



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO E GRADUAÇÃO**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**CURSO DE FARMÁCIA**

**THAYNÁ OLIVEIRA CORRÊA**

**DESENVOLVIMENTO DE ESPONJAS À BASE DE GELATINA/GANTREZ  
CARREGADAS COM ÁCIDO ELÁGICO PARA O MANEJO DE FERIDAS**

**Macapá**  
2023

**THAYNÁ OLIVEIRA CORRÊA**

**DESENVOLVIMENTO DE ESPONJAS À BASE DE GELATINA/GANTREZ  
CARREGADAS COM ÁCIDO ELÁGICO PARA O MANEJO DE FERIDAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira de Sousa

**Macapá**  
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP  
Elaborado por Mário das Graças Carvalho Lima Júnior – CRB-2 / 1451

---

- C824 Corrêa, Thayná Oliveira.  
Desenvolvimento de esponjas à base de gelatina/gantrez carregadas com ácido elágico para o manejo de feridas / Thayná Oliveira Corrêa. - Macapá, 2023.  
1 recurso eletrônico. 48 folhas.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Curso de Farmácia, Macapá, 2023.  
Orientador: Francisco Fábio Oliveira de Sousa.
- Modo de acesso: World Wide Web.  
Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).
1. Ácido elágico. 2. Curativo. 3. Esponja. I. Sousa, Francisco Fábio Oliveira de, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 615

---

**THAYNÁ OLIVEIRA CORRÊA**

**DESENVOLVIMENTO DE ESPONJAS À BASE DE GELATINA/GANTREZ  
CARREGADAS COM ÁCIDO ELÁGICO PARA O MANEJO DE FERIDAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Farmácia da Universidade Federal  
do Amapá, como parte dos requisitos para  
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Data de Aprovação: 12/04/2023

---

**Orientador: Prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira de Sousa - UNIFAP**

*Erveton Pinheiro Pinto*

---

**Avaliador: Prof. Dr. Erveton Pinheiro Pinto - UNIFAP**

*Walter de Souza Tavares*

---

**Avaliador: Prof. Dr. Walter de Souza Tavares - UNIFAP**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me dado forças para nunca desistir mesmo nos momentos mais difíceis. Aos meus pais por todo amor e apoio, especialmente meu pai Edson Corrêa, que me levava até a universidade sempre que eu precisava, em qualquer dia da semana e horário. A minha família por entender quando muitas vezes precisei me ausentar por conta das atividades da universidade. A minha tia Maria Benedita por ser uma das grandes inspirações na minha vida e ter me orientado e incentivado por todos esses anos.

Ao meu orientador Professor Francisco Fábio por acreditar em mim, ter paciência e ajudar na minha formação pessoal e profissional, com seus conselhos e incentivos pude vivenciar experiências jamais imaginadas e alcançar voos ainda mais altos.

Ao meu namorado e companheiro de vida Igor Santos que sempre me apoiou em tudo que me propus a fazer e por diversas vezes me ajudou na construção deste trabalho, seja indo até o laboratório auxiliar em algum experimento, com seus conhecimentos de Excel ou ainda me fazer sorrir e acreditar que daria certo quando tudo parecia perdido.

As minhas grandes amigas Andressa Isis, Ariel Marques, Jeanina Vega, Larissa Coutinho e Mayara Valentine pela amizade e companheirismo durante a graduação, vocês me acolheram quando eu mais precisava e serei eternamente grata por isso.

A família do Laboratório de Controle de Qualidade e Bromatologia (LCqB), local onde passei a maior parte da graduação e que me fizeram sentir em casa. Aos professores do laboratório, professora Lílian Sólon por ter me dado a oportunidade pela primeira vez em 2018 de conhecer o laboratório através da iniciação científica, sempre me apoiando com suas palavras de incentivo. Ao professor Fábio Oliveira por toda ajuda e conselhos. Ao Everton Pantoja, Walter Tavares e Fernando que estiveram sempre dispostos a ajudar com os seus conhecimentos e auxiliaram nos experimentos realizados. A todos aqueles que de forma direta e indireta ajudaram na construção deste trabalho.

## RESUMO

A pele tem como função primordial proteger o organismo, quando ocorre a perda da sua integridade, o processo cicatricial controlado é imperativo. Os curativos protegem a ferida e auxiliam na cicatrização através da proteção mecânica, estimulo a proliferação celular, absorção de exsudatos e efeito antimicrobiano associado. Biopolímeros são utilizados na composição de plataformas para curativos por prover um microambiente adequado, favorecendo a re-epitelização. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver esponjas a partir de blendas de gelatina (GEL)–poli(metil vinil-éter co-anidrido maléico)(GAN), carregadas com ácido elágico para o manejo de feridas. Inicialmente foi realizada a etapa de pré-formulação a fim de selecionar as melhores blendas para a incorporação do princípio ativo. Três composições foram selecionadas: F<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, F<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN, sendo avaliadas quanto a existência de ligações químicas. As esponjas foram obtidas através da mistura, homogeneização e liofilização de dispersões aquosas de GEL-GAN, seguida da incorporação do ácido elágico e avaliadas quanto à uniformidade, desintegração, bioadesividade, sorção e solubilidade, permeação ao vapor de água, liberação do ativo e atividade antimicrobiana. Através do espectro de FTIR, pode-se perceber a formação de um grupamento éster à 1740 cm<sup>-1</sup>, formado a partir dos grupamentos -OH da gelatina e ácido carboxílico do Gantrez®. As esponjas apresentaram espessura média entre 2,4-2,7 mm (brancas) e 1,7-2,0 mm (carregadas), aspecto homogêneo, resistência adequada e superfície hidrofílica, com ângulo de contato entre 53-63° (brancas) e 43-54° (carregadas). Ao serem umedecidas à 25°C adquiriram propriedades bioadesivas e tornaram-se maleáveis. As esponjas carregadas apresentaram sorção de água entre 300 a 500%, um aumento substancial na capacidade de intumescimento após incorporação do ativo, uma vez que as esponjas brancas apresentaram valores entre 100 e 200%. Além disso, a solubilidade em meio aquoso foi limitada à 20 a 40%. As imagens de microscopia eletrônica de varredura revelaram estruturas microporosas nas esponjas brancas e mais densas e uniformes nas carregadas, o que poderia explicar a maior permeabilidade ao vapor de água das primeiras. Além disso, as formulações carregadas demonstraram uma liberação de ácido elágico entre 30,31 e 42,71%, assim como uma atividade antimicrobiana satisfatória. Deste modo, as esponjas apresentaram características funcionais favoráveis para o seu uso como plataforma para curativos, podendo oferecer uma nova estratégia para o tratamento de feridas.

**Palavras-chave:** Ácido elágico. Curativo. Esponja. Feridas. Gelatina. Poli (metil vinil-éter co-anidrido maléico).

## ABSTRACT

The function of the skin is to protect the body, when its integrity is lost, the controlled healing process is imperative. The wound dressings protect the wound and aid healing through mechanical protection, stimulation of external cells, absorption of exudates, and associated antimicrobial effects. Biopolymers are used in the composition of platforms for wound dressings to provide an adequate microenvironment, favoring re-epithelialization. Therefore, the objective of this work was to develop sponges from blends of gelatin (GEL) – poly (methyl vinyl ether co-maleic anhydride) (GAN), loaded with ellagic acid for wound management. Initially, pre-formulation was carried out to obtain the best blends for the incorporation of the active ingredient. Three compositions were selected: F<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, F<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN and F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN, being evaluated for the existence of chemical bonds. The sponges were obtained by mixing, homogenizing and lyophilizing aqueous dispersions of GEL-GAN, followed by the incorporation of ellagic acid and evaluated for uniformity, disintegration, bioadhesion, sorption and solubility, permeation to water vapor, active release and activity. antimicrobial. Through the FTIR spectrum, one can see the formation of an ester group at 1740 cm<sup>-1</sup>, formed from the -OH groups of gelatin and the carboxylic acid of Gantrez®. The sponges had an average thickness between 2.4-2.7 mm (blanks) and 1.7-2.0 mm (loaded), homogeneous appearance, adequate resistance, and hydrophilic surface, with a contact angle between 53-63° (blanks). and 43-54° (loaded). When moistened at 25°C, they acquired bioadhesive properties and became malleable. The loaded sponges showed water sorption between 300 and 500%, a substantial increase in swelling capacity after incorporation of the active since the blanks sponges showed values between 100 and 200%. Furthermore, solubility in aqueous media was limited to 20 to 40%. Scanning electron microscopy images revealed microporous structures in the blank sponges and denser and more uniform in the loaded ones, which could explain the greater permeability to water vapor of the former. Furthermore, the loaded formulations demonstrated a release of ellagic acid between 30.31 and 42.71%, as well as satisfactory antimicrobial activity. Thus, the sponges presented favorable functional characteristics for their use as a platform for dressings, and may offer a new strategy for the treatment of wounds.

**Keys words:** Ellagic acid. Wound dressing. Sponge. Wounds. Gelatin. Poly (methyl vinyl ether co-maleic anhydride).

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> –	Subdivisão da pele .....	12
<b>Figura 2</b> –	Profundida das feridas .....	13
<b>Figura 3</b> –	Estrutura química da gelatina .....	18
<b>Figura 4</b> –	Estrutura química do Gantrez® .....	19
<b>Figura 5</b> –	Estrutura química do ácido elágico .....	20
<b>Figura 6</b> –	Produção das esponjas poliméricas .....	23
<b>Figura 7</b> –	Representação esquemática da avaliação da hidrofobicidade e velocidade de captação de água. $\Theta$ = ângulo de contato e H=altura da gota .....	24
<b>Figura 8</b> –	Representação esquemática do ensaio de permeação ao vapor de água .....	26
<b>Figura 9</b> –	Ensaio antimicrobiano em modelo <i>ex-vivo</i> utilizando pele suína.....	28
<b>Figura 10</b> –	Tratamento com esponjas à base de gelatina e gantrez® carregadas com ácido elágico das lesões realizadas em tecido cutâneo suíno previamente infectadas com <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
<b>Figura 11</b> –	Esponjas brancas e carregadas: (A) Recém-preparadas, (B) Durante a determinação do ângulo de contato e (C) Após ensaio de sorção.....	31
<b>Figura 12</b> –	Ângulo de contato das esponjas.....	32
<b>Figura 13</b> –	Velocidade de captação de água das esponjas .....	33
<b>Figura 14</b> –	Sorção das esponjas brancas e carregadas .....	34
<b>Figura 15</b> –	Espectros de FTIR correspondente a: (a) Gantrez® e gelatina, (b) esponjas brancas.....	35
<b>Figura 16</b> –	Ligação formada entre o Gantrez® e a Gelatina.....	36
<b>Figura 17</b> –	Imagens da microestrutura das esponjas: (A) superfície e (B) lateral .....	37
<b>Figura 18</b> –	Permeabilidade a vapor de águas (PVA) das esponjas.....	38
<b>Figura 19</b> –	Liberação do ácido elágico a partir das esponjas de gelatina-Gantrez.....	40
<b>Figura 20</b> –	Atividade antimicrobiana das esponjas brancas e carregadas frente à <i>P. aeruginosa</i> (A) e <i>S. aureus</i> (B). C1: concentração inicial, CN: controle negativo (tampão PBS estéril) e CP: controle positivo – CHX clorexidina 2%.....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> –	Proporção entre Gantrez® e Gelatina para obtenção das esponjas.....	22
<b>Tabela 2</b> –	Espessura das esponjas brancas (Média ± SD).....	31

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	11
2.1	OBJETIVO GERAL .....	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	12
3.1	PELE .....	12
3.2	MANEJO DE FERIDAS .....	13
3.3	POLÍMEROS COM APLICAÇÃO FARMACÊUTICA.....	15
<b>3.3.1</b>	<b>Gelatina</b> .....	18
<b>3.3.2</b>	<b>Poli (metil vinil-éter co-anidrido maleico) - Gantrez®</b> .....	19
3.4	ESPONJAS .....	19
3.5	ÁCIDO ELÁGICO.....	20
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
4.1	MATERIAIS .....	22
4.2	DESENVOLVIMENTO DAS ESPONJAS .....	22
<b>4.2.1</b>	<b>Avaliação qualitativa</b> .....	23
<b>4.2.2</b>	<b>Espessura das esponjas</b> .....	23
<b>4.2.3</b>	<b>Ângulo de contato e velocidade de captação de água</b> .....	24
<b>4.2.4</b>	<b>Sorção e Solubilidade</b> .....	24
<b>4.2.5</b>	<b>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</b> ....	25
<b>4.2.6</b>	<b>Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b> .....	25
<b>4.2.7</b>	<b>Permeabilidade ao vapor de água (PVA)</b> .....	26
<b>4.2.8</b>	<b>Ensaio de liberação <i>in vitro</i></b> .....	27
<b>4.2.9</b>	<b>Ensaio antimicrobiano em modelo <i>ex-vivo</i></b> .....	27
4.2.9.1	Infecção da ferida.....	28
4.2.9.2	Tratamento antibacteriano.....	28
4.2.9.3	Amostragem e enumeração dos microrganismos viáveis.....	29
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30

5.1	AVALIAÇÃO QUALITATIVA.....	30
5.2	ESPESSURA.....	31
5.3	ÂNGULO DE CONTATO E VELOCIDADE DE CAPTAÇÃO DE ÁGUA.....	32
5.4	SORÇÃO E SOLUBILIDADE .....	33
5.5	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	35
5.6	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	37
5.7	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA).....	38
5.8	ENSAIO DE LIBERAÇÃO.....	39
5.9	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS ESPONJAS.....	40
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As feridas representam a perda de integridade da pele, seja por causas externas ou internas. Quando não tratadas adequadamente, representam uma porta de entrada para microrganismos, podendo levar a quadros infecciosos mais graves, colocando inclusive em risco a vida do paciente.

