minutos), hipoclorito de sódio 0,615% (30 min) e água destilada (30 min). Por fim, as peles foram depois colocadas em placas de Petri estéreis para secagem sob luz ultravioleta (SOUSA et al., 2023).

4.4.2.3 Indução e infecção das feridas

As peles desinfetadas foram estabilizadas no centro da placa de Petri com 0,7 % de agarose estéril. Posteriormente, utilizado um punch (n° 8) uma lesão foi produzida nos fragmentos de pele estabilizados. Para a infecção, 25 µL de um inóculo de *S. aureus* ATCC 6538 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) foram adicionados em cada ferida e as peles foram incubadas a 37°C por 72 h (SOUSA et al., 2023a)

4.4.2.4 Tratamento das feridas

Após o estabelecimento da infecção, uma amostra com diâmetro de 8 mm de cada filme (AQ, AQ+Neo, AQ+Lido e AQ+Neo+Lido) foi aplicada sobre as feridas. Após 24 horas de tratamento os filmes foram retirados com auxílio de uma pinça estéril e a carga de *S. aureus* da ferida foi quantificada (SOUSA et al., 2023a).

4.4.2.5 Quantificação de UFC de *S. aureus* nas feridas *ex vivo*

Para quantificar as UFC, cada ferida recebeu 50 µL de PBS, que foram seguidamente aspirados e descartados. Posteriormente, um *swab* estéril foi introduzido perpendicularmente no leito da ferida e completamente rotacionado em seu próprio eixo por duas vezes. O *swab* foi transferido para um tubo contendo 1 mL de PBS, os tubos foram agitados em vórtex por 1 min para desprendimento das células

bacterianas. Em seguida, 100 μ L de cada suspensão foram diluídos seriadamente e semeados ágar manitol salgado, as placas foram incubadas a 37 ° C por 24 horas para contagem de UFC (SOUSA et al., 2023a).

4.5 Análise estatística

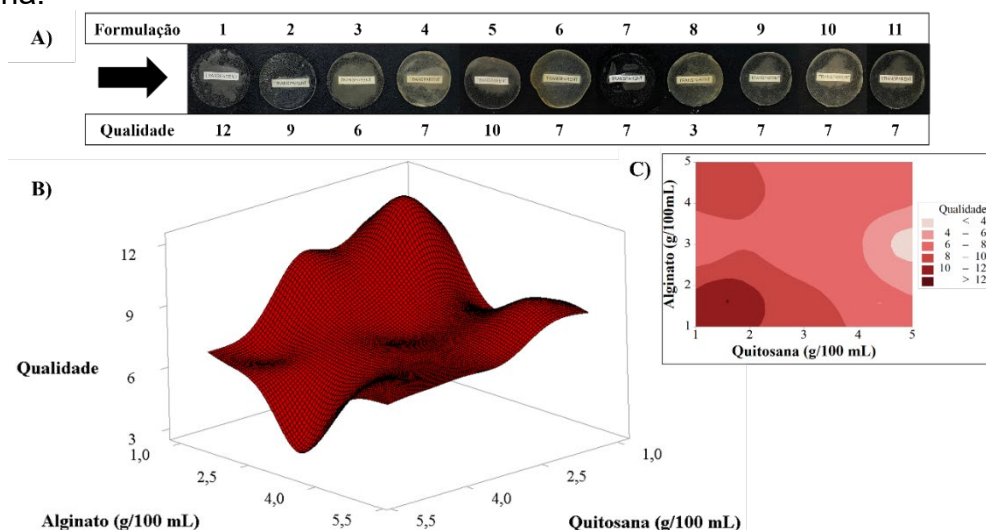
Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média. A avaliação estatística foi realizada utilizando GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). A suposição de distribuição gaussiana dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, e as comparações múltiplas foram testadas pela Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey e Bonferroni. $P < 0,05$ indicou significância estatística.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Otimização do processo de formulação dos filmes híbridos de alginato e quitosana

Baseado no DCCR foram produzidos 11 filmes poliméricos duplos com diferentes concentrações de alginato e quitosana. As formulações foram avaliadas e a soma das pontuações definiu a qualidade final dos filmes gerados (figura 6A). A variação na concentração de cada polímero foi capaz de afetar diretamente as propriedades dos filmes, dessa forma, baixas concentrações associativas resultaram em formulações de maior qualidade (figura 6B e 6C). Portanto, a formulação 1 (1,58 g/100 mL de alginato + 1,58 g/100 mL de quitosana) foi selecionada para testes posteriores.

Figura 6: Avaliação do índice de qualidade filmes híbridos de alginato e quitosana.



A) Aspecto macroscópico dos diferentes filmes gerados; **B)** Superfície resposta relacionada a qualidade dos filmes em função das proporções associativas de alginato e quitosana; **C)** Mapa de contorno relacionado a qualidade dos filmes em função das proporções associativas de alginato e quitosana.

Para a produção dos filmes híbridos, este estudo se beneficiou da interação eletrostática entre as cadeias poliméricas de alginato (polímero polianiónico) e quitosana (polímero policatiônico), que são capazes de se unir e formar uma rede estável para a liberação controlada de agentes farmacológicos (XU et al., 2019). Neste sentido podemos citar a neomicina e a lidocaína, que podem ser associadas a filmes poliméricos e encaminhadas ao tratamento de feridas infectadas, permitindo melhora na sensibilidade cutânea e o controle de infecções (AKASH et al., 2021). A formulação 1 foi incorporada com concentrações fixas de neomicina (1 mg/mL) e lidocaína (10 mg/mL) e submetida a testes de caracterização e de potencial antimicrobiano (*in vitro* e *ex vivo*).

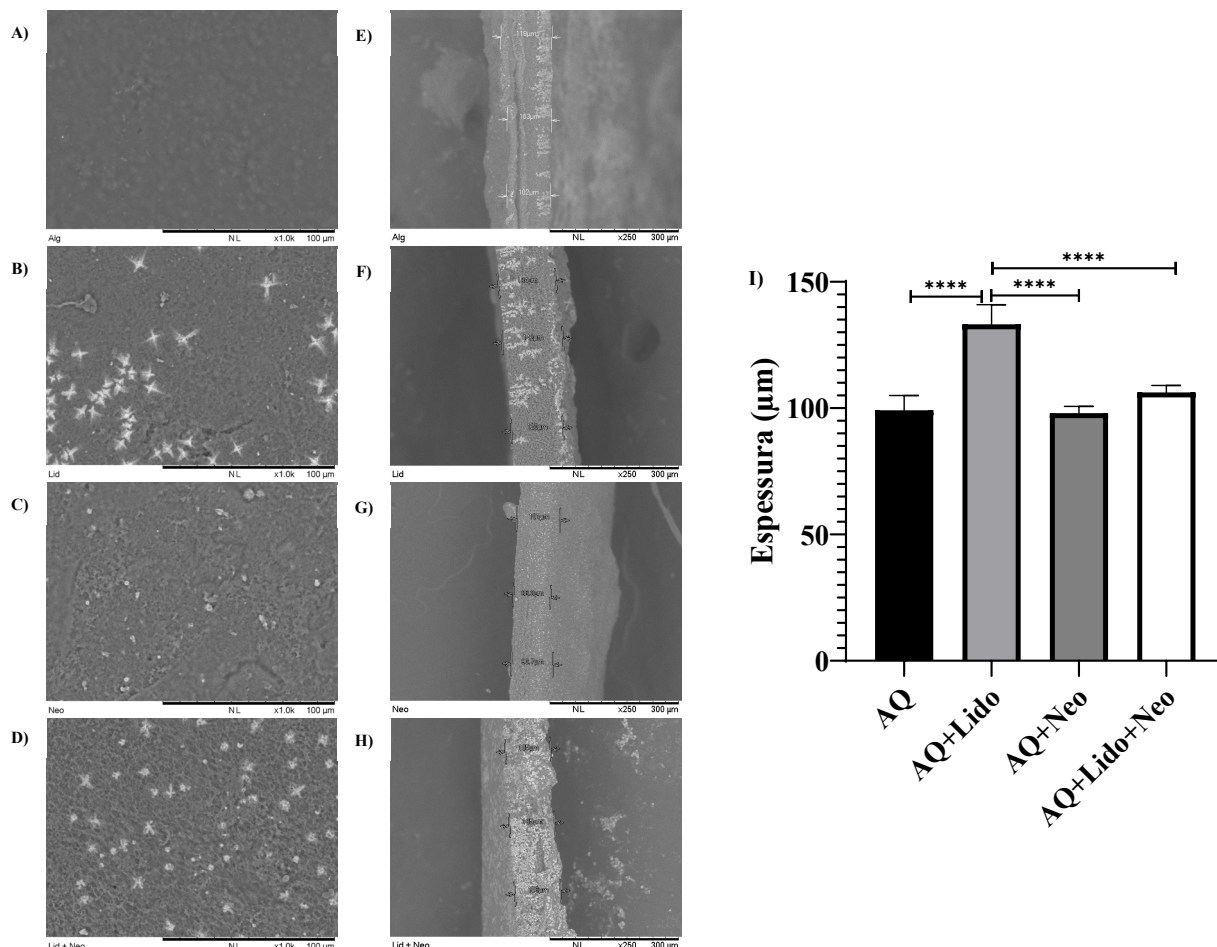
5.2 Caracterização de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e/ou lidocaína

