

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico – CDTec
Programa de pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

Dissertação de Mestrado



Desenvolvimento e caracterização de curativo nanoestruturado com liberação controlada de monopersulfato de potássio

Naiane Garcia Motta

Pelotas, 2023

Naiane Garcia Motta

Desenvolvimento e caracterização de curativo nanoestruturado com liberação controlada de monopersulfato de potássio

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Evandro Piva

Coorientador (es): Prof. Dr. Neftali Lenin Villareal Carreño

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

M921d Motta, Naiane Garcia

Desenvolvimento e caracterização de curativo nanoestruturado com liberação controlada do composto monopersulfato de potássio [recurso eletrônico] / Naiane Garcia Motta ; Evandro Piva, orientador. — Pelotas, 2023.

40 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Curativos. 2. Celulose nanofibrilada. 3. Nanoquitosana. 4. Monopersulfato de potássio. 5. Feridas crônicas. I. Piva, Evandro, orient. II. Título.

CDD 620.11063

Naiane Garcia Motta

Desenvolvimento e caracterização de um curativo nanoestruturado com liberação controlada de monopersulfato de potássio

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 31 de julho de 2023

Banca examinadora:

Prof. Dr. Evandro Piva (Orientador)
Doutor em Materiais Dentários pela Universidade de Campinas (Unicamp)

Prof. Dr. Rafael Guerra Lund
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Dr^a Débora Duarte Ribes
Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Prof^a Dr^a Juliana Silva Ribeiro de Andrade (Suplente)
Doutora em Clínica Odontológica com Ênfase em Endodontia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Agradecimentos

Primeiramente eu agradeço a Deus por me guiar nessa jornada e me manter forte durante todo o tempo.

Um agradecimento especial aos meus pais, Leonã e Rosângela, e minha irmã, Andressa, que sempre acreditaram em mim e me apoiaram incondicionalmente.

Agradeço á minha dinda Leila e ao meu dindo Júlio por me acolherem como filha e me darem todo o apoio.

Agradeço aos meus amigos e parceiros que cultivei durante essa jornada dentro da universidade Federal de Pelotas, em especial a Luiza e o Alaor. Dentro desse contexto gostaria de demonstrar meus agradecimentos ao Professor Neftali, que sempre se mostrou disposto a me ajudar e a abrir portas dentro dessa jornada.

As minhas amigas Andressa e Ana Paula, minha gratidão por estarem sempre ao meu lado e me dando conselhos e puxões de orelha.

Agradeço ao meu Namorado Lucas por me incentivar e me ajudar nos momentos difíceis da escrita desse trabalho.

Agradeço as instituições que permitiram que esse trabalho fosse realizado. Em especial a Universidade Federal de Pelotas (UFPel), a Embrapa Florestas de Curitiba - Paraná, ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM). Um agradecimento a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Agradeço a Professora Dr^a. Giselle Maria Maciel da UTFPR pela recepção em seu laboratório e em especial a Elaine que esteve sempre presente no desenvolvimento desse trabalho.

Um agradecimento em especial ao Professor Dr. Washington Magalhães que me recebeu na Embrapa Florestas e que me orientou durante esse período.

Resumo

MOTTA, Naiane Garcia. **Desenvolvimento e caracterização de um curativo nanoestruturado com liberação controlada de monopersulfato de potássio.** Orientador: Evandro Piva. 2023. 39 f. Dissertação, (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O uso de biomateriais, principalmente os biopolímeros, carregados com compostos ativos possuem o potencial de interagir com os tecidos lesionados favorecendo o reparo tecidual. O objetivo desse trabalho é desenvolver e caracterizar um filme a base de nanoquitosana (NQTS) e celulose nanofibrilada (CNF) como um sistema de entrega gradual de monopersulfato de potássio (Oxone®, OXN) para uso como um curativo. Desse modo, três formulações do curativo foram preparadas: OXN 0% (CONTROLE), OXN 0,5% e OXN 1%, se diferenciando somente quanto a quantidade de OXN, sendo a primeira sem adição, a segunda com 0,5%(p/v) e a terceira com 1%(p/v). NQTS (0,4% p/v) e água deionizada (DI) foram aquecidas a 60°C e mantidas sob agitação magnética por 30 min, em seguida a CNF (0,3% p/v) foi adicionada a solução onde a temperatura e a agitação permaneceram por mais 30 min. O aquecimento foi suspenso e o OXN foi adicionado á solução e mantido em agitação magnética por mais 30 min. Para a formação dos filmes, a solução formada foi despejada sobre placas de silicone e colocadas em estufa a 50°C, overnight. Para a sua caracterização, análises de espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier modo Reflexão Atenuada (FT-IR/ATR), microscopia eletrônica de varredura, análise termogravimétrica, a cinética de liberação do composto ativo e testes biológicos de viabilidade celular e atividade antimicrobiana foram realizados. Como resultado, filmes nanoestruturados foram obtidos, possuindo um bom sistema de entrega de OXN, ou seja, o composto foi entregue de maneira controlada ao decorrer do tempo avaliado (média de entrega de 4% de OXN a cada 30min de exposição). Se mostrou termicamente estável levando em consideração as suas condições de trabalho e com excelentes propriedades biológicas, de modo que o filme OXN 1% inibiu completamente o crescimento da bactéria *Escherichia coli* e as amostras OXN 0% e OXN 0,5% mostram biocompatibilidade. Logo, é possível concluir que os filmes de aplicação como curativo dermatológico obtidas no presente estudo demonstraram viabilidade em relação as caracterizações, além de demonstrar efeito antimicrobiano quando adicionadas com composto de monopersulfato de potássio.

Palavras-chave: Curativos. Celulose nanofibrilada. Nanoquitosana. Monopersulfato de potássio. Feridas crônicas.

ABSTRACT

MOTTA, Naiane Garcia. **Development and characterization of a nanostructured wound dressing with potassium monopersulfate controlled release.** Advisor: Evandro Piva. 2023. 39 f. Defense (Master in Materials Science and Engineering) - Postgraduate Program in Materials Science and Engineering, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

The use of biomaterials, mainly biopolymers, loaded with active compounds has the potential to interact with injured tissues, favoring tissue repair. The objective of this work is to synthesize and characterize a film based on nanochitosan (NQTS) and nanofibrillated cellulose (CNF) as a gradual delivery system of potassium monopersulfate (Oxone®, OXN) for use as a wound dressing. Thus, three dressing formulations were prepared: OXN 0% (Control group), OXN 0.5%, and OXN 1%, differing only in terms of the amount of OXN, the first without addition, the second with 0.5% (w/v) and the third with 1% (w/v). NQTS (0.4% w/v) and deionized water (DI) were heated to a temperature of 60°C and mixed for 30 min then CNF (0.3% w/v) was added to the solution under constant magnetic stirring and temperature for more 30 min. Heating was stopped and OXN was added to the solution and mixed for more 30 min. For the formation of films, the solution was poured over silicone plates and placed in oven at 50°C overnight. For its characterization, Infrared spectroscopy analysis with Fourier Transform Attenuated Reflection mode (FT-IR/ATR), scanning electron microscopy, thermogravimetric analysis, active compound release kinetics, and biological tests of cell viability and antimicrobial activity were performed. Nanostructured films having a good OXN delivery system were synthesized, the active compound was delivered slowly over the evaluated time (average delivery of 4% OXN every 30min of exposure). TG analysis proved that the films are thermally stable about its working conditions. The OXN 1% film completely inhibited the growth of the Escherichia coli bacteria proving to have excellent biological properties. The 0% OXN and 0.5% OXN samples show good biocompatibility. Therefore, it is possible to conclude that the films for application as a dermatological dressing obtained in the present study demonstrated viability about the characterizations, demonstrating an antimicrobial effect when added with potassium monopersulfate compound.