Os curativos possuem como função primordial formar uma barreira de proteção contra a contaminação microbiana e promover a absorção de exsudatos (VOWDEN; VOWDEN, 2017). Novas plataformas têm sido estudadas sob formas inovadoras, tais como hidrogéis e esponjas. Sobretudo, tem se focado no desenvolvimento de curativos biocompatíveis, que auxiliam na recuperação rápida da área lesada, associados ainda a uma ação antimicrobiana (NDLOVU et al., 2021). Atualmente há um grande interesse no uso de biopolímeros pela indústria farmacêutica, devido a biocompatibilidade e biodegradabilidade superior desses materiais. Polímeros como a gelatina e o poli (metil vinil-éter co-anidrido maléico), comercialmente conhecido como Gantrez®, materiais solúveis em água e atóxicos, são empregados nas formulações de géis, micropartículas, nanopartículas, filmes e esponjas (DE FARIAS, 2016), alguns dos quais para uso como curativos.

O ácido elágico, polifenol encontrado em frutos de diferentes espécies, como o morango e a romã, tem despertado grande interesse por conta das diversas atividades biológicas que lhe tem sido atribuída, dentre as quais: antimicrobiana e antioxidante (NAYEEM; KARVEKAR, 2011; TAVARES et al., 2020), antienzimática (TAVARES et al., 2020), cicatrizante (AL-OBAIDI et al., 2014) e anti-hemorrágica (GOPALAKRISHNAN et al., 2014). Diante dessas propriedades, torna-se um bioativo promissor para o desenvolvimento de curativos.

Apesar de haver disponíveis no mercado diversas opções, o desenvolvimento de novos curativos é de grande relevância, pois poderiam ser disponibilizadas opções mais acessíveis, custo-efetivas, funcionais e biocompatíveis. Neste sentido, o desenvolvimento de esponjas associando a blenda gelatina-Gantrez® com o ácido elágico é, portanto, uma estratégia vanguardista, permitindo a obtenção de curativos inteligentes capazes de absorver o exsudato, promover um ambiente úmido que favoreça a regeneração da pele, atrelados ainda a uma ação antibacteriana e regenerativa promovida por este ativo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar esponjas à base de gelatina e poli (metil vinyl-éter co-anidrido maléico (gantrez®) contendo ácido elágico para o manejo de feridas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Desenvolver e caracterizar esponjas à base de gelatina e poli (metil vinyl-éter co-anidrido maléico);
- b) Avaliar a incorporação do ácido elágico em formulações selecionadas;
- c) Realizar a caracterização química, físico-química e funcional das esponjas desenvolvidas;
- d) Avaliar a atividade antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*;

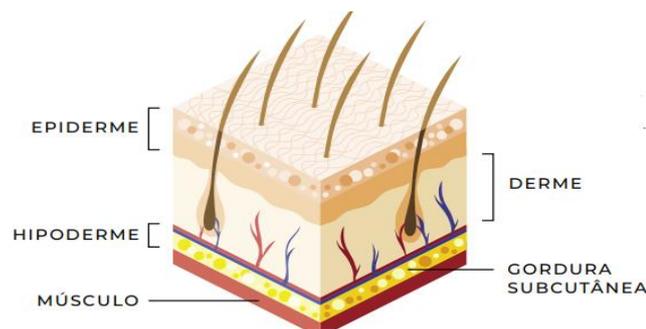
### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano e possui como função primordial formar uma barreira protetora ante o meio externo. Esta barreira pode ser física, como o estrato córneo, ou ainda, químicas / bioquímica através dos lipídios, ácidos, enzimas hidrolíticas, peptídeos antimicrobianos e macrófagos, encontrados nas diferentes camadas (PROKSCH; BRANDNER; JENSEN, 2008).

Anatomicamente, a pele está dividida em três camadas distintas (Figura 1), funcionalmente estão interligadas: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é a camada mais superficial da pele, avascular e possui epitélio estratificado, pavimentoso e queratinizado (TORTORA, 2016). A derme encontra-se diretamente abaixo da epiderme, possuindo funções de suporte estrutural e funcional da pele, sendo constituída de um tecido conjuntivo resistente, contendo fibras elásticas e colágenas, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e suas terminações, glândulas sebáceas e sudoríparas, e elementos celulares, como fibroblastos, histiócitos e mastócitos (CORRÊA, 2012). Por fim, a camada mais profunda da pele é a hipoderme, formada por tecido adiposo. Possui como função a proteção contra choques mecânicos, isolamento térmico, atuando ainda como reserva energética (TORTORA, 2016; DE ARAÚJO, 2018).

**Figura 1** – Subdivisão da pele.



Fonte: Manual de padronização de curativos (2021).

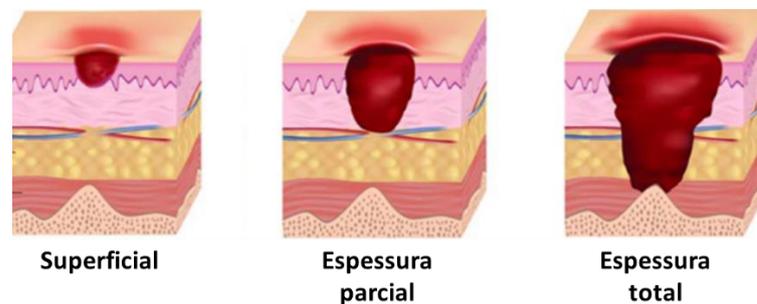
Diante de sua complexa estrutura, a pele desempenha múltiplas funções, como a de proteger o organismo contra desidratação e atrito. Por meio dos vasos sanguíneos, glândulas e tecido adiposo, colabora com a termorregulação e excreção de várias substâncias do organismo. Além disso, através de suas terminações nervosas sensoriais, recebe constantemente informações sobre o ambiente e as envia para o sistema nervoso central (JUNQUEIRA 2013).

Sendo assim, é de extrema importância manter a integridade desse órgão a fim de evitar a perda de alguma dessas funções e possíveis danos ao organismo, que podem surgir a partir da formação de feridas.

### 3. 2 MANEJO DE FERIDAS E CURATIVOS

As feridas são definidas como um defeito ou uma ruptura na pele que pode resultar de trauma ou condições médicas/fisiológicas, podendo sobrepasar o tecido celular subcutâneo, alcançando em alguns casos os músculos, tendões e ossos (DE SOUZA SAMIOTTO et al., 2010). São classificadas de acordo com o número de camadas e área afetada, como superficial (se apenas a epiderme estiver envolvida), de espessura parcial (se a epiderme e as camadas dérmicas mais profundas forem afetadas) e feridas de espessura total (quando gordura subcutânea e tecido mais profundo são danificados) (CALÓ, 2016), conforme representado na Figura 2. Além desses, outros critérios são utilizados para sua classificação (Quadro 1).

**Figura 2** – Profundidade das feridas.



Fonte: Duro et al. (2018).

**Quadro 1** – Classificação das feridas.

Parâmetros	Classificação
Etiologia	Cirúrgica, Traumática e Ulcerativa
Tempo de cicatrização	Aguda e Crônica
Conteúdo bacteriano	Limpa, Limpa contaminada, Contaminada e Infectada
Presença de transudato e exsudato	Transudato e Exsudato
Profundidade	Planas/superficiais, Profundas e Cavitárias
Característica do leito da ferida	Granulação, Epitelização, Necrose de coagulação, Necrose de liquefação e Desvitalizado/Fibrinoso

Fonte: Adaptado de Manual de Padronização de Curativos (2021).

Apesar da cicatrização de feridas ser um processo contínuo, ele pode ser dividido em três fases, de forma a facilitar o entendimento, são elas a fase inflamatória, proliferativa e maturação ou remodelamento (GOSAIN; DI PIETRO, 2004).

A fase inflamatória inicia imediatamente após a lesão e dura cerca de três dias, esta fase caracteriza-se pela liberação de substâncias vasoconstritoras, principalmente tromboxana A2 e prostaglandinas, pelas membranas celulares. O endotélio lesado e as plaquetas estimulam a agregação plaquetária, ativação da cascata de coagulação e formação de uma matriz de fibrina. Além disso, ocorre a migração de células de defesa para o local da ferida, como neutrófilos e macrófagos. A fase proliferativa tem início por volta do quarto dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana. É constituída por quatro etapas fundamentais: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno (CAMPOS et al., 2007; LAUREANO; RODRIGUES, 2011). Por fim, a fase de maturação e a de maior importância clínica se inicia após vinte e um dias da lesão, podendo perdurar até um ano, esta fase é caracterizada pela deposição organizada do colágeno. Durante a remodelagem ocorre diminuição da atividade celular e do número de vasos sanguíneos, além de perda do núcleo dos fibroblastos, levando à maturação da cicatriz (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

O processo de cicatrização pode ser influenciado por diversos fatores: locais, como oxigenação, infecção e presença de corpo estranho, bem como, fatores sistêmicos, dentre os quais, a nutrição, idade, sexo e estresse. Todos estes fatores devem ser gerenciados de forma eficaz para que a cicatrização ocorra de forma adequada (GUO; PIETRO, 2010).

Dentre as estratégias de cuidado, os curativos têm como função básica fornecer uma barreira protetora para prevenir a contaminação bacteriana e absorver o exsudato (VOWDEN; VOWDEN, 2017). Um estudo realizado por Winter em 1962 estabeleceu que um ambiente úmido é propício para melhorar a cicatrização da ferida, com re-epitelização mais rápida. Como resultado, os curativos evoluíram e agora são projetados para otimizar o teor de umidade do leito da ferida doando fluido, absorvendo o excesso de exsudato e/ou controlando a perda de umidade (VOWDEN; VOWDEN, 2017; CALO, 2016).

Jones e colaboradores (2006) estabeleceram as características necessárias para se obter um curativo ideal, como:

- Capacidade de manter uma umidade adequada no leito da ferida enquanto remove o excesso de exsudato;
- Livre de partículas e contaminantes tóxicos;
- Não tóxico e não alergênico;

- Capaz de proteger a ferida de traumas;
- Pode ser removido sem causar trauma na ferida;
- Impermeável a bactérias;
- Isolamento térmico;
- Permite a troca gasosa;
- Confortável e adaptável;
- Requer apenas trocas esporádicas;
- Custo-benefício favorável;
- Longa vida útil.

### 3.3 POLÍMEROS COM APLICAÇÃO FARMACÊUTICA

Atualmente, os polímeros constituem a base de importantes produtos industriais e seu rápido crescimento de produção é causado, além de fatores sociais, pela necessidade de substituir materiais clássicos (FELDMAN, 2008). Dentre as suas propriedades funcionais estão: a bioadesão, maior resistência a degradação, flexibilidade, elasticidade, transparência, baixa temperatura de processamento, biodegradação e baixa reatividade. Devido a essas propriedades e por serem baratos e práticos, os materiais poliméricos vêm substituindo gradativamente outros materiais (DA SILVA; RABELO, 2017).

Os polímeros podem ser de origem natural ou sintética e são amplamente empregados em diversas áreas, dentre elas a farmacêutica. Na atualidade, estes materiais são desenvolvidos principalmente para modular e direcionar a liberação de fármacos em sítios específicos do organismo (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010). No Quadro 2 estão listados alguns dos principais polímeros de origem natural e sintética e algumas de suas características farmacotécnicas.

**Quadro 2** – Alguns dos principais polímeros naturais, semissintéticos e sintéticos e as suas características farmacotécnicas.

<b>Polímero</b>	<b>Uso farmacêutico</b>	<b>Referências</b>
<b>Polímeros naturais e semissintéticos</b>		
Alginato	Estabilizante em emulsões, agentes suspensor, aglutinante de comprimidos e desintegrante.	GANDHI et al., 2012
Carboximetilcelulose	Agente espessante, doador de viscosidade, estabilizante de fluidos, empregado como aglutinante e como desintegrante em formas farmacêuticas sólidas.	RAHMAN et al., 2021
Carrageninas	Agente gelificante, estabilizador e emoliente.	SAHA et al., 2018
Ciclodextrinas	Aumenta estabilidade e solubilidade de fármacos, usada em sistemas nanocarreadores de fármacos, especialmente para direcionamento a alvos específicos.	VENTURINI et al., 2008
Gelatina	Permite a penetração de fluidos corporais nas partículas e melhora a liberação de moléculas bioativas. Empregada nas formulações de géis, micropartículas, nanopartículas e filmes.	ARUN et al., 2021
Hidroxietilcelulose	Agente espessante, gelificante, modulador da viscosidade e estabilizante.	OLIVEIRA, 2021
Hidroxipropilmetilcelulose	Agente aglutinante, formador de filme e usado como matriz de liberação de fármacos (gel ou filme).	DING; LI, 2015
Quitosana	Excipiente farmacêutico carreador de fármacos usado em diversas formas como filmes, fibras, esponjas, pellets, pó, gel e soluções.	CHEUNG et al., 2015
Zeína	Agente filmogênico e de revestimento, utilizado em sistemas de liberação controlada.	TAVARES et al., 2020