5.2.1 Morfologia, rugosidade, umidade e inchaço

A morfologia superficial dos filmes foi avaliada por MEV em um aumento de 1000x, as imagens obtidas evidenciam diferentes padrões morfológicos para cada amostra analisada. O filme controle (AQ) apresenta superfície homogênea e sem sinais de agentes extrapoliméricos (figura 7A), por outro lado, as demais formulações avaliadas apresentam em sua estrutura indícios de incorporação farmacológica eficaz. Cristais de lidocaína aparecem no filme AQ+Lido (Figura 7B) enquanto grânulos de neomicina estão presentes no filme AQ+Neo (Figura 7C). Cristais de lidocaína e grânulos de neomicina podem ser vistos em conjunto no filme AQ+Lido+Neo (Figura 7D).

Imagens transversais de cada filme também foram obtidas por MEV e são mostradas na figura 7E, 7F, 7G e 7H. Com intuito de avaliar a espessura e encontrar o ponto interfacial entre os dois polímeros, os filmes foram propositalmente registrados em amplitude inferior (250x). As imagens transversais não conseguem evidenciar uma interfase bem delimitada de alginato-quitosana, indicando que embora as camadas poliméricas tenham secado em momentos distintos as soluções filmogênicas formaram uma estrutura híbrida fortemente integrada, como observado em estudos anteriores (AGOSTINI DE MORAES et al., 2013; KLOSTER et al., 2021).

Figura 7: Morfologia e espessura de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina.

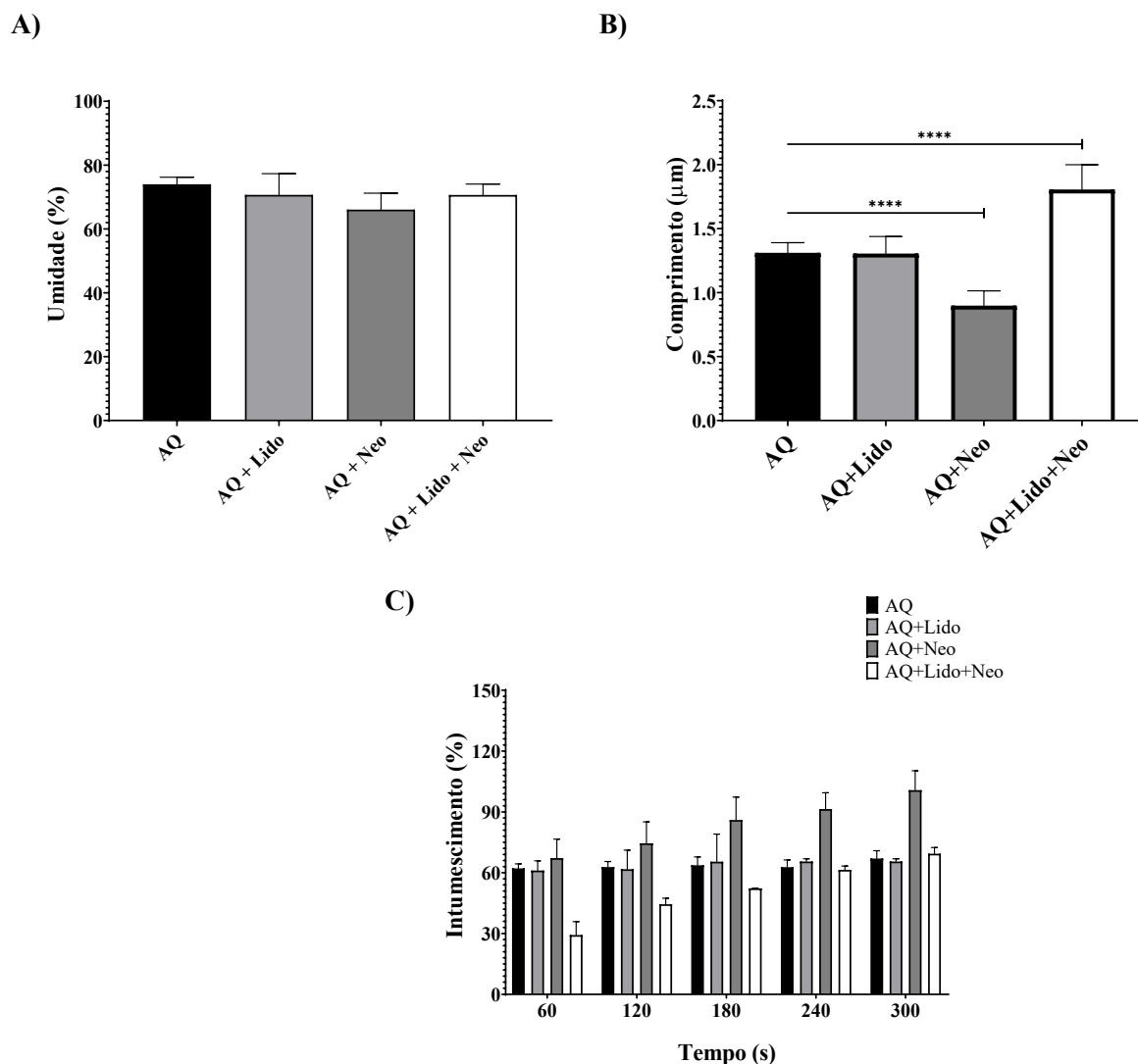


A) Imagem superficial de AQ (1000X); **B)** Imagem superficial de AQ+Lido (1000X); **C)** Imagem superficial de AQ+Neo (1000X); **D)** Imagem superficial de AQ+Lido+Neo (1000X); **E)** Imagem transversal de AQ (250x); **F)** Imagem transversal de AQ+Lido (250x); **G)** Imagem transversal de AQ+Neo (250x); **H)** Imagem transversal de AQ+Lido+Neo (250x); **I)** Espessura de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina. AQ: Filme de alginato e quitosana; AQ+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo lidocaína; AQ+Neo: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina; AQ+Neo+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína. **** indica $p < 0,0001$.