Keywords: Dressings. Nanofibrillated cellulose. Nanochitosan. Potassium monopersulfate. Chronic wounds.

Lista de figuras

Figura 1	Ilustração das fases do processo de cicatrização.....	16
Figura 2	Fórmula química da celulose e aspecto do material utilizado no presente estudo.....	19
Figura 3	Representação do processo de obtenção da celulose nanofibrilada.....	23
Figura 4	Representação do processo para obtenção do filme.....	24
Figura 5	Imagens dos filmes. a) Filme OXN 1%; b) Filme OXN 1% depois de entrar em contato com água.....	27
Figura 6	Espectros comparativos de FTIR dos filmes OXN 0%, OXN 0,5% e OXN 1%.....	28
Figura 7	Espectros de FTIR dos componentes do curativo (OXN, NQTS, CNF)	28
Figura 8	Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da celulose nanofibrilada.....	29
Figura 9	Perfil da decomposição térmica da curva de TG/DTG do curativo (OXN 1%)	30
Figura 10	Gráfico da cinética de Liberação cumulativa do OXN.....	31
Figura 11	Viabilidade celular das células de fibroblastos de camundongos após exposição dos filmes OXN 0%, OXN 0,5% e controle.....	32
Figura 12	Representação dos resultados obtidos do ensaio microbiológico das amostras OXN 0%, OXN 0,5%, OXN 1%, controles positivo e negativo.....	34

Sumário

1 Introdução.....	11
2 Objetivos.....	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivo Específico.....	14
3 Revisão Bibliográfica	15
3.1 Fermentos.....	15
3.2 Curativos	17
3.3 Celulose e Celulose Nanofibrilada.....	18
3.4 Quitosana e Nanoquitosana.....	20
3.5 Monopersulfato de Potássio.....	21
4 Materiais e Métodos	23
4.1 Materiais.....	23
4.2 Métodos.....	23
4.2.1 Obtenção da suspensão de celulose nanofibrilada.....	23
4.2.2 Produção do filme.....	24
4.2.3 Infravermelho com Transformada de Fourier modo Reflexão Atenuada ...	24
4.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura da CNF.....	24
4.2.5 Análise Termogravimétrica.....	25
4.2.6 Cinética de Liberação do OXN	25
4.2.7 Teste de viabilidade celular	25
4.2.8 Atividade antimicrobiana.....	26
5 Resultados e discussão.....	27
5.1 Formação dos Filmes.....	27
5.2 Infravermelho com Transformada de Fourier modo Reflexão Atenuada	27
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	29
5.4 Análise Termogravimétrica.....	30
5.5 Cinética de Liberação do OXN.....	31
5.6 Teste de viabilidade celular	32
5.7 Atividade antimicrobiana.....	33

6 Conclusão.....	34
7 Limitações e sugestões para trabalhos futuros.....	35
8 Produção científica.....	36
Referências Bibliográficas.....	36

1 Introdução

Os ferimentos podem ser causados por doenças, lesões ou danos físico-químicos. As Lesões crônicas, como úlceras e queimaduras, podem levar mais tempo para cicatrizar ou permanecer sem a cicatrização demandando uma série de cuidados médicos em especial contra infecções. Seus tratamentos e curas têm uma grande importância social e econômica, uma vez que afetam um percentual significativo da população mundial (DE OLIVEIRA et al., 2019; FARAHANI; SHAFIEE, 2021).

Aliar as necessidades dos pacientes à incorporação de novas tecnologias ao Sistema Único de Saúde (SUS) é um grande desafio de saúde pública. A avaliação de Tecnologias em Saúde (ATS) é uma forma de pesquisa que aborda as questões clínicas, sociais, econômicas, éticas e organizacionais relacionadas ao uso da tecnologia em saúde, levando em consideração os recursos disponíveis, tornando possível a participação do público na incorporação de novas tecnologias no SUS (BRASIL, 2016).

Tratar e curar essas feridas tem significado social e econômico devido à complexidade do processo de cicatrização de feridas. Doenças como diabetes, o surgimento de infecções ou inflamações em cada fase da cicatrização pode retardar esse processo ou transformar uma ferida comum em uma ferida crônica que não cicatriza. Em função destes fatores, os curativos devem desempenhar diferentes funções (hemostasia, antibacteriana, hidratante etc.) que promovem a cicatrização após a cobertura da ferida (ZENG et al., 2022).

A troca gasosa ineficiente entre a ferida e o meio, dificuldades na remoção do curativo, incapacidade de proteger a ferida de infecções microbianas, propriedades mecânicas indesejáveis, indução de reações alérgicas, incapacidade de manter o ambiente úmido além do elevado custo, são algumas das limitações observadas em curativos. Por tanto, torna-se evidente a necessidade de desenvolver curativos mais avançados e mais acessíveis (ALVEN; ADERIBIGBE, 2020).

O uso de biomateriais para a cicatrização de feridas crônicas é promissor, ainda mais quando estes possuem compostos ativos em seu sistema. Estes interagem com os tecidos lesionados e permitem a aceleração da cicatrização, diminuindo os riscos mais severos que a doença traz, melhorando a qualidade de vida dos enfermos (KASIEWICZ; WHITEHEAD, 2017). A maioria dos curativos atualmente desenvolvidos possuem polímeros naturais ou sintéticos em sua matriz. Isso ocorre pois oferecem

múltiplos benefícios, como o aumento da resistência mecânica, melhora das propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas, proliferativas, entre outras (ALVEN et al., 2022). Os biopolímeros apresentam certas vantagens em termos de propriedades biológicas, o que os torna importantes no processo de cicatrização. Alguns exemplos de biopolímeros são: quitosana, celulose, alginato, quitina, gelatina, colágeno e algumas gomas (KASIEWICZ; WHITEHEAD, 2017; SAHANA; REKHA, 2018; SINGLA et al., 2017).

A quitosana, é um polissacarídeo natural, geralmente obtida a partir do exoesqueleto de crustáceos e possui propriedades avançadas para aplicação em materiais biomédicos. Este polímero tem potencial para ser utilizado como um sistema de liberação controlada de compostos ativos, é biodegradável e tem se mostrado eficiente quando adicionado a filmes para regeneração óssea guiada, em filmes com sistema de drogas controlada, como agentes hemostáticos e antimicrobianos (PARK et al., 2018). Este em sua forma nanométrica também apresenta um amplo espectro antimicrobiano contra diversos microrganismos patogênicos (IKONO et al., 2019).

Por sua vez, a celulose é o polímero biológico de maior abundância no planeta e quando encontrado na forma nanométrica apresenta propriedades altamente ajustáveis (MALI; SHERJE, 2022; SHAH et al., 2019). A celulose nanofibrilada (CNF) é um grande exemplo disso, suas fibrilas possuem um diâmetro que varia dentro da casa dos nanômetros e sua largura pode possuir muitos micrômetros e formar agregados de 20 a 50 nm de espessura. Dependendo do modo que é sintetizado, os materiais celulósicos nanofibrilados podem adquirir diferentes formas (filmes, aerogéis, hidrogéis ou suspensões em gel) e, conseqüentemente, diferentes propriedades (BASU et al., 2018; WU et al., 2021). Essas características tornam a celulose um aditivo de interesse na formulação de biofilmes.