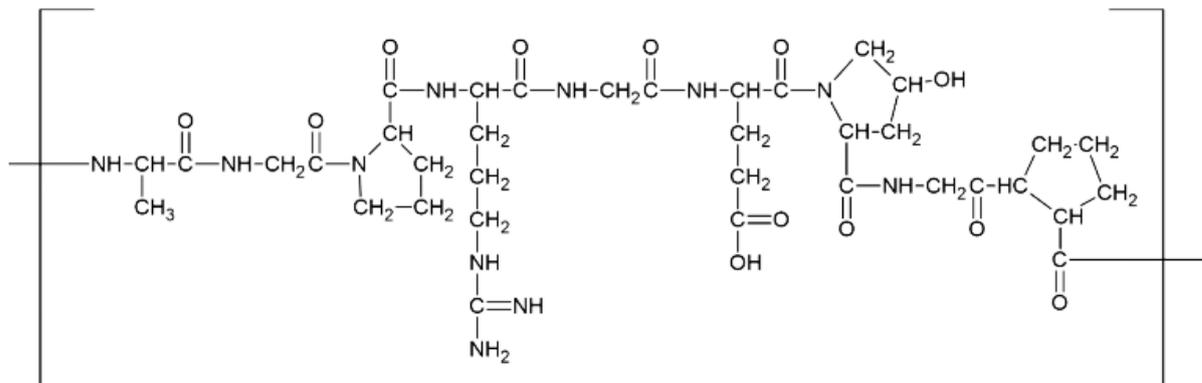
<b>Polímeros Sintéticos</b>		
Álcool polivinílico (Elvanol®)	Agente de permeação cutânea, formador de filme, agente estabilizante, espessante e de dispersão, adesivo e tensoativo não-iônico	LIU; HOFFMANN, 2004
Carbopol®	Agente gelificante, utilizado na preparação de géis. Usados como agente espessante em líquidos e como aglutinante em comprimidos e pellets.	VILLANOVA et al., 2010
Poli (metil vinil-éter co-anidrido maléico) (Gantrez®)	Adesivo para próteses dentárias, revestimentos de liberação controlada entéricos e usado em sistemas transdérmicos.	ROWE et al., 2009
Poli(N-vinil-2-pirrolidona) (Povidona®)	Agente espessante, lubrificante, agente aglutinante e formador de película.	ZABSKA et al., 2011
Poliuretano	Aplicado na forma de tecidos bioadesivos, stents vasculares, órgãos artificiais e curativos. Favorece a permeabilidade ao oxigênio, promovendo ainda um microambiente úmido favorável a epitelização.	DE BARROS et al., 2022

Fonte: Autoria própria (2023).

### 3.3.1 Gelatina

A gelatina (Figura 3) é uma proteína solúvel em água e preparada pela destruição da estrutura terciária, secundária e até certo ponto primária, através da hidrólise parcial do colágeno derivado da pele, tecido conjuntivo branco e ossos de animais (YADAV, 2015). Este polímero é amplamente empregado na indústria alimentícia, ou ainda como insumo farmacêutico, sendo um dos princípios polímeros naturais utilizados em sistemas matriciais para liberação de fármacos (ORIFICE, 2010).

**Figura 3** – Estrutura química da gelatina.



Fonte: De Paula e Amaral (2019).

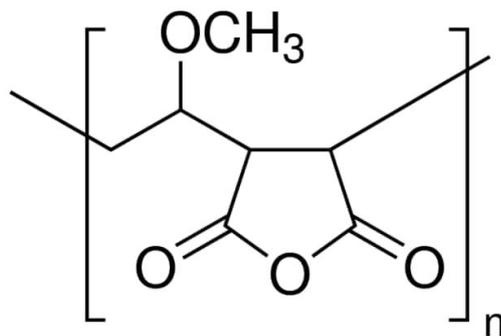
Além disso, a gelatina é um biopolímero com propriedades interessantes para uso como plataforma de curativos, dentre elas a sua baixa toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade no ambiente fisiológico (DIAS et al., 2017), não imunogenicidade, associadas ainda a sua excelente processabilidade, capacidade filmogênica, disponibilidade e custo-benefício (RATH et al., 2016).

As matrizes de gelatinas absorvem os exsudatos da ferida e mantêm a umidade, promovendo assim o processo cicatricial. Os curativos à base de gelatina atuam como materiais porosos para a migração celular e oferecem suporte mecânico e estrutural para o desenvolvimento de novos tecidos. No entanto, a sua aplicação individual para o desenvolvimento de curativos é prejudicada por não apresentar atividade antibacteriana e fraco desempenho mecânico (NDLOVU et al., 2021). Nesse sentido, a combinação desta com polímeros sintéticos é uma estratégia de design promissora para superar as suas propriedades mecânicas deficitárias e alcançar as propriedades mecânicas e funcionais ótimas, requeridas para curativos (WIWATWONGWANA; SURIN, 2019).

### 3.3.2 Poli (metil vinil-éter co-anidrido maleico) - Gantrez®

O copolímero poli (metil vinil-éter co-anidrido maleico), comercialmente conhecido como Gantrez® (Figura 4), apresenta-se sob a forma sólida como um pó esbranquiçado, de fluxo livre, inodoro e higroscópico. Forma uma solução ligeiramente turva, inodora e viscosa (ROWE et al., 2009). Este polímero possui ampla aplicação em diversos produtos farmacêuticos como em revestimentos entéricos, sistemas de liberação controlada, sistemas transdérmicos (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010) e na composição de enxaguatórios bucais, seja isolado ou associado a agentes antissépticos (ZANIN et al., 2007). Além disso, o seu uso em adesivo para próteses dentárias é bastante consagrado (IRACHE et al., 2005).

**Figura 4** – Estrutura química do Gantrez®.



Fonte: Sigma-Aldrich.

Alguns estudos demonstraram ainda o seu potencial em formulações de curativos. Recentemente, Eakwaropas e colaboradores (2022) estudaram o uso do Gantrez® em combinação com xiloglucana na formulação de hidrogéis, os quais induziram significativamente a recuperação de áreas lesadas e atuaram como protetores contra microrganismos externos, além de prover maior migração de fibroblastos para a área da ferida. Além disso, o Gantrez® apresenta propriedades antibacterianas intrínsecas e demonstrou resultados promissores quando utilizado sob a forma de criogéis voltados ao cuidado de feridas, sendo ainda biocompatível com fibroblastos humanos (CALÓ et al., 2016).

### 3.4 ESPONJAS

Espumas são materiais macios e flexíveis com uma estrutura microporosa interconectada. Devido às suas características estruturais únicas, elas têm boa capacidade de

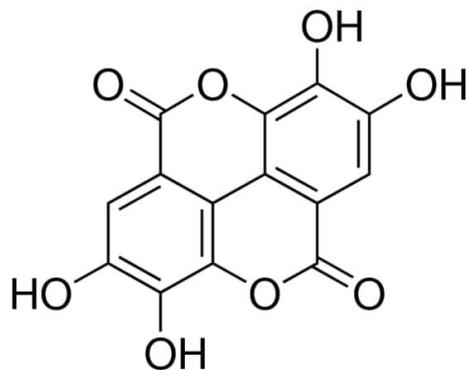
absorção de fluidos, interação celular e hidrofília (JAYAKUMAR et al., 2011). Em virtude da sua alta capacidade de intumescimento e rápida capacidade hemostática, tornam-se adequadas para evitar o acúmulo de exsudatos. As esponjas que absorvem uma quantidade suficiente de exsudatos da ferida fornecem um ambiente úmido e também protegem o leito de contaminação bacteriana (WANG et al., 2017) e do efeito deletério dos resíduos metabólicos dos microrganismos.

Algumas esponjas baseadas em polímeros, naturais ou sintéticos, têm sido utilizadas para curativos biomédicos (FENG et al., 2019, SOUSA et al., 2020). A gelatina é comumente descrita como um dos principais polímeros utilizados na composição de esponjas curativas (NDLOVU et al., 2021). Estudos mostraram resultados promissores quanto ao uso deste biopolímero no desenvolvimento de esponjas com capacidade de liberação rápida do ativo (SINGARAVELU et al., 2016, TAVARES, 2022), alta capacidade de absorção de líquidos e boa biocompatibilidade (YE et al., 2019).

### 3.5 ÁCIDO ELÁGICO

O ácido elágico (Figura 5) pertence à classe dos polifenóis extrativos (elagitaninos) amplamente difundidos entre dicotiledôneas. É encontrado em frutos de diferentes espécies como o morango, romã, framboesa, nozes, amêndoas (CECI et al., 2020) e tem despertado grande interesse, por conta das atividades biológicas que lhe tem sido atribuídas, dentre as quais: atividade antimicrobiana e antioxidante (NAYEEM; KARVEKAR, 2011; TAVARES et al., 2020), antienzimática (TAVARES et al., 2020), cicatrizante (AL-OBAIDI et al., 2014), fotoprotetora (RÍOS et al. 2018) e anti-hemorrágica (GOPALAKRISHNAN et al., 2014).

**Figura 5**– Estrutura química do ácido elágico.



Fonte: Sigma-Aldrich

Diante destas propriedades, o ácido elágico tem sido estudado como ingrediente ativo no desenvolvimento de curativos, demonstrando resultados promissores. Tavares et al. (2020) desenvolveram um filme polimérico carregado com ácido elágico que apresentou atividade antibacteriana, sendo uma opção terapêutica para prevenir/tratar infecções cutâneas e auxiliar na recuperação da pele. Neste estudo, porém, os autores descreveram uma liberação limitada em período hábil. Em outro estudo posterior, o referido autor conseguiu aumentar substancialmente a liberação do ativo, ao modificar os filmes com a incorporação de gelatina, os quais demonstraram além de uma liberação controlada e substancialmente maior, efeitos mecânicos melhorados, atividade frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, assim como um destacado efeito cicatrizante *in vivo*. No entanto, a sua capacidade de sorção foi limitada (TAVARES, 2022). Em outro estudo recente, o mesmo autor (TAVARES et al., 2021), incorporou satisfatoriamente o ácido elágico em nanopartículas de zeína, promovendo a liberação controlada, associada a um efeito antimicrobiano aumentado.

Sob a forma de pomada, o ácido elágico demonstrou grande capacidade de melhorar o condicionamento cutâneo e promover a cicatrização de feridas em ratos (PRIMARIZKY et al., 2017). Além disso, no estudo de Vale (2019) não houve sinais claros de toxicidade relacionados ao seu uso por via oral em camundongos, no qual, foi constatado ausência de efeito genotóxico e ainda, a presença de importante efeito antígeno-tóxico.

Desta forma, o seu uso em sistema de liberação de fármacos apresenta-se como estratégia promissora frente às limitações de formas farmacêuticas convencionais, somando as propriedades biológicas aportadas por este bioativo com as dos diferentes dispositivos de liberação. A sua incorporação em esponjas é totalmente inédita, sendo o objeto de estudo do presente trabalho.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Para o desenvolvimento das esponjas, foram adquiridos o poli (metil vinil-éter co-anidrido maleico), comercialmente chamado de Gantrez® (peso molecular 216.000 g/mol) e o ácido elágico (peso molecular 302.19 g/mol) da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, Estados Unidos). Foi utilizado como meio de cultura o Ágar Muller Hinton da KASVI (Paraná, Brasil), a gelatina bovina em pó, foi adquirida da empresa VETEC Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil). Os demais reagentes foram de grau analítico e utilizados conforme as recomendações dos provedores.

### 4.2 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS ESPONJAS

Testes preliminares foram realizados no intuito de determinar a melhor composição para o desenvolvimento das esponjas, visando a posterior incorporação do princípio ativo. Diante disso, a partir da blenda gelatina (GEL) – Poli (metil vinil-éter co-anidrido maleico) (GAN) foram preparadas as composições (GEL: GAN) listadas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Proporção entre Gantrez® e Gelatina para obtenção das esponjas.

<b>Formulação</b>	<b>Gelatina (%)</b>	<b>Gantrez (%)</b>
F <sub>46%</sub> GEL <sub>54%</sub> GAN	46	54
F <sub>50%</sub> GEL <sub>50%</sub> GAN	50	50
F <sub>53%</sub> GEL <sub>47%</sub> GAN	53	47
F <sub>64%</sub> GEL <sub>36%</sub> GAN	64	36
F <sub>70%</sub> GEL <sub>30%</sub> GAN	70	30
F <sub>82%</sub> GEL <sub>18%</sub> GAN	82	18

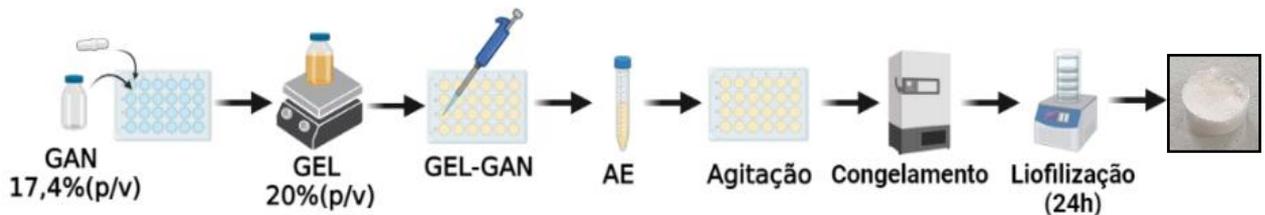
Fonte: Autoria própria (2023).

Para a preparação das esponjas poliméricas brancas (Figura 6), primeiramente o Gantrez® foi dissolvido em água a 40°C durante 8 horas sob agitação constante, em incubadora tipo Shaker (Solab modelo SL-222). Após este período, a gelatina em pó foi dissolvida em água à 60°C. Em uma microplaca de 24 poços, foi adicionado o Gantrez® a quente e em seguida, gota a gota foi adicionada a quantidade de gelatina para cada formulação sob agitação suave, de modo a permitir a uniformização da blenda polimérica e impedir a formação de precipitados.

Ao final, as formulações foram congeladas em ultra freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  (Coldlab modelo CL374-80V) por 30 minutos e então submetidas à liofilização (Liofilizador Liotop, modelo K105) por um período de 24 horas.