Ainda com auxílios do MEV, as imagens das seções transversais foram usadas para mensurar a espessura dos filmes em diferentes pontos. Os resultados são demonstrados na figura 7I e indicam que a espessura média do filme controle (AQ) gira em torno de $99.1 \pm 5.8 \mu\text{m}$, enquanto os filmes AQ+Neo e AQ+Lido+Neo tem respectivamente $98.0 \pm 2.3 \mu\text{m}$ e $106.2 \pm 2.7 \mu\text{m}$. O filme contendo apenas lidocaína (AQ+Lido) apresentou espessura significativamente superior aos demais ($p < 0,05$). Estudos anteriores já demonstraram que o conteúdo de lidocaína pode impedir uma compactação polimérica adequada, o que afeta tanto a espessura como a resistência

de filmes (AGOSTINI DE MORAES et al., 2013). Curiosamente, o filme contendo neomicina e lidocaína não teve sua espessura modificada.

Figura 8: Caracterização de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina.



A) Percentual de umidade de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina; **B)** Rugosidade de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina; **C)** Percentual de intumescimento de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina; AQ: Filme de alginato e quitosana; AQ+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo lidocaína; AQ+Neo: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina; AQ+Neo+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína. **** indica $p < 0,0001$.

A diferença de peso antes e após exposição a 105 °C mostrou que todos os filmes possuem percentuais de umidade estatisticamente similares (Figura 8A). Já para o parâmetro rugosidade a semelhança só foi notada entre AQ ($1.31 \pm 0,08 \mu\text{m}$) e AQ+Lido ($1.30 \pm 0.13 \mu\text{m}$) ($p > 0,05$). A adição da neomicina diminuiu de forma significativa a rugosidade dos filmes AQ+Neo ($0.89 \pm 0.11 \mu\text{m}$), enquanto a combinação farmacológica em AQ+Lido+Neo aumentou este parâmetro ($1,8 \pm 0.19$

μm) ($p < 0,05$) (Figura 8B). Propriedades relacionadas a melhora na aderência superficial, fixação celular e principalmente na difusão de medicamentos e fluidos favorecem a aplicação de AQ+Lido+Neo no tratamento de feridas (KOUSER et al., 2021; SINGH et al., 2023).

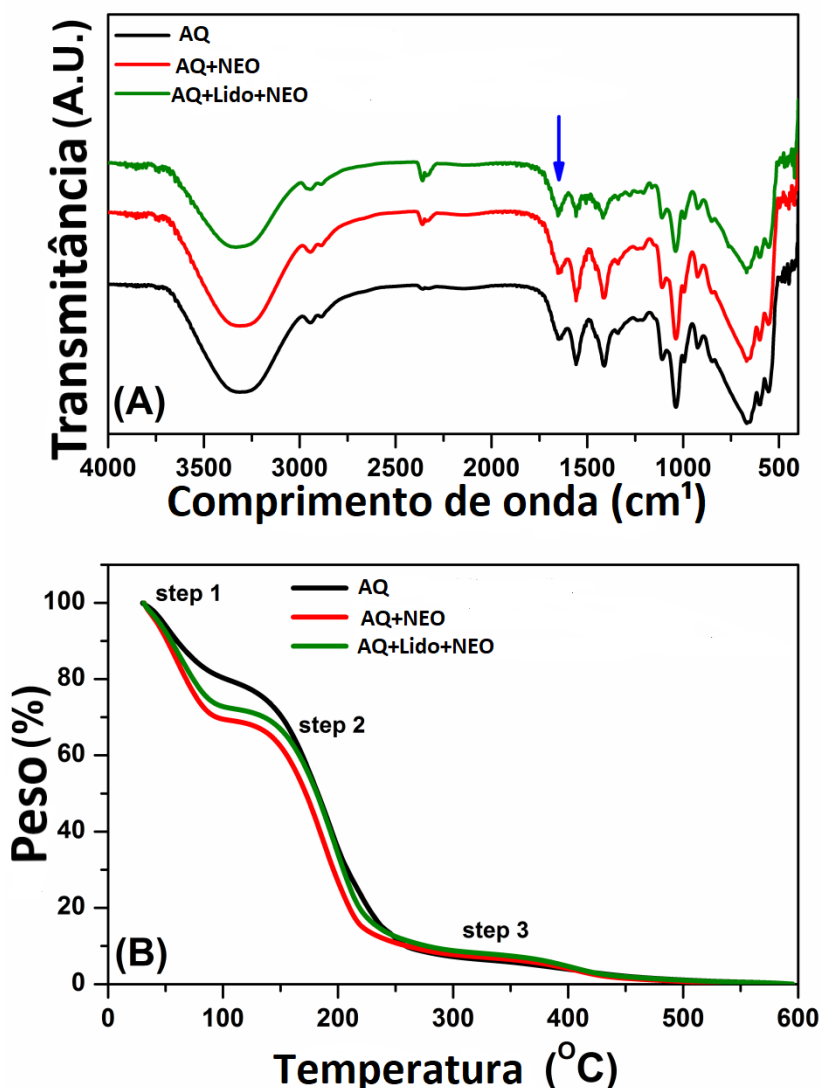
O intumescimento de cada formulação foi investigado por gravimetria, nos diferentes períodos de análise AQ e AQ+Lido conseguiram reter em média 60% do seu próprio peso. Os filmes AQ+Neo e AQ+Lido+Neo tiveram um intumescimento gradativo, absorvendo 100,7% e 69,4% de seu próprio peso após 300s, respectivamente (figura 8C). Em filmes poliméricos de aplicação tópica a análise de intumescimento é indispensável, pois reflete a capacidade do curativo em controlar os níveis de exsudato nas feridas, um dos caminhos para a cicatrização (BERNARDES et al., 2021). Matrizes poliméricas a base de alginato e quitosana geralmente estão associadas a boas capacidades de intumescimento, fato relacionado principalmente a forte interação entre a água e os grupos carboxila presentes na estrutura do alginato (MONTEIRO et al., 2024).

5.2.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Análise termogravimétrica (TGA)

Os espectros de FTIR foram registrados para o filme híbrido de alginato-quitosana e para filmes híbridos contendo neomicina ou neomicina e lidocaína. Todos os espectros são comparados na Figura 9A. O espectro FTIR do filme de alginato-quitosana é característico de um polissacarídeo. Uma banda larga entre 3.300 cm^{-1} e 3.400 cm^{-1} indica a presença de grupos hidroxila (OH) abundantes e vibrações de estiramento N-H (BHATIA et al., 2023).

Estiramentos aromáticos C-H são evidentes em torno de 3.000 cm^{-1} . A presença de grupos amina (NH_2) é confirmada por um pico em torno de 1.650 cm^{-1} (VIDMAR et al., 2023; WANG et al., 2024). Os picos de impressão digital entre 1.300 e 1.000 cm^{-1} correspondem ao estiramento C-O e C-N na estrutura do açúcar. Picos em torno de 1.600 e 1.400 cm^{-1} correspondem a vibrações de estiramento em grupos carboxilato (COO^-). Além disso, bandas entre 1.100 e 1.000 cm^{-1} revelam estiramento C-O-C nos anéis de açúcar (KONDAVEETI et al., 2018).

Figura 9: Análise da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Termogravimetria (TGA).



