



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GABRYELLA GARCIA GUEDES

**CURATIVOS POLIMÉRICOS CONTENDO CIPROFLOXACINO E UM
COMPLEXO DE INCLUSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* E γ -
CICLODEXTRINA PARA O TRATAMENTO DE ÚLCERAS POR PRESSÃO**

CAMPINA GRANDE

2024

GABRYELLA GARCIA GUEDES

**CURATIVOS POLIMÉRICOS CONTENDO CIPROFLOXACINO E UM
COMPLEXO DE INCLUSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* E γ -
CICLODEXTRINA PARA O TRATAMENTO DE ÚLCERAS POR PRESSÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Desenvolvimento e caracterização de produtos farmacêuticos.

Orientador: Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

Coorientador: Dr. João Augusto Oshiro Júnior

CAMPINA GRANDE

2024

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

G924c Guedes, Gabryella Garcia.

Curativos poliméricos contendo Ciprofloxacino e um complexo de inclusão de óleo essencial de Melaleuca Alternifolia e Y-Ciclodextrina para o tratamento de úlceras por pressão [manuscrito] / Gabryella Garcia Guedes. - 2024.

78 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS."

"Coorientação: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS. "

1. Quitosana. 2. Cicatrização. 3. Complexo de inclusão. 4. Antibacteriano. I. Título

21. ed. CDD 615

GABRYELLA GARCIA GUEDES

CURATIVOS POLIMÉRICOS CONTENDO CIPROFLOXACINO E UM COMPLEXO DE
INCLUSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* E γ -CICLODEXTRINA
PARA O TRATAMENTO DE ÚLCERAS POR PRESSÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica da Universidade Estadual da Paraíba como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

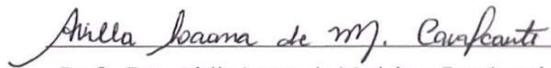
Área de concentração: Desenvolvimento e caracterização de produtos farmacêuticos.

Aprovada em: 20/03/2024.

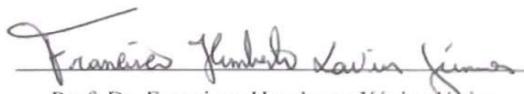
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Airla Laana de Medeiros Cavalcanti
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

AGRADECIMENTOS

Ao meu Pai, o Senhor Deus, por ser a minha fortaleza, meu descanso, meu porto seguro e não me desamparar em momento algum, por me permitir sentir sua presença, em seu filho Jesus e guiar meus passos com seu Santo Espírito.

A minha mãezinha Maria Santíssima, por me acolher e me fazer sentir o seu amor incondicional de mãe.

Aos meus pais, Ivonete Garcia Guedes e Antonio Fernandes Guedes, por todo amor, carinho, preocupação, incentivo e compreensão, sou grata por todo apoio e cuidado nessa caminhada, sendo essenciais para que eu me dedicasse a este trabalho e conquistasse mais esta etapa.

As minhas irmãs Danyelle, Emanuelle e Maria Isabelle, por todo amor, ombro amigo, cumplicidade e sempre estarem ao meu lado, me ouvindo.

Ao meu namorado Anderson Luís, por todo amor, carinho, incentivo, companheirismo, e me lembrar de acreditar no propósito desta jornada por inúmeras vezes.

As minhas amigas e amigos, Gabrielly Louise, Cecilia Martins, Jessica Cordeiro, Vanessa Ataíde, Ana Laura, Leticia Stephanie, Matheus Alves, Janiely Brenda, Ellicy Micaely, Any Farias, Lethycia Barros, Yorrana Araújo, Luana Noblat, Fábio Pachú, Hiam Pinheiro, Milena e Alersson por todo apoio, incentivo, ombro amigo, companheirismo, carinho e por sempre estarem presentes em minha vida, torcendo por mim.

Aos meus sobrinhos do coração, Lara, Letícia, Isaac e Ágatha por serem meu acalento com suas risadas e me proporcionarem tanta alegria.

Ao meu orientador Bolívar Damasceno, por toda compreensão, ensinamentos, e mostrar que é possível e necessário equilibrar a vida acadêmica com a vida fora dos muros da universidade. Muito obrigada.

Ao meu coorientador João Oshiro, por todos os ensinamentos, compreensão, me ouvir e auxiliar, além de tentar descomplicar a rotina da pesquisa. Muito obrigada.

Aos meus amigos e colegas que dividiram comigo diariamente a rotina da pesquisa e laboratório, Lorena, Ana Beatriz, Kamilla, Analara, Jonas, Kaline, Naara, Genil e Karla por cada conversa, apoio e tornarem o dia a dia mais leve.

A equipe VaciNano, Kaline, Bruna, Geilza, Dra. Dayanne, Dr. Geovani, Dr. Bolívar, Dr. Samuel e em especial, minha querida coordenadora Dra. Airlla, pelo convite para participar deste lindo projeto e buscar transpassar o conhecimento científico para além da academia.

A Paulo César e Lidiane, por irem além de receber amostras para análise, ouvindo os desabafos e promoverem risos sinceros, acalmando os alunos da pós.

Aos professores Airlla Laana e Geovani Pereira, membros da banca de qualificação, pelas contribuições ao trabalho.

Aos membros da banca de defesa, Prof. Dr. Francisco Xavier e Prof. Dra. Airlla Laana por aceitarem o convite e por toda a contribuição para a melhoria do trabalho.

Ao Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LABSMAC) da UFCG, Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UFCG e Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) e Central Analítica do Departamento de Farmácia (CAFARM) da UEPB pelo suporte e disponibilidade para a realização das análises.

E finalmente a FAPESQ PB pelo apoio financeiro, incentivo e oportunidade de ser aluna bolsista de pós-graduação sendo essencial para a manutenção da pesquisa.

Meu muito obrigado!

“No amor não existe medo. Pelo contrário, o amor perfeito lança fora todo o medo, porque o medo supõe castigo; e quem sente medo, ainda não se encontra perfeito no amor.”

(João I: 18,4)

RESUMO

Na tentativa de contornar inconvenientes nos procedimentos de tratamento de úlceras por pressão, a utilização de curativos poliméricos tem se mostrado uma alternativa, pois apresentam o caráter biodegradável, que melhora a cicatrização garantindo um processo menos doloroso ao paciente e acelerar o período de cicatrização. O emprego de polímeros como a quitosana, um composto abundante na natureza, que apresenta propriedades de bioadesividade, biocompatibilidade, permeabilidade e atoxicidade, tem se mostrado promissor no desenvolvimento de filmes com finalidade curativa. A esse sistema é possível incorporar ativos que auxiliem o processo de cicatrização e inibam a proliferação de microrganismos oportunistas, como o ciprofloxacino que é um composto antimicrobiano e o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, que tem demonstrado ser uma substância promissora contra bactérias e como agente anti-inflamatório por reduzir a produção de fator de necrose tumoral, interleucinas e prostaglandinas. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi formular um curativo polimérico de quitosana contendo ciprofloxacino e o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* por meio inclusão do óleo essencial em γ -ciclodextrina, dispersos na matriz polimérica. Os complexos foram obtidos por meio do método de co-precipitação e os curativos foram produzidos pelo método de evaporação do solvente. A fim de avaliar a eficácia do complexo de inclusão, a avaliação antimicrobiana foi realizada por meio do teste de microdiluição em placa de 96 poços, posteriormente os curativos foram caracterizados físico-quimicamente por meio de testes como a resistência do dobramento, molhabilidade por ângulo de contato, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), a análise termogravimétrica (TG), difração de raio x (DR-X) e a avaliação do potencial hemolítico das amostras. Os complexos obtidos se apresentaram como pó branco facilmente solúvel em água, apresentaram atividade bactericida e bacteriostática contra cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os curativos obtidos apresentaram um caráter homogêneo translúcido e indicaram a incorporação do complexo de inclusão formado. Na resistência ao dobramento foi possível observar que as amostras que continham menor quantidade de ativo incorporado, sendo 2mg de ciprofloxacino e 3mg do complexo de inclusão, maior a flexibilidade e resistência. A molhabilidade por ângulo de contato indicou que as amostras tinham o caráter hidrofílico. Nos espectros de infravermelho, foram exibidos os grupos funcionais característicos como o alongamento de O-H na faixa de 3586 cm^{-1} comprovando a interação entre o óleo essencial e a ciclodextrina na formação do complexo de inclusão. A análise termogravimétrica apresentou características semelhantes de perda de massa entre as

amostras, e que prevaleceu o perfil relacionado a quitosana isolada. Os difratogramas apresentaram uma diminuição da cristalinidade do ciprofloxacino quando incorporado na matriz polimérica e no teste da taxa de hemólise as amostras apresentaram Hemocompatibilidade. Portanto, todos os dados obtidos permitem sugerir que houve a incorporação do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na matriz polimérica, demonstrando o caráter promissor para avançar no desenvolvimento dessas membranas como uma alternativa inovadora para o tratamento farmacêutico de úlceras por pressão.

Palavras chaves: quitosana; cicatrização; complexo de inclusão; antibacteriano.

ABSTRACT

In an attempt to enhance and address inconveniences in pressure ulcer treatment procedures, the use of polymeric dressings has proven to be an excellent alternative. They possess biodegradable characteristics, ensuring a less painful process for the patient and optimizing the healing period. The employment of polymers such as chitosan, a compound abundant in nature, exhibiting bioadhesive, biocompatible, permeability, and non-toxic properties, has shown promise in the development of films for therapeutic purposes. This system allows for the incorporation of actives aiding the healing process and inhibiting the proliferation of opportunistic microorganisms, such as ciprofloxacin, an antimicrobial compound, and *Melaleuca alternifolia* essential oil, which has shown promise against bacteria and as an anti-inflammatory agent by reducing the production of tumor necrosis factor, interleukins, and prostaglandins. Therefore, the objective of this study was to formulate a chitosan polymeric dressing containing ciprofloxacin and *Melaleuca alternifolia* essential oil through the inclusion of the essential oil in γ -cyclodextrin, dispersed in the polymeric matrix. The complexes were obtained through the co-precipitation method, and the dressings were produced using the solvent evaporation method. To assess the effectiveness of the inclusion complex, antimicrobial evaluation was performed using the microdilution test in a 96-well plate. Subsequently, the dressings were characterized physicochemically through tests such as bending resistance, wetting by contact angle, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TG), X-ray diffraction (XRD), and evaluation of the hemolytic potential of the samples. The obtained complexes appeared as easily soluble white powder in water and exhibited bactericidal and bacteriostatic activity against ATCC strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The obtained dressings showed a homogeneous translucent character, indicating successful incorporation of the inclusion complex formed. Bending resistance indicated that samples containing a lower amount of incorporated active ingredients, specifically 2mg of ciprofloxacin and 3mg of the inclusion complex, exhibited greater flexibility and resistance. Contact angle wetting indicated that the samples had a hydrophilic character. In the infrared spectra, characteristic functional groups were displayed, such as the O-H stretching in the range of 3586 cm^{-1} , confirming the interaction between the essential oil and cyclodextrin in the formation of the inclusion complex. Thermogravimetric analysis showed similar characteristics of mass loss among the samples, with the profile related to isolated chitosan prevailing. X-ray diffractograms demonstrated a decrease in the crystallinity of ciprofloxacin when incorporated into the polymeric matrix, and

in the hemolysis rate test, the samples showed Hemocompatibility. Therefore, all the obtained data suggest the incorporation of *Melaleuca alternifolia* essential oil into the polymeric matrix, demonstrating promising potential for advancing in the development of these membranes as an innovative alternative for the pharmaceutical treatment of pressure ulcers.

Keywords: chitosan; healing; inclusion complex; antibacterial.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - A estrutura multicamadas do tecido da pele humana	19
Figura 2 - Estágios da úlcera por pressão, A (estágio I), B (estágio II), C (estágio III), D (estágio IV), E (injúria tecidual indefinida), F (injúria tecidual profunda).....	22
Figura 3 - Síntese de quitosana a partir da desacetilação da quitina.	27
Figura 4 - Principais ciclodextrinas	30
Figura 5 - Reação de obtenção da γ -ciclodextrina.....	31
Figura 6 - Compostos Majoritários do óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	34
Figura 7 - Ciprofloxacino	36
Figura 8 - Esquema de disposição dos tratamentos na placa de 96 poços.....	41
Figura 9 - Espectro de FTIR do OEMA, γ -CD e OEMA- γ -CD	44
Figura 10 - Esquema de possível interação entre a γ -ciclodextrina e composto terpinen-4-ol.....	45
Figura 11 - Placa de 96 poços com a cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	47
Figura 12 - Placa de 96 poços com a cepa de <i>Escherichia coli</i>	47
Figura 13 - Placa de 96 poços com a cepa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Figura 14 - Imagem das amostras FQTS (A), FOE (B), FQTS-OEMA- γ -CD 1 (C), FQTS-OEMA- γ -CD 2 (D), FQTS-OEMA- γ -CD 3 (E), FQTS-OEMA- γ -CD 4 (F), FQTS-OEMA- γ -CD 5 (G), FQTS-CIPRO 1 (H), FQTS-CIPRO 2 (I), FQTS-CIPRO 3 (J), FQTS-CIPRO 4 (K), FQTS-CIPRO 5 (L), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 1 (M), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 2 (N), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 3 (O), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 4 (P), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD5	50
Figura 15 - Registros fotográficos da amostra FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD (sem fissura) e amostra FQTS-OEMA- γ -CD (com fissura) após 300 dobragens.....	51
Figura 16 - Gráfico com valores referentes à molhabilidade por medida de ângulo de contato das amostras analisadas.	53
Figura 17 - Imagem do ângulo de contato das amostras FQTS, FQTS-OEMA- γ -CD, FQTS-CIPRO e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD.....	54
Figura 18 - Espectros de infravermelho das substâncias isoladas (A), componentes do complexo de inclusão (B), misturas físicas (C) e amostras de curativos (D).....	56
Figura 19 - Curvas termogravimétricas das amostras isoladas	60
Figura 20 - Curvas termogravimétricas das misturas físicas e do complexo de inclusão	61
Figura 21 - Curvas termogravimétricas das amostras dos curativos	62
Figura 22 - Difratoogramas das amostras CIPRO, QTS, γ -CD e OEMA- γ -CD	63

Figura 23 - Difractogramas das amostras FQTS, FQTS-CIPRO, FQTS-OEMA- γ -CD e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD.	64
Figura 24 - Taxa de Hemólise das amostras.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Amostras usadas no estudo.....	39
Tabela 2 - Principais bandas observadas nos espectros de FTIR das amostras.....	56
Tabela 3 - Resultados da decomposição térmica.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAMH	Caldo Ágar Mueller Hinton
CD	Ciclodextrina
CERTIBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
CI	Complexo de Inclusão
GTase	Ciclodextrina Glicosiltransferase
LABDEM	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos
LABSMAC	Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos
LDCPF	Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos
OE	Óleo Essencial
OEMA	Óleo Essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>
UP	Úlcera por pressão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	Pele	18
2.1.1	<i>Epiderme</i>	18
2.1.2	<i>Derme</i>	19
2.1.3	<i>Hipoderme</i>	20
2.2	Úlceras por pressão	20
2.3	Cuidados no tratamento de úlceras por pressão	23
2.4	Curativos	24
2.5	Quitosana.....	26
2.6	Ciclodextrina	29
2.7	Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	32
2.8	Ciprofloxacino.....	35
3	OBJETIVO	37
3.1	Objetivo Geral	37
3.2	Objetivos Específicos	37
4	METODOLOGIA	38
4.1	Materiais.....	38
4.2	Métodos.....	38
4.2.1	<i>Obtenção do complexo de inclusão</i>	38
4.2.2	<i>Desenvolvimento dos curativos</i>	39
4.2.3	<i>Avaliação da atividade antimicrobiana dos complexos de inclusão obtidos por meio do teste de microdiluição em placa de 96 poços</i>	40
4.2.4	<i>Resistência ao dobramento</i>	42
4.2.5	<i>Molhabilidade por ângulo de contato</i>	42
4.2.6	<i>Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier</i>	42
4.2.7	<i>Análise termogravimétrica</i>	42
4.2.8	<i>Difração de Raio-X</i>	43

4.2.9	<i>Avaliação do potencial hemolítico</i>	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	Obtenção do complexo de inclusão.....	44
5.2	Avaliação da atividade antimicrobiana dos complexos de inclusão obtidos por meio do teste de microdiluição em placa de 96 poços	45
5.3	Desenvolvimento dos curativos	49
5.4	Resistência ao dobramento.....	50
5.5	Molhabilidade por ângulo de contato.....	52
5.6	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier.....	54
5.7	Termogravimetria e sua derivada	57
5.8	Difração de Raio-x	62
5.9	Avaliação do potencial hemolítico.....	64
6	CONCLUSÕES	67
7	PERSPECTIVAS	68
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

A úlcera por pressão é caracterizada por uma lesão na pele, resultante da exposição do tecido epitelial a forças de cisalhamento que causam modificações degenerativas. Esse efeito de cisalhamento é recorrente em pessoas que são submetidas a períodos de imobilidade prolongada ou acamadas, como cadeirantes, pacientes entubados, e também em pessoas que perderam sensibilidade ou têm tolerância tecidual reduzida (Challoner et al., 2022). Atualmente, os protocolos de tratamento envolvem curativos específicos para os estágios de cicatrização, presença de infecção bacteriana e presença de exsudato. Nesses procedimentos, são utilizados curativos impregnados com ativos antimicrobianos, xerogéis e espumas absorventes, porém, estes necessitam de remoção, fator que leva a maceração local, causando dor ao paciente e estendendo o período de cicatrização (Machado; Vesel; Dosanjn; Kok., 2022).

Diante disto, o desenvolvimento de um curativo de caráter biodegradável direcionado para este tipo de lesão é de extrema importância, como os curativos poliméricos de quitosana. A quitosana é um composto de fácil obtenção, por meio do processo de desacetilação da quitina, abundante no exoesqueleto de crustáceos e outros frutos do mar. Apresenta propriedades antimicrobianas, analgésicas e coagulantes, promovendo a agregação plaquetária e auxiliando no processo de cicatrização, não apresenta toxicidade e é biocompatível com a pele, sendo degradada por enzimas proteolíticas presentes na pele (Khademian et al., 2020; Rezaei; Sharifianjazi; Esmailkhanian; Salehi., 2021).

A este polímero formador de filme podem ser incorporado diversas substâncias ativas, como o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e o fármaco ciprofloxacino. Este antimicrobiano é um derivado das quinolonas que teve sua atividade antibacteriana otimizada pela a adição da molécula de flúor à sua estrutura. Desse modo, é classificado como um composto pertencente às fluoroquinolonas e seu mecanismo de ação se dá pela interferência na replicação do DNA bacteriano durante a divisão celular. Este fármaco é eficaz principalmente contra bactérias gram-negativas e é prescrito para várias infecções, como do trato geniturinário, gastroenterites e osteomielite. Além disso, é o tratamento preferencial para tratar antraz, uma condição caracterizada por furúnculos causados por infecções estafilocócicas (Mokaber-esfahani et al., 2019).

Já o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, também conhecido como óleo de *tea tree*, é extraído das folhas desta árvore nativa da Austrália. Esse óleo é reconhecido por suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas e anti-inflamatórias. É amplamente utilizado na aromaterapia e em produtos de cuidados pessoais devido à sua capacidade de tratar uma

variedade de condições da pele, incluindo acne, dermatite, infecções bacterianas e fúngicas, e também picadas de insetos. Sua composição inclui terpenos, como terpinen-4-ol e 1,8-cineol, que apresentam atividade anti-inflamatória (Chin; Cordell, 2013; Pazyar et al., 2013; Yadav et al., 2017).

Há na literatura a presença de inúmeros estudos que relatam o desempenho deste óleo essencial com perfil inibitório para diversas bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos como *Candida albicans*. Além disto, os componentes isolados do óleo essencial demonstram ação inibitória para *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes* e *Porphyromonas gingivalis* (Lee et al., 2013; Nogueira et al., 2014; Yadav et al., 2017).

Como os óleos essenciais são compostos lipofílico, necessitam de algum artifício farmacotécnico que permita sua incorporação em uma matriz polimérica hidrofílica, como o uso de ciclodextrinas. Esse excipiente é um oligossacarídeo cíclico resultante do processo de ciclização catalisada pela enzima ciclodextrina glicosiltransferase (GTase) (Saini et al., 2022). Essas moléculas têm a capacidade de dispersar os ativos na matriz do curativo, sendo as ciclodextrinas mais comumente utilizadas α , β e γ -ciclodextrinas. Essa substância, apresenta-se na forma de pó cristalino, não higroscópico e solúvel em água e outros solventes polares. Sua estrutura molecular em forma de "balde" ou "cone" apresenta uma cavidade central característica (Hanbook., 2009; Mota et al, 2009; Liu et al., 2022). Essa conformação permite que a ciclodextrina acomode outras moléculas em seu interior, formando um complexo de inclusão.

Na literatura há diversos relatos que abordam a inclusão de óleos essenciais, como o eugenol (Celebioglu; Uyar, 2021), anis estrelado (Wu *et al.*, 2022) *Melaleuca alternifolia* (Song *et al.*, 2022) e fármacos como sulfadiazina de prata (Souza *et al.*, 2018), liquiritina (Wang *et al.*, 2022), fosinopril (Hnin *et al.*, 2022), bem como a associação de ciclodextrinas com a quitosana (Adel *et al.*, 2019; Souza et al, 2019; Bai *et al.*, 2022).