A partir dos resultados de pré-formulação, foram selecionadas as composições  $F_{46\%}\text{GEL}_{54\%}\text{GAN}$ ,  $F_{50\%}\text{GEL}_{50\%}\text{GAN}$  e  $F_{53\%}\text{GEL}_{47\%}\text{GAN}$  para incorporar  $150\ \mu\text{g}$  de ácido elágico (AE), a partir de uma solução metanoica ( $1.000\ \mu\text{g}/\text{ml}$ ), após a mistura dos polímeros.

**Figura 6** – Produção das esponjas poliméricas.



Fonte: Autoria própria (2023).

#### 4.2.1 Avaliação qualitativa

As esponjas brancas e carregadas foram analisadas macroscopicamente com o auxílio de um luminoscópio (Lumen Série 3905), sendo apreciadas quanto a uniformidade, resistência, capacidade de desintegração e propriedades bioadesivas. Quanto aos dois últimos testes, as esponjas brancas foram adicionadas em água a temperatura ambiente e analisadas após 10 minutos. Em um segundo teste as esponjas foram colocadas em estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos e a cada 10 minutos, foram retiradas da estufa para verificar a sua desintegração e qualitativamente as suas propriedades bioadesivas.

#### 4.2.2 Espessura das esponjas

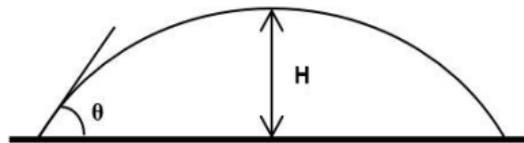
A espessura das esponjas, em milímetros, foi obtida com auxílio de um paquímetro digital (Western® Pro) através da medição da superfície em seis pontos diferentes, considerando-se a espessura como a média entre todas as leituras.

### 4.2.3 Ângulo de contato e velocidade de captação de água

A hidrofobicidade das esponjas foi avaliada através da medição do ângulo de contato (Figura 7), realizada em triplicata, de acordo com a metodologia proposta por Sousa et al. (2012). Uma gota de 25 µl de água destilada foi depositada na superfície das esponjas e as imagens foram registradas com câmera fotográfica digital. O ângulo de contato dos materiais foi definido como a média de todas as leituras, sendo realizada a medição de ambos os lados da gota. Superfícies com ângulo de contato maior que 90° são consideradas hidrofóbicas, enquanto que menor que 90° são consideradas hidrofílicas (BURKARTER, 2006).

No decorrer do mesmo experimento foi realizada ainda a análise da velocidade de captação de água das esponjas, através da variação da altura da gota, em função do tempo: 0s, 15s, 30s, 45s e 60s. Tanto as medições do ângulo de contato quanto da altura da gota foram realizadas através do programa AutoCad (Autodesk, EUA).

**Figura 7** - Representação esquemática da avaliação da hidrofobicidade e velocidade de captação de água.  $\Theta$ = ângulo de contato e H=altura da gota.



Fonte: Autoria própria (2023).

### 4.2.4 Sorção e Solubilidade

Para a determinação da capacidade de absorção de água e solubilidade das esponjas, foi utilizado como meio água destilada a 25°C, conforme metodologia utilizada por Sousa et al. (2020). Três amostras de cada formulação foram pesadas ( $m_i$ ), em seguida distribuídas em 15 ml do meio, sendo mantidas nesta condição durante 4 dias. Após esse período, as esponjas foram removidas do meio e o excesso de líquido retirado com papel absorvente, sendo novamente pesadas ( $m_{fu}$ ) para determinar a capacidade de absorção de cada esponja, conforme a seguinte equação:

$$\text{Capacidade de absorção (\%)} = \frac{m_{fu} - m_i}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

$m_{fu}$  = massa da esponja úmida (g)

$m_i$  = massa inicial (g)

Após a pesagem, as esponjas foram colocadas em estufa a 70°C até atingir peso constante, conforme metodologia de Matick et al. (2018). Para alcançar essa condição a variação entre duas pesagens consecutivas não deveria ser maior do que 0,0001 g. Em seguida, as esponjas foram novamente pesadas ( $m_f$ ) para determinação da solubilidade, de acordo com a equação 2:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$m_f$  = massa final da esponja (g)

$m_i$  = massa inicial da esponja (g)

#### **4.2.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

As análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier foram realizadas a fim de verificar as possíveis interações entre os polímeros utilizados para obtenção das esponjas brancas. As amostras dos materiais puros foram incorporadas em pastilhas de brometo de potássio, enquanto as esponjas foram inseridas em suporte próprio e avaliadas diretamente. Os espectros foram obtidos em um espectrômetro FTIR-ATR Shimadzu (Modelo IRAffinity - 1,) operando no intervalo de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 12 varreduras acumuladas.

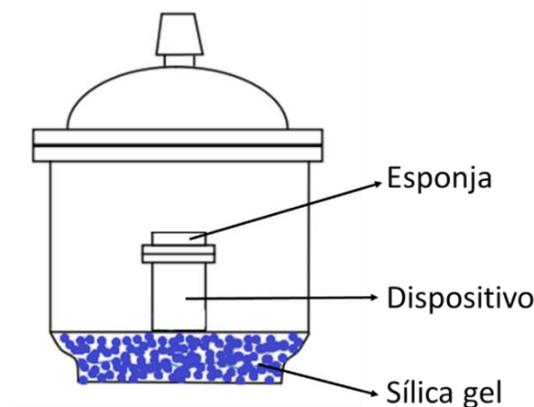
#### **4.2.6 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A morfologia da superfície e da lateral das esponjas foi examinada em microscópio eletrônico de varredura (TM3030 Plus, Hitachi, Japão). As imagens foram registradas em ampliação de 100 a 40x e processadas com o software próprio do equipamento.

#### 4.2.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

O ensaio de permeabilidade ao vapor de água (PVA) consiste em determinar a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através de um material, de espessura conhecida, induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, de umidade relativa e temperatura especificada (ASTM, 2000). Sendo um parâmetro importante para avaliar o efeito oclusivo de materiais de cobertura, como os curativos. A permeação a vapor de água foi determinada segundo a metodologia de Tavares (2022). Inicialmente, 10 ml de água foram adicionados a dispositivos de vidro adaptados exatamente com o diâmetro das esponjas, sendo através destas a única possibilidade de passagem do vapor de água (Figura 8). Em seguida, os dispositivos foram pesados e armazenados em dessecador contendo sílica gel a 32°C, sendo estes pesados a cada 24h por 5 dias, e a sílica gel trocada diariamente após cada pesagem.

**Figura 8** – Representação esquemática do ensaio de permeação ao vapor de água.



Fonte: Autoria própria (2023)

As alterações na massa dos dispositivos foram plotadas em função do tempo obtendo-se um modelo de calibração por regressão linear. O coeficiente angular foi determinado e a transmissão de vapor de água (TVA) foi calculada conforme a seguinte equação:

$$\text{Transmissão de vapor de água} = \frac{g}{t} \times A \quad (3)$$

Onde:

$g/t$ = coeficiente angular

$A$ = área de permeação ( $m^2$ )

Em seguida, foi calculada a PVA conforme a equação 4:

$$\text{Permeabilidade a vapor de água} = \frac{TVA \times X}{\Delta P} \quad (4)$$

Onde:

X= Espessura média das esponjas (mm)

$\Delta P$ = diferença da pressão de vapor entre o ambiente contendo sílica (0 kPa a 32°C) e água pura (4,76 kPa a 32°C)

#### 4.2.8 Ensaio de liberação *in vitro*

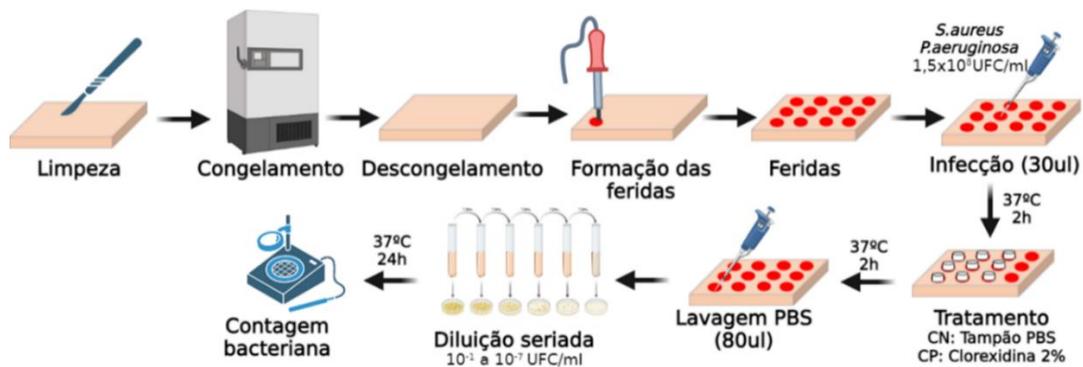
O ensaio de liberação foi realizado em placa de 24 poços a 30°C com agitação suave. As esponjas foram colocadas em 3 ml de meio PBS (pH 9,0) e mantidas nessa condição durante 5 dias. Foi coletado 1 ml de cada amostra após 1, 6, 24, 48, 72 e 120h, sendo a mesma quantidade repostada com tampão PBS estéril. As amostras coletadas foram liofilizadas e diluídas em 2 ml de metanol PA, centrifugadas e o sobrenadante submetido a leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Perkin-Elmer lambda 25) no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 366 nm, a fim de determinar a quantidade de ácido elágico liberada. As esponjas remanescentes também foram dissolvidas em metanol PA, sendo em seguida a dispersão centrifugada e o sobrenadante submetido a quantificação, de modo a averiguar se o valor liberado e valor retido somariam a quantidade de ácido elágico incorporada em cada esponja. A quantificação do ácido elágico foi determinada usando a seguinte curva de calibração realizada em metanol  $y = 0,0335x + 0,0318$ ,  $R^2 = 0,992$ .

#### 4.2.9 Ensaio antimicrobiano em modelo *ex-vivo*

Para a determinação do efeito antimicrobiano das esponjas, optou-se por avaliar em um modelo *ex-vivo* (Figura 9) utilizando tecido cutâneo suíno, baseado no decréscimo da carga microbiana em lesões previamente infectadas, conforme descrito por Andersson et al. (2021). Inicialmente, peças de tecido cutâneos suíno íntegros, com aproximadamente 5x10cm, adquiridas no mercado local, foram limpas, sendo removido o tecido subcutâneo com o auxílio de um bisturi e checadas quanto a integridade, sendo descontaminadas com etanol 70% e armazenadas em freezer a -20°C. Antes do ensaio, a pele foi descongelada em temperatura ambiente durante duas horas, sendo o material novamente limpo com etanol 70% em cabine de

fluxo laminar. A pele foi fixada em placa de petri estéril e as lesões realizadas através de um dispositivo térmico adaptado com ponta cilíndrica de cobre de  $\varnothing=8\text{mm}$ , com intervalo de dois minutos entre cada lesão. O cilindro foi posicionado verticalmente e a ponta mantida contra a superfície da pele durante 15 s. Após a realização das lesões, a pele foi mantida em placa de petri contendo tampão fosfato salino (PBS) pH=7,4, cobrindo um terço de sua espessura, de modo a manter a hidratação do tecido durante o experimento. A pele foi mantida em repouso na cabine de segurança biológica em temperatura ambiente por 20 min antes de realizar o processo de infecção.

**Figura 9** – Ensaio antimicrobiano em modelo *ex-vivo* utilizando pele suína.



Fonte: Autoria própria (2023).

#### 4.2.9.1 Infecção da ferida

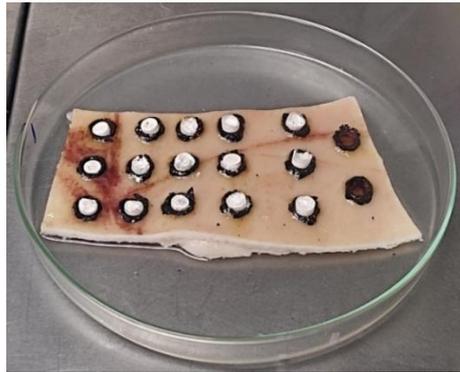
Para a preparação do inóculo, foram utilizadas as cepas padrão *American Type Culture Colection Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P). O inóculo foi preparado a partir da dispersão de 3-4 colônias de cada cepa em caldo Muller Hinton estéril, até ajustar a sua concentração para 0,5 da Escala de McFarland (equivalente a  $1,5 \times 10^8 \text{UFC/ml}$ ). Para a infecção, foram adicionados no centro de cada lesão 30ul de inóculo. Após a infecção, a fim de evitar a evaporação das feridas, as placas de petri foram seladas com parafilme, fechadas com a respectiva tampa e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 2 h.

#### 4.2.9.2 Tratamento antibacteriano

Após o estabelecimento da infecção, as esponjas brancas e carregadas foram adicionadas diretamente sobre às lesões (Figura 10). Foram utilizados 50  $\mu\text{l}$  de solução de

digluconato de clorexidina a 2%, como controle positivo, e PBS estéril como controle negativo. Em seguida, as peles tratadas foram novamente incubadas nas mesmas condições a 37°C durante 2h.

**Figura 10** – Tratamento com esponjas à base de gelatina e gantrez® carregadas com ácido elágico das lesões realizadas em tecido cutâneo suíno previamente infectadas com *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Autoria própria (2023).