A) Análise da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier. B) Análise Termogravimétrica.

Após comparação cuidadosa, os espectros de FTIR dos filmes de alginato-quitosana-neomicina e alginato-quitosana-neomicina-lidocaína mostram um aumento adicional no pico em 1.653 cm⁻¹ (indicado pela seta azul na Figura 9A). Este pico corresponde à vibração de alongamento da carbonila (C = O) na banda amida I dos fármacos (neomicina e lidocaína) (SILVA et al., 2024). Estes resultados sugerem fortemente a formação de ligações de hidrogénio intermoleculares entre os ativos e o filme de alginato-quitosana, indicando a incorporação bem sucedida dos fármacos no filme híbrido.

A Figura 9B mostra os perfis de TGA para o filme híbrido de alginato-quitosana e para filmes híbridos contendo neomicina ou neomicina e lidocaína. Todos os perfis

TGA exibem um padrão de perda de peso em três etapas muito semelhante. Na primeira etapa (25 oC a 100 oC), aproximadamente 30% do peso é perdido devido à evaporação da água adsorvida. A segunda etapa (100 oC a 250 oC) envolve a decomposição térmica dos filmes híbridos, resultando em uma perda total de peso de cerca de 90%. Por fim, a terceira etapa (acima de 250 oC) corresponde à combustão do material residual. Como a neomicina e a lidocaína são consideradas compostos termoestáveis, os perfis semelhantes de TGA observados para todas as três amostras, juntamente com a análise FTIR, sugerem que a cristalinidade, a reticulação e a estabilidade química são preservadas após a incorporação dos antibióticos nos filmes híbridos.

5.2.3 Coloração

A coloração dos filmes foi mesurada quantitativamente com base no sistema CEILAB, foram avaliados os parâmetros “L” que tem variação de 0 (preto) a 100 (branco), “a” que tem variação de -60 (verde) a +60 (vermelho) e “b” que tem variação de -60 (azul) a +60 (amarelo). Os resultados não indicaram variações significativas entre as amostras analisadas, porém, o filme controle (AQ) apresentou luminosidade (L) ligeiramente superior aos demais, além disso, a adição dos fármacos tornou as formulações mais avermelhadas em relação ao controle (AQ) (tabela 3).

Tabela 3. Análise dos parâmetros de coloração dos diferentes filmes formulados.

Filmes	L	A	B	Hue	Croma	ΔE
AQ	71,56 $\pm$ 2,27 ^a	9,1 $\pm$ 0,65 ^a	22,20 $\pm$ 0,90 ^a	1,19 $\pm$ 0,03 ^a	23,90 $\pm$ 1,09 ^a	-
AQ+Lido	70,92 $\pm$ 0,56 ^a	9,94 $\pm$ 0,38 ^a	23,08 $\pm$ 0,90 ^a	1,16 $\pm$ 0,01 ^a	24,81 $\pm$ 0,90 ^a	2,01 $\pm$ 1,06 ^a
AQ+Neo	69,32 $\pm$ 1,32 ^a	9,58 $\pm$ 0,51 ^a	22,78 $\pm$ 0,72 ^a	1,17 $\pm$ 0,02 ^a	24,72 $\pm$ 0,80 ^a	2,44 $\pm$ 0,49 ^a
AQ+Lido+Neo	70,24 $\pm$ 1,60 ^a	9,36 $\pm$ 0,29 ^a	21,75 $\pm$ 0,44 ^a	1,16 $\pm$ 0,01 ^a	23,45 $\pm$ 0,70 ^a	1,70 $\pm$ 0,57 ^a

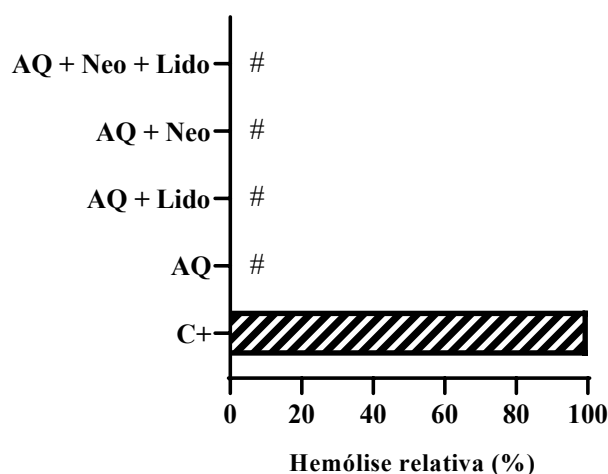
L: luminosidade; a e b: índices de cor; Hue: tonalidade métrica; Croma: croma métrico; ΔE : diferença de cor em relação ao filme controle (AQ). AQ: Filme de alginato e quitosana; AQ+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo lidocaína; AQ+Neo: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina; AQ+Neo+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína.

Os dados gerados no sistema CIELAB foram utilizados para mensurar Hue (indica a cor) e croma (indica intensidade da cor 0-16), diferenças significativas também não foram encontradas entre as formulações (tabela 3). Por fim, a coloração de cada filme foi comparada com o controle (AQ) e os resultados indicaram variações sutis após a incorporação farmacológica, com valores médios de ΔE girando em torno de $2,05 \pm 0,72$ (tabela 3). Dessa forma, as diferenças colorimétricas entre os filmes foram praticamente imperceptíveis, pois o olho humano é incapaz de diferenciar duas cores que possuem ΔE inferior a 2,0 (MCGRATH; BECK; HILL, 2017).

5.3 Biocompatibilidade de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e/ou lidocaína

A biocompatibilidade de novos curativos deve ser investigada para garantir a segurança na utilização do produto, neste sentido, o perfil citotóxico dos filmes foi buscado pelo ensaio de hemólise (THANKA RAJAN; SUBRAMANIAN; AROCKIARAJAN, 2022). Os resultados não demonstraram ruptura na membrana de hemácias que entraram em contato direto com os filmes, como pode ser visto na figura 10. Com base em padrões anteriormente estabelecidos, produtos que possuem percentual de hemólise inferior a 5% podem ser considerados biocompatíveis, dessa maneira, os resultados obtidos atestam a segurança biológica das diferentes formulações testadas (GHAHREMANI-NASAB et al., 2023; LI et al., 2024; SALEEM et al., 2023).

Figura 10: Hemólise relativa de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina.



AQ: Filme de alginato e quitosana; AQ+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo lidocaína; AQ+Neo: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina; AQ+Neo+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína. # indica ausência de hemólise.

5.4 Potencial antimicrobiano de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e/ou lidocaína

A atividade dos filmes contra *S. aureus* foi determinada por difusão em ágar e os resultados estão expressos na tabela 4, nota-se que AQ e AQ+Lido não exerceram inibição bacteriana. Este padrão era esperado, pois apesar de relatos sobre o potencial antimicrobiano da quitosana, os valores utilizados na fabricação dos filmes foram inferiores a mínima concentração inibitória. De maneira semelhante a lidocaína, que teve seu efeito anti-*Staphylococcus* spp recentemente abordado em uma revisão sistemática e as concentrações inibitórias, apesar de variadas, foram superiores as utilizadas neste estudo (BARRETO BELLUSCI et al., 2024).