O interesse em utilizar a CNF para produzir novos materiais nanoestruturados terapêuticos para aplicações avançadas de tratamento de feridas vem crescendo consideravelmente (DA S. FERREIRA et al., 2023). É uma biomassa renovável, biodegradável, não tóxica, de baixo custo energético e de produção e possui características relevantes que evitam problemas ambientais e questões toxicológicas aos sistemas biológicos. A combinação de CNF e compostos com atividade antimicrobiana tem sido relatada como uma abordagem promissora para o tratamento de ferimentos, visto que aceleram o processo de cicatrização (ALVEN et al., 2022; HAKKARAINEN et al., 2016).

O Oxone® (OXN), também conhecido como peroximonossulfato de potássio ou monopersulfato de potássio, atua nos capsídeos de proteínas de bactérias e de vírus, oxidando-os, liberando e inativando seus ácidos nucléicos. Embora o OXN em pó seja corrosivo, a substância em solução não é irritante e é segura para animais e humanos. Produtos a base desse composto foram testados e não foram classificados como nocivos ou tóxicos de acordo com o processo europeu padrão para a classificação e rotulagem de preparações químicas, tornando o OXN uma excelente opção como um agente antimicrobiano (TULALAMBA et al., 2021).

Tendo em vista que ainda existem muitas limitações quanto aos curativos já desenvolvidos e pelos altos investimentos em produtos e serviços no Sistema Único de Saúde torna-se estratégico o desenvolvimento de novas tecnológicas para aplicação de filmes em saúde humana. O objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar um filme aplicado como curativo sustentável com ação antimicrobiana a base de e nanoquitosana (NQTS), CNF e OXN.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

O atual estudo tem como objetivo desenvolver e caracterizar um filme aplicado como curativo sustentável com ação antimicrobiana a base de e NQTS, CNF e OXN.

2.2 Objetivos Específicos

- i. Sintetizar e caracterizar o gel de CNF;
- ii. Obter o filme de CNF, NQTS e OXN;
- iii. Caracterizar o curativo química, física e morfologicamente;
- iv. Avaliar o comportamento da cinética de liberação do monopersulfato de potássio;
- vi. Realizar a avaliação biológica do material (viabilidade celular);

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Ferimentos

A pele humana é maior órgão do corpo humano (MUELLER, 2017). Ao longo de milhares de anos ela evoluiu e se tornou notavelmente adaptável e multifuncional. Esse órgão revestido por tecido epitelial serve para uma infinidade de funções, inclusive atuando como uma barreira protetora e um mecanismo de defesa para nosso sistema imunológico, proporcionando-nos a capacidade de sentir o toque e o ambiente ao nosso redor, facilitando a eliminação de resíduos por meio da excreção, regulando nossa temperatura corporal, armazenando nutrientes essenciais, sintetizando a vitamina D, oferecendo proteção física aos nossos órgãos e estruturas subjacentes e repelindo a água com eficácia. Quando a integridade da nossa pele é comprometida, algumas dessas funções podem ficar comprometidas, resultando na interrupção da homeostase (MITCHELL, 2020).

Uma ferida é caracterizada quando há uma ruptura na pele causada por fatores físicos, químicos ou biológicos. As ulcerações de pele são categorizadas como agudas ou crônicas, diferenciando-se em sua duração e processo de cicatrização. As ulcerações agudas, resultantes de acidentes ou lesões cirúrgicas, geralmente cicatrizam em 8 a 12 semanas. As feridas crônicas não seguem um mesmo padrão através dos estágios normais de cura em tempo hábil e são frequentemente associadas a condições como úlceras de decúbito, úlceras de perna e queimaduras (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015).

O processo de cicatrização cutânea é dividido em quatro fases sobrepostas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento (Figura 1). Cada etapa desse processo é caracterizada por uma sequência de eventos moleculares, celulares e fisiológicos, os quais são liderados, em grande parte, por sinalizações hematopoiéticas, imunológicas e de células que residem na pele (ALVEN; ADERIBIGBE, 2020).

A hemostasia é iniciada imediatamente depois da ruptura da integridade da pele e a partir de então, múltiplas respostas fisiológicas são alertadas, fazendo com que os vasos do local sofram constrição e conseqüentemente o fluxo sanguíneo seja reduzido. As plaquetas e os fatores da cascata de coagulação formam um coágulo de fibrina que além de fazer com que o sangue seja estancado, serve como veículo para a migração de células para o leito da ferida, incluindo leucócitos, queratinócitos e fibroblastos (SUN; SIPRASHVILI; KHAVARI, 2014).

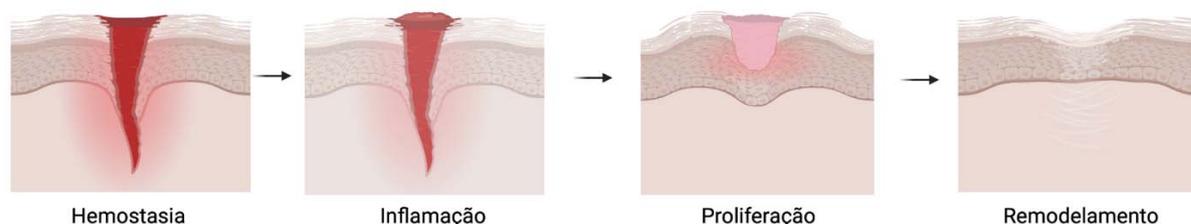


Figura 1 - Ilustração das fases do processo de cicatrização

O estágio de inflamação é iniciado depois de 4 horas do surgimento da lesão, que ocorre como resposta imunológica do corpo em relação ao ferimento. Neutrófilos penetram no local, matando bactérias e degradando proteínas danificadas, já os monócitos entram em ação dentro de 24 horas depois, transformando-se em macrófagos, matando micróbios, removendo detritos teciduais, destruindo neutrófilos remanescentes e abrindo caminho para as fases seguintes, de angiogênese e granulação do tecido (LANDRISCINA, et al., 2015).

A fase proliferativa consiste na epitelização, revascularização e formação do tecido de granulação. Neste processo, as células recém produzidas preenchem o tecido afetado a partir da liberação de fatores de crescimento e quimocinas, as quais induzem a migração e a proliferação celular e conseqüentemente a formação da matriz, formando um tecido de granulação, etapa muito importante no processo de cicatrização (HAWTHORNE et al., 2021).

A última fase da cicatrização ocorre a partir do remodelamento do tecido de granulação formado na fase anterior, também havendo uma remoção das células dos estágios anteriores. As fibras são alinhadas, melhorando a resistência a tração e o aspecto do local afetado (SUN; SIPRASHVILI; KHAVARI, 2014). De modo geral, um processo de cicatrização saudável passa por essas fases de modo que ocorra: (a) hemostasia rápida; (b) inflamação apropriada; (c) migração, proliferação e diferenciação de múltiplas células da pele; (d) angiogênese suficiente; (e) reepitelização; e (f) deposição e alinhamento de colágeno (MA; WU, 2022).

Existem muitos fatores que interferem na cicatrização e isso pode ocorrer em uma ou mais fases desse processo, ocasionando reparo tecidual inadequado. Em geral, esses fatores podem ser classificados em sistêmicos ou locais. Os fatores locais são aqueles que influenciam diretamente as características do leito da ferida, já os

sistemáticos afetam o estado geral de saúde ou doença do indivíduo que prejudica sua capacidade de cura (GUO; DIPIETRO, 2010).