Diante disto, a formulação de um curativo poliméricos contendo ciprofloxacino e um complexo de inclusão com óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* encapsulada em ciclodextrinas se apresenta como um produto de potencial inovação terapêutica para tratar úlceras por pressão, pois abrange um sistema com propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas, com um material de caráter biocompatível e biodegradável de fácil manuseio e aplicação, que se adapta a área lesionada.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Pele

A pele é um órgão altamente complexo e vital, sendo o maior órgão do corpo humano, com uma área de aproximadamente 1,5 a 2 m² desempenhando funções cruciais como barreira física, química e microbiana (Aneem et al., 2024). Ela é composta principalmente por tecido epitelial mesenquimal, é caracterizada por interações celulares e moleculares que orquestram os processos de renovação e regeneração que ocorrem de maneira constante a fim de manter o equilíbrio dos fluidos e garantir o correto funcionamento do metabolismo interno. Além disso, a pele desempenha papéis fundamentais na termorregulação, no controle hemodinâmico, na manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico, metabolismo energético e como barreira contra agressões físicas (Chambers; Vukmanovic-Stejic, 2020; Zhou et al., 2023).

Este órgão apresenta ainda papel crucial na sensação tátil, permitindo que o corpo perceba o toque, sensações de frio, calor, a pressão, e de defesa como dor. Essa capacidade só é possível graças aos receptores sensoriais presentes em sua superfície que enviam sinais ao cérebro, permitindo a interação com o ambiente ao redor. É importante destacar que todas essas funções estão são regidas por meio da conexão da estruturação histológica da pele que inclui as camadas: a epiderme e derme e anexos, conforme demonstrado na Figura 1 (Kozyreva, 2006; Khiavi; Maerefat; Zolfaghari, 2018).

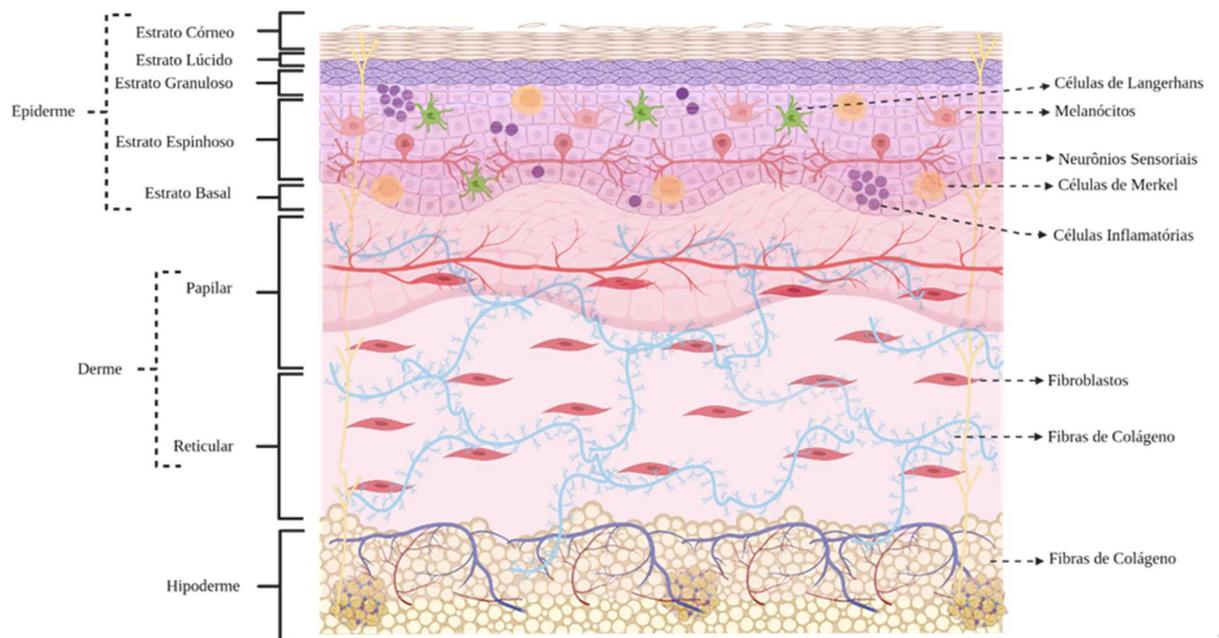
2.1.1 Epiderme

A epiderme é a camada mais superficial da pele e está em constante processo de renovação, o que requer uma regulação precisa da proliferação e diferenciação celular. Composta principalmente por queratinócitos, que representam cerca de 95% de suas células, a epiderme também abriga células como melanócitos, corpúsculos de Langerhans e discos de Merkel, sendo estas derivadas da crista neural (Chavoshnejad; More; Razavi, 2020).

A epiderme é estratificada em cinco camadas, cada uma refletindo o estágio de diferenciação dos queratinócitos. A primeira camada, a mais externa é chamada de estrato córneo e é composta por células mortas, achatadas, desprovidas de núcleo, preenchidas com queratina e envolvidas por uma membrana plasmática cornificada, resultante da reticulação de proteínas solúveis como a involucrina e loricrina. A segunda é a camada lúcida que apresenta células finas e achatadas com o citoplasma repleto de filamentos de queratina, os

tonofilamentos, que são eosinofílicos e translúcidos. A Terceira camada é o estrato granuloso. Ela é formada por células poligonais achatadas de núcleo centralizado e citoplasma basófilo por apresentar grânulos de querato-hialina, possui ainda discos lamelares formados por duplas camadas lipídicas que se unem a membrana celular e depositam lipídeos nos espaços intracelulares, formando assim, uma barreira contra a penetração de substâncias e promovendo a impermeabilização da pele. A quarta camada é a espinhosa, composta por células cubóides e levemente achatadas, que apresentam núcleo centralizado e citoplasma contendo tonofilamentos que se aproximam e se conectam com as células vizinhas através de desmossomos. Esta camada desempenha papel crucial na manutenção da coesão entre as células e na resistência ao atrito. A quinta camada é a basal, conhecida também como camada germinativa. Esta é abundante em células-tronco da epiderme, de formato cubóide e basófilas que ficam sobre a membrana basal, separando a epiderme e a derme. (Bouwstra; Helder; EL Ghalbzouri, 2021; Zhao et al., 2020)

Figura 1 - A estrutura multicamadas do tecido da pele humana



Fonte: Adaptado de Rahmati et al. (2020)

2.1.2 *Derme*

A derme é uma camada intermediária densa de tecido conjuntivo com espessura entre 1 e 4 mm que se origina da mesoderme, com a função de sustentar a epiderme e se conectar à hipoderme. Altamente vascularizada, provida de vasos linfáticos, terminações nervosas,

glândulas especializadas e órgãos sensoriais. É principalmente composta por matrizes extracelulares como colágeno e elastina, esta proteína forma uma rede na derme que confere propriedades físicas para o processo de recuperação após alguma deformação ocorrer na pele. O colágeno e a elastina são ricos em mucopolissacarídeos como ácido hialurônico, sulfato de condroitina e heparan sulfato. Apresenta duas subcamadas, a derme papilar, que é mais superficial, adjacente à epiderme, constituída por tecido conjuntivo frouxo e muito bem vascularizada, e a derme reticular que é uma porção mais interna e compõe uma densa estrutura de tecido conjuntivo, constituindo a maior parte da derme (Hirao, 2017; Brown; Krishnamurthy, 2020; Bouwstra; Helder; EL Ghalbzouri, 2021).

2.1.3 Hipoderme

A hipoderme, também conhecida como tecido subcutâneo, é considerada um anexo a pele, tendo sua espessura variável, servindo de suporte e união entre a pele e os órgãos adjacentes. Sua composição pode variar de tecido conjuntivo frouxo a denso ou adiposo, dependendo da localização e das características físicas do indivíduo. Essa camada consiste em lóbulos de adipócitos separados por septos de colágeno, onde também se encontram vasos sanguíneos e linfáticos. Além de moldar a superfície do corpo, a hipoderme atua como reserva de energia, contribui para o isolamento térmico e fornece proteção mecânica contra traumas externos ao organismo (Cao *et al.*, 2020).

2.2 Úlceras por pressão

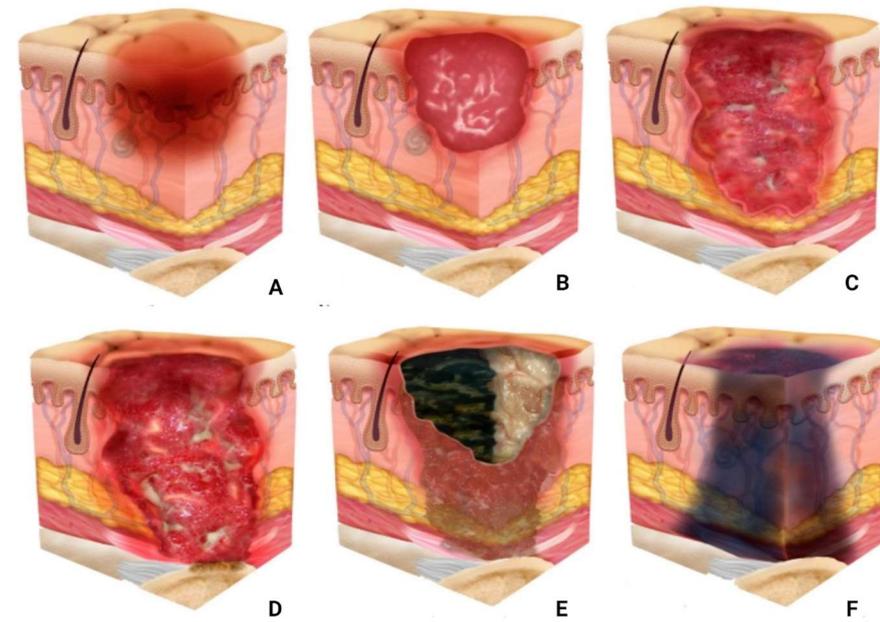
As úlceras de pressão (UP), também conhecidas como escaras, surgem como resultado da pressão física e/ou força de cisalhamento exercida de maneira contínua sobre a pele e costumam ser em áreas de proeminência óssea (Edsberg *et al.*, 2016).

Esta patologia ocorre em pacientes que estão acamados, sendo considerada como complicação iatrogênica, tendo impacto significativo na qualidade de vida, causando desconforto e prolongando o tempo de internação hospitalar. Também acomete pessoas com mobilidade reduzida, como cadeirantes. Como esses indivíduos não têm sensibilidade em determinadas regiões, o ato de ficar na mesma posição por longos períodos aumenta a pressão sobre a pele, levando ao desenvolvimento de escaras. Dependendo da gravidade da lesão cutânea, o tempo de cicatrização pode ser prolongado. Estima-se que aproximadamente 80% dos usuários de cadeira de rodas já tenham desenvolvido úlceras por pressão, em locais como

sacro, cóccix e tuberosidades isquiáticas, sendo que 8% desses casos resultaram em infecções bacterianas. (Gefen, 2007; Linder-Ganz *et al.*, 2007; Loerakker *et al.*, 2011; Fadil *et al.*, 2022)

Em 1989 foi estabelecido no Estados Unidos pela National Pressure Injury Advisory Panel (NPIAP) e adotado internacionalmente, os estágios das úlceras por pressão, ilustrados na Figura 2, que funcionam como indicadores das diferentes profundidades de danos na pele e tecidos subjacentes. No estágio I observa-se uma vermelhidão na pele intacta que não desaparece quando pressionada, geralmente localizada em áreas de proeminências ósseas. No estágio II há uma perda parcial da espessura da derme, caracterizada pela formação de uma úlcera superficial. No estágio III ocorre uma perda completa do tecido, com exposição de tecidos mais profundos, como gordura subcutânea, mas sem a visualização de ossos, tendões ou músculos. Por fim, o estágio IV representa a perda total da espessura do tecido, com exposição direta de ossos, tendões ou músculos. Essa progressão dos estágios fornece uma base para avaliação e manejo adequados das úlceras de pressão, permitindo a intervenção precoce para prevenir complicações adicionais (Gefen, 2007; Sunn, 2014; Edsberg *et al.*, 2016; Mervis; Phillips, 2019; Mouchati; Yagoubi, 2023).

Figura 2 - Estágios da úlcera por pressão, A (estágio I), B (estágio II), C (estágio III), D (estágio IV), E (injúria tecidual indefinida), F (injúria tecidual profunda)



Fonte: Adaptado de Mervis e Phillips (2019).

Esse tipo de alteração na pele, pode causar danos diretos às células e até mesmo prejudicar a circulação sanguínea, bem como o funcionamento do sistema linfático e o fluxo intersticial, resultando em condições como isquemia, lesão tecidual e eventualmente morte celular. Esse tipo de lesão tecidual apresenta predisposição a contaminação por diversos microrganismos, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp, *Bacteroides* spp e fungos como *Candida* spp. (Gerhardt *et al.*, 2008; Dana; Bauman, 2015; Tedeschi *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2022).

As UP frequentemente resultam em complicações que estão correlacionadas com índices elevados de morbidade e mortalidade. A infecção bacteriana é a complicação mais comum de ocorrer, levando a infecções nos tecidos moles e nos ossos, como celulite, formação de abscessos, bursite e osteomielite na área da ferida. Estas infecções retardam o processo de cicatrização, afetam negativamente a qualidade de vida dos pacientes e, em casos graves, podem resultar em sua morte. Além disso, as UP são uma das principais causas de internações prolongadas e readmissões hospitalares, o que aumenta os custos dos cuidados de saúde. Em alguns casos, pode ser difícil distinguir entre uma verdadeira infecção bacteriana de uma simples colonização da flora microbiana normal da pele, o que pode inferir no uso indevido de

antibióticos e o aumento da resistência bacteriana, tornando o tratamento dessas feridas ainda mais desafiador (Tedeschi *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2022).

O processo de cicatrização de úlceras por pressão é demorado, o tratamento é desafiador e existe uma chance considerável de a condição retornar. Por esse motivo, se faz necessário o desenvolvimento de novas formulações curativas que atendam aos estágios e previnam a reincidência deste tipo de lesão tecidual.

2.3 Cuidados no tratamento de úlceras por pressão

A cicatrização de úlceras por pressão deve seguir alguns critérios, como o controle da carga bacteriana, manejo do tecido necrótico, equilíbrio da umidade e tratamentos que curam e mantenham área protegida (Gist, 2009).

Todos os ferimentos crônicos apresentam algum nível de presença bacteriana, sendo importante distinguir entre colonização e infecção bacteriana, pois esta última pode interferir no processo de cicatrização. Dentre os sinais de infecção bacteriana estão inclusos a mudança do exsudato de seroso para purulento, odor desagradável e até presença de sangramento. Afim de determinar o melhor tratamento das infecções é necessário avaliar a profundidade e extensão da lesão. Um passo importante é a higienização de lesões superficiais infectadas, que pode ser feita utilizando agentes tópicos como clorexidina, pois possuem amplo espectro de ação e baixa toxicidade para o tecido. Produtos que contém ácido acético são eficazes contra bactérias do tipo *Pseudomonas*, e agentes como peróxido de hidrogênio, bacitracina, entre outros, também podem ser empregados para esta etapa. Além disso, os produtos à base de prata, como hidrogéis, alginatos, espumas e curativos compressivos, assim como a terapia com pressão negativa, são alternativas que podem ser utilizadas no tratamento de infecções superficiais (Gist *et al.*, 2009; Sheir; Nasra; Abdallah, 2021; Gomes *et al.*, 2022).

Como há presença de tecido em estado de necrose, fator que também contribui para a redução da capacidade de cicatrização de feridas sejam elas agudas ou crônicas, existem casos que há necessidade de remoção da porção necrótica, casos estes que são aconselháveis apenas quando se tem a preservação do fluxo sanguíneo na área lesionada. Esse processo pode ser conduzido de forma mecânica, com a administração prévia de analgésicos para aliviar o desconforto do paciente, ou de maneira autolítica. Nesta última abordagem, a ferida é coberta com curativos como hidrogéis, gases de alginato, filmes de cobertura ou hidrocolóides, permitindo que as enzimas naturais promovam a remoção do tecido necrótico, como exemplo

comercial tem-se a pomada Kollagenase[®], Papaína[®], Fibrase[®], Actinidina P200[®], Ípsilon[®] (Thomas, 2006; Sunn, 2014).

O gerenciamento adequado da umidade também é crucial no processo de cicatrização de úlceras. O exsudato, que é um líquido composto por soro, está presente nas úlceras independente do estágio. Este líquido contém fatores de crescimento e uma composição dinâmica de neutrófilos e proteínas, que contribuem para a cicatrização. Por outro lado, o exsudato em úlceras crônicas é rico em metaloproteinases (MMPs), além de poder veicular bactérias, o que pode complicar ainda mais o processo de cicatrização. Diante disso, é necessário a promoção de um ambiente levemente úmido da área lesionada para a cicatrização adequada da ferida. A presença de exsudato em uma ferida é não apenas normal, mas também desempenha um papel crucial no processo de cicatrização. No entanto, quantidades excessivas de exsudato podem interromper o ciclo de cicatrização ou causar danos às células (Gist *et al.*, 2009; Lustig *et al.*, 2021; Sheir; Nasra; Abdallah, 2021).

Os tratamentos que são empregados neste tipo de lesão abrangem filmes transparentes, geralmente fabricados a partir de poliuretano ou polímeros sintéticos, adesivos ou não, pois apresentam baixa capacidade de absorção, sendo adequados para úlceras superficiais, não exsudativas e em estágios avançados de cicatrização. Curativos semi-oclusivos também são empregados, na forma de hidrogel, por serem transparentes, permitem o monitoramento da cicatrização. Também são empregados gazes de alginato de cálcio, estes, interagem com o exsudato, retendo umidade e sendo úteis para feridas infectadas ou com exsudato sanguinolento. Entretanto, após removidos, deixam um odor desagradável, requerendo limpeza da ferida antes da troca. São utilizadas ainda espumas, hidrocolóides e hidrofibras que são capazes de absorver o exsudato, mas após sua remoção, deixam resíduos que requerem a limpeza da ferida (Jayakumar *et al.*, 2011; Sheir; Nasra; Abdallah, 2021).

2.4 Curativos

Um curativo ideal deve manter um ambiente úmido na interface da ferida, permitir a troca gasosa, atuar como barreira aos microrganismos e remover o excesso de exsudato. Também deve ser atóxico, não alergênico, não aderente e facilmente removido sem trauma. Além disso, deve ser feito de um biomaterial prontamente disponível que requeira processamento mínimo, possua propriedades antimicrobianas e promova a cicatrização de feridas (Jayakumar *et al.*, 2011).

O objetivo primordial no tratamento de feridas é promover a cicatrização no menor período de tempo, com o mínimo de desconforto e cicatrizes para o paciente. Esse processo deve ocorrer em um ambiente fisiológico que favoreça a reparação e regeneração dos tecidos. (Rhatore, 2019) Para garantir que o processo de cicatrização seja eficaz, é fundamental monitorar várias condições no local da ferida, incluindo oxigenação e temperatura. Esses aspectos podem ser assegurados através do uso de curativos, os quais devem estabelecer e manter um ambiente com a umidade apropriada, prevenir infecções, e ainda serem compatíveis com o organismo e degradáveis. Dessa maneira, uma formulação de curativo ideal deve seguir alguns requisitos como estabelecer e manter um ambiente úmido na ferida, prevenir infecções, absorver e reter o exsudato, impedir o ressecamento, minimizar a necrose da superfície, ativar a migração dos fatores de crescimento, ser flexível, compatível com o organismo e degradável (Merlusca *et al.*, 2018; Mouchati; Yagoubi, 2023).

Existem duas categorias principais de curativos: os passivos ou inertes e os bioativos ou interativos. Os curativos passivos ou inertes, como gazes, algodão, emplastos e ataduras, são empregados primariamente para proteger a lesão. No entanto, eles tendem a absorver o exsudato da ferida, o que pode causar aderência e dor durante sua remoção. Além disso, esses curativos não oferecem benefícios adicionais ao processo de cicatrização ou inibem o crescimento bacteriano. Portanto, são mais indicados para o tratamento de feridas limpas ou com exsudato moderado. Já os curativos bioativos ou interativos interagem com os componentes da superfície da lesão cutânea, como o exsudato, células e fatores de crescimento, acelerando e facilitando o processo de cicatrização (Dhivya; Padma; Santhini, 2015; Sharma, 2016).

Os curativos bioativos, por superarem as limitações dos curativos passivos, têm motivado pesquisas para desenvolver materiais sintéticos ou naturais que atendam aos requisitos de um curativo ideal. Para isso, é empregado o uso de biomateriais, que são definidos como substâncias que não possuem atividade farmacológica, podem ser aplicados por longos períodos e em diversas áreas médicas, incluindo ortopedia, odontologia, cardiologia e tratamento de lesões, bem como em sistemas de liberação de medicamentos (Rahmati *et al.*, 2020; Weller; Team; Sussman, 2020).

Dentre os biomateriais há uma ampla gama de materiais para aplicações na área médica. Entre eles, estão os materiais sintéticos não biodegradáveis, como acrílicos e silicones que são empregados no desenvolvimento de implantes, os materiais bioabsorvíveis como colágeno e alguns poli aminoácidos usados na produção de fios de suturas e implantes ósseos. Há os biomateriais biologicamente derivados, que são provenientes de tecidos e órgãos bovinos e aplicados como enxertos e implantes vasculares. Existem ainda, macromoléculas bioderivadas,

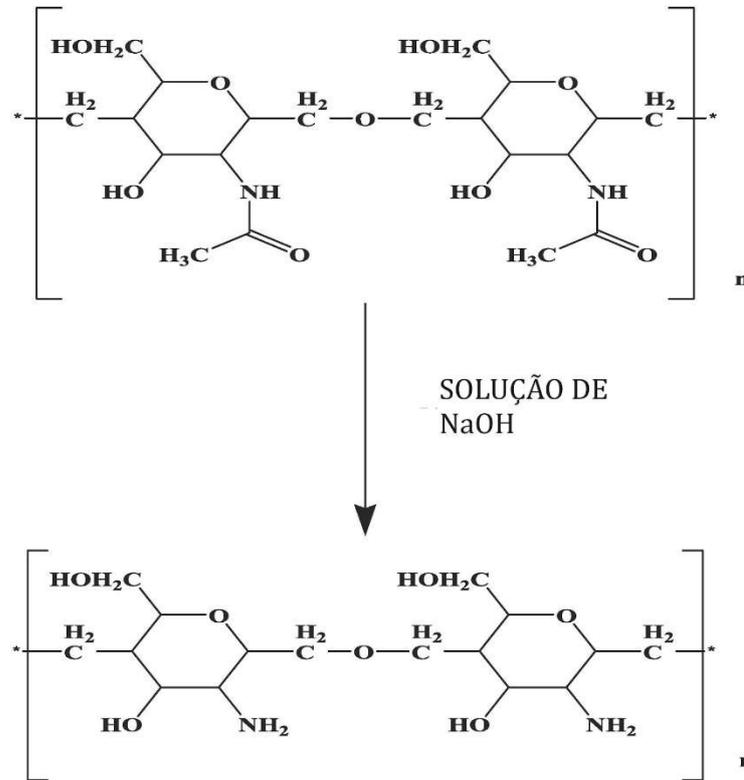
como quitosana e ácido hialurônico que são empregadas na produção de formulações curativas e sistemas de liberação controlada. Além disso, destacam-se os materiais de recobrimento passivo, como albumina e silicones, utilizados em lubrificação de agulhas e cateteres, e os materiais de recobrimento bioativo, como hidroxiapatita, aplicados no desenvolvimento de implantes ósseos. Outras categorias importantes incluem os tecidos adesivos, os metais e ligas metálicas, as cerâmicas e vidros, os materiais de carbono e os compósitos, cada um com suas aplicações específicas em procedimentos médicos e engenharia tecidual (Carazzai; Alegre, 2019; Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Horst; Moiemem; Grover, 2019).