#### 4.2.9.3 Amostragem e enumeração dos microrganismos viáveis

Para determinar a carga bacteriana das lesões após o tratamento, a pele foi retirada da estufa e cada lesão foi lavada individualmente com 2x40 µl de tampão PBS estéril, sendo este volume (80 µl) utilizado para realizar a diluição seriada das amostras entre 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-7</sup>. Estas dispersões foram homogeneizadas e em seguida semeadas em placas de ágar Mueller Hinton. As placas foram incubadas a 37°C por 24h e em seguida as colônias resultantes foram contadas, corrigidas pelo fator de diluição, sendo realizadas a média para cada unidade. Os valores de CFU/ml foram submetidos a correção logarítmica (log<sub>10</sub>) de modo a se apreciar melhor a redução da carga microbiana dos diferentes tratamentos.

### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram expressos através de média e desvio padrão. Os dados foram submetidos em pares a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, usando o software GraphPad Prism® 5.0. As diferenças foram consideradas significativas quando p<0.05.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 AVALIAÇÃO QUALITATIVA

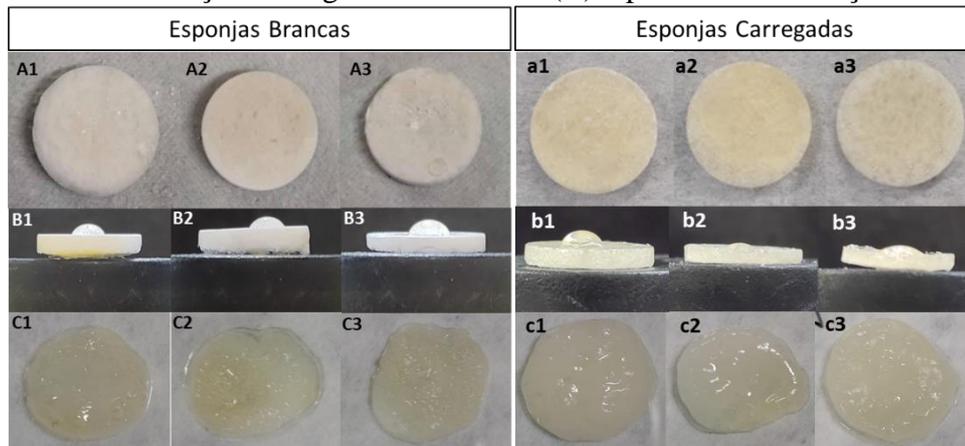
Das seis formulações preparadas, somente foram utilizadas para incorporação do ativo as esponjas: F<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, F<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN, devido ao seu maior grau de consolidação e homogeneidade. As demais composições preparadas apresentaram-se quebradiças e/ou não homogêneas.

As esponjas brancas obtidas (Figura 11A) apresentaram coloração branca, aspecto homogêneo e resistência adequada. Ao serem umedecidas à 25°C, prontamente adquiriram propriedades bioadesivas e tornaram-se maleáveis. Quanto à avaliação da desintegração em água à 35° C, mantidas sob agitação suave e analisadas durante 30 minutos, a esponja F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN apresentou a menor desintegração, ao contrário da esponja F<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN que desintegrou totalmente.

Superadas as etapas de pré-formulação, com o intuito de determinar a melhor composição para o desenvolvimento das esponjas, realizou-se o carregamento com ácido elágico das três formulações selecionadas (FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN). As formulações desenvolvidas apresentaram coloração amarelada, característica deste princípio ativo, superfície regular e homogênea, conforme a Figura 11a. Além disso, as esponjas mantiveram as propriedades bioadesivas demonstradas pelas esponjas brancas, quando submersas em água a temperatura ambiente.

As propriedades bioadesivas e a maleabilidade apresentadas pelas esponjas brancas, podem estar associadas as características intrínsecas do Gantrez® e gelatina, respectivamente. Uma vez que a capacidade bioadesiva do Gantrez® já está descrita na literatura, demonstrado pelo seu uso como adesivo para próteses dentárias (IRACHE et al., 2005).

**Figura 11** – Esponjas brancas e carregadas: (A) Recém-preparadas, (B) Durante a determinação do ângulo de contato e (C) Após ensaio de sorção.



**A, B, C1:** F<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, **A, B, C2:** F<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e **A, B, C3:** F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN  
**a, b, c1:** FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, **a, b, c2:** FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e **a, b, c3:** FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN

Na Figura 11C pode ser observada a capacidade de intumescimento das esponjas após o teste de captação de água. Esta é uma característica importante a ser avaliada, pois materiais capazes de absorver fluidos são importantes e auxiliam no processo de cicatrização de feridas (BROUSSARD; POWERS, 2013).

## 5.2 ESPESSURA

A espessura das esponjas brancas e carregadas está descrita na Tabela 2. As esponjas carregadas apresentaram espessura menor que as esponjas brancas ( $p < 0.05$ ), essa diferença pode estar relacionada a fatores do processo de formulação, como homogeneização, ou ainda, a presença do ingrediente ativo.

Além disso, o aumento da gelatina na composição reduziu a espessura tanto das esponjas brancas como das carregadas, o que pode indicar uma maior união das cadeias poliméricas, quer seja por reticulação, ou ainda pela aproximação mecânica promovida pela capacidade filmogênica intrínseca deste biomaterial.

**Tabela 2** – Espessura das esponjas (Média  $\pm$  SD).

Formulações	Espessura (mm)
F <sub>46%</sub> GEL <sub>54%</sub> GAN	2,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
F <sub>50%</sub> GEL <sub>50%</sub> GAN	2,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
F <sub>53%</sub> GEL <sub>47%</sub> GAN	2,4 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>

FAE <sub>46%</sub> GEL <sub>54%</sub> GAN	2,0 ± 0,0 <sup>b</sup>
FAE <sub>50%</sub> GEL <sub>50%</sub> GAN	1,8 ± 0,0 <sup>c</sup>
FAE <sub>53%</sub> GEL <sub>47%</sub> GAN	1,7 ± 0,1 <sup>c</sup>

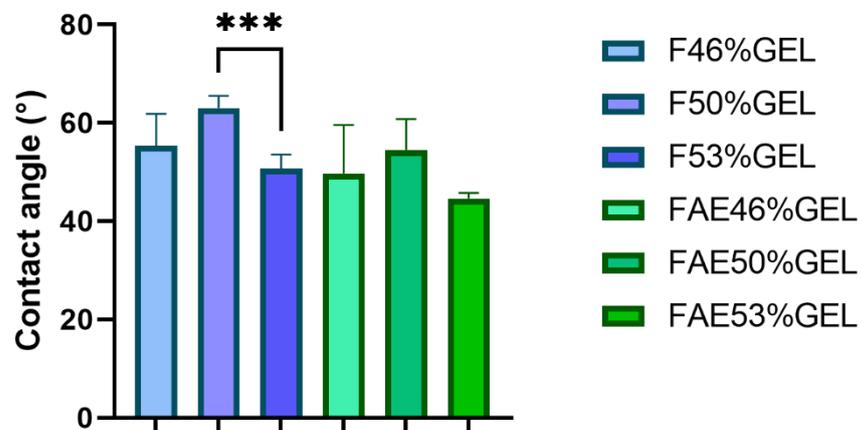
Os dados foram submetidos aos pares a análise de variância (ANOVA) com post-test de Tukey, sendo considerados significantes quando  $p < 0.05$ . Letras idênticas significam resultados semelhantes.

Fonte: Autoria própria (2023).

### 5.3 ÂNGULO DE CONTATO E VELOCIDADE DE CAPTAÇÃO DE ÁGUA

O ângulo de contato das esponjas brancas situou-se entre 53 e 63° (Figura 12), o que demonstra o seu caráter primordialmente hidrofílico, associado sobretudo à presença de gelatina. As esponjas carregadas apresentaram um caráter ainda mais hidrofílico, com ângulo de contato entre 43 e 54°, o que pode ter sido ocasionado pela presença dos vários grupamentos hidroxila encontrados na estrutura fenólica do ácido elágico.

**Figura 12** – Ângulo de contato das esponjas.



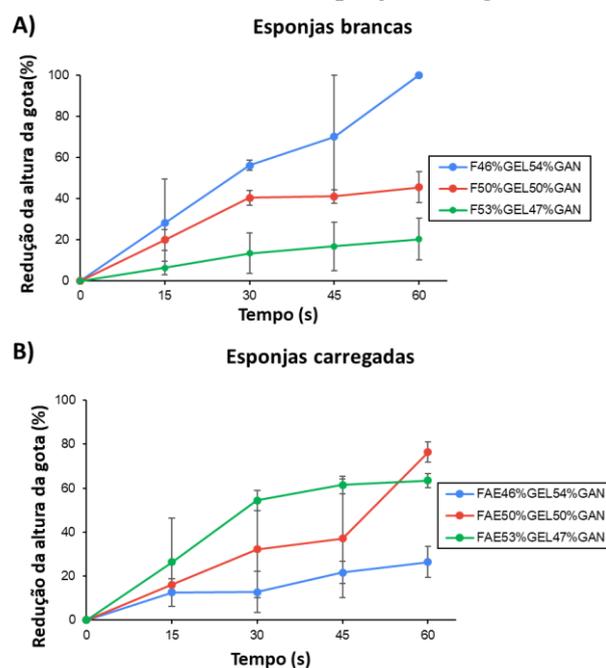
Os dados foram submetidos em pares à análise de variância (*One-way ANOVA*), e posteriormente ao teste de Tukey, sendo as diferenças consideradas significantes quanto  $p < 0,05$  (\*).

Fonte: Autoria própria (2023).

Em relação a velocidade de captação de água das esponjas brancas, a esponja F<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN apresentou maior velocidade de captação de água dentre as composições preparadas, com 100% de redução da altura da gota em 60 segundos, conforme observado na Figura 13A. Sendo assim, pode-se inferir que se trata de um material mais poroso, uma vez que a absorção de água e porosidade dos materiais estão diretamente relacionados (POLETTI, 2010).

As esponjas carregadas com maior quantidade de gelatina (FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN) apresentaram um percentual de redução de altura da gota acima de 60% após 1 minuto. Por outro lado, a esponja com menor quantidade de gelatina (FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN) ao final desse mesmo tempo demonstrou apenas cerca de 26% de redução da altura da gota (Figura 13B). Essa diferença entre as formulações pode ocorrer pois a formação de poros e a porosidade de materiais são dependentes da interação e grau de consolidação entre os polímeros e ingredientes ativos, das características do polímero/solvente/não solvente utilizados e é claro, das condições de preparação da esponja (POLETTI, 2010). Além disso, conforme descrito na análise de espessura, a maior consolidação dos materiais pode ser decorrente de mecanismos químicos, a partir dos quais os materiais tornam-se mais coesos e, portanto, poderiam levar a formação de estruturas 3D com características funcionais únicas.

**Figura 13** – Velocidade de captação de água das esponjas.



Fonte: Autoria própria (2023).

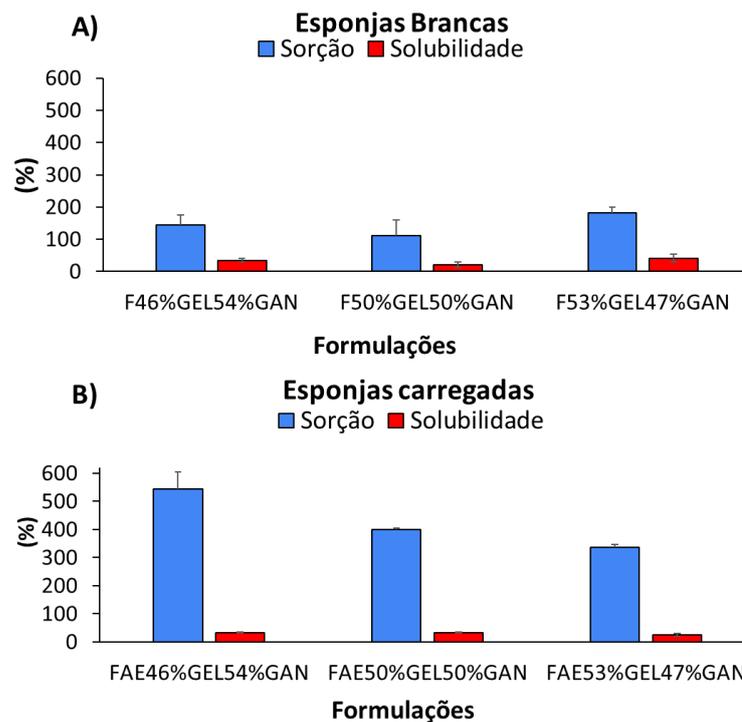
#### 5.4 SORÇÃO E SOLUBILIDADE

Para que um material seja útil como veículo de liberação de fármacos ele deve ser capaz de absorver biofluidos, liberar princípios ativos, mantendo a sua integridade (CALÓ et al., 2016). Neste sentido, as esponjas brancas apresentaram alta capacidade de absorção de água,

com valores acima de 100%, conforme a Figura 14A. A esponja F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN apresentou maior sorção, esta característica possivelmente está relacionada a maior quantidade de gelatina presente na formulação, uma vez que em água fria este biopolímero tem a capacidade de absorver de 5 a 10 vezes a sua própria massa em água, causando assim o seu intumescimento (HAUG et al., 2004).

Por outro lado, após a incorporação de ácido elágico, as três esponjas carregadas apresentaram um aumento substancial na sua capacidade de absorção de água (Figura 14B) quando comparadas aos resultados do mesmo teste para as esponjas brancas. Este intumescimento pôde ser percebido macroscopicamente conforme visto anteriormente na Figura 11c.

**Figura 14** – Sorção e solubilidade das esponjas brancas e carregadas.



Fonte: Autoria própria (2023).