Anormalidades patobiológicas intrínsecas e fatores extrínsecos, incluindo infecção, trombose e isquemia, podem alterar o microambiente do leito da ferida, levando ao desenvolvimento de feridas crônicas. Este tipo de disfunção segue um processo irresponsivo e irregular no processo de cicatrização, fazendo com que as fases supracitadas sofram alterações e, por consequência, demorem mais para a recuperação completa do tecido danificado (MA; WU, 2022).

É estimado que os custos para o sistema de saúde com pacientes portadores de feridas crônicas ultrapassam bilhões de dólares por ano e aproximadamente 6,5 milhões de novos pacientes anualmente dão entrada aos hospitais com essa condição. Na tentativa de amenizar este problema, surgem os curativos. Muitos deles vem sendo desenvolvidos para proteger a lesão tanto fisicamente quando contra infecções e diversos outros fatores intrínsecos ou extrínsecos, o que consequentemente promove o próprio processo de cicatrização (HAN; CEILLEY, 2017).

3.2 Curativos

Registros indicam que em meados de 2000 a.C. já eram utilizados materiais para cobrir ferimentos. Eram utilizados mel, fiapos, cataplasmas e graxa para promover a cicatrização, evidenciando a importância dos curativos desde os tempos primórdios no tratamento de feridas. Os curativos servem principalmente para cobrir, proteger e promover um ambiente propício para a recuperação tecidual saudável do local afetado promovendo a otimização do reparo tecidual (NAZZAL et al., 2019).

De acordo com Dot Weir e C. Tod Brindle (2019) em seu livro intitulado como “Text and Atlas of Wound Diagnosis and Treatment”, o curativo ideal promove um ambiente úmido, remove o excesso de exsudato, é capaz de promover um ambiente com propriedades antimicrobianas se necessário, que facilite o desbridamento autolítico, previne a contaminação por bactérias, ser alergênico, que minimiza a dor, ser compatível com as necessidades de suporte, ser facilmente aplicado e removido, isolar termicamente a ferida e ser de baixo custo.

O principal objetivo dos curativos é melhorar o progresso das fases de cicatrização. Entretanto, escolher o melhor curativo para determinado tipo de ferimento é um desafio. Atualmente, diversas abordagens dentro da engenharia de

tecidos estão sendo investigadas e se concentram em usar diferentes mecanismos para melhorar a cicatrização de feridas. Esse avanço envolve desde curativos temporários para melhorar o ambiente da ferida até o uso de materiais celulares ou substitutos dérmicos tendo como objetivo estimular o processo de cicatrização e promover a regeneração dos tecidos (SORG et al., 2017).

Existe uma vasta gama de curativos disponíveis no mercado, cada um deles tem propriedades únicas que podem ser exploradas para atender às necessidades de um paciente. Os principais tipos de curativos são os tradicionais, como as gazes, que são simples e permitem a troca de ar e fluidos e são de baixo custo e os curativos avançados, que surgem a cada dia incorporando tecnologias e materiais inovadores como é o exemplo dos curativos dos hidrocoloides, espumas, filmes semipermeáveis, curativos antimicrobianos, hidrogéis e filmes (HAWTHORNE et al., 2021; SORG et al., 2017).

Os curativos tradicionais, também denominados curativos inertes, são os curativos clínicos mais comuns e mais utilizados devido ao baixo custo e processo de fabricação simples. Entretanto, as limitações desses materiais acabam prejudicando o processo de cura, pois não conseguem manter o leito da ferida úmido ou quando removidos possuem a tendência de permanecerem aderidos ao tecido recém-formado. Já os curativos avançados são excelentes opções devido a sua capacidade de proporcionar um ambiente adequado para o ferimento resultando em um processo de cicatrização mais rápido e eficiente (SHI et al., 2020).

Um aspecto amplamente estudado é a área dos materiais que compõem a matriz dos curativos, visto que, selecionar o material apropriado é crucial para alcançar uma cicatrização mais rápida. Uma variedade de diferentes componentes vem sendo observados, estes com características físicas (tamanho dos poros, elasticidade), químicas e biológicas (adesão celular, migração celular) únicas, a maioria delas desenvolvidas a partir de biopolímeros e polímeros sintéticos. Alguns exemplos desses componentes incluem quitosana, gelatina, colágeno, celulose entre outros (ALVEN; ADERIBIGBE, 2020).

Ao longo do tempo, houve avanços significativos na tecnologia de curativos, incluindo a incorporação de medicamentos para melhorar as condições da ferida, alguns deles sendo capazes de carregar esses fármacos e materiais que aceleram a cicatrização de feridas (SABERIAN et al., 2021). Ao contrário dos curativos tradicionais que não têm função ativa no processo de cicatrização, os curativos

avançados podem ser projetados para participar dele, justamente por meio da adição de ingredientes ativos (NEGUT; GRUMEZESCU; GRUMEZESCU, 2018).

3.3 Celulose e celulose nanofibrilada

A celulose (C₆H₁₀O₅)_n (Figura 2) é um dos polímeros orgânicos mais onipresentes do planeta, amplamente encontrada em madeira, plantas, algas, bagaço da cana-de-açúcar, bactérias e outros organismos. A produção anual mundial de celulose é de aproximadamente 75-100 bilhões de toneladas e a demanda continua crescendo ao decorrer dos anos (ABDELHAMID; MATHEW, 2022; DU et al., 2019; KUMAR GUPTA et al., 2019). Suas propriedades mecânicas, físicas, químicas, biológicas, biodisponibilidade, baixo custo, biodegradabilidade e biocompatibilidade tornam a celulose um polímero importante para o desenvolvimento de materiais em diversos setores da indústria, como por exemplo a indústria têxtil, farmacêutica e biomédica (BAGHAEI; SKRIFVARS, 2020).

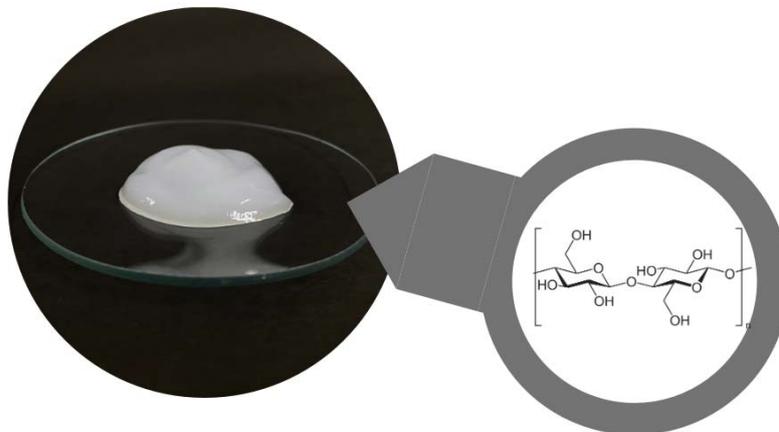


Figura 2- Fórmula química da celulose e aspecto do material utilizado no presente estudo.

Atualmente, com o crescente desenvolvimento da nanotecnologia, a celulose nanoestruturada vem chamando cada vez mais atenção devido as suas propriedades únicas. A nanocelulose vegetal surgiu na década de 1950, quando Rånby explorou as propriedades coloidais das micelas da polpa mercerizada. Sua obtenção pode ser realizada a partir de processos mecânicos, químicos, físicos ou biológicos (WANG et

al., 2021). O tratamento mecânico, como por exemplo o esmerilhamento, geralmente é utilizado para fibrilação da celulose que por fim, produz a CNF (LIU et al., 2020). Além de possuir elevada área superficial, estabilidade térmica e excelentes propriedades mecânicas, a CNF tem um incrível potencial como material biomédico (SUBHEDAR et al., 2021). Dependendo de como é sintetizada, pode ser apresentada na forma de géis, aerogéis, filmes, hidrogéis, dentre outros, o que gera um grande interesse por esse material na produção de materiais nanoterapêuticos, principalmente para aplicações avançadas no tratamento de feridas (BASU et al., 2018).