O uso de biomateriais na tecnologia farmacêutica destaca-se pelas macromoléculas derivadas, como os biopolímeros, provenientes de fontes renováveis e biodegradáveis. Esta última característica decorre da estrutura química desses materiais, que são ricos em átomos de oxigênio e nitrogênio, fator que tem impulsionado o investimento em pesquisa e desenvolvimento de formulações farmacêuticas contendo biopolímeros, tanto de origem sintética quanto natural. A exemplo da quitosana (Khademian *et al.*, 2020; Naseri-Nosar; Ziora, 2018; Rahmati *et al.*, 2020).

2.5 Quitosana

A quitosana (QTS), é um polissacarídeo catiônico, de origem natural que se forma a partir de unidades de β -(1 \rightarrow 4) -2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose e a união repetida desse monômero a caracteriza como um homopolímero. É obtida através do processo de desacetilação parcial da quitina, como representado na Figura 3, que é o segundo polissacarídeo mais comum encontrado na natureza, ficando atrás apenas da celulose. A quitina, por sua vez, é composta de unidades de β -(1 \rightarrow 4) -2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose, que são extraídas de carapaças de crustáceos como camarões, caranguejos e lagostas, exoesqueletos de insetos como besouros e baratas e de alguns fungos do gênero *Aspergillus*, *Mucor* e *Penicillium* (Ali *et al.*, 2023).

Figura 3 - Síntese de quitosana a partir da desacetilação da quitina.



Fonte: adaptado de Ali e colaboradores (2023).

A quitosana apresenta diversas características notáveis, tais como, biocompatibilidade, biodegradabilidade, habilidade de adsorção, possibilidade de trocas gasosas e atoxicidade. Entretanto, apesar de ser solúvel em ácidos diluídos, ela geralmente se torna insolúvel em solventes orgânicos e em condições de pH neutro, como em água, fator que pode limitar suas possíveis aplicações. Para contornar essa limitação, são utilizadas quitosana derivadas. Os grupos hidroxila e amina presentes em cada unidade repetida de glucosamina na quitosana são os sítios reativos que demonstram excelente capacidade de quelação, interações eletrostáticas e formação de filmes (Ali *et al.*, 2023; Pacheco *et al.*, 2023).

Uma característica significativa da quitosana é sua capacidade antimicrobiana, o que a torna valiosa para a produção de formulações curativas que podem ser empregadas em lesões onde a esterilidade não é garantida. Além disso, sua biodegradabilidade elimina a necessidade de remoção meticulosa de resíduos após o tratamento, proporcionando assim uma assistência e comodidade ao paciente (Mojsiewicz-Pieńkowska *et al.*, 2015; Lunkov *et al.*, 2023).

Esse biomaterial é altamente versátil e propício para o desenvolvimento de várias formulações, como géis, hidrogéis e filmes poliméricos, devido à sua ampla gama de benefícios.

O caráter biocompatível o torna bem tolerado pelo corpo humano, reduzindo consideravelmente o risco de reações adversas, além disso, apresenta atividade antimicrobiana, vantagem adicional da sua aplicação (Luo *et al.*, 2020). Foram relatadas que a QST apresentou atividade contra microrganismos como *Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e *Candida albicans*. Essa atividade contribui para a criação de um ambiente de cicatrização mais saudável e propício (Goy; Britto; Assis, 2009; Shanmugam; Kathiresan; Nayak, 2016).

Outra propriedade importante da QTS é sua capacidade de promover a hemostasia, auxiliando no controle do sangramento nos locais onde é aplicado, estimulando o processo de regeneração celular e reduzindo o tempo de cicatrização (Lunkov *et al.*, 2023; Song *et al.*, 2019).

Por ser um polímero formador de filme, a QTS é útil na produção de filmes flexíveis que aderem bem à pele, formando uma barreira protetora sobre a ferida. Sua capacidade de biodegradação é uma vantagem adicional, pois é naturalmente decomposta pelo corpo ao longo do tempo, especialmente pela enzima lisozima. Essa degradação enzimática produz oligômeros de N-acetil-D-glicosamina, compostos que não apenas possuem propriedades de cicatrização e ação antimicrobiana, mas também são totalmente absorvidos pelo corpo, eliminando a necessidade de remover cuidadosamente resíduos hemostáticos após o tratamento (Laranjeira; Faréve., 2009; Reay *et al.*, 2022).

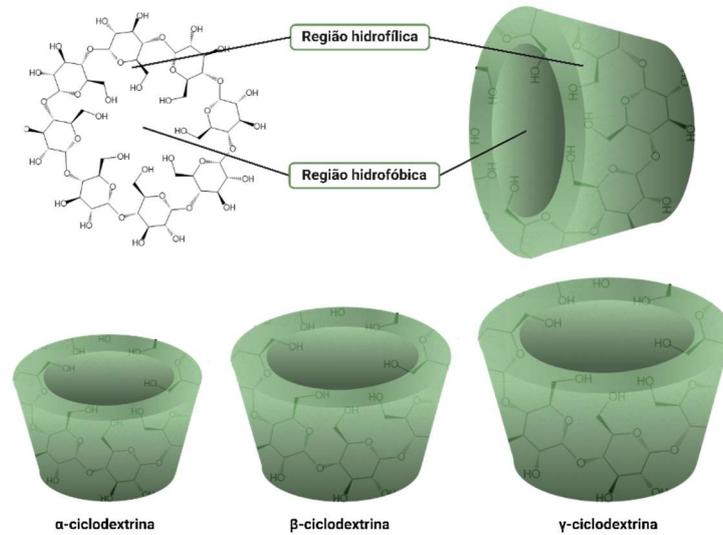
Essa substância também é conhecida devido às suas propriedades de quimiotaxia e capacidade de estimular a atividade de macrófagos e neutrófilos que facilitam assim o processo de regeneração dos tecidos (Balan; Verestiuc, 2014) apresenta capacidade de absorver exsudato e proteger a área aplicada contra agressões. Sua estabilidade durante o armazenamento e sua resistência à degradação enzimática a tornam uma escolha segura e confiável para uma variedade de aplicações clínicas. Portanto, a quitosana oferece uma série de benefícios que a tornam uma ideal para a formulação de curativos eficazes e seguros, e sua matriz permite a incorporação de ingredientes ativos que podem contribuir significativamente para a promoção da cicatrização de feridas e o cuidado do paciente (Wang *et al.*, 2024).

2.6 Ciclodextrina

Um exemplo de substâncias que podem ser incorporadas a matrizes poliméricas de QTS são as ciclodextrinas (CD). As CD são compostos oligoméricos cíclicos formados por unidades de D-glicopiranosose unidas por ligações α -1,4. Apresentam-se como um pó cristalino, não higroscópico, solúvel em água, propilenoglicol, acetona e etanol. Por possuir moléculas toróides, conhecidas pelo formato de “balde” ou “cone” caracterizam sua conformação molecular como uma estrutura rígida que possui uma cavidade central, e devido ao arranjo das hidroxilas a superfície interna apresenta caráter hidrofóbico e a superfície externa caráter hidrofílico. Essa organização estrutural possibilita que diversas substâncias sejam encapsuladas na cavidade interna da CD (Handbook., 2009; Mota *et al.*, 2009; Saini *et al.*, 2022; Xi *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2022).

Sua classificação baseia-se na composição de cada tipo de CD, de acordo com a variação da quantidade unidades de glicose que conferem assim, o tamanho do diâmetro molecular e a organização da estrutura tridimensional. Dessa maneira, são denominadas α -CD, β -CD, γ -CD, δ -CD e ϵ -CD, que apresentam seis, sete, oito, nove e dez unidades de D-glicopiranosose, respectivamente, quanto mais unidades em sua estrutura, maior é o interior da cavidade da CD. Dentre os tipos de CDs, as principais são α -CD, β -CD, γ -CD, ilustradas na Figura 4, sendo a β -CD a mais utilizada, devido ao tamanho de sua cavidade, que permite a incorporação de uma ampla variedade de moléculas e a CD de menor custo. Em contraponto está a α -CD que tem uma cavidade menor, limitando a incorporação de certas moléculas e a γ -CD por sua vez, apresenta maior cavidade, porém seu custo é mais elevado (Fourmenti; Crini; Lichtfouse, 2018; Franco; De Marco, 2021; Wu *et al.*, 2022).

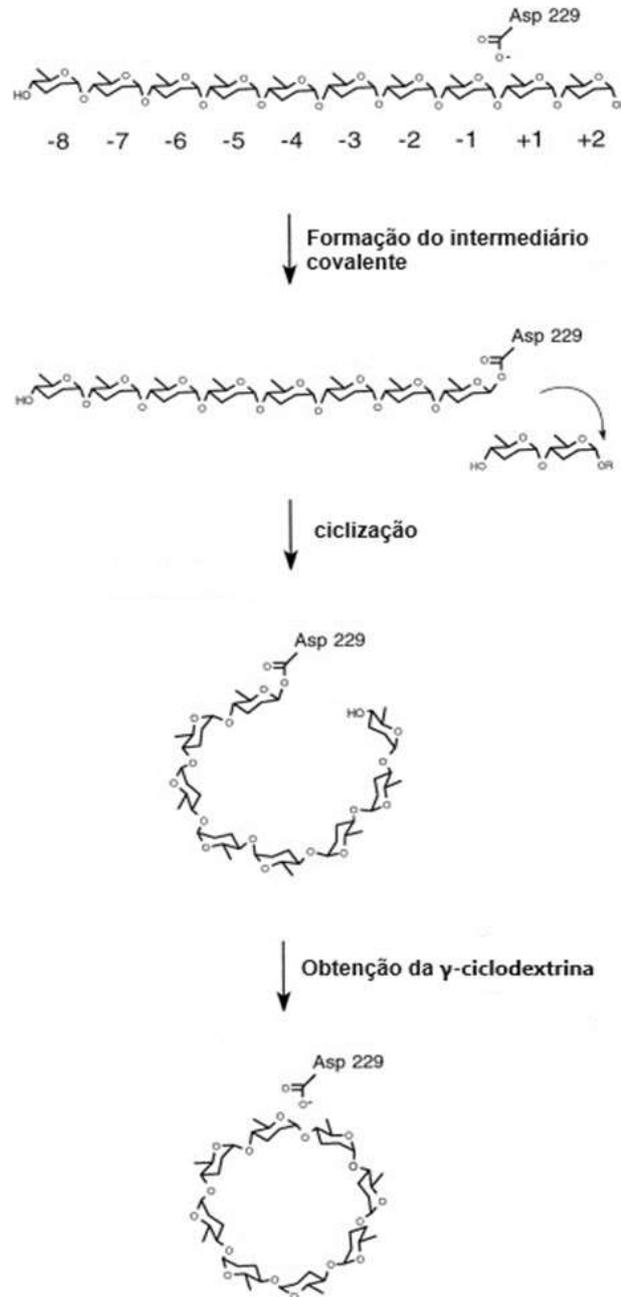
Figura 4 - Principais ciclodextrinas



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A produção de CD, ocorre através de um processo orquestrado pela ação de enzimas específicas e a derivação de polissacarídeos como o amido, que envolve primeiro a reação de ciclização, que é catalisada pela enzima ciclodextrina glicosiltransferase (GTase), que cliva a ligação α -1,4 glicosídica do amido ou α -glucanos similares, gera um intermediário glicosil, nesse momento a confirmação estrutural é linear, em seguida, este intermediário é transferido para a extremidade não redutora do substrato e por fim, uma nova ligação α -1,4 glicosídica intramolecular surge e sela as extremidades abertas, formando a estrutura cíclica característica. Nessa reação ainda existem alguns resíduos catalíticos de Asp-229 (aspartato) e Glu-257 (glutamato) como representado na Figura 5 (Uitdehaag et al., 1999; Fourmenti; Crini; Lichtfouse, 2018; Rabadiya et al., 2024).

Figura 5 - Reação de obtenção da γ -ciclodextrina



Fonte: Adaptado de Uitdehaag et al. (1999)

A aplicação de CD tem como principal objetivo melhorar a solubilidade de compostos insolúveis em água, pois sua cavidade hidrofóbica propicia um ambiente favorável para acomodar diversas substâncias. A união que é feita entre a CD e o composto de interesse resulta na obtenção de complexos de inclusão (CI), nesse sistema são denominadas como molécula “host” ou anfitriã e molécula hospedeira. Esses CI podem ser obtidos a partir de diversos métodos tais como co-precipitação, amassamento ou malaxagem, utilização de dióxido de

carbono supercrítico, liofilização e moagem (Loftsson; Duchêne., 2007; Cid-samamed *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2024; Lin *et al.*, 2024).

Em geral, o processo de formação de CI não apenas protege os compostos contra influências externas e volatilização, mas também mantém suas propriedades biológicas. Essa propriedade permite que substâncias insolúveis, como fármacos lipofílicos e óleos essenciais, apresentem um grau de solubilidade em água e em veículos aquosos, proporcionando o desenvolvimento de formulações de caráter hidrofílico com ativos lipofílicos sem o uso de tensoativos, melhorando a absorção e entrega ao alvo no organismo dessas substâncias. Com isso, o aumento na biodisponibilidade e na velocidade de liberação dos compostos, contribui para uma eficácia terapêutica aprimorada e diversifica os locais de aplicação (Cid-Samamed *et al.*, 2022; Da Silva *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024)

Apesar de serem classificadas como excipientes, as CD além de melhorarem a solubilidade em água, são capazes de alterar as características químicas, físicas e biológicas das moléculas hóspedes por meio de uma interação molecular entre hospedeiro-hóspede (Soltani *et al.*, 2024).

É essencial destacar que diversos aspectos devem ser analisados para selecionar a composição para preparar CI, como o tipo de solvente e co-solvente, a seleção do tipo de CD, o método de preparação, a temperatura e pressão do sistema, a concentração da solução e a proporção molar entre os ingredientes e as CDs. Portanto, é crucial analisar quais técnicas são mais adequadas, a fim de maximizar os benefícios funcionais dos complexos obtidos (Cai *et al.*, 2019; Wulandari *et al.*, 2023).

São relatadas diversas abordagens de produção de CI com óleos essenciais, como eugenol (Celebioglu; Uyar, 2021), anis estrelado (Wu *et al.*, 2022) *Melaleuca alternifolia* (Song *et al.*, 2022) e fármacos como Sulfadiazina de prata (Souza *et al.*, 2018), Ciprofloxacino (Jalal, 2023; Zhang. 2024), Liquiritina (Wang *et al.*, 2022), Fosinopril (Hnin *et al.*, 2022), bem como a associação de ciclodextrinas com a quitosana (Adel *et al.*, 2019; Souza *et al.* 2019; Bai *et al.*, 2022).

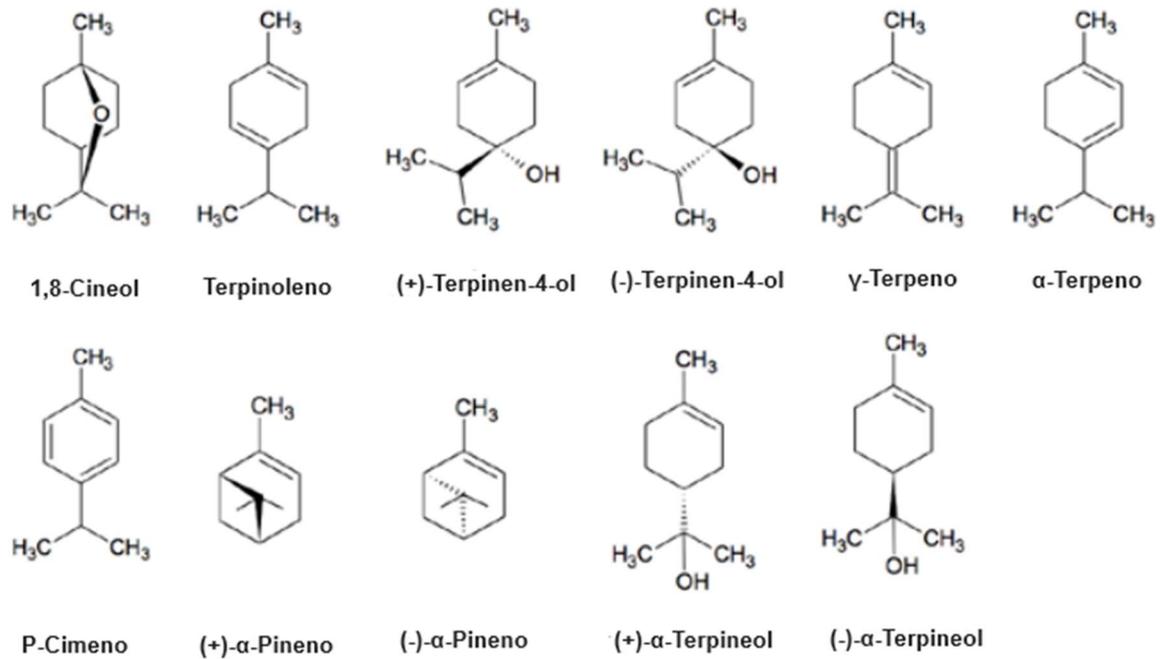
2.7 Óleo Essencial De *Melaleuca alternifolia*

O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (OEMA) que é um composto volátil, líquido incolor ou amarelo pardo, com aroma forte de cânfora e sensação de resfriamento semelhante ao mentol. A obtenção desse óleo essencial (OE) é realizada a partir da planta nativa australiana da família Myrtaceae, a *Melaleuca alternifolia*. Esta espécie de árvore tem cerca de 7 metros e

crece em regiões pantanosas ou próximas a riachos, apresentando folhas macias e lisas que são ricas em óleos essenciais. Essas substâncias apresentam uma grande quantidade de metabólitos primários e secundários, principalmente da classe dos terpenos como monoterpenos, sesquiterpenos e seus álcoois associados (Puvača *et al.*, 2019).

Sua composição química contém aproximadamente 55% de terpinen-4-ol, 28% de gama-terpeno, 13% de alfa-terpeno, 8% de p-cimeno, 5% de terpinoleno, 15% de 1,8cineol ou eucaliptiol e 1,5% de limoneno, suas estruturas estão apresentadas na Figura 6. Esses elementos agregam solubilidade ao óleo em álcool, acetona e outros solventes orgânicos. Dentre estas substâncias, algumas como terpinen-4-ol, alfa-terpineol e 1,8cineol, podem inibir a produção induzida de mediadores da inflamação, como as interleucinas IL-1, IL-8 e IL-10 e de prostaglandinas E2, além de reduzir a produção do fator de necrose tumoral (TNF), conferindo assim atividade anti-inflamatória ao óleo (Southwell; Lowe, 1999; Carson; Hammer; Riley, 2006; Pazyar *et al.*, 2013; Yadav *et al.*, 2017; Sevik *et al.*, 2021). Dessa forma, o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* tem potencial de aplicação em reações inflamatórias, pois seus componentes ao penetrarem a derme regulam a vasodilatação e diminuem o extravasamento de plasma (Chin; Cordell, 2013; Singh *et al.*, 2013).

Figura 6 - Compostos Majoritários do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.



Fonte: Adaptado de Gafner e Dowell (2018)

Na literatura são relatados a presença de estudos que demonstram o desempenho do OEMA como agente antisséptico, anti-inflamatório, antifúngico, pesticida natural. Apresenta ainda, perfil inibitório para diversas bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, e fungos como *Candida albicans*. Além disso, os componentes isolados do óleo essencial demonstraram ação inibitória para microrganismos como *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes*, *Porphyromonas gingivalis* (Lee *et al.*, 2013; Nogueira *et al.*, 2014; Yadav *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2022).

As atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias apresentadas pelo OEMA possibilitam o seu emprego em formulações com a finalidade curativa. Entretanto, apesar dos OE possuírem propriedades terapêuticas e aromáticas, a sua aplicação está subordinada às suas propriedades físico-químicas, como a baixa solubilidade em água, alta volatilidade em temperatura ambiente e fotossensibilidade, fatores que podem influenciar no desempenho de sua aplicação e eficácia (Campelo *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2021; Scuteri *et al.*, 2021).

Para superar esses desafios e manter a estabilidade dos compostos do OE, uma abordagem eficaz é promover a inclusão das moléculas do OE em um sistema que melhore a solubilidade, que contorne essas limitações e promove a entrega deste ativo bem como

possibilite a sua incorporação em matrizes hidrofílicas. Para isso é possível empregar o uso de ciclodextrinas para a formação de complexos de inclusão (Gupta; Dalal; Rao, 2021; Soltani *et al.*, 2024).