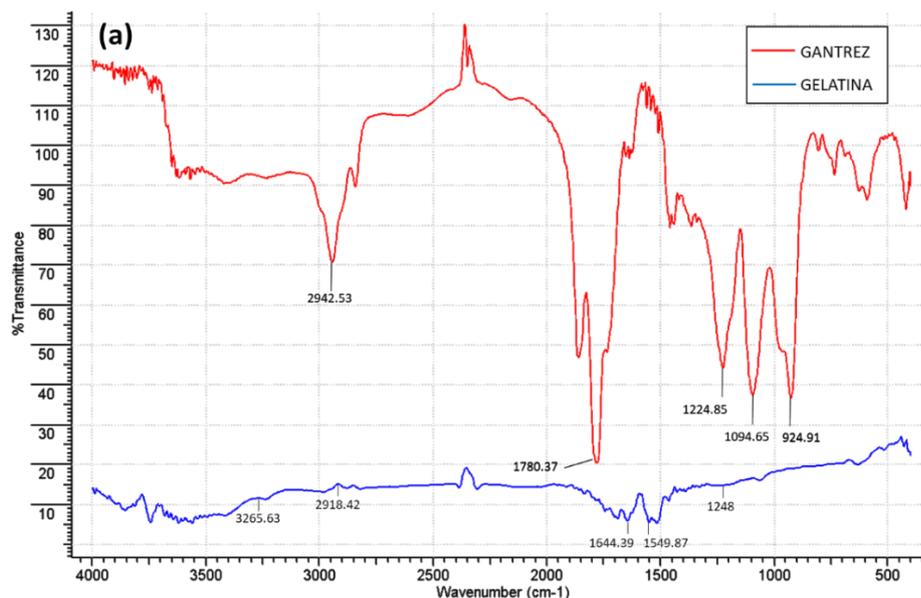
Em relação a solubilidade, as esponjas apresentaram valores entre 20 e 40%. Estes resultados demonstram a sua capacidade de manter-se íntegras no meio, sendo esta, uma propriedade importante para os curativos, de forma a permitir a integridade dos materiais quando em contato com fluidos biológicos, bem como, garantir a liberação adequada do fármaco para exercer o seu efeito terapêutico.

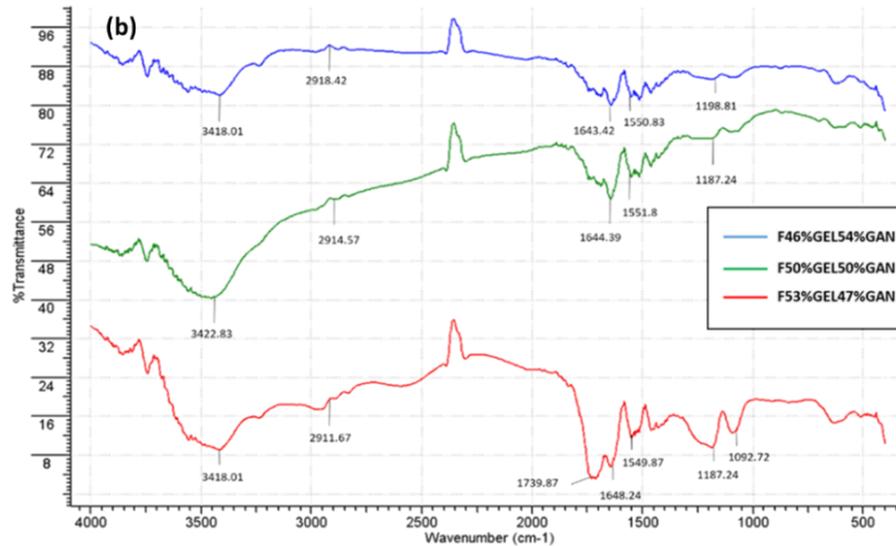
## 5.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Em relação a análise das esponjas por FTIR, os espectros dos polímeros Gantrez® e gelatina estão representados na Figura 15a. No espectro de Gantrez® o pico de absorção do grupo carbonila anidro é claramente visível na região de 1760-1820  $\text{cm}^{-1}$ . São observados também o pico de estiramento OH (3300-2500  $\text{cm}^{-1}$ ), o pico de estiramento de CO típico para ácidos carboxílicos (1320-1000  $\text{cm}^{-1}$ ), o pico de curvatura OH para grupos carboxílicos em 950-910  $\text{cm}^{-1}$  e o pico de estiramento C-O-C da unidade de éter metil vinil em 1094,65  $\text{cm}^{-1}$  (CALÓ, 2016).

O espectro da gelatina apresenta cinco bandas características das amidas. A amida A pode ser observada na região de 3300  $\text{cm}^{-1}$ , a amida B em 2900  $\text{cm}^{-1}$ , amida I, II e III podem ser visualizadas na região de 1644  $\text{cm}^{-1}$ , 1549  $\text{cm}^{-1}$  e 1248  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. A amida I representa o estiramento C=O e ligação de hidrogênio acoplada com COO, a amida II surge da vibração de flexão de grupos N-H e vibrações de alongamento de grupos C-N e a amida III representa as vibrações no plano dos grupos C-N e N-H das ligações de amida ou vibrações de grupos  $\text{CH}_2$  dos grupos de glicina (HOQUE et al., 2011).

**Figura 15** – Espectros de FTIR correspondente a: (a) Gantrez® e gelatina, (b) esponjas brancas.

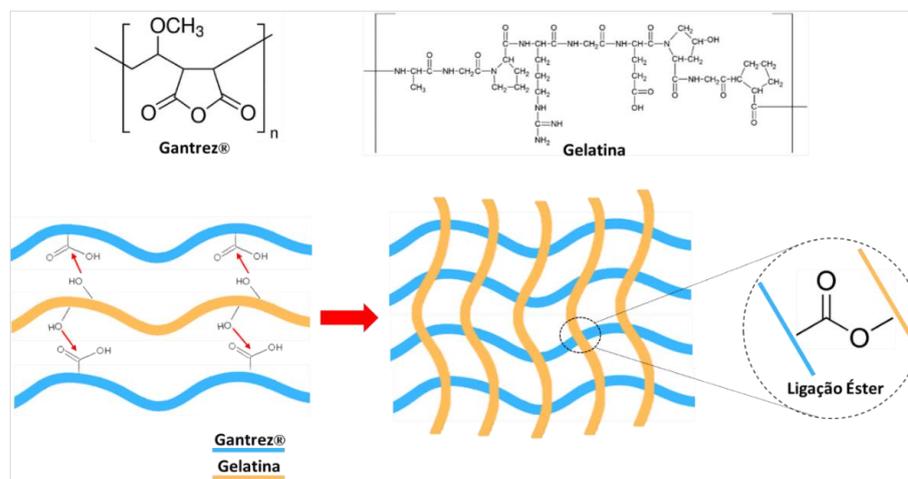




Fonte: Autoria própria (2023).

O espectro FTIR das esponjas brancas está representado na Figura 15b. O pico a  $1740\text{ cm}^{-1}$  é característico do grupamento éster, provavelmente formado a partir da reação dos grupos  $\text{-OH}$  presentes na gelatina e ácido carboxílico do Gantrez®, formados após a sua hidrólise (Figura 16). Além disso, o grupo carbonilo anidro, observado para o Gantrez® puro na região de  $1760\text{ cm}^{-1}$  desaparece nas blendas formadas, assim como as bandas típicas de deformação axial características dos ácidos carboxílicos ( $1320\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ ), dando lugar na última blenda ao aparecimento de um pico a  $1092\text{ cm}^{-1}$  (característico de C-O de éster saturado) (Figura 15b). Já o pico correspondente ao grupo  $\text{-OH}$  se movimenta de  $2942\text{ cm}^{-1}$  do Gantrez® puro para  $3400\text{ cm}^{-1}$  quando são formadas as blendas com gelatina.

**Figura 16** – Ligação formada entre o Gantrez® e a Gelatina.

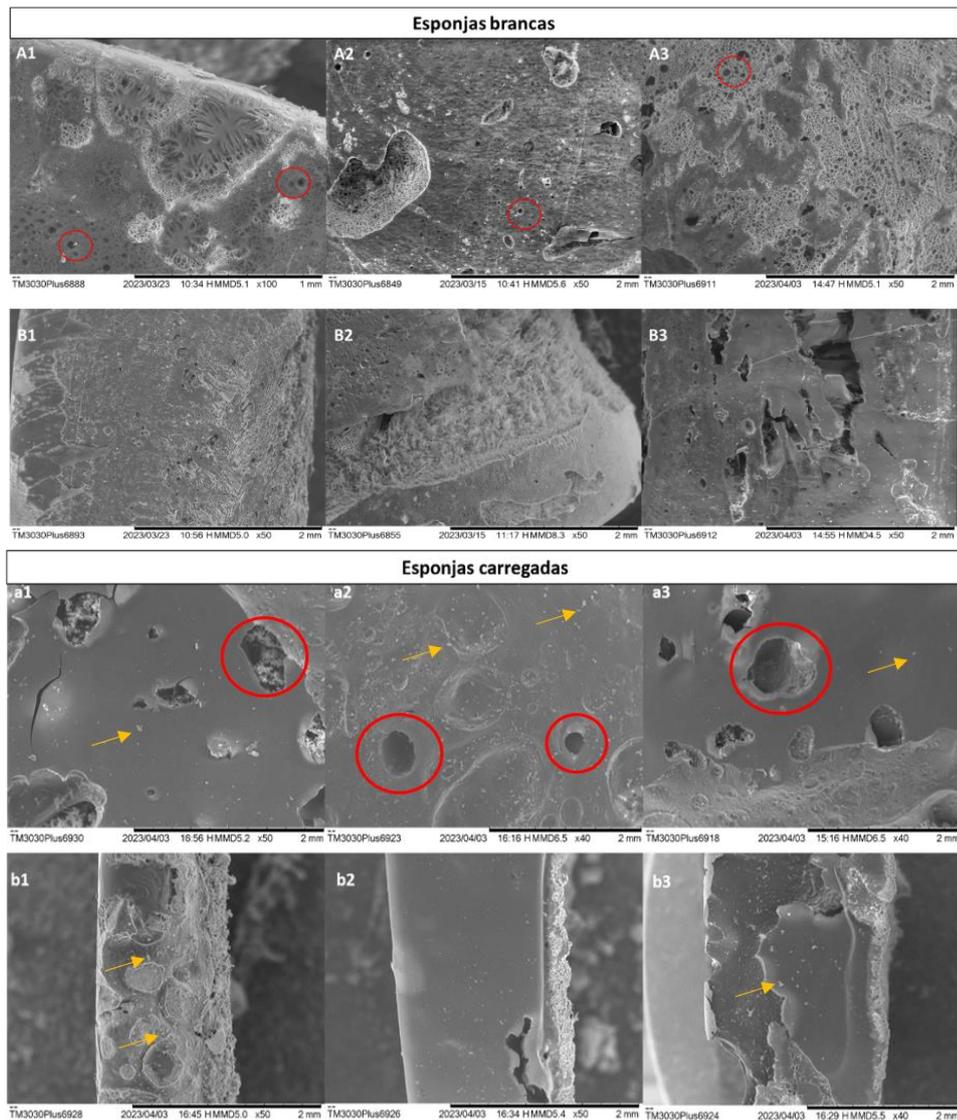


Fonte: Autoria própria (2023).

## 5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Na análise por MEV foram realizados o registro superficial e o corte transversal das esponjas (Figura 17). As esponjas brancas apresentam-se com uma estrutura formada por microporos, com algumas irregularidades. Por outro lado, as esponjas carregadas apresentaram uma superfície mais regular, lisa, densa e constituída de uma menor quantidade, porém maiores poros. Além disso, pode-se visualizar algumas estruturas com formato semelhante a cristais distribuídas na superfície das esponjas carregadas, que poderiam indicar a presença do ácido elágico. Estes resultados corroboram com os achados obtidos quanto a velocidade de captação de água, de sorção e solubilidade, descritos anteriormente.

**Figura 17** – Imagens da microestrutura das esponjas: (A) superfície e (B) transversal.

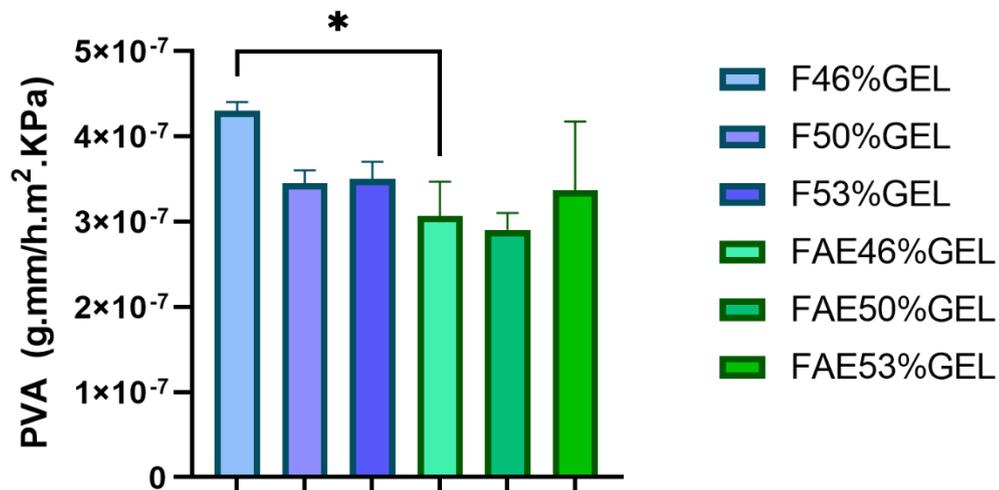


**A1, B1:** F<sub>46%</sub>GEL<sub>5.4%</sub>GAN, **A2, B2:** F<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e **A3, B3:** F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN  
**a1, b1:** FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>5.4%</sub>GAN, **a2, b2:** FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e **a3, b3:** FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN

## 5.7 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água das esponjas está representada na Figura 18. As esponjas brancas apresentaram maior PVA quando comparadas as esponjas carregadas, isto pode estar relacionado a estrutura microporosa destas formulações observadas nas imagens de MEV. A permeabilidade ao vapor de água pode ser influenciada por alguns fatores como, a morfologia do polímero, a presença de poros ou fissuras, a hidrofiliicidade do material (CAZÓN et al., 2022) e o seu grau de reticulação. O aumento desta última propriedade pode causar uma redução na PVA através da redução na difusividade e melhoria das características mecânicas (DE CARVALHO; GROSSO, 2006).