Celulose microfibrilar, microfibrilas de celulose ou CNF é como são chamadas as fibrilas de celulose com algumas dezenas de nanômetros de diâmetro e algumas centenas de nanômetros de largura. Essas dimensões atribuem a esse material propriedades únicas para a área médica. Um exemplo disso é a capacidade de entregar compostos ativos de maneira controlada, produzir *scaffolds*, espumas, dentre outros (HAKKARAINEN et al., 2016).

A CNF é um promissor veículo para a entrega de moléculas ativas devido às suas vantagens de nanoestrutura, que conseqüentemente lhe é atribuída melhor biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de ajuste químico de sua superfície. Além disso, podem promover forte biodisponibilidade e melhor capacidade de entregar os compostos ativos devido a sua estrutura que possui poros abertos e sua elevada área superficial. Por isso, vários sistemas de entrega de droga controlada a base de materiais nanocelulósicos vem sendo desenvolvidos nos últimos anos (DU et al., 2019).

3.4 Quitosana e nanoquitosana

A quitosana é um copolímero linear isolado da quitina, a qual é o principal constituinte do exoesqueleto de crustáceos, como caranguejos e camarões. Esse biopolímero e seus derivados são conhecidos pelas suas funcionalidades heterogênicas e por ser inerte, biocompatível, biodegradável, bioadesivo, por possuir efeitos hemostáticos e propriedades antimicrobianas. Adicionalmente, a quitosana é muito versátil e possui a vantagem de produzir diversos derivados funcionalizados a partir de processos que a modificam quimicamente (ALVEN; ADERIBIGBE, 2020).

Cadeias de quitosana, quando manipuladas e funcionalizados geram moléculas, compostos de quitosana ou compostos de NQTS com distintas

propriedades físico-químicas e atividades biológicas quando comparada a sua forma convencional. Novos fármacos a base de nanocompostos de quitosana vem sendo desenvolvidos, indicando suas modificações estruturais, que são: suas interações eletrostáticas, reticulação química e a coordenação de íons metálicos. Por tanto, nessas diferentes formas, a quitosana pode melhorar a performance de produtos para a pele (FERREIRA et al., 2022).

A NQTS possui carga positiva em sua superfície e propriedades mucoadesivas, que permitem a sua aderência em membranas mucosas e a liberação da carga útil do fármaco de maneira sustentada. Por isso, curativos a base desse material oferecem muitas vantagens acima dos materiais tradicionais empregados no tratamento de feridas (RUSSO et al., 2022).

Existem muitos mecanismos de liberação de drogas a partir das nanopartículas de quitosana, como por exemplo: o inchaço do polímero, a difusão do fármaco absorvido, a difusão da droga através da matriz polimérica, da erosão ou degradação do polímero ou a combinação deles. A liberação explosiva inicial dos fármacos das matrizes poliméricas de NQTS ocorre devido ao inchaço do polímero, criando poros ou a difusão da droga a partir da superfície da matriz. As nanopartículas de quitosana também exibem uma liberação de droga dependente do pH devido à sua solubilidade. Os derivados da NQTS alteram a liberação do composto ativo, proporcionando uma liberação ajustável, alterando o perfil farmacocinético do fármaco carregado (MOHAMMED et al., 2017).

3.5 Monopersulfato de Potássio (Oxone®)

Espécies Reativas ao Oxigênio (ROS) são pequenas moléculas derivadas de oxigênio produzidas pela cadeia respiratória das mitocôndrias. São agentes oxidantes e os maiores contribuintes para o dano celular, mas também possuem um papel benéfico e muito importante, principalmente na preparação da resposta normal de cicatrização de feridas. Sua presença, de forma controlada, protegem os tecidos contra infecções e estimulam a cicatrização através da produção de células sinalizadoras sobreviventes. Os antioxidantes são componentes químicos que podem doar os seus elétrons para outras moléculas, prevenindo-as de retirar elétrons de outras moléculas biologicamente importantes, como proteínas ou DNA (COMINO-SANZ et al., 2021).

O monopersulfato de potássio, também conhecido como OXN, é o sal de potássio do ácido peroximonossulfúrico, amplamente utilizado como agente oxidante, com potencial redox de 1,82 V, que tem sido amplamente utilizado no tratamento de água para aplicação de oxidação química *in situ*, como saneante e na indústria alimentícia (LEE et al., 2023). O OXN é um sal triplo branco ($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$) e tem alta solubilidade em água, é seguro para ser manuseado e por isso tem um bom potencial de aplicabilidade. Alguns estudos relatam que o OXN possui mecanismos de ativação, algumas delas são: por ativação térmica, ativação por radiação, por íons metálicos de transição, por óxido metálico e por alguns materiais à base de carbono (XU et al., 2020).

Estudos mostram o potencial do OXN como um excelente agente biocida, o qual é capaz de eliminar diferentes cepas de vírus (HASHIZUME et al., 2021; JUSZKIEWICZ et al., 2020) e bactérias (KUNANUSONT et al., 2020; XU et al., 2020). Este composto atua nos capsídeos de proteínas bacterianas e virais por oxidação, liberando e inativando os ácidos nucleicos dos vírus e das bactérias. As eficácias bactericida e virucida desse sal dependem da concentração, tempo de contato e condições do material orgânico (TULALAMBA et al., 2021).

A eficácia bactericida e virucida deste sal são dependentes da concentração, tempo de contato e condições do meio e do material orgânico em que é depositado (TULALAMBA et al., 2021). As concentrações avaliadas em estudos variam de 0.25% a 2%, sendo a maioria capaz de eliminar diversos microrganismos sem apresentar citotoxicidade. Por isso, o OXN, como um componente oxidante, torna-se uma excelente opção para o tratamento de feridas.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

O monopersulfato de potássio, ($\text{KHSO}_5 \cdot 0.5\text{KHSO}_4 \cdot 0.5\text{K}_2\text{SO}_4$) Oxone® Foi obtido da Sigma Aldrich (Inc. St. Louis, MO. U.S.A). A polpa kraft celulósica foi cedida pela Klabin S/A. A nanoquitosana concebida pela Universidade Federal do Paraná foi produzida de acordo com a metodologia descrita por José Alves et al. (2020) com o código de deposição de patente BR1020170222500. Todos os materiais foram utilizados conforme adquiridos, sem tratamentos prévios.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção da suspensão de nanofibrilas de celulose

As nanofibrilas de celulose foram obtidas a partir da sua desfibrilação da celulose de eucalipto em moinho coloidal (Modelo MKCA6-4; Masuko Sangyo Co., Ltd.) como ilustrado na figura 3. Trinta gramas de celulose Kraft foram moídas em liquidificador e em seguida colocados no moinho coloidal com a adição de 2L de água DI. O número total de passagens pelo moinho foi de 25 vezes, obtendo um gel de CNF na concentração 1,5% (p/p) (MAGALHÃES; CLARO, 2018).