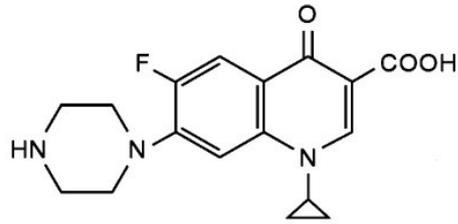
2.8 Ciprofloxacino

Além do emprego de produtos naturais como OEMA, a incorporação de fármacos antimicrobianos como o ciprofloxacino (CIPRO) pode potencializar a eficiência antimicrobiana do curativo desenvolvido. Classificado como uma fluoroquinolona, o CIPRO (Figura 7) é um pó branco cristalino, ligeiramente higroscópico, solúvel em ácido acético diluído e praticamente insolúvel em água, apresenta como valores de pK_a 6,2 e 8,8 (Sharma *et al.*, 2010). Esse fármaco apresenta como mecanismo de ação o bloqueio da síntese de DNA bacteriano por meio da inibição da enzima topoisomerase II, conhecida como DNA-girase essa inibição, impede o processo de relaxamento do DNA positivamente espiralado, etapa crucial para que a transcrição e a replicação da bactéria ocorram de maneira normal. Também realiza a inibição da topoisomerase IV, que por sua vez prejudica a separação do DNA cromossomal bacteriano que seria replicado nas células filhas, no momento da divisão celular (Rang; Dale., 2016; Katzung., 2018; Ibrahim *et al.*, 2022).

Esta substância é uma derivação do arcabouço químico na estrutura das primeiras quinolonas desenvolvidas, como o ácido nalidíxico. Essa modificação permitiu a melhora da atividade antibacteriana dessa classe de fármaco por meio da modificação estrutural e da adição do elemento flúor (Katzung., 2018).

O CIPRO possui atividade superior contra bactérias gram-negativa e atividade intermediária contra gram-positiva. Esse fármaco costuma ser prescrito para infecções do trato geniturinário, gastroenterites, osteomielite. Além disso, é o medicamento preferencial para o tratamento e profilaxia de antraz, também conhecida como carbúnculo, que é caracterizada pelo agrupamento de furúnculos, que estes por sua vez são inflamações da pele provocadas por infecções estafilocócicas, afetando o folículo piloso e tecidos adjacentes (Mokaber-Esfahani *et al.*, 2019).

Figura 7 - Ciprofloxacino



Fonte: Katzung e Trevor, 2017.

Esse fármaco vem sendo aplicado cada vez mais na formulação de produtos destinados a cicatrização de feridas (Cui et al., 2022), como o estudo desenvolvido por Aneem e colaboradores (2024), que formularam nanofibras eletrofiadas de álcool polivinílico, alginato e ácido poliacrílico, incorporando ciprofloxacino com o objetivo de acelerar a cicatrização de feridas cutâneas. Em uma pesquisa desenvolvida por Zhou e colaboradores (2023) foram preparadas membranas de nanofibras de quitosana e poli (ϵ -caprolactona) carregadas com íons de zinco e encapsulação de ciprofloxacino usando método de eletrofiação coaxial para cicatrização de feridas. Dessa maneira, espera-se que a incorporação deste fármaco possa auxiliar no processo de cicatrização de feridas ocasionadas por úlceras por pressão por meio da regulação do balanço bacteriano presente na ferida e impedindo a proliferação bacteriana.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar curativos poliméricos de quitosana contendo uma associação entre o ciprofloxacino e um complexo de inclusão formado pelo óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e a γ -ciclodextrina com potencial atividade no tratamento de úlceras por pressão.

3.2 Objetivos Específicos

- a) obter o complexo de inclusão entre o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e a γ -ciclodextrina;
- b) avaliar a atividade antimicrobiana do complexo de inclusão obtido por meio do método microdiluição em caldo de 96 poços e determinar a concentração bactericida mínima;
- c) desenvolver curativos poliméricos incorporando o complexo de inclusão e ciprofloxacino pelo método de evaporação do solvente;
- d) avaliar a molhabilidade dos curativos por meio da determinação do ângulo de contato;
- e) determinar o perfil termogravimétricos dos do complexo de inclusão e dos curativos;
- f) analisar as características mecânicas dos curativos a partir da resistência dobrável;
- g) caracterizar físico-quimicamente os filmes desenvolvidos a partir da espectroscopia na região do infravermelho;
- h) avaliar o perfil cristalino por meio da difratometria de raios-X;
- i) determinar o potencial hemolítico dos curativos desenvolvidos.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

O material utilizado na pesquisa foi:

- a) quitosana de baixo peso molecular e médio grau de desacetilação (75-85%) (REATEC[®]);
- b) γ -ciclodextrina (Sigma Aldrich[®]);
- c) ácido acético glacial P.A. (Dinâmica[®]);
- d) ciprofloxacino (J.P.N. Pharma PVT Ltd, Lote SSD/12/11);
- e) óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (by Samia[®]);
- f) caldo ágar Mueller Hinton (Kasvi[®]);
- g) tampão fosfato salino (PBS) pH 7,4 (Dubelco[®]);
- h) dimetilsulfóxido P.A. (Dinâmica[®]);
- i) ágar Mueller Hinton (Kasvi[®]);
- j) cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) (Sigma Aldrich[®]);
- k) álcool etílico absoluto P.A. (Dinâmica[®]);
- l) metanol grau HPLC (Merck[®]).

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do complexo de inclusão

Os complexos de inclusão entre γ -ciclodextrina (γ -CD) e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (OEMA) foram preparados seguindo a metodologia adaptada de Ahmed *et al.* (2022). A concentração selecionada para preparação dos ICs foi OEMA: γ -CD 20:80 (p/p). A seleção da concentração foi feita com base no potencial atividade antimicrobiana, segundo Ahmed *et al.* (2022) concentrações de OE abaixo de 15% (p/p) não apresentam atividade antimicrobiana. O processo consistiu na dissolução, em rotação a 125 rpm no agitador magnético, de 2 g de γ -CD em 10 mL de água a 25 °C por 45 min até a solução ficar translúcida. Em um béquer foi adicionado lentamente 500 mg do OEMA solubilizado em 2,5 mL de etanol (99,6%), e agitados vigorosamente em rotação a 125 rpm no agitador magnético. Em seguida, essa solução foi gradualmente adicionada à solução da γ -CD por gotejamento com uma seringa.

Essa solução foi agitada por 24 h com agitação constante de 125 rpm à temperatura ambiente para permitir a formação do complexo. Uma solução pastosa foi obtida e acondicionada em dessecador por 96 h para promover a secagem. O pó seco, denominado OEMA- γ -CD, foi armazenado em recipientes herméticos no dessecador até o uso posterior.

4.2.2 Desenvolvimento dos curativos

Os curativos foram desenvolvidos a partir do preparo da solução polimérica que consistiu na dissolução da QTS em uma solução de ácido acético 1% (v/v) com concentração final de 1% (m/v). A partir desta solução, produziu-se os quatro tipos de amostras de curativos, a primeira contendo apenas a solução polimérica nomeada FQTS, a segunda com solução polimérica e o fármaco ciprofloxacino denominada FQTS-CIPRO, a terceira composta pela solução polimérica e o complexo de inclusão nomeada FQTS-OEMA- γ -CD e a quarta composta pela solução polimérica, o ciprofloxacino e o complexo de inclusão nomeada FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD (Tabela 1).

Para comprovar a eficácia da formação do CICDOE, foi preparado um curativo contendo a solução polimérica e 5%(v) de óleo essencial puro, denominado FOE. Após a homogeneização desses sistemas por 24 h as soluções foram vertidas em placas de petri de 5x5 cm e um volume de 10 mL levadas a estufa de circulação de ar na temperatura de 35 °C por 24 h para promover a evaporação do solvente e formação dos curativos. Esses curativos foram desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

Tabela 1-Amostras usadas no estudo

Amostra	Solução polimérica (mL)	OEMA-γ-CD (mg)	CIPRO (mg)
FQTS	10	-	-
FQTS-OEMA- γ -CD 1	10	1	-
FQTS-OEMA- γ -CD 2	10	2	-
FQTS-OEMA- γ -CD 3	10	3	-

FQTS-OEMA- γ -CD 4	10	4	-
FQTS-OEMA- γ -CD 5	10	5	-
FQTS-CIPRO 1	10	-	1
FQTS-CIPRO 2	10	-	2
FQTS-CIPRO 3	10	-	3
FQTS-CIPRO 4	10	-	4
FQTS-CIPRO 5	10	-	5
FQTS-CIPRO-OEMA- γ - CD 1	10	2	1
FQTS-CIPRO-OEMA- γ - CD 2	10	2	2
FQTS-CIPRO-OEMA- γ - CD 3	10	2	3
FQTS-CIPRO-OEMA- γ - CD 4	10	2	4
FQTS-CIPRO-OEMA- γ - CD 5	10	2	5

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

4.2.3 Avaliação da atividade antimicrobiana dos complexos de inclusão obtidos por meio do teste de microdiluição em placa de 96 poços

As suspensões das cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 17193, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, foram preparadas a partir de uma cultura de 24 h, em caldo ágar Mueller Hinton (CAMH), até atingir a absorbância entre 0,063 - 0,070 no comprimento de onda de 620 nm, correspondendo à turbidez de 0,5 na escala de McFarland (aproximadamente entre 1 a 5×10^6 unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Posteriormente, a suspensão bacteriana foi diluída 1:20 CAMH para utilização nos ensaios.

A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada pela técnica de microdiluição em placas de 96 poços conforme a metodologia descrita por Vieira (2021) e a norma M07-A10 do The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) e (WEINSTEIN;

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2020). Os poços da placa foram preenchidos com 90 μL de CAMH. E em seguida, foram adicionados 100 μL das substâncias teste OEMA- γ -CD 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e do OEMA puro, realizando as diluições seriadas. Utilizou-se 10 μL da suspensão bacteriana na diluição em CAMH 1:20 nos poços dos tratamentos. Como controles positivos foram utilizados dois antibióticos, o antibiótico A foi CIPRO 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aplicado para todos os microrganismos e como antibiótico B a oxacilina 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *S. aureus*, ceftazidima 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *E. coli* e *P. aeruginosa*, e como controle negativo foi usado o CAMH. Também foi avaliada a esterilidade do meio de cultura do CAMH. O esquema da distribuição dos tratamentos na placa de 96 poços está demonstrado na Figura 8. A placa foi incubada em estufa na temperatura de 32 °C por 24 h.

Figura 8 - Esquema de disposição dos tratamentos na placa de 96 poços



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Após esse período, o crescimento bacteriano foi revelado com a adição de 20 μL do reagente cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio 2% em cada poço dos tratamentos e incubado em estufa a 32 °C por 60 min. No decorrer desse tempo, a mudança para a cor vermelha representou presença de crescimento bacteriano.

Após a incubação das placas, a mistura dos poços dos tratamentos em que não houve crescimento foram replicadas em placas de ágar Mueller Hinton (MH) e foram incubadas a 32 °C por 24 h e avaliado o crescimento. Esse ensaio foi realizado no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) da UEPB.

4.2.4 Resistência ao dobramento

A avaliação da resistência ao dobramento foi conduzida dobrando manualmente o filme várias vezes no mesmo local até que este se rompesse ou fosse dobrado até 300 vezes, conforme descrito por Devi e Dutta (DEVI; DUTTA, 2017) e Wanderley et al. (2020). O número de vezes que o filme foi dobrado sem se romper fornecia o valor preciso de sua resistência. A análise foi realizada no LDCPF da UEPB e em triplicata.

4.2.5 Molhabilidade por ângulo de contato

O ensaio foi realizado a partir do gotejamento de 20 μL de água destilada na superfície dos curativos em um goniômetro cinético digital modelo AGC-002 (Alcalitech®) e o cálculo do ângulo formado a partir do programa *Angle Calculator*, que determina o ângulo de contato para verificar se o material possui afinidade pela água, sendo classificado como hidrofílico ou hidrofóbico. A análise foi realizada no LABDEM da UEPB e em triplicata.

4.2.6 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

O perfil espectroscópico das substâncias isoladas, do OEMA- γ -CD, das misturas físicas entre os componentes (1:1) e das amostras dos curativos foi realizado utilizando um espectrômetro FT-IR VERTEX 70 (Bruker®, Boston, Massachusetts, EUA), com uma resolução de 4 cm^{-1} , uma velocidade de varredura de 0,2 cm^{-1} , e uma faixa de varredura de 4000 a 500 cm^{-1} . Estes procedimentos foram realizados no laboratório Labsmac da UFCG.

4.2.7 Análise termogravimétrica

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando um módulo termogravimétrico SDT Q600 (TA® Instruments). Amostras de $5,00 \pm 0,05$ mg foram colocadas em cadinhos de alumina individuais e foram aquecidas a uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C}$ por minuto, variando de 25 $^{\circ}\text{C}$ a 900 $^{\circ}\text{C}$, em uma atmosfera de nitrogênio com um fluxo de 50 mL por minuto. Os dados obtidos foram analisados no software OriginPro 8.5. Estes experimentos foram conduzidos na Central Analítica do Departamento de Farmácia (CAFARM) da UEPB.

4.2.8 Difração de Raio-X

Os difratogramas foram obtidos com o difratômetro de raios X modelo XRD 6000 (Shimadzu®), com varredura angular $5^\circ < 2\theta < 35^\circ$, na montagem de Bragg-Brentano, sistema θ - 2θ , utilizando-se radiação de Cu ($K\alpha_1$) com varredura no passo de 0,02 (2θ), com intervalo de 0,6 s para cada amostra. As análises foram realizadas no Certbio da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

4.2.9 Avaliação do potencial hemolítico

O teste de potencial hemolítico foi conduzido conforme a metodologia descrita por Melo (2021) e a norma ASTM F756 (American Society for Testing Materials, 2017). As amostras dos curativos foram cortadas em pedaços de 1 cm^2 e colocadas em contato com 7 mL de solução salina 0,9% durante 24 h. Após esse período, a solução salina foi descartada e adicionados 50 μL de um concentrado de hemácias, utilizando sangue total coletado em tubos de citrato de sódio, aos tubos com as amostras de curativos, esse sistema permaneceu em contato por 15 min. Em seguida, 10 mL de solução salina foram adicionados ao sistema e incubados por mais 3 h. Após a incubação, apenas o líquido foi transferido para tubos de ensaio e centrifugado a 1000 rpm por 15 min. A quantidade de hemoglobina liberada devido à hemólise foi medida pela absorbância do sobrenadante utilizando um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu®, modelo UV-1900, a um comprimento de onda de 545 nm. Água destilada e solução salina foram utilizadas como controles positivo e negativo, respectivamente. Os experimentos foram conduzidos em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A porcentagem de hemólise foi calculada conforme a Equação 1:

$$\% \text{Hemólise} = \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs cont. neg.})}{(\text{Abs cont. pos.} - \text{Abs cont. neg.})} \times 100$$

Onde:

Abs amostra: Absorbância da amostra;

Abs cont. neg.: Absorbância do controle negativo;

Abs cont. pos.: Absorbância do controle positivo.

O ensaio foi realizado em triplicata, e executado no LDCPF da UEPB.

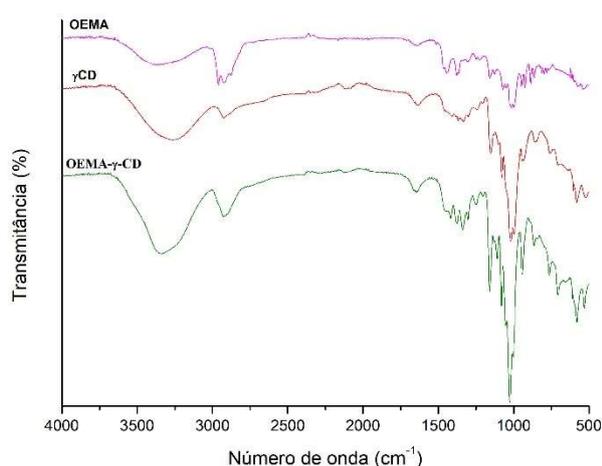
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção do complexo de inclusão

Os OEMA- γ -CD foram obtidos e observou-se com o decorrer do tempo uma coloração branco-leitosa da solução do CI. Após a secagem, o pó obtido tinha a característica higroscópica e de fácil solubilidade em água. Foram realizadas as caracterizações físico-químicas para comprovar a formação do CI.

Na espectroscopia do infravermelho (Figura 9) o OEMA- γ -CD apresentou na faixa de 3350 - 3189 cm^{-1} a intensificação do alongamento do O-H, seguido da sobreposição dos picos do OEMA e γ -CD na faixa de 2930 – 2895 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação de C-H referente ao $-\text{CH}_2$ de ambas substâncias. Em 1658 cm^{-1} apresentou um pico referente ao dobramento da ligação CH_2 e na faixa de 1125 – 1039 cm^{-1} apresentou o pico intenso de estiramento de C-O, que também está presente nas substâncias isoladas e foi intensificado. Na região de dobramento foi observado uma diferença de comportamento das bandas, indicando a provável interação entre os componentes do CI em relação a seus componentes isolados. Essa sobreposição foi também observada por Silva e colaboradores (2023) ao encapsular óleo essencial de *Plectranthus ornatus* e β -ciclodextrina.

Figura 9 - Espectro de FTIR do OEMA, γ -CD e OEMA- γ -CD

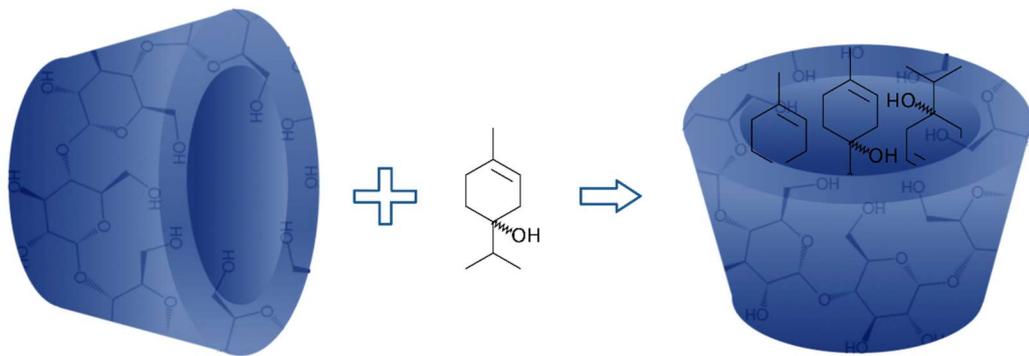


Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A liberação do composto ativo pela ciclodextrina ocorre após a diluição no meio ou por complexação competitiva (Kurkov *et al.*, 2012; Muankaew; Loftsson, 2018). Para estimar a

concentração do CI obtido, realizou-se o cálculo por meio da concentração equimolar, visto que uma ou mais moléculas do composto ativo podem interagir com a ciclodextrina e formar um complexo de razão 1:1, 2:1, 1:2 (CD:composto ativo). A situação teórica mais comum é que apenas uma molécula do composto ativo interaja com uma molécula de ciclodextrina e forme o CI. A γ -CD apresenta peso molecular igual a 1297,14 g/mol e o composto majoritário do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* é o terpinen-4-ol, na concentração de 53,77%, com peso molecular igual a 154,25 g/mol. Dessa maneira, foi obtido o valor teórico de 8,42 referente a razão molar do OEMA- γ -CD, dessa maneira, supõe-se que para cada 1 molécula de γ -CD há 8 moléculas do composto terpinen-4-ol interagindo e formando o complexo de inclusão, conforme representado na Figura 10.

Figura 10 - Esquema de possível interação entre a γ -ciclodextrina e composto terpinen-4-ol



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

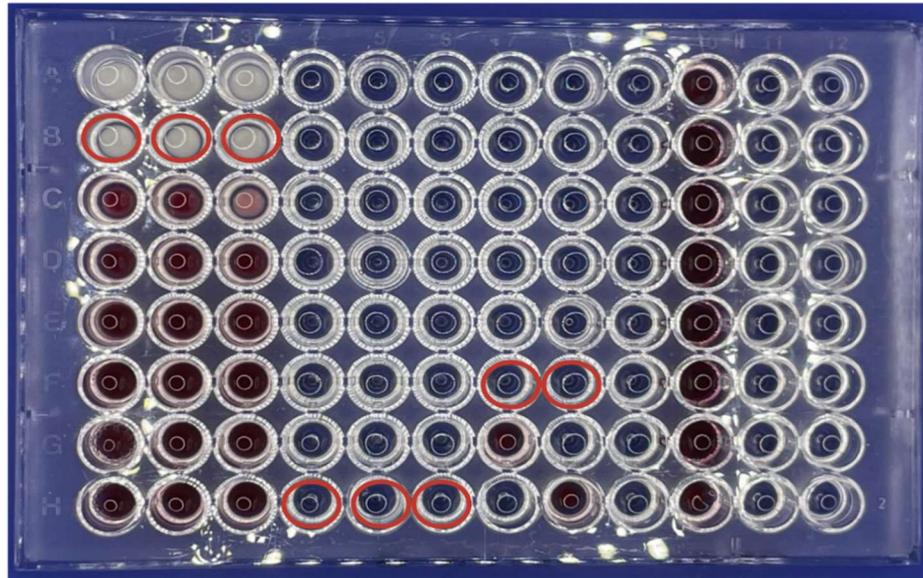
5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos complexos de inclusão obtidos por meio do teste de microdiluição em placa de 96 poços

Contaminação por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas como *P. aeruginosa*, *E. coli* é passível de ocorrer em feridas ocasionadas por úlceras por pressão (Gist *et al.*, 2009). Esses microrganismos configuram complicações nesses ferimentos, prolongando e interferindo no tempo de cicatrização. Os resultados obtidos na microdiluição em caldo demonstraram a ausência aparente do crescimento dos microrganismos testados, demonstrando a atividade bacteriostática do OEMA- γ -CD. Este teste foi realizado antes do desenvolvimento dos curativos para avaliar a atividade desejada e posteriormente prosseguir com as caracterizações das amostras.