**Figura 18** – Permeabilidade a vapor de águas (PVA) das esponjas.



Os dados foram submetidos em pares à análise de variância (*One-way ANOVA*), e posteriormente ao teste de Tukey, sendo as diferenças consideradas significantes quanto  $p < 0,05$  (\*).

Fonte: Autoria própria (2023).

De forma geral, a maioria dos filmes à base de polissacarídeos, como gelatina e quitosana, possuem uma barreira limitada ao vapor de água devido à sua alta natureza hidrofílica. A matriz desses materiais possui alto teor de grupos hidroxila e amino que podem interagir com moléculas de água, auxiliando a permeação das moléculas de água através da matriz do filme (DE CARVALHO; GROSSO, 2006; CÁZON et al., 2022). De Carvalho e Grosso (2006) obtiveram valores de PVA para filmes de gelatina de 0,198 g.mm/h.m<sup>2</sup>.kPa, corroborando com os resultados apresentados por Chambi e Grosso (2011) de 0,204 g.mm/h.m<sup>2</sup>.kPa para o mesmo material. Sendo assim, esta é uma característica que contribui

para a capacidade de intumescimento das esponjas e corrobora com os resultados apresentados pela velocidade de captação de água, sorção e solubilidade.

Ainda, a diferença nos resultados de PVA desse estudo para os autores citados acima pode estar relacionada a presença do Gantrez, um material mais hidrofóbico que a gelatina e que, portanto, confere maior barreira a permeação a vapor de água. Conforme discutido na análise por FT-IR a formação de ligações éster entre ambos os polímeros, utilizando os grupamentos OH- da gelatina, limitariam desta forma a dissipabilidade destes para favorecer a permeação de água através da matriz polimérica.

## 5.8 ENSAIO DE LIBERAÇÃO

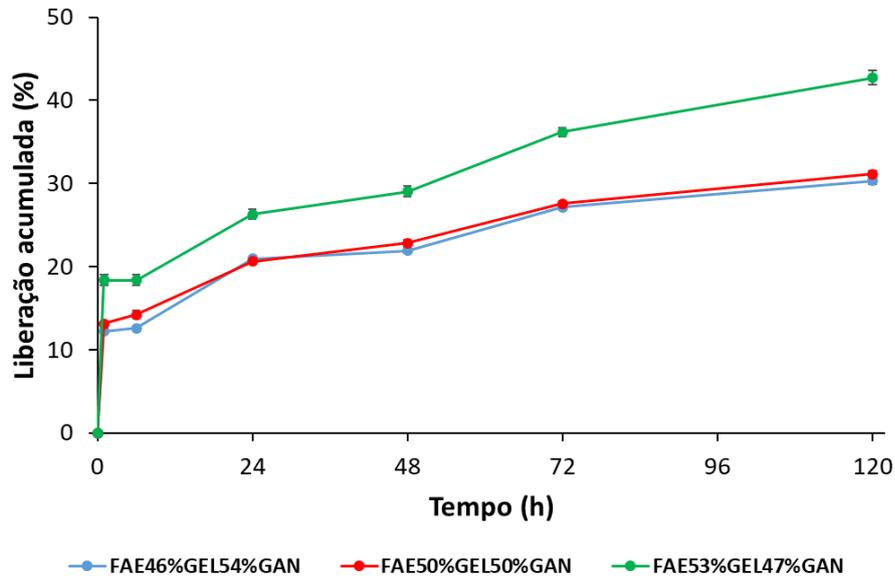
A liberação do ativo nos primeiros dias após a formação da ferida é de extrema importância, pois pode auxiliar nas etapas iniciais de cicatrização, sendo estas a fase inflamatória e proliferativa que se iniciam no primeiro e quarto dia de cicatrização, respectivamente. Além disso, a ação antimicrobiana nos primeiros dias das etapas de cicatrização colabora para inibir a proliferação de microrganismos e impedir a contaminação da ferida. Outro fator importante é a frequência de troca de curativo, o qual depende de diversos fatores, como a quantidade de exsudato no leito da ferida e tipo de ferida. O curativo pode permanecer sem ser trocado por um período máximo de 4 a 7 dias (SILVA et al., 2017).

Nesse sentido, a liberação do ácido elágico foi avaliada por 5 dias, após esse tempo as esponjas FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN alcançaram uma liberação de ácido elágico de 42,71%. Por outro lado, as demais esponjas apresentaram uma liberação menor, alcançando cerca de 30,31% (FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN) e 31,14% (FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN) (Figura 19).

A maior taxa de liberação pelas esponjas FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN possivelmente está relacionada ao menor grau de interação do ácido elágico com os grupamentos químicos de ambos os polímeros, uma vez que, com uma quantidade maior de gelatina na formulação, seriam formadas uma maior quantidade de ligações éster entre os dois polímeros, tal como foi demonstrado pelos espectros de FT-IR apresentados (Figura 15b). O ácido elágico por sua vez estaria mais disponível para ser liberado a partir das esponjas. Tavares et al. (2021) descreveram o mecanismo de associação do ácido elágico com a proteína do milho zeína, através das técnicas de FT-IR, fluorimetria e espectroscopia de <sup>1</sup>H NMR, indicando uma provável formação de pontes de hidrogênio entre estas moléculas. Esta característica seria inclusive mais favorecida com a gelatina, uma vez que esta está constituída por uma maior proporção de aminoácidos

hidrofílicos que a zeína em sua estrutura. Sendo assim, a indisponibilidade destes resíduos devido ao processo de esterificação a partir da mistura com o Gantrez®, limitaria o acoplamento químico do ácido elágico.

**Figura 19** – Liberação do ácido elágico a partir das esponjas de gelatina-Gantrez.



Fonte: Autoria própria (2023).

## 5.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS ESPONJAS

A atividade antimicrobiana das esponjas foi avaliada por meio da redução da viabilidade bacteriana. Os resultados, expressos em  $\log_{10}$  UFC/ml, para *P. aeruginosa* e *S. aureus* estão apresentados na Figura 20. Esses microrganismos são comumente associados a infecções cutâneas resistentes, os quais dificultam o processo de cicatrização (LIMA et al., 2015).

As esponjas brancas e carregadas demonstraram capacidade de reduzir a viabilidade de ambas as cepas, este efeito pode estar relacionado a alta capacidade de absorção das esponjas, a qual leva a redução na carga microbiana no leito da ferida, atuando ainda, como proteção mecânica contra microrganismos externos. Além disso, a capacidade bioadesiva das esponjas pode ajudar no processo de cicatrização, tendo em vista que curativos com borda adesiva podem impedir a entrada de bactérias exógenas na ferida pelas bordas do material e curativos poliméricos contribuem para impedir a entrada de bactérias da superfície do curativo (BRETT, 2006).

Em relação a *P. aeruginosa*, as esponjas carregadas apresentaram maior atividade quando comparadas as esponjas brancas, com exceção das esponjas F<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN e

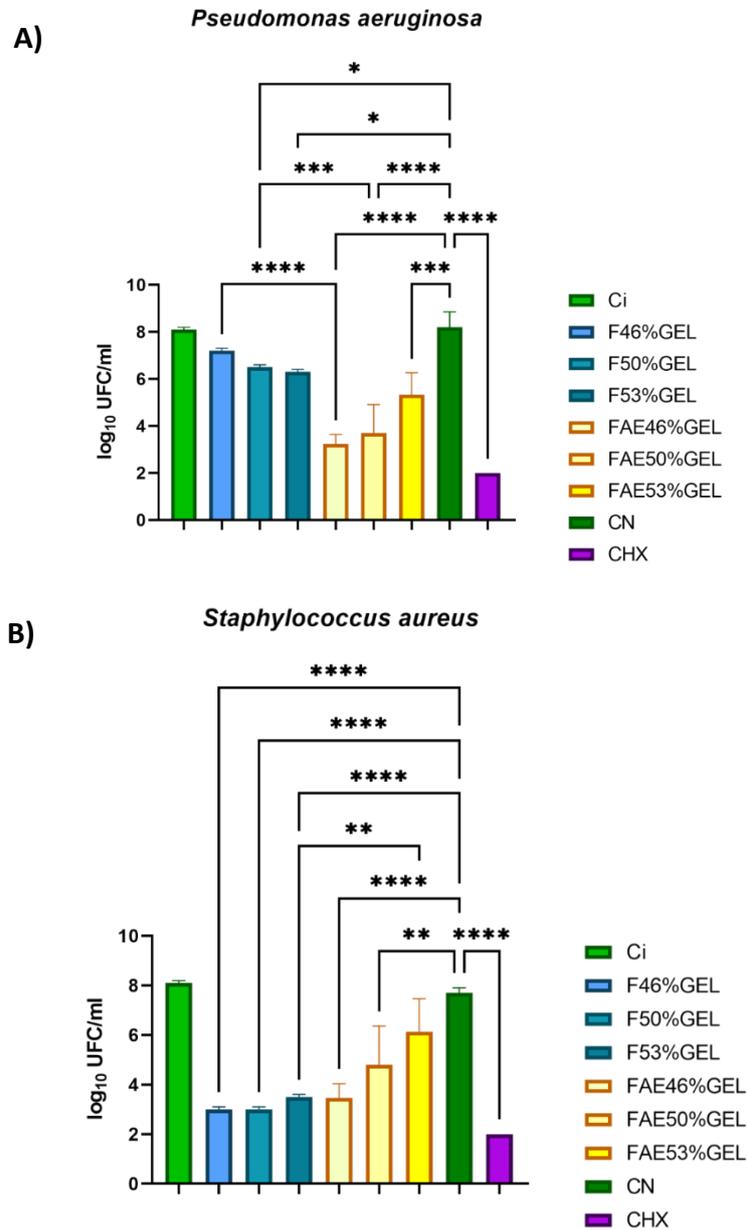
FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN, onde não houve diferença estatística. As esponjas carregadas foram capazes de reduzir, aproximadamente, em  $\log_{10}$  a viabilidade bacteriana em relação ao controle negativo (CN) em 5 para as esponjas FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN, 4,5 para as esponjas FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN e em 3  $\log_{10}$  para as esponjas FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN (Figura 20A).

Quanto a atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, a maioria das esponjas apresentou boa capacidade inibitória, exceto a esponja FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN, que não apresentou diferença estatística em relação ao CN. As esponjas carregadas FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN reduziram, aproximadamente, em 4  $\log_{10}$  a viabilidade bacteriana, as esponjas FAE<sub>50%</sub>GEL<sub>50%</sub>GAN em 3 e FAE<sub>53%</sub>GEL<sub>47%</sub>GAN em 1,5  $\log_{10}$  (Figura 20B).

Além disso, percebe-se ainda que dentre as esponjas carregadas e brancas, com exceção das esponjas brancas testadas frente a *P. aeruginosa*, as formulações com maior quantidade de Gantrez apresentaram um efeito antimicrobiano maior, isto pode estar relacionado à capacidade antimicrobiana intrínseca do Gantrez (CALÓ et al., 2016). Por outro lado, a menor atividade inibitória das formulações com maior quantidade de gelatina, pode estar relacionada a este polímero que é conhecido por seu fraco desempenho como agente antimicrobiano (NDLOVU et al., 2021).

No que diz respeito as esponjas carregadas além da alta absorção de fluidos e da remoção mecânica dos microrganismos não aderidos, o ácido elágico apresenta efeito bactericida frente à ambas as cepas, confirmado em outros estudos anteriores (TAVARES et al., 2018, TAVARES et al., 2021), os quais em conjunto contribuem para a sua atividade antimicrobiana. Nestes estudos, o ácido elágico apresentou um efeito bactericida mais pronunciado frente a *P. aeruginosa* do que frente a *S. aureus*, o que justifica a menor atividade antimicrobiana das esponjas carregadas frente a esta cepa, ainda, a formação de uma estrutura menos microporosa, limita a absorção dos microrganismos e prejudica a ação das esponjas. Apesar disso, as esponjas demonstraram atividade antimicrobiana satisfatória, pois a maioria foi capaz de reduzir acima de 2 logs a viabilidade bacteriana frente a ambas as cepas estudadas.

**Figura 20** – Atividade antimicrobiana das esponjas brancas e carregadas frente à *P. aeruginosa* (A) e *S. aureus* (B). C1: concentração inicial, CN: controle negativo (tampão PBS estéril) e CP: controle positivo – CHX clorexidina 2%.



Os dados foram submetidos em pares à análise de variância (*One-way ANOVA*), e posteriormente ao teste de Tukey, sendo as diferenças consideradas significantes quanto  $p < 0,05$  (\*).

Fonte: Autoria própria (2023).

## 6 CONCLUSÃO

As esponjas obtidas apresentaram características funcionais favoráveis para o seu uso como plataforma de curativos: hidrofília, bioadesividade, elevada capacidade de captação de água, adequada resistência e maleabilidade. Além disso, a incorporação do ácido elágico às esponjas melhorou substancialmente a sua capacidade de intumescimento, sem alterar as demais propriedades funcionais, o que pode favorecer a absorção de exsudatos no leito de feridas. Em paralelo, as esponjas apresentaram solubilidade em meio aquoso entre 20 a 40%, o que demonstra a sua capacidade de manter-se íntegras em contato com fluidos biológicos quando usadas como curativos.