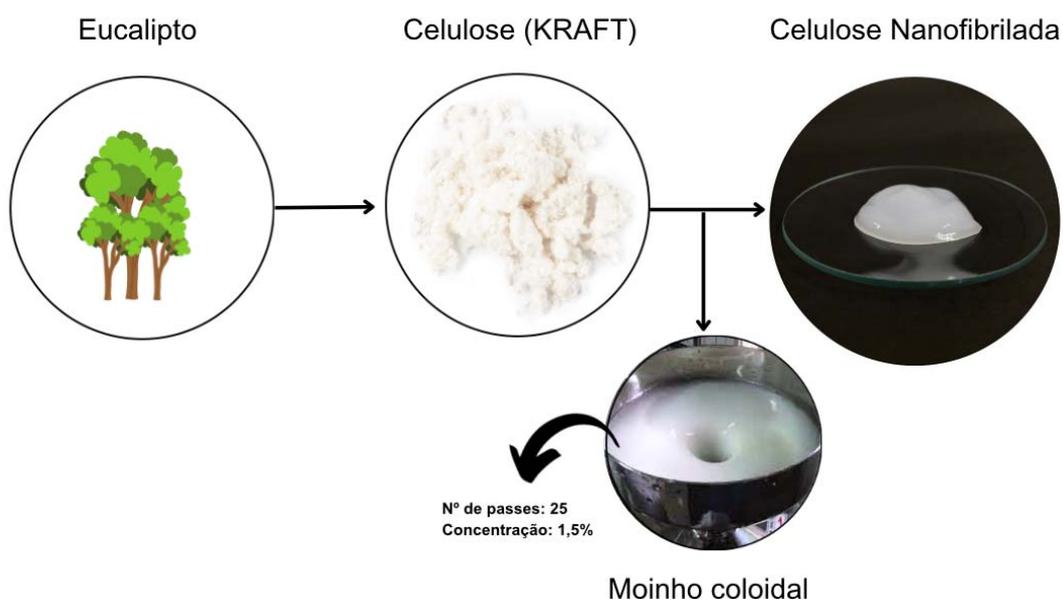


Figura 3 - Representação do processo de obtenção da celulose nanofibrilada

4.2.2 Produção do filme

A NQTS (0,4% p/v) foi adicionada à água DI, onde permaneceram em constante agitação magnética a 60°C por 30 min. Em seguida, à todas as variáveis foram adicionadas 0,3% (p/v) da CNF e mantidas em agitação magnética por 30 min mantendo o aquecimento. Depois, mantendo somente a agitação magnética por mais 30 min e agora a temperatura ambiente, 2 diferentes concentrações do composto ativo foram adicionadas a solução, diferenciando cada amostra: OXN 0,5% e OXN 1%, além da amostra controle (OXN 0%). A primeira com 0,5% (p/v) e a segunda com 1% (p/v), já para a amostra OXN 0% não houve a adição do OXN. Para a obtenção dos filmes, 20ml de cada solução foram alocadas em placas de silicone com medidas de 6 cm de diâmetro, 4cm de altura e 20 cm de circunferência em estufa a 50°C de um dia para o outro (Figura 4).

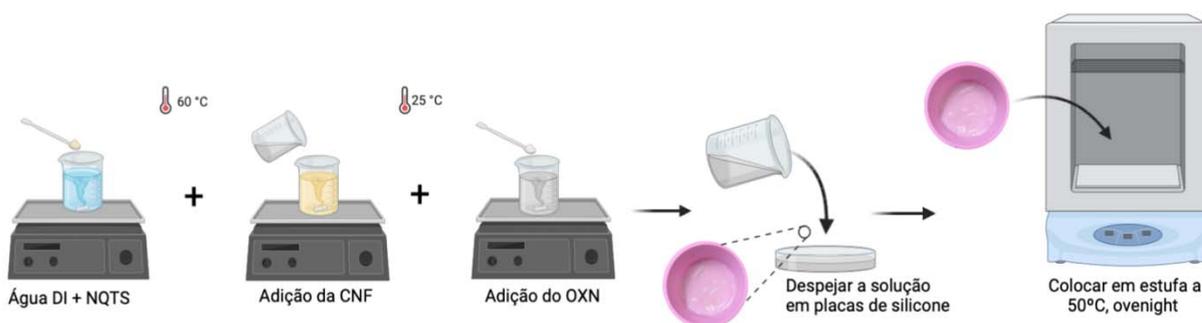


Figura 4 – Representação do processo para obtenção do filme

4.2.3 Infravermelho com Transformada de Fourier modo de Reflexão Atenuada (FTIR-ATR)

Os grupos químicos e as interações químicas dos filmes foram investigados utilizando a espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier modo de Reflexão Atenuada (FTIR-ATR) (Nicolet iS50 FT-IR; Thermo scientific) na faixa de espectro de 4000 a 550 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} . As 3 variantes do curativo foram analisadas, assim como cada componente do mesmo. Para cada amostra, 64 varreduras foram realizadas.

4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura da CNF

A caracterização morfológica da CNF foi realizada através de fotomicrografias eletrônicas de varredura (MEV). Microscópio Eletrônico de Varredura utilizado foi o

Shimadzu SSX 550 o qual utiliza um filamento de tungstênio como a fonte que bombardeia os elétrons, conduzido por um sistema de alto vácuo, com uma resolução de 30kV e magnificação de 300.000 vezes. 0,5g do gel da CNF foi dissolvida em 1,5ml de DI colocada sobre a fita de carbono e colocada em estufa por 3 minutos para que um filme fosse formado, seguido do recobrimento com ouro pelo metalizador de pulverização a vácuo (SC 701 Quick Coater – Sanyu).

4.2.5 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi realizada no equipamento SDT (Q600, TA Instruments® (Embrapa Florestas, Curitiba, Paraná, Brasil)). O comportamento do material mediante o aumento gradual de sua temperatura foi analisado iniciando em 25°C indo até 600°C com a rampa de aquecimento de 10°C/min. Para o início da avaliação, a amostra foi colocada em um recipiente de alumina, pesando 16,64mg. A análise foi realizada na presença de uma atmosfera controlada com nitrogênio com taxa de 50mL/min.

4.2.6 Cinética de liberação do OXN

A absorvância dos meios amostrados foi medida utilizando um espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu® UV-1800, Embrapa Florestas, Paraná, Brasil). Primeiramente, foi realizada uma varredura para determinar o comprimento de onda a ser utilizado. A partir disso, diferentes diluições com concentrações variadas foram analisadas neste comprimento de onda, com o fim de obter uma curva de calibração. O filme carregado com OXN foi pesado (0,1g) e colocados em um recipiente contendo 100ml água destilada. A análise foi ministrada a cada 30min por 4h e então 24h e 48h. Os experimentos foram conduzidos em duplicata (BARBOSA et al., 2016).

4.2.7 Viabilidade celular

A citotoxicidade foi testada com a linhagem celular de fibroblastos de camundongos (NIH/3T3). A suspensão das células foi plaqueada em uma concentração de 2×10^4 células por poço e distribuídas em uma placa de 96 poços. Em cada poço 200 μ l de DMEM completo foi adicionado. A placa foi incubada a 37°C, em atmosfera à 5% CO₂, por 24 horas. Após esse período, o eludato dos filmes ONX0% e OXN0,5% foram aplicados sobre as células. O grupo OXN0% foi utilizado

como controle positivo, e apenas o meio DMEM foi aplicado sobre as células como controle celular. Após overnight, 200 µl de PBS e 20 µl de MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium) foram adicionados em cada poço. A placa foi incubada em ambiente sem luminosidade por 24 horas a 37°C. Após esse período, o MTT foi aspirado e 200 µl de dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado a cada poço. Subsequentemente, a absorbância (540nm) foi medida usando um espectrofotômetro leitor de placas.