A Figura 11 é referente ao teste feito com a bactéria gram-positiva *S. aureus*, e apresentou atividade bacteriostática do CI obtido até a segunda diluição na concentração de 50

$\mu\text{g/mL}$, o OE livre, apresentou atividade em todas as diluições até $0,39 \mu\text{g/mL}$, e o fármaco ciprofloxacino apresentou atividade até a sexta diluição em $3,125 \mu\text{g/mL}$. Essa atividade é observada pela ausência da alteração da cor do poço após a adição do reagente cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio 2% que é um marcador redox empregado para discernir entre tecidos que são metabolicamente ativos ou inativos, com ênfase na viabilidade celular. Esse processo se fundamenta na conversão enzimática do 2,3,5-trifeniltetrazólio, que é incolor, em 1,3,5-trifenilformazan, que adquire uma coloração avermelhada. Nos poços que não ocorreu a mudança da cor, indicam que não houve crescimento bacteriano, já nos poços que ocorrer a mudança da coloração do reagente para vermelho, indicam o crescimento bacteriano (Rozatto., 2012; Albayrak, 2022).

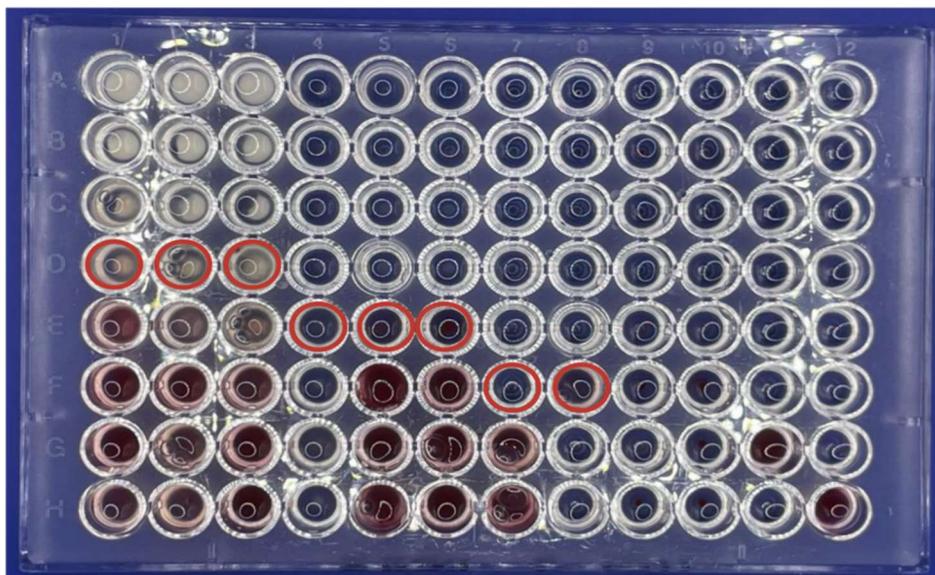
Figura 11 - Placa de 96 poços com a cepa de *Staphylococcus aureus*



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Na Figura 12 é possível observar um comportamento diferente do crescimento da bactéria *E. coli* em relação ao que ocorreu com o *S. aureus*. A ação bacteriostática do OEMA- γ -CD foi até a quarta diluição na concentração de 12,5 $\mu\text{g/mL}$, a do óleo essencial livre foi até a quinta diluição em 6,25 $\mu\text{g/mL}$ e do ciprofloxacino até a sexta diluição em 3,125 $\mu\text{g/mL}$.

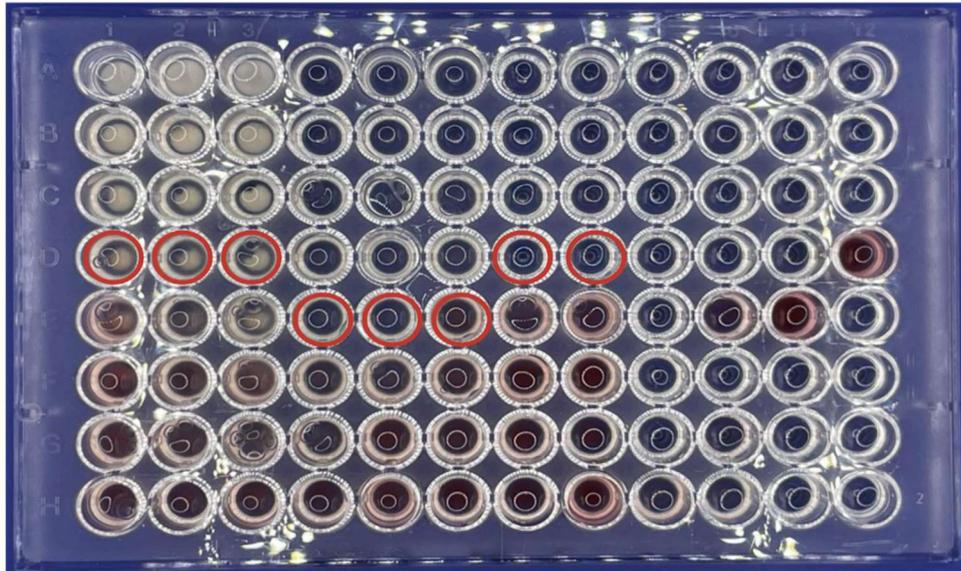
Figura 12 - Placa de 96 poços com a cepa de *Escherichia coli*



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A atividade bacteriostática do OEMA- γ -CD frente a bactéria *P. aeruginosa* apresentou-se excelente até a quarta diluição na concentração de 12,5 $\mu\text{g/mL}$, resultado próximo ao do fármaco ciprofloxacino que já tem esta atividade consolidada entre 1 $\mu\text{g/mL}$ e 5 $\mu\text{g/mL}$ (CLSI., 2020). Na Figura 13 é possível observar um comportamento bacteriostático do CI frente a cepas de *P. aeruginosa*.

Figura 13 - Placa de 96 poços com a cepa de *Pseudomonas aeruginosa*



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

As concentrações do OEMA- γ -CD das diluições que apresentaram ausência de crescimento determinaram valores de concentração inibitória mínima (MIC) de 50 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus* e 12,5 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli* e *P. aeruginosa*. Em seguida foi realizado o plaqueamento em placas de ágar Mueller Hilton para validar a ausência de crescimento e definir se a substância teste também se apresentou como bactericida, ou seja, além de inibir o crescimento do microrganismo, a substância também foi capaz de provocar a sua morte.

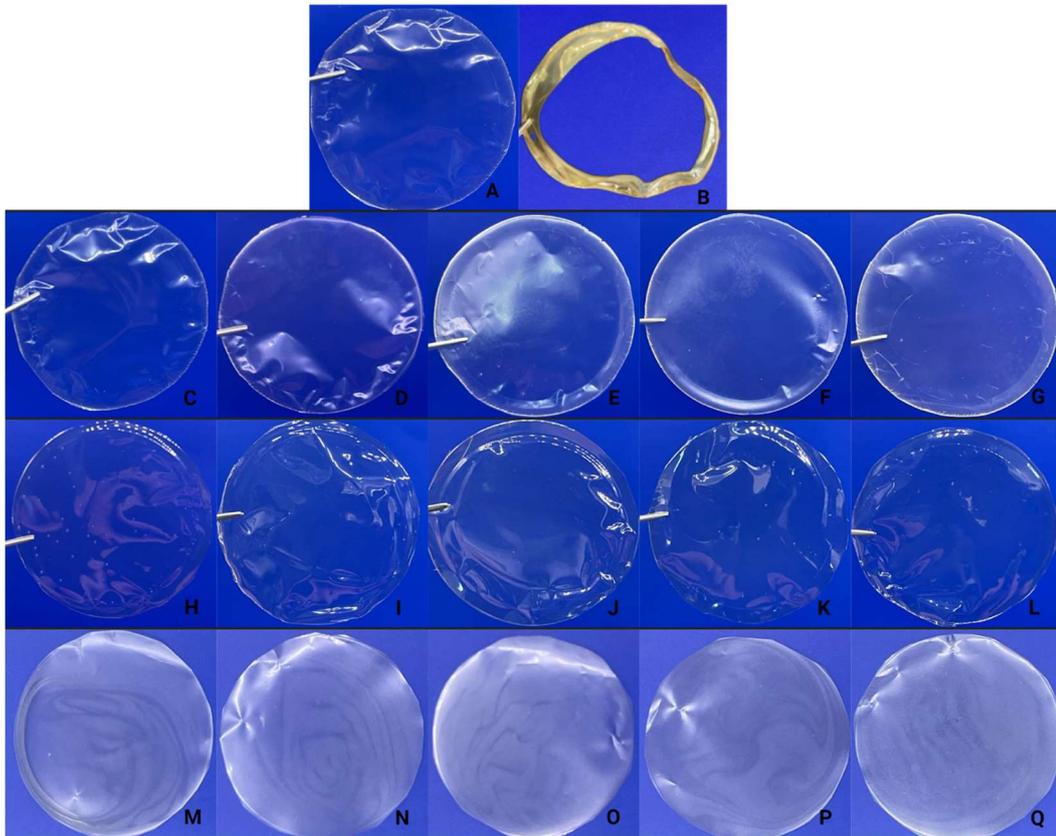
Após o plaqueamento, foi possível inferir que tanto o óleo essencial livre, quanto o OEMA- γ -CD apresentaram também atividade bactericida. Dessa maneira, a atividade antibacterianas satisfatórias e que se aproximaram dos valores do controle positivo dos antibióticos. Esses resultados corroboram com o trabalho realizado por Santos e colaboradores. (2023) ao produzir nanofibras contendo OEMA que inibiram o crescimento de cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *Candida albicans*. Dessa maneira, é evidenciado a possibilidade de aplicação do CI obtido para tratar infecções bacterianas.

5.3 Desenvolvimento dos curativos

Os filmes desenvolvidos, conforme ilustrado na Figura 14, exibiram uniformidade, embora suas características macroscópicas variem de acordo com a composição. A amostra FQTS (Figura 14A) apresentou-se uniforme, incolor, translúcida, flexível, aspectos característicos de filmes compostos apenas pela QTS, aspectos também observados por Wanderley (2019) e Li et al. (2024) FOE (Figura 14B) que preparado sob as mesmas condições das demais amostras, mostrou-se amarelado e com um vazio ao centro, o que demonstrou a evaporação do óleo essencial puro e que não houve sua incorporação na matriz polimérica. Por outro lado, as amostras de FQTS-OEMA- γ -CD (Figura 14C-G) foram formadas uniformemente, demonstrou uma opacidade distinta crescente com o aumento da concentração do CI incorporado, uma discreta coloração amarelada, devido à incorporação do OEMA- γ -CD na matriz polimérica, fator que supõe a obtenção do CI e a encapsulação do OE na γ -CD. As amostras FQTS-CIPRO (Figura 14H-L) apresentam-se incolores e translúcidas, flexíveis, porém, com o aumento da concentração do ciprofloxacino, tenderam a diminuir a flexibilidade e elasticidade. Esse resultado é semelhante ao trabalho de Rathore et al. (2019), que desenvolveram filmes de QTS contendo CIPRO variando as concentrações de QTS.

As amostras contendo o CI e o fármaco FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD (Figura 14M-O) exibiram uniformidade macroscópica, coloração branco leitoso, opacidade, flexibilidade e elasticidade distintas em relação às concentrações do CI, tendo como amostra mais uniforme e resistente a FQTS- CIPRO-OEMA- γ -CD 2, que continha concentrações iguais do fármaco e do OEMA- γ -CD.

Figura 14 - Imagem das amostras FQTS (A), FOE (B), FQTS-OEMA- γ -CD 1 (C), FQTS-OEMA- γ -CD 2 (D), FQTS-OEMA- γ -CD 3 (E), FQTS-OEMA- γ -CD 4 (F), FQTS-OEMA- γ -CD 5 (G), FQTS-CIPRO 1 (H), FQTS-CIPRO 2 (I), FQTS-CIPRO 3 (J), FQTS-CIPRO 4 (K), FQTS-CIPRO 5 (L), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 1 (M), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 2 (N), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 3 (O), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 4 (P), FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD5



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

5.4 Resistência ao dobramento

A resistência ao dobramento é realizada para avaliar a flexibilidade dos curativos, uma característica importante no processo de desenvolvimento de curativos, para garantir conforto no local da aplicação e poder ser manuseada (Devi; Dutta, 2017).

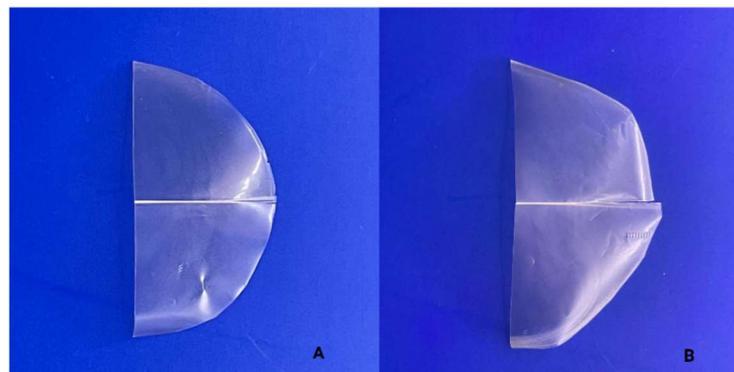
A amostras contendo valores de massa que variaram de 1 mg a 5 mg apenas do complexo de inclusão, são FQTS-OEMA- γ -CD 1, FQTS-OEMA- γ -CD 2, FQTS-OEMA- γ -CD 3, FQTS-OEMA- γ -CD 4 e FQTS-OEMA- γ -CD 5, resistiram à 300, 300, 94, 60 e 30 dobragens, respectivamente. Essa diminuição da resistência ao dobramento pode estar relacionada com a presença da γ -CD que tem a característica de tornar mais rígidos amostras de filmes de QTS, mas ainda assim, são considerados satisfatórios, como relatado por Nirmala (2020), que ao

realizar o teste de dobramento de filmes de QTS contendo CI de ramipril e β -CD obteve resultados que variaram a resistência entre 96 e 119 dobragens.

No preparo das amostras contendo apenas o fármaco ciprofloxacino também foi utilizado concentrações que variaram de 1 mg a 5 mg. Elas foram denominadas de FQTS-CIPRO 1, FQTS-CIPRO 2, FQTS-CIPRO 3, FQTS-CIPRO 4 e FQTS-CIPRO 5 e resistiram à 300, 300, 184, 107 e 86 dobragens, respectivamente sendo esses valores exatos referentes resistências da amostra que também apresentaram a diminuição da resistência ao dobramento. Resultado que pode sugerir que a proporção de massa a ser adicionada a matriz polimérica deve ser menor que 1,5% (p/v). A partir desses resultados, para preparar os curativos que continham o fármaco e o CI juntos, foi fixada na massa de 2 mg de ciprofloxacino por ser a maior concentração que resistiu a dobragens e preparado amostras variando a massa de OEMA- γ -CD de 1mg e 5mg, sendo denominados de FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 1, FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 2, FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 3 FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 4 e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 5, que apresentaram valores de resistência à dobragem de 70, 186, 234, 110 e 55, respectivamente.

Dessa forma, foi possível concluir que a amostra de curativo que melhor atendeu às características de resistência ao dobramento foi a FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD 3, que continha em sua composição 2 mg de ciprofloxacino e 3 mg de OEMA- γ -CD. Esses resultados sugerem que há a possibilidade de uma interação entre o γ -CD, assim, há uma aproximação dos valores de dobragens entre as amostras que contém as substâncias isoladas e as amostras de FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD. A Figura 15 apresenta os registros fotográficos de amostras sem e com fissura.

Figura 15 - Registros fotográficos da amostra FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD (sem fissura) e amostra FQTS-OEMA- γ -CD (com fissura) após 300 dobragens



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Esses valores divergem dos que foram apresentados por Wanderley *et al.* (2020), que observou o aumento da resistência ao dobramento ao preparar filmes de QTS e incorporar um

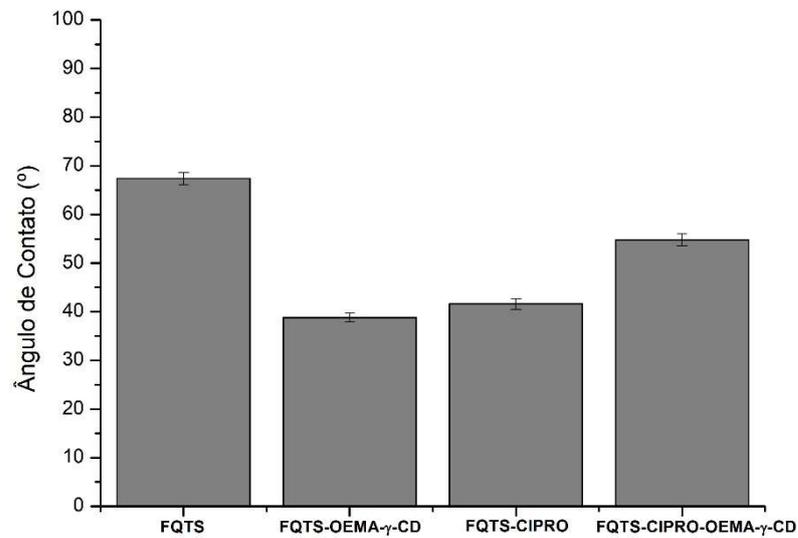
derivado N-acildrazônicos em relação aos filmes de QTS puro. É provável que essa redução esteja relacionada com o aumento da quantidade de substâncias adicionadas à matriz polimérica como o ciprofloxacino e o CI, influenciando na redução da flexibilidade dos filmes pela desestabilização da matriz e promovendo o aumento da rigidez do filme, com consequente redução da flexibilidade.

5.5 Molhabilidade por ângulo de contato

A molhabilidade é um parâmetro muito importante para os curativos como filmes de quitosana, pois o ângulo de contato que apresenta valor igual 0° indica que a superfície é altamente molhável e o material é classificado como hidrofílico, se o ângulo for $<90^\circ$ a superfície é parcialmente molhável, mas se o valor for igual a 180° , significa que a superfície apresenta baixa molhabilidade e, desta forma, apresenta-se hidrofóbica.

A Figura 16, mostra os valores de ângulo de contato com a água e a Figura 17 o comportamento da gota em contato com as amostras. Os valores apresentaram a tendência a diminuir em relação ao filme que continha apenas o polímero, que exibiu valor de $67,4^\circ \pm 1,2^\circ$. O FQTS-OEMA- γ -CD apresentou o menor valor de ângulo de contato, $38,8^\circ \pm 0,9^\circ$, FQTS-CIPRO apresentou valor intermediário, $41,5^\circ \pm 1,1^\circ$, e o FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD, $54,8^\circ \pm 1,2^\circ$. Esses valores evidenciam o caráter hidrofílico das amostras e o aumento da molhabilidade mesmo com a adição dos componentes ativos.

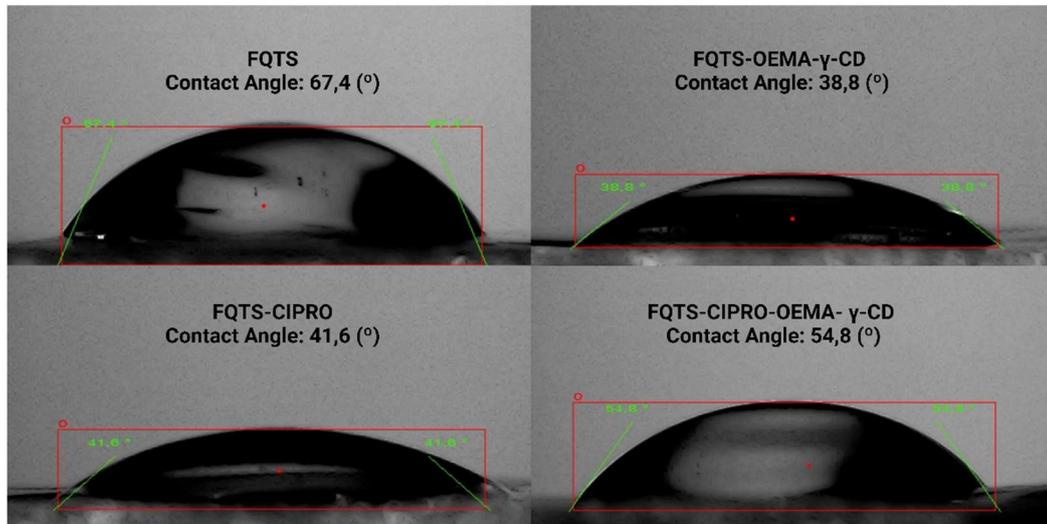
Figura 16 - Gráfico com valores referentes à molhabilidade por medida de ângulo de contato das amostras analisadas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Em vista disso, é possível avaliar que molhabilidade expressa por membranas produzida com o polímero QST tendem a apresentar caráter hidrofílico como vistos nos estudos de Zhang *et al.* (2023) e Cabrera-Barjas *et al.* (2024). Entretanto, o composto que é incorporado a esse material influencia diretamente com o aumento ou diminuição desse caráter. Foi possível, com a incorporação do OEMA- γ -CD, observar a tendência da diminuição do ângulo de contato, o que é um fator importante de ser analisado, visto que nesse sistema está inserido um componente oleoso, o qual, normalmente tenderia a repelir as moléculas da água e apresentar o caráter lipofílico.