Por outro lado, a concentração de neomicina incorporada na matriz dos filmes causou forte antagonismo contra *S. aureus* e a associação antibiótico-anestésico (AQ+Lido+Neo) aumentou significativamente essa inibição ($p < 0,05$). Embora o sinergismo entre lidocaína e neomicina não tenha sido o foco deste estudo, a associação destes fármacos no interior da formulação potencializou as ações antimicrobianas do produto, destacando-o para o combate de infecções tópicas. De fato, a combinação da lidocaína com agentes antimicrobianos parece melhorar a inibição de fungos e bactérias, porém uma explicação clara dos mecanismos envolvidos nesta ação ainda é uma lacuna (RAZAVI; FAZLY BAZZAZ, 2019; RODRIGUES; ARAUJO; PINAVAZ, 2006; TON THAT et al., 2010)

Tabela 4: Potencial antimicrobiano de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina em ensaio de difusão em ágar

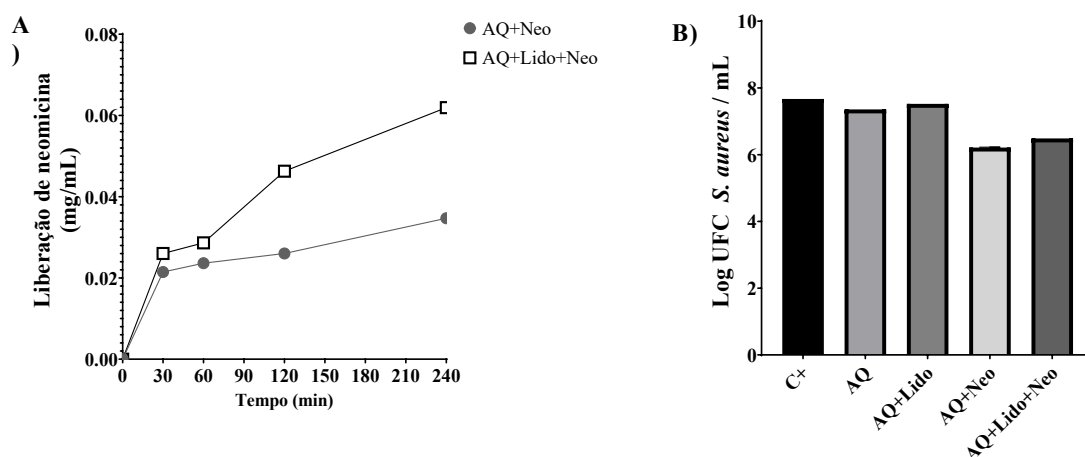
Filmes	Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)
AQ	-
AQ+Lido	-
AQ+Neo	20.66 ± 1,5*
AQ+Lido+Neo	26.16 ± 0.28*

O padrão de liberação do agente antimicrobiano a partir das formulações produzidas foi mensurado 30, 60, 120 e 240 min e uma liberação gradual foi observada (figura 11A). Além disso, a presença da lidocaína parece facilitar a dissociação de neomicina da matriz polimérica dos filmes, fato que pode se relacionar ao aumento da atividade antimicrobiana observado em AQ+Lido+Neo.

O potencial das formulações em combater infecções de ferida foi avaliada através de um modelo de ex vivo em pele suína. Nota-se que os filmes que continham neomicina (AQ+Neo e AQ+Lido+Neo) conseguiram reduzir em mais que 15% o número de UFC de *S. aureus* nas feridas, enquanto AQ e AQ+Lido não exerceram efeitos antimicrobianos (figura 11B), corroborando com os resultados do ensaio *in vitro*.

Embora limitado pela ausência de resposta imune do hospedeiro, o modelo ex vivo de feridas infectadas pode apresentar uma via alternativa para avaliação do potencial antimicrobiano de formulações curativas, permitindo uma análise preliminar da ação do produto em condições clínicas (ANDERSSON et al., 2021; SOUSA et al., 2023; VILA NOVA et al., 2024).

Figura 11: Perfil de liberação e atividade antimicrobiana de filmes híbridos de alginato e quitosana contendo lidocaína e/ou neomicina.



A) Liberação de neomicina a partir dos filmes híbridos de alginato e quitosana; **B)** Efeito da aplicação dos diferentes filmes na carga de bacteriana de feridas infectadas em modelo ex vivo. AQ: Filme de alginato e quitosana; AQ+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo lidocaína; AQ+Neo: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina; AQ+Neo+Lido: Filme de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi possível desenvolver e caracterizar filmes híbridos de alginato e quitosana contendo neomicina e lidocaína. A rugosidade do grupo AQ+Lido+Neo teve como resultado $1,8 \pm 0.19 \mu\text{m}$, uma diferença significativa deste parâmetro em relação aos outros grupos. Os filmes apresentaram teor de umidade, entorno de 70%, já em relação ao intumescimento, os filmes AQ+Neo e AQ+Lido+Neo, conseguiram absorver cerca de 100,7% e 69,4% do seu peso,

respectivamente, após 300s. Ao realizar o MEV, FTIR e TGA foi possível visualizar a composição polissacarídica dos filmes e a incorporação da neomicina e lidocaína.

A hemólise relativa foi nula, considerando os filmes biocompatíveis. Os filmes AQ+Neo e AQ+Lid+Neo demonstraram eficácia no combate frente *S. aureus* no, onde apresentaram as respectivas áreas de inibição, $20,66 \pm 1,5\text{mm}$ e $26,16 \pm 0,28\text{mm}$. Ao que se refere ao padrão de liberação da neomicina, nos filmes AQ+Lido+Neo a presença da lidocaína facilitou a liberação de neomicina no meio, já no *ex-vivo* Os filmes AQ+Neo e AQ+Lid+Neo reduziram em 15% a unidades formadoras de colônias.

Dessa forma, os filmes produzidos neste trabalho possuem um grande potencial para tratar feridas contaminadas, uma vez que apresentaram biocompatibilidade, atoxicidade, atividade antibiótica e grande capacidade de absorver líquidos. Entretanto, ainda é necessário a realização de futuros ensaios clínicos para a validação dos resultados obtidos em condições *in-vitro* e *ex-vivo*, a fim de explorar as possíveis otimizações de suas propriedades terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, P. et al. Exploiting hydrogen bonding to enhance lidocaine loading and stability in a poly ethylene-co-vinyl acetate carrier matrix. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 621, p. 121819, jun. 2022.
- AGOSTINI DE MORAES, M. et al. Chitosan and alginate biopolymer membranes for remediation of contaminated water with herbicides. **Journal of environmental management**, v. 131, p. 222–7, 15 dez. 2013.
- AKASH, S. Z. et al. Remote Temperature-Responsive Parafilm Dermal Patch for On-Demand Topical Drug Delivery. **Micromachines**, v. 12, n. 8, 18 ago. 2021.
- ALMAJIDI, Y. Q. et al. Chitosan-based nanofibrous scaffolds for biomedical and pharmaceutical applications: A comprehensive review. **International journal of biological macromolecules**, v. 264, n. Pt 2, p. 130683, abr. 2024.
- ANDERSSON, M. Å. et al. Development of an Experimental Ex Vivo Wound Model to Evaluate Antimicrobial Efficacy of Topical Formulations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 5045, 10 maio 2021.
- BAHAR, E.; YOON, H. Lidocaine: A Local Anesthetic, Its Adverse Effects and Management. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 57, n. 8, 30 jul. 2021.
- BAKHTIARI, S. E. et al. Amorphous solid dispersions of lidocaine and lidocaine HCl produced by ball milling with well-defined RAFT-synthesised methacrylic acid polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 644, p. 123291, set. 2023.
- BANDYOPADHYAY, D. Topical antibacterials in dermatology. **Indian Journal of Dermatology**, v. 66, n. 2, p. 117, 2021.
- BARLETTA, M.; REED, R. Local Anesthetics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 49, n. 6, p. 1109–1125, nov. 2019.
- BARON, J. M.; GLATZ, M.; PROKSCH, E. Optimal Support of Wound Healing: New Insights. **Dermatology**, v. 236, n. 6, p. 593–600, 2020.
- BARRETO BELLUSCI, H. et al. Local anesthetics as a tool for Staphylococcus spp. control: a systematic review. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 55, n. 2, p. 1427–1435, jun. 2024.
- BAZÁN, J. M. N. et al. Development and characterization of alginate-derived bioadhesive films incorporated with anti-infective lectins for application in the treatment of oral candidiasis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 90, p. 105114, dez. 2023.
- BENVIDI, A.; NIKMANESH, M.; DEGHAN TEZERJANI, M. Graphene oxide/chitosan based impedimetric aptasensor along with an ester linker for the detection of tetracycline. **Journal of Nanostructures**, v. 12, n. 1, p. 213–223, 2022.
- BERCEA, M. et al. Hybrid Hydrogels for Neomycin Delivery: Synergistic Effects of Natural/Synthetic Polymers and Proteins. **Polymers**, v. 15, n. 3, 26 jan. 2023.