4.2.8 Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada de acordo com a ISO 2296:2007 a qual estipula a preparação de amostras de teste, condições de cultura para micróbios de teste, o tempo de incubação, o conteúdo do meio nutriente e o método analítico para testar materiais medindo quantitativamente a sua capacidade de inibir o crescimento de bactérias. A bactéria *Escherichia coli* ATCC 8739 foi utilizada para o teste. A cepa foi transferida para um meio de cultura, onde foi incubada por 16 a 20h. Para cada amostra foram preparados 2 grupos e desses grupos foram realizadas triplicatas. As soluções dos filmes foram colocadas em contato com placas de vidro e colocadas para secar até que fosse formado um filme em sua superfície. O inóculo foi preparado a partir da transferência das bactérias pré-incubadas para uma solução de caldo nutriente diluído e então sua turbidez foi padronizada para que ficasse a uma concentração entre $2,5 \times 10^5$ e 10×10^5 células/ml. Para a inoculação das amostras, cada amostra foi colocada em contato com 200ul do inóculo e deixados por 5 minutos até serem recobertas com peptona. A solução resultante foi colocada em placas com ágar e incubadas por um período de 16 a 24h a 35°C. A eficácia antibacteriana do material foi avaliada com base nos resultados obtidos após a incubação a partir da contagem das colônias.

As amostras avaliadas foram: OXN 0%, OXN 0,5% e OXN1%, como controle positivo, gluconato de clorexidina e como controle negativo, água.

5 Resultados e discussão

5.1 Formação dos filmes

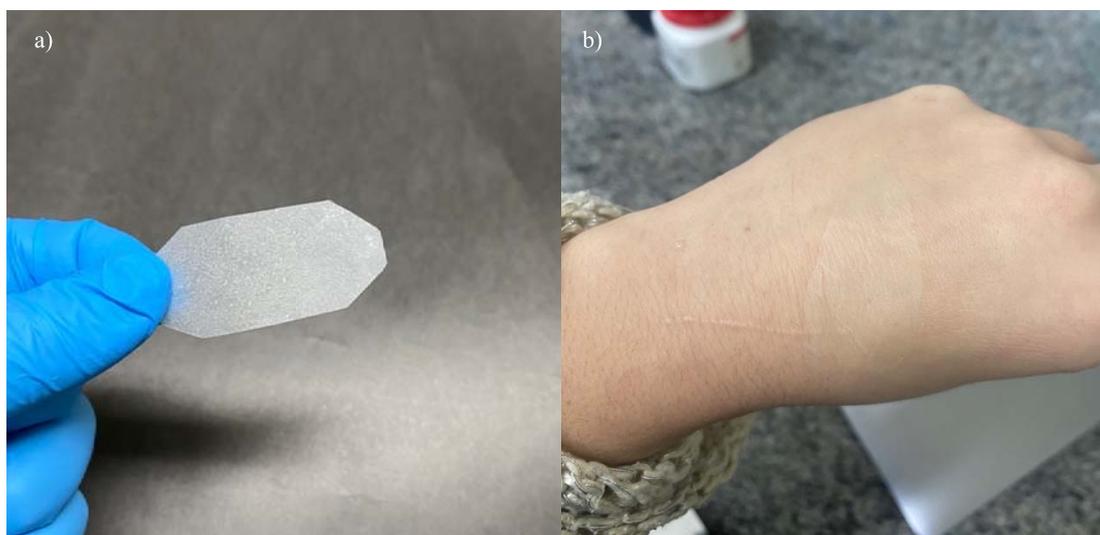


Figura 5 - Imagens dos filmes. a) Filme OXN 1%; b) Filme OXN 1% depois de entrar em contato com água

De acordo com a figura 5 (a) podemos observar que houve a formação de um filme homogêneo e visivelmente aceitável para aplicação em curativos. Em (b) água foi adicionada a pele e o filme foi colocado por cima para averiguar seu comportamento. Por tanto, conforme observado, o curativo pouco pode ser visto na pele, adotando um comportamento transparente e maleável quando entra em contato com líquidos.

5.2 Infravermelho com Transformada de Fourier modo de Reflexão Atenuada (FTIR-ATR)

De acordo com a figura 6, as amostras mostraram um padrão espectral semelhante com pouca diferença entre elas em relação aos picos formados e não quanto a sua intensidade. As bandas entre 3600 e 3000 cm^{-1} correspondem a vibrações dos grupos O-H e N-H, presentes na celulose e na quitosana, enquanto a banda 2918 cm^{-1} corresponde a funcionalidade do grupo $-\text{CH}_3$ dos materiais e a 2860 cm^{-1} corresponde ao grupo $-\text{CH}_2$ (BARBOSA et al., 2016; SUGASHINI et al., 2022). Já a vibração correspondente a banda 1645 cm^{-1} é atribuída a deformação dos grupos N-H. A presença do pico na posição 1531 cm^{-1} é atribuída a deformação do grupo NH_2 enquanto os espectros 1455 e 1411 cm^{-1} correspondem ao grupo funcional amida II e C=N, respectivamente, presentes na NQTS (GUIMARÃES et al., 2020).