Figura 17 - Imagem do ângulo de contato das amostras FQTS, FQTS-OEMA- γ -CD, FQTS-CIPRO e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

5.6 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

A técnica de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi empregada como um recurso adicional para ajudar na investigação de eventuais interações químicas entre os componentes QTS, CIPRO, γ -CD e OEMA, bem como a interação entre o óleo essencial e a ciclodextrina na formação do OEMA- γ -CD e as interações dessas substâncias na formulação das amostras de curativos. Os resultados das bandas características identificadas nos espectros de FTIR dos componentes investigados são apresentados na Figura 18 e na Tabela 2. Na amostra de QTS foram observados bandas de absorção em $3500-3276\text{ cm}^{-1}$ referente às vibrações das ligações do alongamento de O-H do grupo hidroximetil (CH_3OH) característico da molécula, as bandas em $3354,27-3396,96\text{ cm}^{-1}$, de estiramento de N-H, na região de 1650 cm^{-1} , foi observado ligações do tipo C-C e C-O em 1639 cm^{-1} relacionados aos grupos aminoacetilados, esses grupos também foram observados por meio de ligações C-N-H na banda de 1561 cm^{-1} . Nas regiões de 1453 cm^{-1} foi observado o estiramento do grupo $-\text{NH}_2$, 1316 cm^{-1} referente ao grupo $-\text{CH}_3$, e em 1260 ligações de C-N, ainda apresentou vibrações de C-O e C-C na faixa entre $1300 - 800\text{ cm}^{-1}$ atribuídas às estruturas de polissacarídeos. (Almeida *et al.*, 2019; Rui *et al.*, 2024; Wanderley *et al.*, 2019, 2020)

A amostra de γ -CD apresentou absorção em $3350 - 3189\text{ cm}^{-1}$ referente ao alongamento do O-H, na região de 2930 cm^{-1} o estiramento da ligação de C-H referente ao $-\text{CH}_2$. Em 1620 cm^{-1} foi observado a vibração de flexão de O-H, na região de 1416 cm^{-1} também foi observado

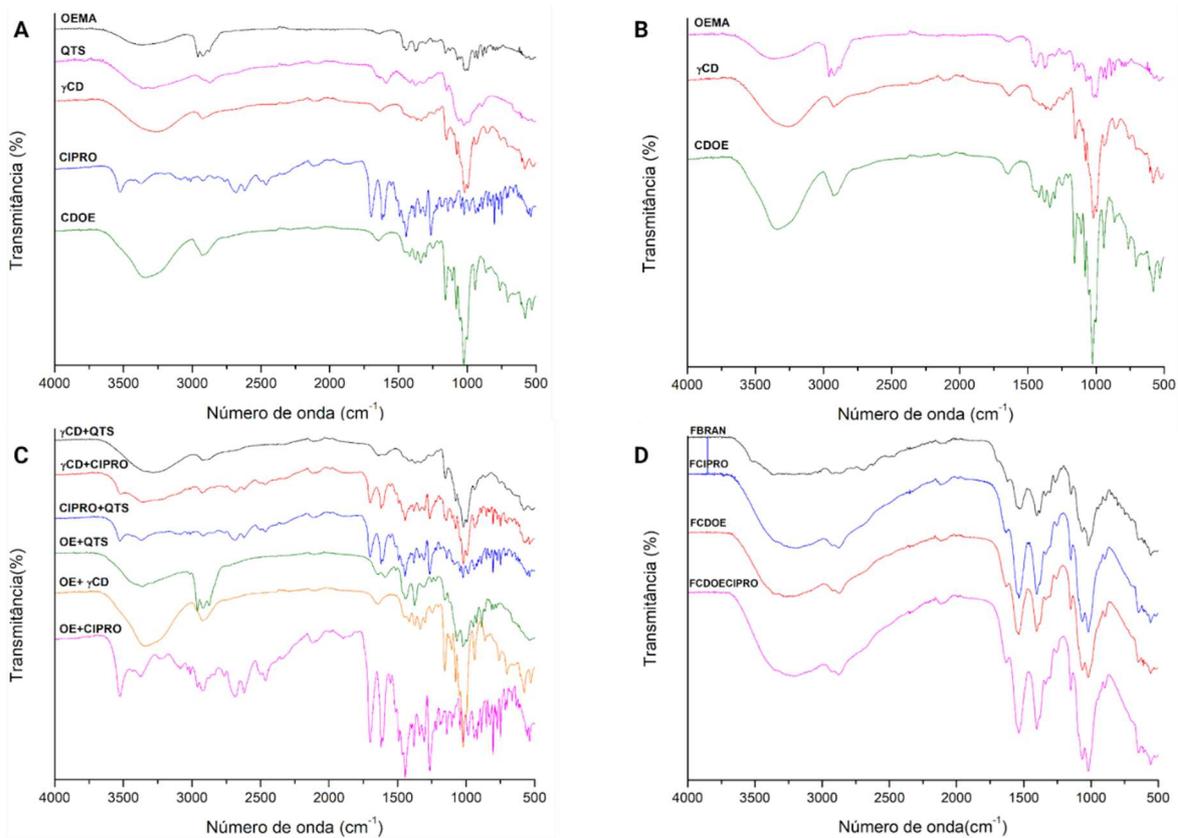
o estiramento de C-H referente ao $-\text{CH}_2$, na região de *fingerprint* molecular. Nesta mesma zona, entre 1157 a 1027 cm^{-1} , foi observado a deformação assimétrica e simétrica do C-O-C referente a carbonila de ésteres alifáticos, em 937 cm^{-1} a vibração da ligação α -(1-4) do esqueleto, e, em 856 cm^{-1} , foi a faixa referente à ligação C-C-H, C-O, C-C, do carbono anomérico. (Choi *et al.*, 2024; Min *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024)

O FTIR do OEMA apresentou alongamento característico de O-H na faixa de 3750 cm^{-1} a 3320 cm^{-1} , a região de 2900 cm^{-1} foi referente ao estiramento do grupo C-H, de 1446 até 1357 cm^{-1} à vibração de dobramento da ligação CH_2 e entre 1250 e 1020 cm^{-1} refere-se a vibrações dos alongamentos do grupo C-O dos grupos aromáticos. Todas as bandas na região de *fingerprint* indicam a presença dos componentes majoritários do óleo essencial, que são terpenos, pinenos e álcool sesquiterpenos.

O espectro do CIPRO apresentou as bandas características do estiramento O-H do ácido carboxílico, em 3525 – 3370 cm^{-1} referente ao estiramento N-H da amina ionizada (NH_2^+), na faixa de 2679 – 2465 cm^{-1} , as bandas referentes ao grupo C=O do alongamento no anel COOH e 4-quinolona em 1710 cm^{-1} e 1620 cm^{-1} , respectivamente. Na região de *fingerprint*, o alongamento de C-C no anel aromático em 1546 – 1495 cm^{-1} , em 1459 cm^{-1} referente ao dobramento de C-H, o C-N alongamento em 1354 cm^{-1} , o C-O alongamento em COOH em 1241 cm^{-1} e as vibrações de alongamento C-F na faixa de 1250 – 1100 cm^{-1} . (Kowalczyk, 2020)

Foi possível observar nas misturas físicas na proporção 1:1 que as características dos compostos isolados foram mantidas, fator indicativo de possível afinidade química. Os espectros das misturas físicas estão representados na Figura 18.

Figura 18 - Espectros de infravermelho das substâncias isoladas (A), componentes do complexo de inclusão (B), misturas físicas (C) e amostras de curativos (D)



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Os espectros das amostras FQTS, FQTS-OEMA- γ -CD, FQTS-CIPRO e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD, apresentaram manutenção de bandas características da QTS, diferenciando por meio da intensificação na região de 3670 - 2985 cm^{-1} referente ao alongamento de O-H e na região 1582-1350 cm^{-1} referente ao dobramento da ligação CH_2 , e a intensificação do pico na região de 1110 cm^{-1} referente ao estiramento de C-O. A predominância das características espectrais dos polímeros nestas amostras pode estar relacionada com a homogeneidade na distribuição do CIPRO e do OEMA- γ -CD na matriz polimérica.

Tabela 2 - Principais bandas observadas nos espectros de FTIR das amostras

Amostras	O-H	N-H	CH	CN	C=O	C-O-C
QTS	3500	3354	-	1260	1650	1300
CIPRO	3525	3525	1546	1354	2679	

γ -CD	3350		2930		856	1157
OEMA	3750		2900		1250	
OEMA- γ -CD	3350		2930		1125	
γ -CD+QTS	3687	3350	2872		1589	1043
γ -CD+CIPRO	3480		2976		1472	1088
CIPRO+QTS	3358		2668		1713	
OEMA+QTS	3367		2944		1411	1092
OEMA+ γ CD	3546		2939		1164	991
OEMA+CIPRO	3537	3358	2650	1686	1243	
FQTS	3370	3358	2859		1768	1012
FQTS-OEMA- γ -CD	3580	3375	2921		1753	1026
FQTS-CIPRO	3625	3429	2834	1395	1745	1040
FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD	3568	3326	2737		1762	1039

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

5.7 Termogravimetria e sua derivada

A curva termogravimétrica da QST apresentou 3 etapas de perda de massa (30,00 - 133,65 °C, $\Delta m = 12,32\%$; 133,55 - 458,22 °C, $\Delta m = 47,17\%$ e 458,22 - 790,61 °C, $\Delta m = 8,7\%$), a primeira etapa é indicativa da remoção de água ou solvente adsorvido, presente na substância, visto que a mesma tem o caráter de reter água devido à sua natureza hidrofílica. A segunda etapa é referente decomposição dos produtos voláteis, como a quebra ligações glicosídicas, que sofrem decomposição térmica, típica de polímeros orgânicos quando submetidos a altas temperaturas. Já na terceira etapa, refere-se à decomposição de resíduos orgânicos remanescentes.(OSÓRIO et al., 2018; WANDERLEY et al., 2019). A γ -CD apresentou duas

etapas (23,46-256,55 °C, $\Delta m = 11,52\%$; 256,55-373,62 °C, $\Delta m = 72,96\%$), a etapa 1 referente desidratação, pela liberação de moléculas de água, e a etapa 2, que representa uma perda significativa de massa, em decorrência da sua degradação térmica, por ser uma molécula cíclica, compostas por unidades de glicose, essa degradação é proveniente da quebra de ligações glicosídicas que ligam as unidades de glicose. (Papaioannou; Karagianni; Papaioannou, 2020).

O OEMA apresentou uma única etapa de perda de massa, (21,98-217,91°C, $\Delta m = 99,6\%$), referente à volatilização do composto, esse aspecto corrobora com o caráter volátil dos óleos essenciais, que são formados por compostos voláteis e aromáticos, como terpenos, que têm pontos de ebulição relativamente baixos. O CIPRO apresentou duas etapas distintas de perda de massa. (24,81-273,01 °C, $\Delta m = 7,11\%$; 273,01-474,58 °C, $\Delta m = 65,02\%$): A primeira etapa está associada à desidratação, enquanto a segunda etapa indica uma decomposição térmica adicional do próprio fármaco, pois ele é conhecido por sua estabilidade moderada em temperaturas elevadas, e a perda de massa observada nesta faixa de temperatura pode ser atribuída à decomposição de sua estrutura molecular.

A Figura 19, 20 e 21 apresentam as curvas de TG/DTG e os resultados da decomposição termogravimétrica já demonstrada na Tabela 3.

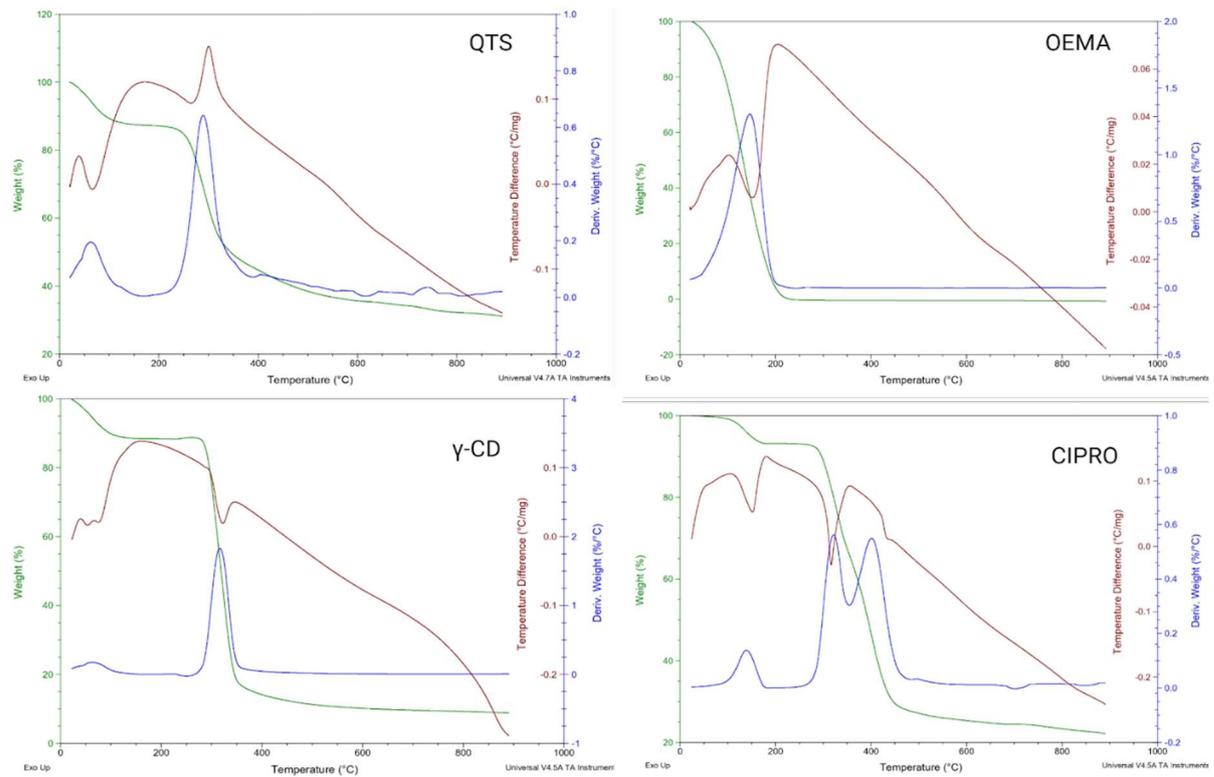
Tabela 3 - Resultados da decomposição térmica

Substância	Etapas	Faixa de Temperatura (°C)	Massa (%)
QTS	1	30,00 - 133,65	12,32
	2	133,55-458,22	47,17
	3	458,22-790,61	8,47
γ -CD	1	23,46-256,55	11,52
	2	256,55-373,62	72,96
OEMA	1	21,98-217,91	99,6
CIPRO	1	24,81-273,01	7,11
	2	273,01-474,58	65,02
γ -CD+QTS	1	21,68-256,30	14,28
	2	256,30-364,37	53,9
	3	364,37-512,97	7,04
CIPRO+ γ -CD	1	25,59-234,26	8,95

	2	234,26-588,33	59,91
CIPRO+QTS	1	29,15-238,17	10,51
	2	238,17-481,69	57,23
OEMA- γ -CD	1	28,79-116,95	9,66
	2	116,95-267,33	13,06
	3	267,33-408,46	68,85
FQTS	1	25,59-116,95	18,14
	2	116,95-408,46	44,91
	3	408,46-744,04	7,16
FQTS-CIPRO	1	29,15-116,95	11,07
	2	116,95-434,05	47,67
	3	434,05-654,10	5,17
FQTS-OEMA- γ -CD	1	29,15-116,86	13,68
	2	116,86-546,03	54,06
FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD	1	25,59-113,40	14,11
	2	113,40-195,87	7,59
	3	195,87-443,29	42,48

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Figura 19 - Curvas termogravimétricas das amostras isoladas

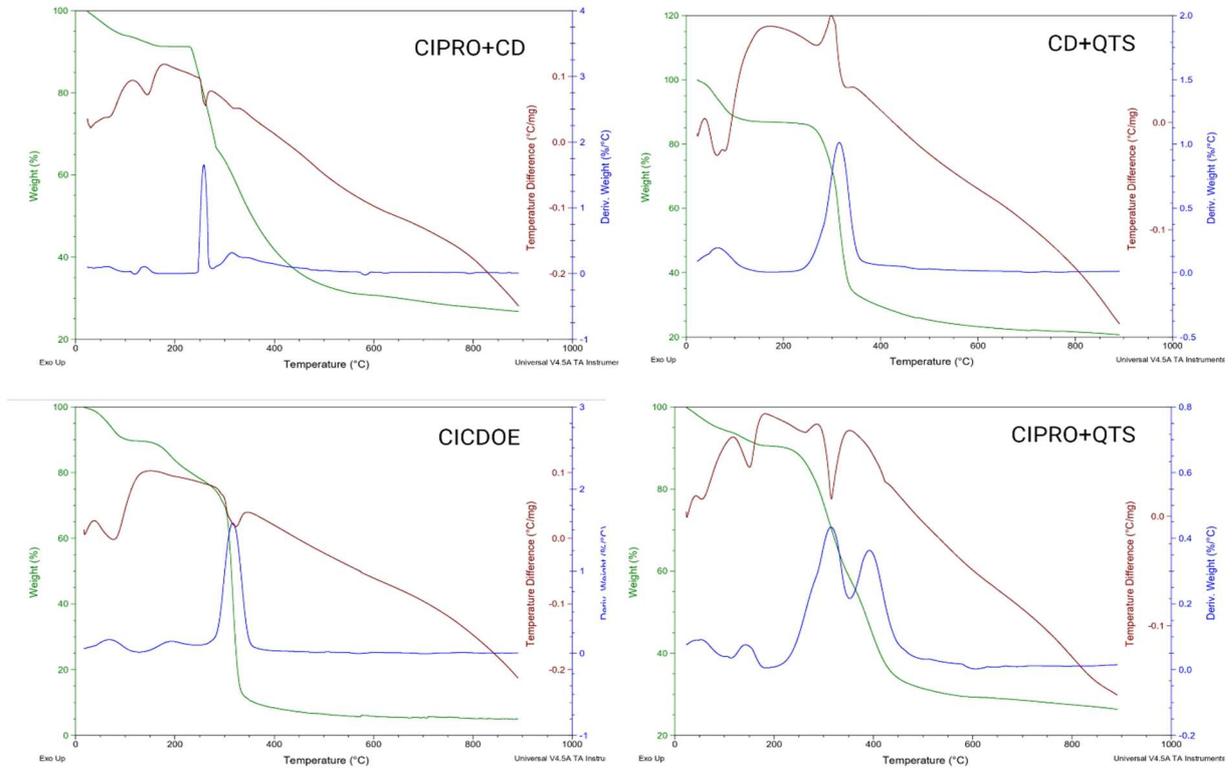


Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Para a mistura física entre a QTS+CD, observou-se 3 etapas distintas (21,68-256,30°C, $\Delta m = 14,28\%$; 256,30-364,37 °C, $\Delta m = 53,9\%$; 364,37-512,97 °C, $\Delta m = 7,04\%$), a primeira etapa referente a desidratação de ambos compostos, a segunda etapa apresentou perda de massa significativa, relacionada à decomposição térmica de componentes da mistura física, tanto a QTS, quanto a CD apresentam moléculas de glicose que sofrem quebra das ligações glicosídicas e degradação térmica dos grupos funcionais, já a terceira etapa, apresenta uma perda de massa residual de 7,04%. O termograma da mistura física de CIPRO+CD apresentou duas etapas, (25,59-234,26 °C, $\Delta m = 8,95\%$; 234,26-588,33 °C, $\Delta m = 59,91\%$), sendo a primeira referente ao processo de desidratação de ambas substâncias e a etapa 2 referente a decomposição térmica. No caso da mistura entre CIPRO+QTS, ocorreram 2 etapas de perda de massa (29,15-238,17°C, $\Delta m = 10,51\%$; 238,17-481,69 °C $\Delta m = 57,23\%$), a primeira referente a perda de água e a segunda a decomposição térmica característica de ambas substâncias. O OEMA- γ -CD exibiu 3 etapas de perda de massa (28,79-116,95 °C, $\Delta m = 9,66\%$; 116,95-267,33 °C, $\Delta m = 13,06\%$; 267,33-408,46 °C, $\Delta m = 68,85\%$), a primeira etapa referente a desidratação, a segunda etapa ao início da decomposição térmica de componentes voláteis que não estejam encapsulados na

ciclodextrina e a 3 etapa, a principal, referente à volatilização do óleo ao ser liberado pela ciclodextrina.