BERNARDES, B. G. et al. Bioaerogels: Promising Nanostructured Materials in Fluid Management, Healing and Regeneration of Wounds. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3834, 23 jun. 2021.

BERNARDO, A. F. C.; SANTOS, K. DOS; SILVA, D. P. DA. Pele: alterações anatômicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. **Revista Saúde em foco**, v. 1, n. 11, p. 1221–1233, 2019.

BHARTIYA, P. et al. Influence of Redox Stress on Crosstalk between Fibroblasts and Keratinocytes. **Biology**, v. 10, n. 12, 16 dez. 2021.

BHATIA, S. et al. Physicochemical Characterization and Antioxidant Properties of Chitosan and Sodium Alginate Based Films Incorporated with Ficus Extract. **Polymers**, v. 15, n. 5, 28 fev. 2023.

BI, S. et al. Homogeneous modification of chitin and chitosan based on an alkali/urea soluble system and their applications in biomedical engineering. **Green Chemistry**, v. 23, n. 23, p. 9318–9333, 2021.

BRITO, K. Q. D.; ALMEIDA, L. A. L. Qualidade de vida de pessoas com feridas crônicas e a atuação do enfermeiro. **Revista de Enfermagem e Atenção à Saúde**, v. 12, n. 2, 2023.

CAO, L. et al. Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 242, p. 116389, ago. 2020.

CASTRO, I. et al. Systemic Anti-Inflammatory Effects of Intravenous Lidocaine in Surgical Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of clinical medicine**, v. 12, n. 11, 31 maio 2023.

CESTARI, S. Noções de anatomia e histologia da pele. **Dermatologia Pediátrica São Paulo**, 2018.

CHOI, J. S. et al. Novel neomycin sulfate-loaded hydrogel dressing with enhanced physical dressing properties and wound-curing effect. **Drug Delivery**, v. 23, n. 8, p. 2806–2812, 12 out. 2016.

DALLO, M.; PATEL, K.; HEBERT, A. A. Topical Antibiotic Treatment in Dermatology. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 2, 17 jan. 2023.

DE ANDRADE RIBEIRO, M. J. **ASPECTOS NUTRICIONAIS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE LESÃO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**. DE ANDRADE RIBEIRO: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, 27 jun. 2020.

DE CASTRO, T. E. W.; GARCIA, V. DE P.; GASQUES, L. S. POR TRÁS DA LEPTINA: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. p. 4833–4849, p. 1–17, 24 jul. 2023.

DODERO, A. et al. Effect of sodium alginate molecular structure on electrospun membrane cell adhesion. **Materials Science and Engineering: C**, v. 124, p. 112067, maio 2021.

DYRING-ANDERSEN, B. et al. Spatially and cell-type resolved quantitative proteomic atlas of healthy human skin. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 5587, 5 nov. 2020.

FALCONE, M. et al. Challenges in the management of chronic wound infections. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 26, p. 140–147, set. 2021.

FEARNS, N. et al. Placing the patient at the centre of chronic wound care: A qualitative evidence synthesis. **Journal of Tissue Viability**, v. 26, n. 4, p. 254–259, nov. 2017.

FEITOSA, R. A.; DA SILVA, T. B. F. Bioestimuladores de Colágeno no Tratamento da Flacidez Facial. **Atas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753)**, v. 11, n. 4, 2023.

FERNANDO, I. P. S. et al. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 391, p. 123823, jul. 2020.

GALDINO JÚNIOR, H. et al. PROCESSO DE ENFERMAGEM NA ASSISTÊNCIA A PACIENTES COM FERIDAS EM CICATRIZAÇÃO POR SEGUNDA INTENÇÃO. **Cogitare Enfermagem**, v. 23, n. 4, 7 nov. 2018.

GHAHREMANI-NASAB, M. et al. Synergistic effect of chitosan-alginate composite hydrogel enriched with ascorbic acid and alpha-tocopherol under hypoxic conditions on the behavior of mesenchymal stem cells for wound healing. **Stem cell research & therapy**, v. 14, n. 1, p. 326, 13 nov. 2023.

GUNES, O. C.; ZIYLAN ALBAYRAK, A. Antibacterial Polypeptide nisin containing cotton modified hydrogel composite wound dressings. **Polymer Bulletin**, v. 78, n. 11, p. 6409–6428, 23 nov. 2021.

H. ROLIM, A. E. et al. Chitosan Scaffolds - Physico -Chemical and Biological Properties for Bone Repair. **Revista Virtual de Química**, p. 211–228, 2018.

HABIBI, S. et al. A bilayer mupirocin/bupivacaine-loaded wound dressing based on chitosan/poly (vinyl alcohol) nanofibrous mat: Preparation, characterization, and controlled drug release. **International journal of biological macromolecules**, v. 240, p. 124399, 15 jun. 2023.

HERMANNNS, H. et al. Molecular mechanisms of action of systemic lidocaine in acute and chronic pain: a narrative review. **British Journal of Anaesthesia**, v. 123, n. 3, p. 335–349, set. 2019.

JOHNER, K.; NETO, C. F. G. Análise dos fatores de risco para o envelhecimento da pele: aspectos nutricionais / Analysis of risk factors for skin aging: nutritional aspects. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 10000–10018, 7 maio 2021.

KARNINA, R. et al. Molecular mechanisms of lidocaine. **Annals of medicine and surgery (2012)**, v. 69, p. 102733, set. 2021a.

KARNINA, R. et al. Molecular mechanisms of lidocaine. **Annals of Medicine & Surgery**, v. 69, set. 2021b.

KE, C.-L. et al. Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. **Polymers**, v. 13, n. 6, p. 904, 15 mar. 2021.

KIM, S. Y.; NAIR, M. G. Macrophages in wound healing: activation and plasticity. **Immunology & Cell Biology**, v. 97, n. 3, p. 258–267, 11 mar. 2019.

KIMURA, S.; TSUJI, T. Mechanical and Immunological Regulation in Wound Healing and Skin Reconstruction. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 11, 22 maio 2021.

KLOSTER, G. A. et al. Design of super-paramagnetic bilayer films based on chitosan and sodium alginate. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 2, p. 100083, dez. 2021.

KOMI, D. E. A.; KHOMTCHOUK, K.; SANTA MARIA, P. L. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 58, n. 3, p. 298–312, 7 jun. 2020.

KONDAVEETI, S. et al. Microbicidal gentamicin-alginate hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 159–167, abr. 2018.