Na análise de FTIR o pico  $1740\text{ cm}^{-1}$ , característico da função éster, aparece nas esponjas formadas pela blenda polimérica, sendo este provavelmente formado entre os grupamentos -OH da gelatina e ácido carboxílico do Gantrez®, conferindo as esponjas características funcionais específicas. As imagens de MEV demonstraram que a incorporação do ácido elágico tornou a estrutura das esponjas mais uniforme, densa, lisa e com menor quantidade de microporos. As esponjas demonstraram liberação do ácido elágico entre 30,31% e 42,71%, após 5 dias. Em relação a atividade antimicrobiana, tanto as esponjas brancas quanto as esponjas carregadas demonstraram uma boa atividade inibitória frente as cepas testadas. As esponjas carregadas foram capazes de reduzir em torno de 5 a 3  $\log_{10}$  a viabilidade das cepas de *S. aureus*. Frente a *P. aeruginosa*, as esponjas carregadas reduziram de 4 a 1,5  $\log_{10}$  a viabilidade das bactérias, quando comparadas ao controle negativo.

Diante disso, a esponja FAE<sub>46%</sub>GEL<sub>54%</sub>GAN foi a formulação que apresentou as melhores características funcionais para aplicação como curativos, com elevada capacidade de captação de água, baixa permeabilidade ao vapor de água, liberação considerável de ácido elágico (30,31%) e atividade antimicrobiana satisfatória, sendo capaz de reduzir em entre 4 e 5 logs a viabilidade de ambas as cepas bacterianas ensaiadas.

Portanto, o uso conjugado de polímeros não tóxicos e biocompatíveis como a Gelatina e Gantrez® bem como, o ácido elágico podem favorecer o processo cicatricial de feridas. Neste sentido, os dispositivos desenvolvidos possuem potencial para oferecer uma nova estratégia mais custo-efetiva, biodegradável, biocompatível e funcionalmente inovadora para o tratamento de feridas.

## REFERÊNCIAS

- ALAMOUDI, S. A.; PANI, S. C.; ALOMARI, M. The effect of the addition of tricalcium phosphate to 5% sodium fluoride varnishes on the microhardness of enamel of primary teeth. **International journal of dentistry**, v. 2013, 2013.
- AL-OBAIDI, M. M.; AL-BAYATY, F. H.; AL BATRAN, R.; HASSANDARVISH, P.; ROUHOLLAHI, E. Protective effect of ellagic acid on healing alveolar bone after tooth extraction in rat – A histological and immunohistochemical study. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 9, p. 987-999, 2014.
- ANDERSSON, M. Å.; MADSEN, L. B.; SCHMIDTCHEN, A.; PUTHIA, M. Development of an experimental ex vivo wound model to evaluate antimicrobial efficacy of topical formulations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 5045, 2021.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard test methods for water vapor transmission of materials** – E 96-00. Philadelphia: ASTM, 2000.
- BIORENDER. **BioRender Templates**. Disponível em: < <https://biorender.com/> >. Acesso em: 27 janeiro 2023.
- BRETT, D. W. Impact on exudate management, maintenance of a moist wound environment, and prevention of infection. **Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing**, v. 33, p. S9-S14, 2006.
- BROUSSARD, K. C.; POWERS, J. G. Wound dressings: selecting the most appropriate type. **American journal of clinical dermatology**, v. 14, n. 6, p. 449-459, 2013.
- BURKARTER, E. **Construção de imagens por padrões hidrofóbico/hidrofílico**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2006.
- CALÓ, E.; BARROS, J.; BALLAMYB, L.; KHUTORYANSKIY, V. V. Poly (vinyl alcohol)–Gantrez® AN cryogels for wound care applications. **RSC advances**, v. 6, n. 107, p. 105487-105494, 2016.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, p. 51-58, 2007.
- CHAMBI, H. N. M.; GROSSO, C. R. F. Mechanical and water vapor permeability properties of biodegradable films based on methylcellulose, glucomannan, pectin and gelatin. **Food Science and Technology**, v. 31, p. 739-746, 2011.
- CORRÊA, M. A. **Cosmetologia, ciência e técnica**. 1. ed. São Paulo: Medfarma, 2012.
- DE ARAÚJO, I. P. **Farmacotécnica II**. 1. ed. Rio de Janeiro: SESES, 2018.

DE BARROS, C. F.; DE LIMA, I. A.; BUNHAK, E. J. Filmes poliméricos no manejo de feridas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e10111628757-e10111628757, 2022.

DE CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Properties of chemically modified gelatin films. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, p. 45-53, 2006.

DE PAULA, J. A. M.; AMARAL, V. C. S. **Ciências da Saúde: saberes e práticas interdisciplinares**. Anápolis: Ed. UEG, 2019.

DE SOUSA, F. O.; BLANCO-MENDEZ, J.; PÉREZ-ESTÉVEZ, A.; SEOANE-PRADO, R.; LUZARDO-ALVAREZ, A. Effect of zein on biodegradable inserts for the delivery of tetracycline within periodontal pockets. **Journal of biomaterials applications**, v. 27, n. 2, p. 187-200, 2012.

DE SOUZA SMANIOTTO, P. H.; GALLI, R.; DE CARVALHO, F. V.; FERREIRA, M. C. Tratamento clínico das feridas-curativos. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3-4, p. 137-141, 2010.

DIAS, J. R.; BAPTISTA-SILVAE, S.; DE OLIVEIRA, C. M. T.; SOUSA, A.; OLIVEIRA, A. L.; BÁRTOLO, P. J.; GRANJA, P. L. In situ crosslinked electrospun gelatin nanofibers for skin regeneration. **European Polymer Journal**, v. 95, p. 161-173, 2017.

DURO, C. L. M.; KAISER, D. E.; DUARTE, E. R. M.; BONATTO, C. DA ROSA, A. L.; DA ROSA, A. T. **Cartilha de orientações para profissionais de enfermagem sobre o cuidado com lesões de pele**. Porto Alegre: UFRGS, 2018.

EAKWAROPAS, P.; NGAWHIRUNPAT, T.; ROJANARATA, T.; PATROJANASOPHON, P.; OPANASOPIT, P.; NUNTHARATANAPONG, N. Formulation and Optimal Design of Dioscorea bulbifera and Honey-Loaded Gantrez®/Xyloglucan Hydrogel as Wound Healing Patches. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 6, p. 1302, 2022.

FENG, Y.; LIA, X.; ZHANG, Q.; YAN, S.; GUO, Y.; LI, M.; YOU, R. Mechanically robust and flexible silk protein/polysaccharide composite sponges for wound dressing. **Carbohydrate polymers**, v. 216, p. 17-24, 2019.

GOPALAKRISHNAN, L.; RAMANA, L. N.; SETHURAMAN, S.; KRISHNAN, U. M. Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, n. 13, p. 215-221, 2014.

GOSAIN, A.; DIPIETRO, L. A. Aging and wound healing. **World journal of surgery**, v. 28, n. 3, p. 321-326, 2004.

GUO, S. A.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of dental research**, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203-213, 2004.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 1, p. 82-90, 2011.

IRACHE, J. M.; HUICI, M.; KONECNY, M.; ESPUELAS, S.; CAMPANERO, M. A.; ARBOS, P. Bioadhesive properties of Gantrez nanoparticles. **Molecules**, v. 10, n. 1, p. 126-145, 2005.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; SUDHEESH KUMARA, P. T.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 3, p. 322-337, 2011.

JONES, V.; GREY, J. E.; HARDING, K. G. Wound dressings. **Bmj**, v. 332, n. 7544, p. 777-780, 2006.

JUNQUEIRA, L. C. U. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de feridas. **Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology**, v. 69, n. 3, p. 355-355, 2011.

LIMA, M. F. P.; BORGES, M. A.; PARENTE, R. S.; JÚNIOR, R. C. V.; DE OLIVEIRA, M. E. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares—Revisão de Literatura. **Uningá Review**, v. 21, n. 1, 2015.

MATICK, A. C. C.; NAVARRO, C. H.; HIGASHI, D. T.; PASCOTTO, R. C.; FUJIMAKI, M.; TERADA, R. S. S. Evaluation of solubility and sorption in water of some direct restorative materials. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 48, 2019.

NDLOVU, S. P.; NGECE, K.; ALVEN, S.; ADERIBIGBE, B. A. Gelatin-based hybrid scaffolds: promising wound dressings. **Polymers**, v. 13, n. 17, p. 2959, 2021.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

POLETTI, P. **Caracterização de membranas de poliamida 66 reparadas pelo método de inversão de fases**. 2010. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

PRIMARIZKY, H.; YUNIARTI, W. M.; LUKISWANTO, B. S. Ellagic acid activity in healing process of incision wound on male albino rats (*Rattus norvegicus*). **KnE Life Sciences**, p. 224-233, 2017.

PROKSCH, E.; BRANDNER, J. M.; JENSEN, J. M. The skin: an indispensable barrier. **Experimental dermatology**, v. 17, n. 12, p. 1063-1072, 2008.

RATH, G.; HUSSAIN, T.; CHAUHAN, G.; GARG, T.; GOYALA, A. K. Development and characterization of cefazolin loaded zinc oxide nanoparticles composite gelatin nanofiber mats for postoperative surgical wounds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 242-253, 2016.

RÍOS, J. L.; GINER, R. M.; MARÍN, M.; RECIO, M. C. A pharmacological update of ellagic acid. **Planta medica**, v. 84, n. 15, p. 1068-1093, 2018.

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE. **Manual de Padronização de Curativos**.

Prefeitura Municipal de São Paulo. Disponível

em:<[https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/04/1152129/manual\\_protocoloferidasmarco2021\\_digital\\_.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/04/1152129/manual_protocoloferidasmarco2021_digital_.pdf)>. Acesso em: 20 fevereiro 2023.

SIGMA-ALDRICH PRODUCTS. **Sigma-Aldrich Brasil Ltda**. Disponível em: <[www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)>. Acesso em: 27 janeiro 2023.

SILVA, A. N. C. O.; RODRIGUES FILHO, E. S.; SOUSA, G. R. S.; SILVA, J. F. S.; DA SILVA, A. L.; ARAUJO, C. M. S. As principais coberturas utilizadas pelo enfermeiro. **Revista Uningá**, v. 53, n. 2, 2017.

SIMIĆ, A. Z.; VERBIC, T. Z.; SENTIC, M. N.; VOJIC, M. P.; JURANIC, I. O.; MANOJLOVIC, D. D. Study of ellagic acid electro-oxidation mechanism. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, v. 144, p. 121-128, 2013.

SINGARAVELU, S.; RAMANATHAN, G.; RAJA, M. D.; NAGIAH, N.; PADMAPRIYA, P.; KAVERI, K.; SIVAGNANAM, U. T. Biomimetic interconnected porous keratin—Fibrin—Gelatin 3D sponge for tissue engineering application. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 86, p. 810–819, 2016.

SOUSA, F. F. O.; LUZARDO-ALVAREZ, A.; PÉREZ-ESTÉVEZ, A.; SEOANE-PRADO, R.; BLANCO-MENDEZ, J. Sponges containing tetracycline loaded-PLGA-zein microparticles as a periodontal controlled release device. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 59, p. 101858, 2020.

TAVARES, W. **Desenvolvimento, caracterização biofarmacêutica e avaliação cicatrizante de sistemas poliméricos nanoestruturados à base de zeína e ácido elágico**. 2022. Tese (Doutorado em Inovação Farmacêutica) – Universidade Federal do Amapá, 2022.

TAVARES, W. S.; PENA, G. R.; MARTIN-PASTOR, M.; SOUSA, F. F. O. Design and characterization of ellagic acid-loaded zein nanoparticles and their effect on the antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Molecular Liquids**, v. 341, p. 116915, 2021.

TORTORA, G. J. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

TAVARES, W. S.; MARTIN-PASTOR, M.; TAVARES JUNIOR, A. G. T.; SOUSA, F. F. O. Biopharmaceutical activities related to ellagic acid, chitosan, and zein and their improvement by association. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 12, p. 2970-2975, 2018.

VALE, E. P. **Estudo do extrato hidroetanólico de Punica granatum Linnaeus e do ácido elágico sobre os parâmetros citogenéticos e toxicológicos em camundongos Swiss**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2019.

- VOWDEN, K.; VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. **Surgery (Oxford)**, v. 35, n. 9, p. 489-494, 2017.
- WANG, X.; ZHANG, D.; WANG, J.; TANG, R.; WEI, B.; JIANG, Q. Succinyl pullulan-crosslinked carboxymethyl chitosan sponges for potential wound dressing. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 66, n. 2, p. 61-70, 2017.
- WEN, Y.; YU, B.; ZHU, Z.; YANG, Z.; SHAO, W. Synthesis of Antibacterial Gelatin/Sodium Alginate Sponges and Their Antibacterial Activity. **Polymers**, v. 12, p. 1926, 2020.
- WINTER, G. D. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. **Nature**, v. 193, n. 4812, p. 293-294, 1962.
- WIWATWONGWANA, F.; SURIN, P. In vitro degradation of gelatin/carboxymethylcellulose scaffolds for skin tissue regeneration. **Chemical engineering**, v. 74, 2019.
- YADAV, P.; YADAV, H.; SHAH, V. G.; SHAH, G.; DHAKA, G. Biomedical biopolymers, their origin and evolution in biomedical sciences: A systematic review. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 9, n. 9, p. 21-25, 2015.
- YE, S.; JIANG, L.; SU, C.; ZHU, Z.; WEN, Y.; SHAO, W. Development of gelatin/bacterial cellulose composite sponges as potential natural wound dressings. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 148–155, 2019.