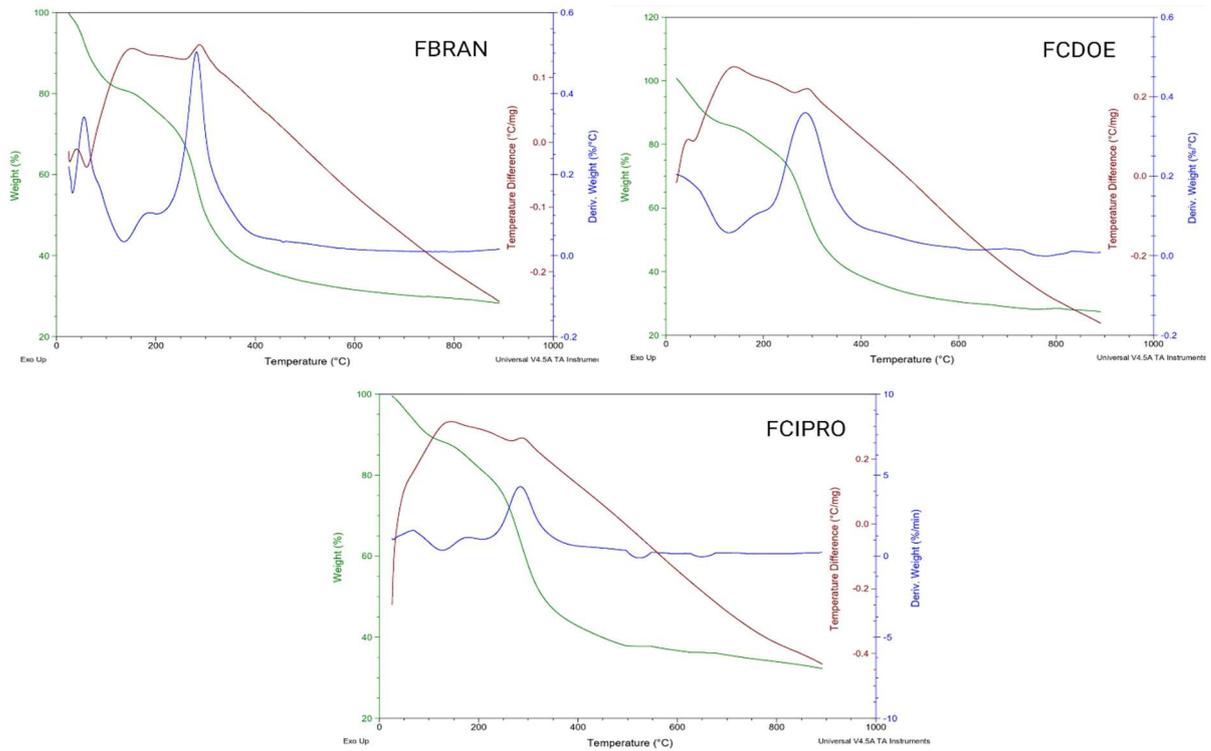
Figura 20 - Curvas termogravimétricas das misturas físicas e do complexo de inclusão



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

As amostras de curativo (Figura 20) FQTS apresentou valores semelhantes ao pó, com três etapas de perda de massa (25,59-116,95 °C, $\Delta m = 18,14\%$; 116,95-408,46 °C $\Delta m = 44,91\%$; 408,46-744,04 °C $\Delta m = 7,16\%$) a primeira referente a liberação de água e ácido acético do filme, a segunda etapa, onde ocorreu maior perda de massa, refere-se à despolimerização da cadeia da QTS. (Rui *et al.*, 2024). Já o FQTS-CIPRO apresentou 3 etapas (29,15-116,95 °C, $\Delta m = 11,07\%$; 116,95-434,05 °C, $\Delta m = 47,67\%$; 434,05-654,10 °C, $\Delta m = 5,17\%$) semelhante aos eventos que ocorreram com as substâncias em misturas físicas, com o adicional de uma terceira perda de massa residual. O FQTS-OEMA- γ -CD apresentou (29,15-116,86 °C, $\Delta m = 13,68\%$; 116,86-546,03 °C, $\Delta m = 54,06\%$; 434,05-654,10 °C, $\Delta m = 5,17\%$), essas perdas de massa foram similares aos pó das substâncias isoladas. E por fim, o FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD apresentou (25,59-113,40 °C, $\Delta m = 14,11\%$; 113,40-195,87 °C, $\Delta m = 7,59\%$; 195,87-443,29 °C, $\Delta m = 42,48\%$), que também foi semelhante aos filmes das substâncias isoladas, mas faixa de temperatura que a perda de massa foi significativa foi deslocada em relação ao FQTS-OEMA- γ -CD, provavelmente a presença do fármaco fez com que a estabilidade térmica do complexo de inclusão diminuísse.

Figura 21 - Curvas termogravimétricas das amostras dos curativos



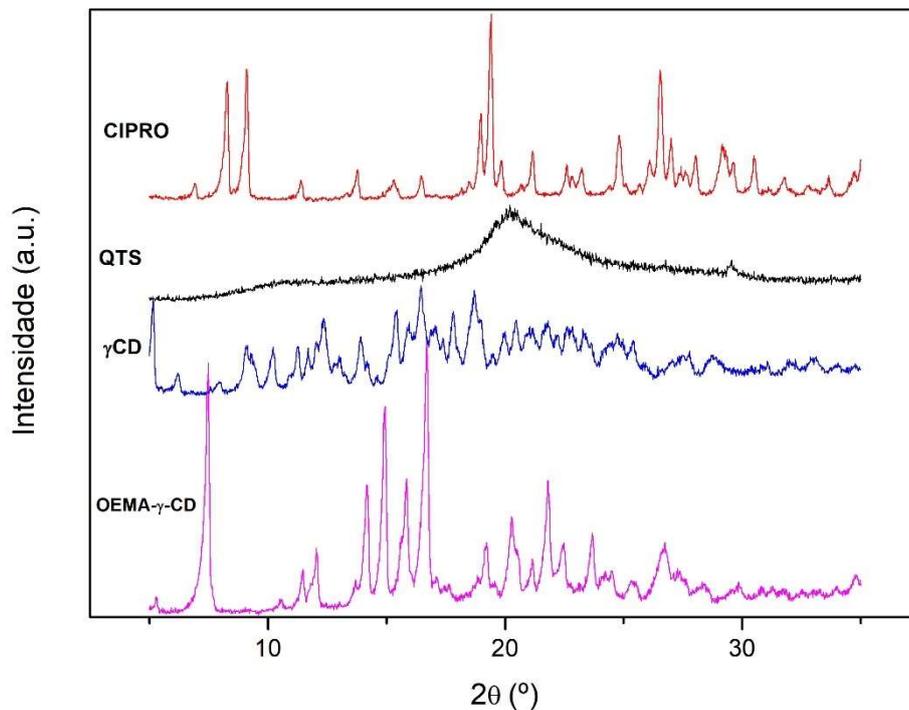
Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

5.8 Difração de Raio-x

A Figura 22 mostra os difratogramas das amostras analisadas. O difratograma da CIPRO apresentou reflexões cristalinas em $6,91^\circ$; $8,27^\circ$; $9,11^\circ$; $11,41^\circ$; $13,76^\circ$; $15,13^\circ$; $16,46^\circ$; $18,82^\circ$; $19,4^\circ$; $19,96^\circ$; $21,16^\circ$; $22,62^\circ$; $23,26^\circ$; $26,52^\circ$; $30,5^\circ$ 2θ . Para a QTS, foram observados dois picos em $10,83^\circ$ e $20,26^\circ$ 2θ , característicos do polímero, perfil relacionado a sua estrutura semi-cristalina, que ocorre devido às fortes ligações de hidrogênio tanto entre moléculas do polímero quanto dentro de cada molécula, envolvendo os grupos amina, álcool e amida. (Fidelis *et al.*, 2010; Gartner *et al.*, 2011; Shazadi *et al.*, 2016; Rui *et al.*, 2024) O γ -CD apresentou $7,44^\circ$; $14,8^\circ$; $14,94^\circ$; $15,86^\circ$; $16,7^\circ$; $19,24^\circ$; $20,28^\circ$; $21,82^\circ$; $23,7^\circ$; $26,74^\circ$ 2θ , esses picos cristalinos são específicos e nítidos, comuns a γ -ciclodextrina, por ser uma substância cristalina. (Ding *et al.*, 2022). O OEMA- γ -CD apresentou $10,2^\circ$; $13,92^\circ$; $15,4^\circ$; $16,46^\circ$; $17,82^\circ$; $18,74^\circ$; $20,46^\circ$; $21,8^\circ$ 2θ , nesse complexo de inclusão foi observado que os picos característicos da γ -CD desapareceram e deram origem a novos picos, o que sugere que a CD está envolvendo o óleo

essencial e o complexo de inclusão foi formado, situação semelhante foi observada por Zhang et al., (2023) ao encapsular o óleo de timol em γ -CD.

Figura 22 - Difratomogramas das amostras CIPRO, QTS, γ -CD e OEMA- γ -CD

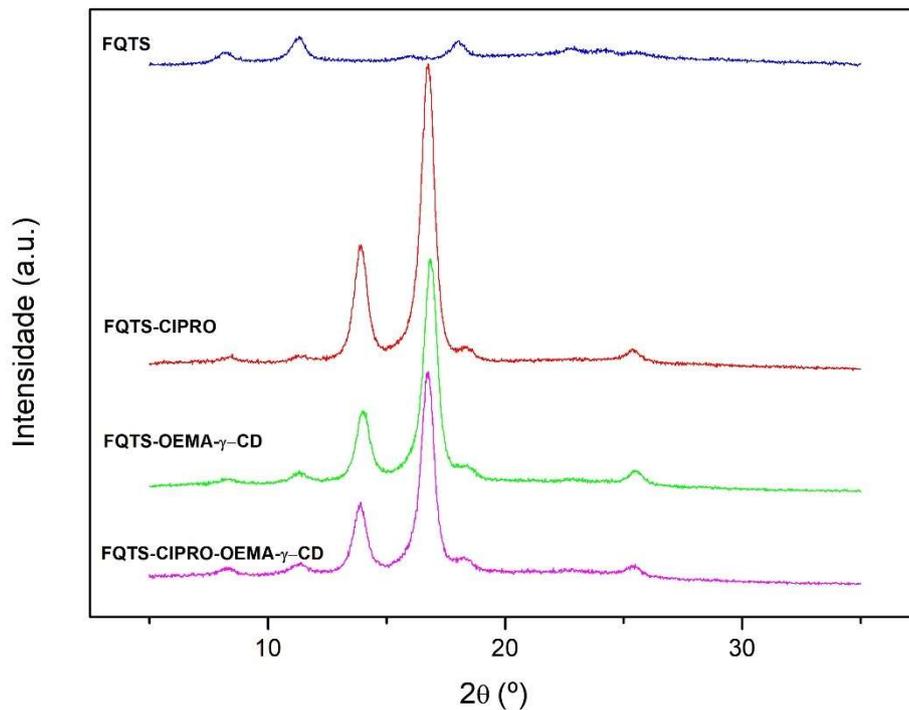


Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Já as amostras dos curativos foram possíveis observar que, a amostra FQTS apresentou maior amorficidade em relação ao pó isolado, e três reflexões cristalinas em $8,26^\circ$; $11,34^\circ$ e $18,07^\circ$, corroborando com os achados de Gartner et al. (2011) e Wanderley et al. (2020). O FQTS-CIPRO apresentou as reflexões cristalinas em $13,94^\circ$; $16,74^\circ$ e $25,39^\circ$ referentes ao fármaco na sua forma isolada, fato que ocorreu devido a heterogeneidade da amostra analisada. Esse fato ocorreu também na amostra FQTS-OEMA- γ -CD que apresentou as reflexões em 14° ; $16,84^\circ$ e $25,45^\circ$ que se assemelham a reflexões encontradas no complexo de inclusão isolado, bem como a amostra FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD que apresentou as reflexões em $13,94^\circ$; $16,72^\circ$ e $25,39^\circ$, similar aos valores observados em ambas amostras isoladas de CIPRO e OEMA- γ -CD, e, posteriormente, nos filmes FQTS-OEMA- γ -CD e FQTS-CIPRO. Estes resultados sugerem que há presença de cristalitos dos ativos que não foram totalmente

incorporados à matriz polimérica, corroborando com resultados achados por Wanderley et al. (2020). Os difratogramas das amostras dos curativos estão apresentados na Figura 23.

Figura 23 - Difratogramas das amostras FQTS, FQTS-CIPRO, FQTS-OEMA- γ -CD e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

5.9 Avaliação do potencial hemolítico

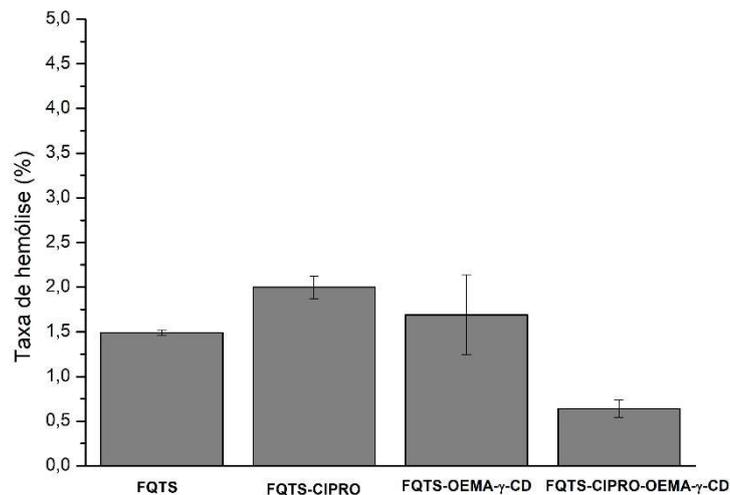
No desenvolvimento de formulações curativas, uma das principais propriedades a ser avaliada é a biocompatibilidade, especialmente a hemocompatibilidade. Visto que, a depender da composição e concentração dos componentes dessas formulações, podem desencadear efeitos adversos, uma vez que o tecido sanguíneo é uma das primeiras áreas em que os curativos interagem após aplicados. (Liang *et al.*, 2018; Shahriari-Khalaji *et al.*, 2023). A reação comum do organismo à presença de curativos sintéticos envolve a formação de coágulos sanguíneos, inflamação e resposta a corpos estranhos. Esses fatores podem ocasionar um estresse osmótico

excessivo nas hemácias, devido à incompatibilidade com a área superficial da amostra. (Narayanan; Kim; Han, 2020; Weber *et al.*, 2018)

A classificação quanto ao caráter hemolítico das amostras, foi realizada a partir da regulamentação ISO 10993-5 (International Organization for Standardization, 2009) que estabelece três categorias para os materiais com base na sua capacidade de causar hemólise: são considerados (1) materiais hemolíticos, aqueles que apresentam o percentual acima de 5%, (2) levemente hemolíticos aqueles com uma taxa entre 2-5% e (3) não hemolíticos aqueles com uma taxa abaixo de 2%.

Na Figura 24 são apresentadas as taxas de hemólise das amostras. FQTS apresentou valor de $1,49 \pm 0,0345\%$ como médio de taxa de hemólise, sendo classificada como não hemolítica, conforme a norma 10993-5 da ISO ($<2\%$), demonstrando assim, sua capacidade de compatibilidade com o sangue e sua adequação para ser utilizado em formulações terapêuticas. Essa hemocompatibilidade também foi observada por Moraes e colaboradores (2019). As demais amostras também foram classificadas como não hemolíticas, exibindo valores médios de taxa de hemólise iguais a $2,0 \pm 1,279\%$, $1,69 \pm 0,449\%$ e $0,69 \pm 0,0992\%$ correspondentes as amostras FQTS-CIPRO, FQTS-OEMA- γ -CD e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD respectivamente. Estes resultados que foram obtidos, apresentaram mais hidrofília quando comparada com os curativos com o emprego da quitosana desenvolvidos por Barman (2024)

Figura 24 - Taxa de Hemólise das amostras



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

A elevação do valor médio da taxa de hemólise da amostra FQTS-CIPRO pode estar relacionada com a presença de cristais do fármaco ciprofloxacino que não foram solubilizadas por completo na matriz polimérica, e a amostra FQTS-OEMA- γ -CD apresentou um discreto aumento em relação a amostra FQTS, provavelmente pela presença de resíduos do óleo essencial que foram liberados do complexo de inclusão. A amostra FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD apresentou menor valor médio de taxa de hemólise, fator que deve ter ocorrido pela homogeneidade de incorporação dos componentes na matriz, fazendo com que não houvesse cristais de fármaco ou de CI disponíveis para penetrar a membrana das hemácias.

6 CONCLUSÕES

- A encapsulação do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na γ -ciclodextrina foi realizada.
- O complexo de inclusão apresentou atividade bacteriostática e bactericida contra cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*;
- O desenvolvimento de curativos poliméricos com a incorporação do complexo de inclusão obtido e o fármaco ciprofloxacino foram formulados por meio da técnica de evaporação do solvente;
- A taxa de hemólise média das amostras se enquadrou na norma especificada na ISO 10993-5;
- A avaliação macroscópica confirmou a característica de solubilização do complexo de inclusão obtido, bem como do fármaco empregado;
- A resistência ao dobramento foi influenciada pelo aumento da incorporação das substâncias ativas, ocasionando a redução desta propriedade nas amostras FQTS-OEMA- γ -CD, FQTS-CIPRO e FQTS-CIPRO-OEMA- γ -CD, em relação ao FQTS;
- A análise por espectroscopia de infravermelho evidenciou a ausência de incompatibilidade química entre os constituintes, e a interação entre os constituintes do complexo de inclusão, sugerindo a sua obtenção;

7 PERSPECTIVAS

- Realizar o teste microbiológico *checkerboard* para o complexo de inclusão e o ciprofloxacino;
- Desenvolver e validar um método analítico baseado em cromatografia gasosa e quantificar por meio o perfil de liberação do óleo essencial encapsulado da ciclodextrina. Bem como a realização da liberação *in vitro* do sistema obtido;
- Validar a atividade farmacológica por meio da experimentação *in vivo*;
- Os resultados evidenciam a capacidade das amostras como uma opção promissora para tratamento e a potencialidade de uma abordagem terapêutica inovadora. No entanto, são necessários alguns testes adicionais para validar essa potencialidade da formulação, como o estudo de liberação do fármaco e do óleo essencial contidos na formulação, a experimentação *in vivo* para confirmar e validar a atividade farmacológica proposta.

REFERÊNCIAS

- ADEL, A. M.; IBRAHIM, A. A.; EL-SHAFEI, A. M.; AL-SHEMY, M. T. Inclusion complex of clove oil with chitosan/ β -cyclodextrin citrate/oxidized nanocellulose biocomposite for active food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, n. 100307, p. 100307, 2019.
- AHMED, J.; MULLA, M. Z.; AL-ATTAR, H.; ALZUWAYED, S.; EJAZ, M.; AL-JASSAR, S.; JACOB, H.; THOMAS, L.; AL-RUWAIH, N. Thermal, structural, antimicrobial, and physicochemical characterisation of thyme essential oil encapsulated in β - and γ -cyclodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v.39, 2022.
- ALBAYRAK, N. Tetrazolium-based rapid colorimetric assay to determine bacteriocin activity. **Journal of the Turkish Chemical Society Chemical Engineering**, Turquia, 2022.
- ALI, M.; MIR, S.; ABID, O. U. R.; AJLOUNI, A. W.; GHAFOR, S.; BIBI, S. Applications of chitosan based bionanocomposites in drug-delivery and anticancer treatment-A review. **European Polymer Journal**, v. 201, 2023.
- ALMEIDA, R. S.; PENICHE, C. A.; SOLÍS, Y.; PENICHE, H.; RIGO, E. C. S.; ROSA, F. P. Development, characterization and in vitro evaluation of chitosan and hydroxyapatite particles for bone replacement. **Ceramica**, v. 65, n. 376, p. 569–577, 2019.
- BAI, M. Y.; ZHOU, Q.; ZHANG, J.; LI, T.; CHENG, J.; LIU, Q.; XU, W. R.; ZHANG, Y. C. Antioxidant and antibacterial properties of essential oils-loaded β -cyclodextrin-epichlorohydrin oligomer and chitosan composite films. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, v. 215, 2022.
- BALAN, V.; VERESTIUC, L. Strategies to improve chitosan hemocompatibility: A review. **European Polymer Journal**, Oxford, v. 53, 2014.
- BARMAN, M.; RAHMAN, S.; JOSHI, N.; SARMA, N.; BHARADWAJ, P.; THAKUR, D.; DEVI, R.; CHOWDHURY, D.; HURREN, C.; RAJKHOWA, R. Banana fibre-chitosan-guar gum composite as an alternative wound healing material. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 259, 2024.
- BOUWSTRA, J. A.; HELDER, R. W. J.; GHALBZOURI, A. EL. Human skin equivalents: Impaired barrier function in relation to the lipid and protein properties of the stratum corneum. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 175, 2021.
- CABRERA-BARJAS, G.; ALBORNOZ, K.; BELCHI, M. D. L.; GIORDANO, A.; BRAVO-ARREPOL, G.; MOYA, E.; MARTIN, J. S.; VALDES, O.; NESIC, A. Influence of chitin nanofibers and gallic acid on physical-chemical and biological performances of chitosan-based films. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 130159, 2024.
- CAI, C.; LIU, M.; YAN, H.; ZHAO, Y.; SHI, Y.; GUO, Q.; PEI, W.; HAN, J.; WANG, Z. A combined calorimetric, spectroscopic and molecular dynamic simulation study on the inclusion complexation of (E)-piceatannol with hydroxypropyl-B-cyclodextrin in various alcohol + water cosolvents. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 132, p. 341–351, 2019.

CAO, C.; XIAO, Z.; WU, Y.; GE, C. Diet and skin aging—from the perspective of food nutrition. **Nutrients**. 2020.

CARAZZAI, R. M. **Obtenção de fibras de cellprene® epoxidado por electrospinning**. 2019. Dissertação. (Mestrado em Engenharia) Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2019.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**. 2006.

CELEBIOGLU, A.; UYAR, T. Electrohydrodynamic encapsulation of eugenol-cyclodextrin complexes in pullulan nanofibers. **Food Hydrocolloids**, 2021.

CHALLONER, T.; VESEL, T.; DOSANJH, A.; KOK, K. The risk of pressure ulcers in a prone COVID population. **Surgeon**, v. 20, 2022.

CHAMBERS, E. S.; VUKMANOVIC-STEJIC, M. Skin barrier immunity and ageing. **Immunology**. 2020.

CHAVOSHNEJAD, P.; MORE, S.; RAZAVI, M. J. From surface microrelief to big wrinkles in skin: A mechanical in-silico model. **Extreme Mechanics Letters**, v. 36, 2020.

CHIN, K. B.; CORDELL, B. The effect of tea tree oil (melaleuca alternifolia) on wound healing using a dressing model. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 19, 2013.

CHOI, K. O.; KIM, D. R.; KWAK, J. Y.; LEE, N. Y.; NGUYEN, P. C.; PARK, J. T. Enhancement of bioavailability and anti-inflammatory activity of inotodiol through complexation with γ -cyclodextrin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 91, 2024.

CID-SAMAMED, A.; RAKMAI, J.; MEJUTO, J. C.; SIMAL-GANDARA, J.; ASTRAY, G. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. **Food Chemistry**. 2022.

CLSI. **Clinical & Laboratory Standards Institute**, 2020.

CUI, C.; SUN, S.; LI, X.; CHEN, S.; WU, S.; ZHOU, F.; MA, J. Optimizing the chitosan-PCL based membranes with random/aligned fiber structure for controlled ciprofloxacin delivery and wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 205, 2022.

DANA, A. N.; BAUMAN, W. A. Bacteriology of pressure ulcers in individuals with spinal cord injury: What we know and what we should know. **Journal of Spinal Cord Medicine**, 2015.

DEVI, N.; DUTTA, J. Preparation and characterization of chitosan-bentonite nanocomposite films for wound healing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, 2017.