KORDESTANI, S. S. **Atlas Wound Heal. A Tissue Regen.** 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2019.

KOU, S. (GABRIEL); PETERS, L.; MUCALO, M. Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms. **Carbohydrate Polymers**, v. 282, p. 119132, abr. 2022.

KOUSER, S. et al. Poly (caprolactone)/sodium-alginate-functionalized halloysite clay nanotube nanocomposites: Potent biocompatible materials for wound healing applications. **International journal of pharmaceutics**, v. 607, p. 121048, 25 set. 2021.

KUDO, F. et al. Characterization of a Radical S -Adenosyl- <scp>I</scp>-methionine Epimerase, NeoN, in the Last Step of Neomycin B Biosynthesis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 39, p. 13909–13915, 1 out. 2014.

LANDÉN, N. X.; LI, D.; STÅHLE, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 20, p. 3861–3885, 14 out. 2016.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: properties and biomedical applications. **Progress in polymer science**, v. 37, n. 1, p. 106–126, jan. 2012.

LEME, K. C. **AÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) NA REGENERAÇÃO TECIDUAL E ANALGESIA: USO COMPASSIVO EM FERIDA DE PÉ DIABÉTICO.** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 29 maio 2023.

LENTSCK, M. H. et al. Qualidade de vida relacionada a aspectos clínicos em pessoas com ferida crônica. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, 2018.

LI, K. et al. Preparation of chitosan-sodium alginate films through layer-by-layer assembly and ferulic acid crosslinking: Film properties, characterization, and formation mechanism. **International journal of biological macromolecules**, v. 122, p. 485–492, 1 fev. 2019.

LI, Q. et al. AgNPs-loaded chitosan/sodium alginate hydrogel film by in-situ green reduction with tannins for enhancing antibacterial activity. **Materials Today Communications**, v. 38, p. 107927, mar. 2024.

LINZ, M. S. et al. Clinical Impact of Staphylococcus aureus Skin and Soft Tissue Infections. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 3, 11 mar. 2023.

LIU, Y. et al. Pharmacokinetics of neomycin sulfate after intravenous and oral administrations in swine. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 44, n. 5, p. 850–853, 24 set. 2021.

MANGELA, T.; MARTINS, A. BENEFÍCIOS DA VITAMINA C NA PELE. **Enciclopédia Biosfera**, v. 18, n. 35, 30 mar. 2021.

MAO, G. et al. Preparation and evaluation of a novel alginate-arginine-zinc ion hydrogel film for skin wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 311, p. 120757, jul. 2023.

MATICA, M. A. et al. Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 23, 24 nov. 2019.

MCGRATH, J. R.; BECK, M.; HILL, M. E. Replicating Red: Analysis of ceramic slip color with CIELAB color data. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 14, p. 432–438, ago. 2017.

MITTAL, M. et al. Neutrophil Activation of Endothelial Cell-Expressed TRPM2 Mediates Transendothelial Neutrophil Migration and Vascular Injury. **Circulation Research**, v. 121, n. 9, p. 1081–1091, 13 out. 2017.

MONTEIRO, R. T. et al. Porous and Dense Alginate/Chitosan Composite Films Loaded with Simvastatin for Dressing Applications. **Coatings**, v. 14, n. 3, p. 278, 25 fev. 2024.

MONY, M. P. et al. An Updated Review of Hypertrophic Scarring. **Cells**, v. 12, n. 5, 21 fev. 2023.

NASCIMENTO, C. M. M. **Impacto na Migração de Queratinócitos por Modulação das Enzimas LOX: Aplicabilidade em Formulações Tópicas Cutâneas**. Lisboa: UNIVERSIDADE LUSÓFONA – Centro Universitário de Lisboa, 2 maio 2023.

NAVARRO-RODRIGUEZ, J. M. et al. Effectiveness of Topical Anesthetics in Pain Management for Dermal Injuries: A Systematic Review. **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 11, 7 jun. 2021.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. **The dynamics of the skin's immune system**. **International Journal of Molecular Sciences** MDPI AG, , 2 abr. 2019.

NOSENKO, M. A.; AMBARYAN, S. G.; DRUTSKAYA, M. S. Proinflammatory Cytokines and Skin Wound Healing in Mice. **Molecular Biology**, v. 53, n. 5, p. 653–664, 18 set. 2019.

OLIVEIRA, D. M. L. et al. Double membrane based on lidocaine-coated polymyxin-alginate nanoparticles for wound healing: In vitro characterization and in vivo tissue repair. **International journal of pharmaceutics**, v. 591, p. 120001, 15 dez. 2020.

OLIVEIRA, A. C. DE et al. Qualidade de vida de pessoas com feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 32, n. 2, p. 194–201, mar. 2019.

OLIVEIRA, M. H. DE. Modelagem matemática da cicatrização de feridas cutâneas com base em modelo biológico em ratos. 2021.

PALAMIN, T. F. N. Feridas crônicas, saber popular e práticas integrativas: revisão sistemática. 2018.

PAWLINA, W. Ross Histologia Texto e Atlas–Correlações com Biologia Celular e Molecular. _____. **Olho**, v. 7, p. 1367–1416, 2021.

PIMENTA, H. E. S. O paciente com lesão cutânea crônica: percepções sobre seu cotidiano. 2023.

PRIYA, S. et al. Exploring polysaccharide-based bio-adhesive topical film as a potential platform for wound dressing application: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 327, p. 121655, 1 mar. 2024.

RAZAVI, B. M.; FAZLY BAZZAZ, B. S. A review and new insights to antimicrobial action of local anesthetics. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 6, p. 991–1002, jun. 2019.

RIBEIRO, M. et al. Hydrogels in Cutaneous Wound Healing: Insights into Characterization, Properties, Formulation and Therapeutic Potential. **Gels (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 3, 8 mar. 2024.

RODRIGUES, A.; ARAUJO, R.; PINAVAZ, C. Interaction of local anaesthetics with other antifungal agents against pathogenic *Aspergillus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 27, n. 4, p. 339–343, abr. 2006.

RODRIGUES, M. et al. Wound Healing: A Cellular Perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665–706, 1 jan. 2019a.

RODRIGUES, M. et al. Wound Healing: A Cellular Perspective. **Physiological reviews**, v. 99, n. 1, p. 665–706, 1 jan. 2019b.

RUSO, J.; FIEGEL, J.; BROGDEN, N. K. Rheological and Drug Delivery Characteristics of Poloxamer-Based Diclofenac Sodium Formulations for Chronic Wound Site Analgesia. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 12, 15 dez. 2020.

SALEEM, A. et al. Biodegradable and hemocompatible alginate/okra hydrogel films with promising stability and biological attributes. **International journal of biological**

macromolecules, v. 245, p. 125532, 1 ago. 2023.

SANCHEZ, M. F. et al. Sustained dual release of ciprofloxacin and lidocaine from ionic exchange responding film based on alginate and hyaluronate for wound healing. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 161, p. 105789, 1 jun. 2021a.

SANCHEZ, M. F. et al. Sustained dual release of ciprofloxacin and lidocaine from ionic exchange responding film based on alginate and hyaluronate for wound healing. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 161, p. 105789, 1 jun. 2021b.

SANTANA, T. F. **Análise da inflamação e estresse oxidativo no processo de cicatrização tecidual após o uso combinado de lipossomas com curcumina em biomembranas de látex natural e ledterapia para regeneração tecidual em portadores de úlcera diabética.** [s.l: s.n.].