DING, Y.; YU, B.; ZHANG, J.; DING, C.; ZHANG, Z.; XU, S.; LI, L.; YU, H. Tilmicosin/ γ -Cyclodextrin complexation through supercritical carbon dioxide assistance and its pharmacokinetic and antibacterial study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 181, 2022.

EDSBERG, L. E.; BLACK, J. M.; GOLDBERG, M.; MCNICHOL, L.; MOORE, L.; SIEGGREEN, M. Revised National Pressure Ulcer Advisory Panel Pressure Injury Staging System. **Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing**, v. 43, 2016.

FADIL, R.; HOFFMANN, B.; LOVELACE, S.; FARAHANI, B.; ARZANPOUR, S.; LOSCHIEDER, J.; ABOONABI, A.; TAVAKOLIAN, K. Design and evaluation of a dynamic air cushion for pressure ulcers prevention. **Journal of Tissue Viability**, v. 31, 2022.

FOURMENTI, SOPHIE.; CRINI, GREGÓRIO.; LICHTFOUSE, E. Cyclodextrin Applications in Medicine, Food, Environment and Liquid Crystals. **Environmental Chemist**. 2018.

FRANCO, P.; MARCO, I. DE. Formation of rutin- β -cyclodextrin inclusion complexes by supercritical antisolvent precipitation. **Polymers**, v. 13, 2021.

GARTNER, C.; LÓPEZ, B. L.; SIERRA, L.; GRAF, R.; SPIESS, H. W.; GABORIEAU, M. Interplay between structure and dynamics in chitosan films investigated with solid-state NMR, dynamic mechanical analysis, and X-ray diffraction. **Biomacromolecules**, v. 12, 2011.

GEFEN, A. The biomechanics of sitting-acquired pressure ulcers in patients with spinal cord injury or lesions. **International Wound Journal**, 2007.

GERHARDT, L. C.; STRÄSSLE, V.; LENZ, A.; SPENCER, N. D.; DERLER, S. Influence of epidermal hydration on the friction of human skin against textiles. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 5, 2008.

GIST, S., TIO-MATOS, I., FALZAGRAF, S., CAMERON, S., BEEBE, M. Wound care in the geriatric client. **Clinical Interventions in Aging**, v. 4, 2009.

GOMES, F.; FURTADO, G. E.; HENRIQUES, M.; SOUSA, L. B.; SANTOS-COSTA, P.; BERNARDES, R.; APÓSTOLO, J.; PARREIRA, P.; SALGUEIRO, A. The skin microbiome of infected pressure ulcers: A review and implications for health professionals. **European Journal of Clinical Investigation**, 2022.

GOY, Rejane C.; BRITTO, Douglas; ASSIS, Odilio B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polimeros**, v. 19, 2009.

GUPTA, B.; DALAL, P.; RAO, R. Cyclodextrin decorated nanosponges of sesamol: Antioxidant, anti-tyrosinase and photostability assessment. **Food Bioscience**, v. 42, 2021.

HASAN ANEEM, T.; FIRDOUS, S. O.; ANJUM, A.; WONG, S. Y.; LI, X.; ARAFAT, M. T. Enhanced wound healing of ciprofloxacin incorporated PVA/alginate/PAA electrospun nanofibers with antibacterial effects and controlled drug release. **Materials Today Communications**, v. 38, 2024.

HNIN, H. M.; STEFÁNSSON, E.; LOFTSSON, T.; ASASUTJARIT, R.; CHARNVANICH, D.; JANSOOK, P. Physicochemical and Stability Evaluation of Topical Niosomal Encapsulating Fosinopril/ γ -Cyclodextrin Complex for Ocular Delivery. **Pharmaceutics**, v. 14, 2022.

HORST, B. TER; MOIEMEN, N. S.; GROVER, L. M. Biomaterials for Skin Repair and Regeneration. **Natural Polymers**, 2019.

IBRAHIM, N. M.; FAHIM, S. H.; HASSAN, M.; FARAG, A. E.; GEORGEY, H. H. Design and synthesis of ciprofloxacin-sulfonamide hybrids to manipulate ciprofloxacin pharmacological qualities: Potency and side effects. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 228, 2022.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; SUDHEESH KUMAR, P. T.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, 2011

KHADEMIAN, E.; SALEHI, E.; SANAEEPUR, H.; GALIANO, F.; FIGOLI, A. A systematic review on carbohydrate biopolymers for adsorptive remediation of copper ions from aqueous environments-part A: Classification and modification strategies. **Science of the Total Environment**, 2020.

KHIAVI, N. M.; MAEREFAT, M.; ZOLFAGHARI, S. A. A new local thermal bioheat model for predicting the temperature of skin thermoreceptors of individual body tissues. **Journal of Thermal Biology**, v. 74, 2018.

KOWALCZUK, D. FTIR characterization of the development of antimicrobial catheter coatings loaded with fluoroquinolones. **Coatings**, v. 10, 2020.

KOZYREVA, T. V. Neurophysiological aspects of the long-term adaptation to cold in mammals: The role of central and peripheral thermoreceptors. **Journal of Thermal Biology**, 2006

KURKOV, S. V.; MADDEN, D. E.; CARR, D.; LOFTSSON, T. The effect of parenterally administered cyclodextrins on the pharmacokinetics of coadministered drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, 2012.

LARANJEIRA, M, FÁREVE., V., 2009. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico, **Química Nova**, v. 32, 2009.

LEE, C. J.; CHEN, L. W.; CHEN, L. G.; CHANG, T. L.; HUANG, C. W.; HUANG, M. C.; WANG, C. C. Correlations of the components of tea tree oil with its antibacterial effects and skin irritation. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 21, 2013.

LI, S.; LIU, X.; ZHANG, X.; FAN, L.; WANG, F.; ZHOU, J.; ZHANG, H. Preparation and characterization of zein-tannic acid nanoparticles/chitosan composite films and application in the preservation of sugar oranges. **Food Chemistry**, v. 437, 2024.

LI, Y.; LIU, F.; ABDIRYIM, T.; LIU, X. Cyclodextrin-derived materials: From design to promising applications in water treatment. **Coordination Chemistry Reviews**, 2024.

- LIANG, W.; HOU, J.; FANG, X.; BAI, F.; ZHU, T.; GAO, F.; WEI, C.; MO, X.; LANG, M. Synthesis of cellulose diacetate based copolymer electrospun nanofibers for tissues scaffold. **Applied Surface Science**, v. 443, 2018.
- LIN, R.; ZANG, X.; YUAN, C.; YU, B.; LIU, P.; FANG, Y.; CUI, B. Self-growing micro/nano hexagonal cyclodextrins based on dual enzyme synergism and low-temperature induction. **Chemical Engineering Journal**, v. 483, 2024.
- LINDER-GANZ, E.; SCHEINOWITZ, M.; YIZHAR, Z.; MARGULIES, S. S.; GEFEN, A. How do normals move during prolonged wheelchair-sitting? **Technology and Health Care. Technology and Health Care**, 2007.
- LIU, Y.; SAMEEN, D. E.; AHMED, S.; WANG, Y.; LU, R.; DAI, J.; LI, S.; QIN, W. Recent advances in cyclodextrin-based films for food packaging. **Food Chemistry**, 2022.
- LOERAKKER, S.; MANDERS, E.; STRIJKERS, G. J.; NICOLAY, K.; BAAIJENS, F. P. T.; BADER, D. L.; OOMENS, C. W. J. The effects of deformation, ischemia, and reperfusion on the development of muscle damage during prolonged loading. **Journal of Applied Physiology**, v. 111, 2011.
- LOFTSSON, T.; DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, 2007.
- LUNKOV, A. P.; ZUBAREVA, A. A.; VARLAMOV, V. P.; NECHAEVA, A. M.; DROZD, N. N. Chemical modification of chitosan for developing of new hemostatic materials: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2023.
- LUO, Chunhui; ZHAO, Yufei; SUN, Xinxin; HU, Bin. Developing high strength, antiseptic and swelling-resistant polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels for tissue engineering material. **Materials Letters**, v. 280, 2020.
- LUSTIG, A.; ALVES, P.; CALL, E.; SANTAMARIA, N.; GEFEN, A. The sorptivity and durability of gelling fibre dressings tested in a simulated sacral pressure ulcer system. **International Wound Journal**, v. 18, 2021.
- MACHADO, A. M. S. F.; OLIVEIRA, B. F.; ALVES, I. M.; TEIXEIRA, J. M. B.; TEIXEIRA, J. P. F.; SILVA, N. M. T. DA; SARDO, P. M. G. Prevalence and incidence of pressure ulcers/injuries in emergency services: A systematic review protocol. **Journal of Tissue Viability**, 2022.
- MERLUSCA, I. P.; MATIUT, D. S.; LISA, G.; SILION, M.; GRADINARU, L.; OPREA, S.; POPA, I. M. Preparation and characterization of chitosan–poly (vinyl alcohol)–neomycin sulfate films. **Polymer Bulletin**, v. 75. 2018.
- MERVIS, J. S.; PHILLIPS, T. J. Pressure ulcers: Pathophysiology, epidemiology, risk factors, and presentation. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 2019.
- MIN, T.; LEI, Y.; CHENG, C.; LUO, Y.; ZHANG, Y.; YUE, J. Highly efficient anchoring of γ -cyclodextrin-MOFs on chitosan/cellulose film by in situ growth to enhance encapsulation and controlled release of carvacrol. **Food Hydrocolloids**, v. 150, 2024.

MOJSIEWICZ-PIEŃKOWSKA, Krystyna; JAMRÓGIEWICZ, Marzena; ZEBROWSKA, Maria; MIKOLASZEK, Barbara; SZNITOWSKA, Małgorzata. Double layer adhesive silicone dressing as a potential dermal drug delivery film in scar treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 481, n. 1–2, p. 18–26, 2015

MOKABER-ESFAHANI, M.; ESHGHI, H.; AKBARZADEH, M.; GHOLIZADEH, M.; MIRZAIE, Y.; HAKIMI, M.; LARI, J. Synthesis and Antibacterial Evaluation of New Pyrimidyl N-Ciprofloxacin Derivatives. **Chemistry Select**, v. 4, 2019.

MORAES, A. F. *et al.* Hemocompatibility of 2-N-3,6-O-sulfated chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, 2019.

MOUCHATI, A.; YAGOUBI, N. Performance and safety assessment of materials used in the medical devices destined for pressure ulcer management. **Journal of Tissue Viability**, 2023.

MUANKAEW, C.; LOFTSSON, T. Cyclodextrin-Based Formulations: A Non-Invasive Platform for Targeted Drug Delivery. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, 2018.

MOTA, A. C. V.; FREITAS, Z. M. F.; TODESCHINI, A. R.; CABRAL, L. M.; SANTOS, E. P. Inclusão do Filtro Solar p-Metoxicinamato de Octila em β -Ciclodextrina e Avaliação da Purificação dos Complexos de Inclusão por RMN 1 H. **Latin American Journal of Pharmacy**, 2009.

NARAYANAN, K. B.; KIM, H. D.; HAN, S. S. Biocompatibility and hemocompatibility of hydrothermally derived reduced graphene oxide using soluble starch as a reducing agent. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 185, 2020.

NASERI-NOSAR, M.; ZIORA, Z. M. Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. **Carbohydrate Polymers**, 2018.

NIRMALA, P. Formulation and evaluation of fast dissolving oral films incorporated with ramipril and β -cyclodextrin complex. **International journal of pharmaceutical sciences and drug research**, p. 390–395, 2020.

NOGUEIRA, M. N. M.; AQUINO, S. G.; ROSSA, C.; SPOLIDORIO, D. M. P. Terpinen-4-ol and alpha-terpineol (tea tree oil components) inhibit the production of IL-1 β , IL-6 and IL-10 on human macrophages. **Inflammation Research**, v. 63, 2014.

OSÓRIO, L. R.; MENEGUIN, A. B.; SILVA, H. B. DA; BARRETO, H. M.; OSAJIMA, J. A.; SILVA FILHO, E. C. DA. Evaluation of physico-chemical properties and antimicrobial synergic effect of ceftazidime-modified chitosan. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, 2018.

PACHECO, K. M. L.; TORRES, B. B. M.; SANFELICE, R. C.; COSTA, M. M. DA; ASSIS, L.; MARQUES, R. B.; FILHO, A. L. M. M.; TIM, C. R.; PAVINATTO, A. Chitosan and chitosan/turmeric-based membranes for wound healing: Production, characterization and application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, 2023.

PAPAIOANNOU, P. K.; KARAGIANNI, C. S.; PAPAIOANNOU, J. C. Dielectric behavior of gamma-cyclodextrin polymer and carboxymethyl gamma-cyclodextrin polymer cross-linked both by epichlorohydrin. **Journal of Molecular Structure**, v. 1207, 2020.

PAZYAR, N.; YAGHOobi, R.; BAGHERANI, N.; KAZEROUNI, A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. **International Journal of Dermatology**, 2013.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomaterials: Types, applications, and market. **Química Nova**, 2015.

PUVAČA, N.; ČABARKAPA, I.; PETROVIĆ, A.; BURSIC, V.; PRODANOVIĆ, R.; SOLEŠA, D.; LEVIĆ, J. Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: Antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, 2019.

RABADIYA, K.; PARDHI, D.; THAKER, K.; PATOLIYA, J.; RAJPUT, K.; JOSHI, R. A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2024.

RAHMATI, M.; BLAKER, J. J.; LYGSTADAAS, S. P.; MANO, J. F.; HAUGEN, H. J. Designing multigradient biomaterials for skin regeneration. **Materials Today Advances**, 2020.

RATHORE, H. S.; SENTHILVELAN, T.; VASANTHARAJA, R.; ABRAHAM, L. S.; PRAKASH, D.; SIVAGNANAM, U. T.; GUPTA, S. Fabrication and characterization of chitosan film impregnated ciprofloxacin drug: A comparative study. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, 2019.

REAY, S. L.; JACKSON, E. L.; FERREIRA, A. M.; HILKENS, C. M. U.; NOVAKOVIC, K. In vitro evaluation of the biodegradability of chitosan-genipin hydrogels. **Materials Advances**, v. 3, 2022.

REZAEI, F. S.; SHARIFIANJAZI, F.; ESMAEILKHANIAN, A.; SALEHI, E. Chitosan films and scaffolds for regenerative medicine applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, 2021.

ROZATTO, M. R. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de *Arrabidaea brachypoda***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Araraquara, SP, 2012.

RUI, L.; LI, Y.; WU, X.; WANG, Y.; XIA, X. Effect of clove essential oil nanoemulsion on physicochemical and antioxidant properties of chitosan film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 263, 2024.

SAINI, K.; KASHYAP, A.; SAINI, M.; GUPTA, R. Gamma cyclodextrin glycosyltransferase from *Evansella caseinilytica*: production, characterization and product specificity. **3 Biotech**, v. 12, 2022.

SANTOS, V. R. DOS; VERA, S. D.; CENA, G. L. DE; SILVA, A. DE P.; LEMES, A. P.; CONCEIÇÃO, K. DA; TADA, D. B.; BORGES, A. L. S.; TRICHÊS, E. DE S. Electrospun PHBV nanofiber containing Tea Tree Oil: physicochemical and antimicrobial activity. **Polimeros**, v. 33, 2023.

SEVIK, R.; AKARCA, G.; KILINC, M.; ASCIOGLU, Ç. Chemical Composition of Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) (Maiden & Betche) Cheel Essential Oil and Its Antifungal Effect on Foodborne Molds Isolated from Meat Products. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 24, , 2021.

SHAHRIARI-KHALAJI, M.; SATTAR, M.; CAO, R.; ZHU, M. Angiogenesis, hemocompatibility and bactericidal effect of bioactive natural polymer-based bilayer adhesive skin substitute for infected burned wound healing. **Bioactive Materials**, v. 29, 2023.

SHANMUGAM, A.; KATHIRESAN, K.; NAYAK, L. Preparation, characterization and antibacterial activity of chitosan and phosphorylated chitosan from cuttlebone of *Sepia kobsiensis* (Hoyle, 1885). **Biotechnology Reports**, v. 9, 2016.

Sharma, Prabodh Chander, et al. "Ciprofloxacin: Review on Developments in Synthetic, Analytical, and Medicinal Aspects." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 25, 2010.

SHEIR, M. M.; NASRA, M. M. A.; ABDALLAH, O. Y. Chitosan alginate nanoparticles as a platform for the treatment of diabetic and non-diabetic pressure ulcers: Formulation and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 607, 2021.

SILVA, W. F. DA; SANTOS NICULAU, E. DOS; OLIVEIRA, D. A. B. DE; ASSIS, M. W. V. DE; OLIVEIRA, M. N. Preparation, physicochemical characterization and computational studies of *Plectranthus ornatus* codd essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Molecular Structure**, v. 1285, 2023.

SINGH. W., SINGH S., JUBER, A., MEHNAZ, K., Tea tree oil - ist uses and applications. **International Journal of Progressive Pharmacy**, v. 1, 2015.

SOLTANI, S.; KADRI, M.; KAIPANCHERY, V.; STACHOWICZ-KUŚNIERZ, A.; KORCHOWIEC, B.; ROGALSKI, M.; MAGRI, P.; KORCHOWIEC, J. Experimental and computational studies of gliclazide inclusion complexes with β -cyclodextrin. **Journal of Molecular Structure**, v. 1295, 2024.

SONG, R.; ZHENG, J.; LIU, Y.; TAN, Y.; YANG, Z.; SONG, X.; YANG, S.; FAN, R.; ZHANG, Y.; WANG, Y. A natural cordycepin/chitosan complex hydrogel with outstanding self-healable and wound healing properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, 2019.

SOUTHWELL, I.; LOWE, R. Tea tree: The genus *Melaleuca*. **Harwood Academic**, Netherlands, 1999.

SUNN, G. Spinal cord injury pressure ulcer treatment: An experience-based approach. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America**, 2014.

TEDESCHI, S. *et al.* Superficial swab versus deep-tissue biopsy for the microbiological diagnosis of local infection in advanced-stage pressure ulcers of spinal-cord-injured patients: a prospective study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 12, 2017.

THOMAS, D. R. Prevention and treatment of pressure ulcers. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 7, 2006.

UITDEHAAG, J. C. M.; KALK, K. H.; VEEN, B. A. VAN DER; DIJKHUIZEN, L.; DIJKSTRA, B. W. The cyclization mechanism of cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) as revealed by a γ -cyclodextrin-CGTase complex at 1.8-Å resolution. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, 1999.

WANDERLEY, D. M. S. *et al.* Biocompatibility and mechanical properties evaluation of chitosan films containing an N-acylhydrazonic derivative. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 155, 2020.

WANDERLEY, D. M. S.; MELO, D. F.; SILVA, L. M.; SILVA, W. C.; CORREIA, L. P.; OSHIRO-JUNIOR, J. A.; FOOK, M. V. L.; MOURA, R. O.; LIMA, R. S. C.; DAMASCENO, B. P. G. L. Physical–chemical characterization of N-acylhydrazone derivative chitosan films using spectroscopic and thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, 2019.

WANG, J.; DUAN, X.; ZHONG, D.; ZHANG, M.; LI, J.; HU, Z.; HAN, F. Pharmaceutical applications of chitosan in skin regeneration: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2024.

WEBER, M.; STEINLE, H.; GOLOMBEK, S.; HANN, L.; SCHLENSAK, C.; WENDEL, H. P.; AVCI-ADALI, M. Blood-Contacting Biomaterials: In Vitro Evaluation of the Hemocompatibility. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, 2018.

WU, K.; ZHANG, T.; CHAI, X.; HE, D.; DUAN, X.; YU, B.; CHEN, Y.; HUANG, Y. Preparation and antibacterial and antioxidant ability of β -cyclodextrin complexes of vaporized *Illicium verum* essential oil. **Food Science and Nutrition**, v. 10, 2022

WULANDARI, S.; CHOI, J.; KURNIAWAN, R. G.; SUGIARTO, J. R.; MYINT, A. A.; KWAK, S. K.; KIM, J. Synthesis of highly stable encapsulated astaxanthin/ β -cyclodextrin microparticles using supercritical CO₂ as an antisolvent. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 75, 2023.

XI, X. *et al.* Preparation and characterization of inclusion complex of *Myristica fragrans* Houtt. (nutmeg) essential oil with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Food Chemistry**, v. 423, 2023.

XU, Y.; WEI, Y.; JIANG, S.; XU, F.; WANG, H.; SHAO, X. Preparation and characterization of tea tree oil solid liposomes to control brown rot and improve quality in peach fruit. **LWT**, v. 162, 2022.

YADAV, E.; KUMAR, S.; MAHANT, S.; KHATKAR, S.; RAO, R. Tea tree oil: a promising essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, 2017.

ZHANG, S.; ZHAO, G.; MAHOTRA, M.; MA, S.; LI, W.; LEE, H. W.; YU, H.; SAMPATHKUMAR, K.; XIE, D.; GUO, J.; LOO, S. C. J. Chitosan nanofibrous scaffold with graded and controlled release of ciprofloxacin and BMP-2 nanoparticles for the conception of bone regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 254, 2024.

ZHANG, W.; GUAN, X.; QIU, X.; GAO, T.; YU, W.; ZHANG, M.; SONG, L.; LIU, D.; DONG, J.; JIANG, Z.; ZHANG, D. Bioactive composite Janus nanofibrous membranes loading Ciprofloxacin and Astaxanthin for enhanced healing of full-thickness skin defect wounds. **Applied Surface Science**, v. 610, 2023.

ZHAO, Y.; FENG, B.; LEE, J.; LU, N.; PIERCE, D. M. A multi-layered computational model for wrinkling of human skin predicts aging effects. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 103, 2020.

ZHOU, F.; SUN, S.; CUI, C.; LI, X.; WU, S.; MA, J.; CHEN, S.; LI, C. M. Zinc ions and ciprofloxacin-encapsulated chitosan/poly(ϵ -caprolactone) composite nanofibers promote wound healing via enhanced antibacterial and immunomodulatory. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, 2023.