SCHERRER, M. A. R.; ABREU, É. P.; ROCHA, V. B. Neomycin: sources of contact and sensitization evaluation in 1162 patients treated at a tertiary service. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 98, n. 4, p. 487–492, jul. 2023.

SEIDI, F. et al. Chitosan-based blends for biomedical applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 183, p. 1818–1850, 31 jul. 2021a.

SEIDI, F. et al. Chitosan-based blends for biomedical applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 183, p. 1818–1850, 31 jul. 2021b.

SEVERINO, P. et al. Alginate Nanoparticles for Drug Delivery and Targeting. **Current Pharmaceutical Design**, v. 25, n. 11, p. 1312–1334, 6 ago. 2019.

SHARMA, A. et al. Burden of Chronic Nonhealing Wounds: An Overview of the Worldwide Humanistic and Economic Burden to the Healthcare System. **The international journal of lower extremity wounds**, p. 15347346241246340, 24 abr. 2024a.

SHARMA, D. et al. Investigations on physiochemical and biomedical properties of Aloe vera - Sterculia gum copolymeric dressings impregnated with antibiotic-anesthetic drugs to enhance wound healing. **International journal of biological macromolecules**, v. 267, n. Pt 2, p. 131363, maio 2024b.

SHOOK, B. A. et al. Myofibroblast proliferation and heterogeneity are supported by macrophages during skin repair. **Science**, v. 362, n. 6417, 23 nov. 2018.

SILVA, L. DOS S. et al. Fabrication and characterization of physically crosslinked alginate/chitosan-based hydrogel loaded with neomycin for the treatment of skin infections caused by *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 271, p. 132577, jun. 2024.

SINGH, B. et al. Design of polysaccharide gum based network copolymeric hydrogels for drug delivery and wound dressing applications. **Medicine in Novel Technology and Devices**, v. 20, p. 100262, dez. 2023.

SOUSA, M. A. D. S. DE et al. Development and Characterization of Hydroxyethyl Cellulose-Based Gels Containing Lactobacilli Strains: Evaluation of Antimicrobial Effects in In Vitro and Ex Vivo Models. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 3, 22 mar. 2023a.

SOUSA, M. A. D. S. DE et al. Development and Characterization of Hydroxyethyl Cellulose-Based Gels Containing Lactobacilli Strains: Evaluation of Antimicrobial Effects in In Vitro and Ex Vivo Models. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 3, 22 mar. 2023b.

STEFANOWSKA, K. et al. Characteristics of Chitosan Films with the Bioactive Substances-Caffeine and Propolis. **Journal of functional biomaterials**, v. 14, n. 7, 9 jul. 2023.

STONE, W. L.; LEAVITT, L.; VARACALLO, M. **Physiology, Growth Factor**. [s.l: s.n.].

TANG, W. et al. Review: Application of chitosan and its derivatives in medical materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 240, p. 124398, jun. 2023.

THANKA RAJAN, S.; SUBRAMANIAN, B.; AROCKIARAJAN, A. A comprehensive review on biocompatible thin films for biomedical application. **Ceramics International**, v. 48, n. 4, p. 4377–4400, fev. 2022.

THOMAS, S.; PIUS, A.; GOPI, S. **Handbook of Chitin and Chitosan: Volume 1: Preparation and Properties**. [s.l.] Elsevier, 2020.

TON THAT, V. et al. **Bioluminescent lux gene biosensors in oral streptococci: Determination of complementary antimicrobial activity of minocycline hydrochloride with the anesthetic lidocaine/prilocaine or the antiseptic chlorhexidine**. [s.l: s.n.].

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano-: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. [s.l.] Artmed Editora, 2016.

VALE DE MACEDO, G. H. R. et al. Development and characterization of alginate-derived crosslinked hydrogel membranes incorporated with ConA and gentamicin for wound dressing applications. **Biochemical Engineering Journal**, v. 187, p. 108664, nov. 2022.

VARAPRASAD, K. et al. Alginate-based composite materials for wound dressing application:A mini review. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, p. 116025, maio 2020.

VIANA DE SOUSA, M. B. et al. Assistência de enfermagem no cuidado de feridas na atenção primária em saúde: revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 48, p. e3303, 12 jun. 2020.

VIDMAR, B. et al. Biodegradation of polysaccharide-based biocomposites with acetylated cellulose nanocrystals, alginate and chitosan in aqueous environment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 252, p. 126433, dez. 2023.

VILA NOVA, B. G. et al. The essential oil of *Melaleuca alternifolia* incorporated into hydrogel induces antimicrobial and anti-inflammatory effects on infected wounds by *Staphylococcus aureus*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 173, p. 116389, abr. 2024.

WALL, T. P.; BUGGY, D. J. Perioperative Intravenous Lidocaine and Metastatic Cancer Recurrence - A Narrative Review. **Frontiers in oncology**, v. 11, p. 688896, 2021.

WANG, C. et al. Macrophage Polarization and Its Role in Liver Disease. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 803037, 14 dez. 2021.

WANG, P.-H. et al. Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n. 2, p. 94–101, fev. 2018.

WANG, S. et al. Preparation and sustained-release of chitosan-alginate bilayer microcapsules containing aromatic compounds with different functional groups. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 271, p. 132663, jun. 2024.

WANG, W. et al. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 2, 12 jan. 2020.

WEI, Y. et al. Masking the Bitter Taste of Injectable Lidocaine HCl Formulation for Dental Procedures. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, n. 2, p. 455–465, 1 abr. 2015.

WILKINSON, H. N.; HARDMAN, M. J. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. **Open Biology**, v. 10, n. 9, 30 set. 2020.

XU, L. et al. Electrostatically Assembled Multilayered Films of Biopolymer Enhanced Nanocapsules for on-Demand Drug Release. **ACS applied bio materials**, v. 2, n. 8, p. 3429–3438, 19 ago. 2019.

XU, Q. et al. Physicochemical Properties and Transdermal Absorption of a Flurbiprofen and Lidocaine Complex in the Non-Crystalline Form. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, 18 jan. 2023.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133–1174, 2 mar. 2015.

YUNNA, C. et al. Macrophage M1/M2 polarization. **European Journal of Pharmacology**, v. 877, p. 173090, 2020.

ZHANG, M.; ZHAO, X. Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 1414–1428, nov. 2020.

ZHANG, X. et al. Emerging chitosan-essential oil films and coatings for food preservation - A review of advances and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 273, p. 118616, dez. 2021.

ZHANG, X. et al. Development, characterization and functional properties of sodium

alginate-based films incorporated with Schisandra chinensis extract-natamycin complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, p. 127435, dez. 2023.

ZHENG, J. et al. Component Optimization of Neomycin Biosynthesis via the Reconstitution of a Combinatorial Mini-Gene-Cluster in *Streptomyces fradiae*. **ACS Synthetic Biology**, v. 9, n. 9, p. 2493–2501, 18 set. 2020.

ZOUBOULIS, C. C. et al. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. **Clinics in Dermatology**, v. 37, n. 4, p. 365–372, jul. 2019.

ŻWIEREŁŁO, W. et al. Burns: Classification, Pathophysiology, and Treatment: A Review. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, 13 fev. 2023.

SÚMULA CURRICULAR (2022 – 2024)

- I Encontro do PPGCB (2022).
- Produção científica: Development and characterization of alginate-derived crosslinked hydrogel membranes incorporated with ConA and gentamicin for wound dressing applications (2022). Link: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108664>.
- II Encontro do PPGCB – Integração com a sociedade (2023).
- Development and characterization of alginate-derived bioadhesive films incorporated with anti-infective lectins for application in the treatment of oral candidiasis (2023). Link: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105114>.