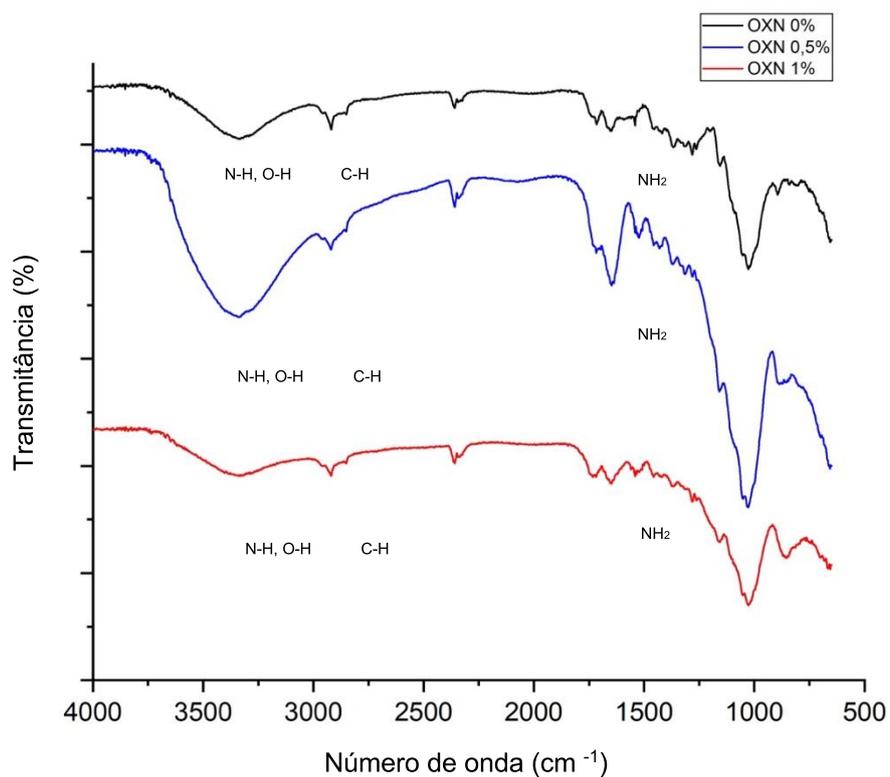


Figura 6 - Espectros comparativos de FTIR dos filmes OXN 0%, OXN 0,5% e OXN 1%

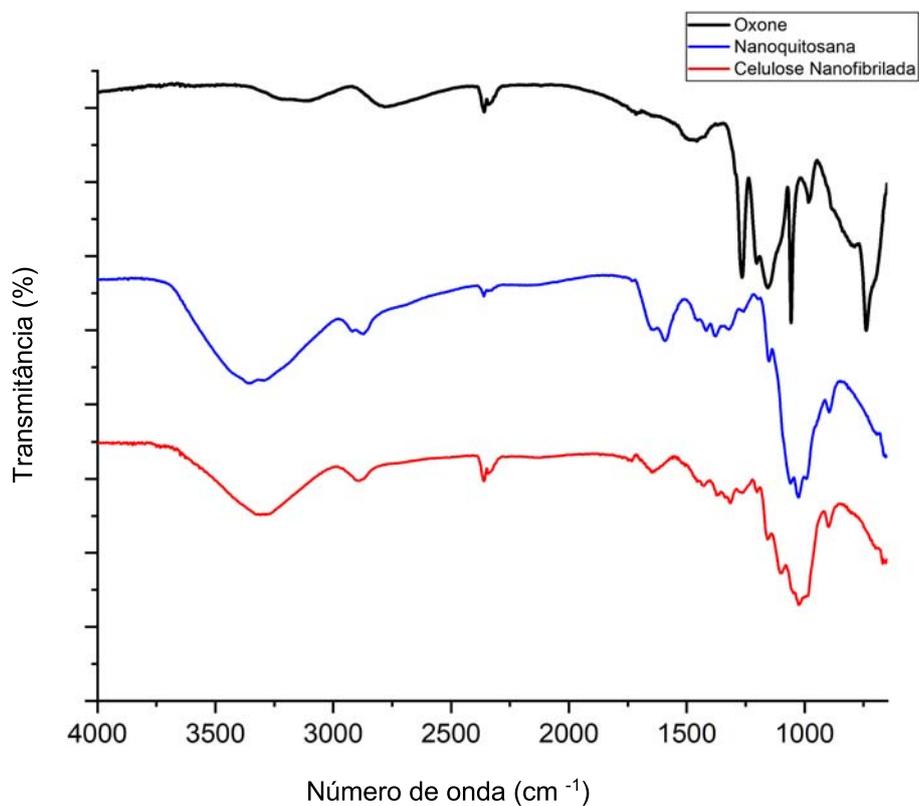


Figura 7 - Espectros de FTIR dos componentes do curativo (OXN, NQTS, CNF)

O pico formado no espectro 1509 cm^{-1} presente nas amostras OXN 0,5 e OXN 1% está relacionado á presença do composto ativo, o OXN, visto que na amostra OXN 0% tal vibração não é detectada. De acordo com o estudo publicado por RUIZ et al., (2020), essa vibração corresponde ao estiramento da ligação C=C aromática, podendo justificar a interação química dos materiais constituintes a partir da introdução desse composto.

A figura 7 apresenta as espectroscopias de cada um dos constituintes do curativo, mostrando a semelhança entre os resultados da NQTS e da CNF devido a presença de compostos a base de carbono e hidrogênio de ambos.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

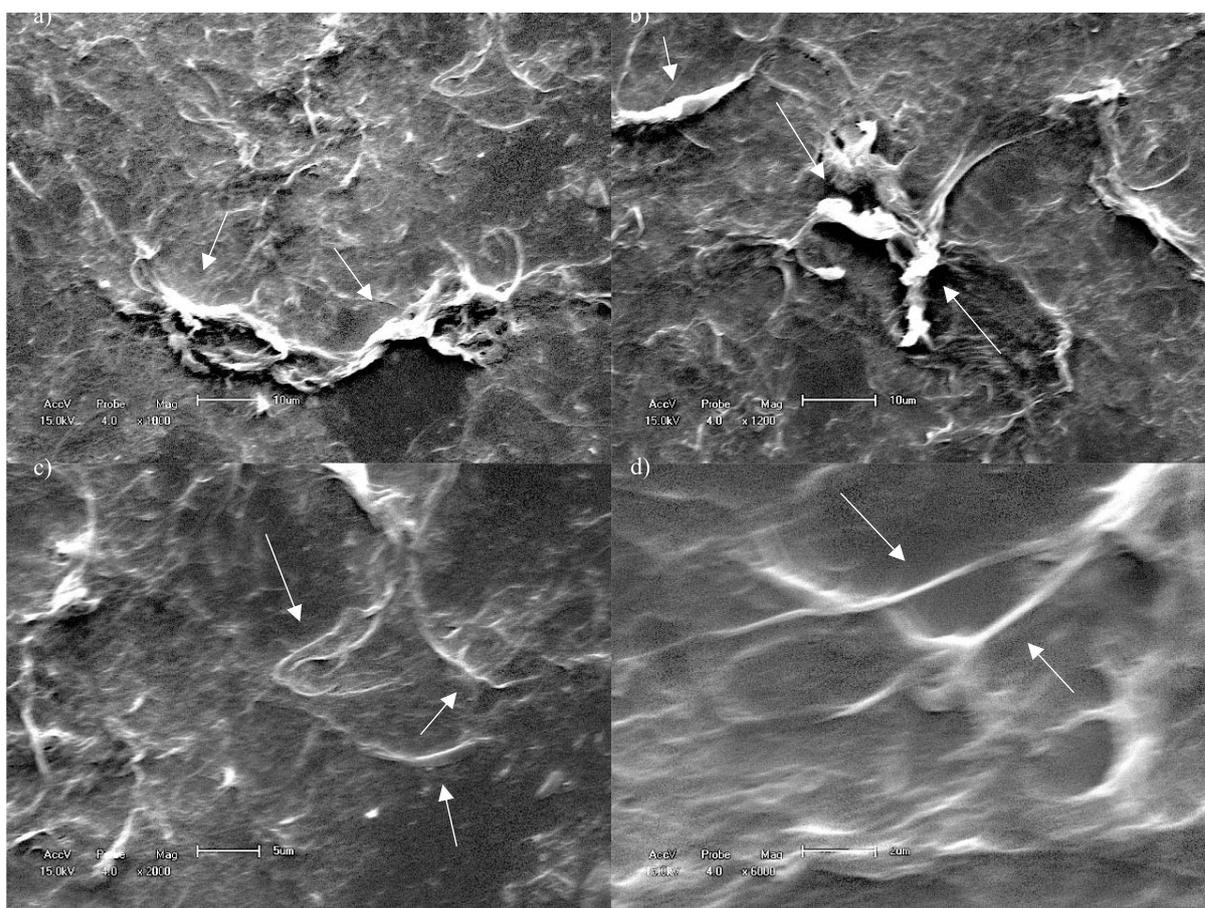


Figura 8 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da celulose nanofibrilada. As setas na imagem indicam a localização das fibrilas de celulose na estrutura.

As fotomicrografias, apresentadas na figura 8 mostram as fibrilas de celulose que, com a ajuda de um software de edição de imagem, podemos determinar que seu tamanho médio varia de 60 a 333 nanômetros de diâmetro e alguns milímetros de

largura, sendo maior a frequência para as fibras de menor diâmetro. As setas em branco, apresentados na figura 8 a e b, apontam para os aglomerados da CNF e nas imagens c e d as setas estão apontando as unidades de fibrilas, que por estarem com uma magnificação aumentada (6000X), são visualizadas com maior facilidade. De modo geral, o tamanho médio do diâmetro das fibrilas, de acordo com as imagens apresentadas, se mostrou homogêneo apesar da parcela aglomerada.

De acordo com o estudo realizado por Wang et al. (2021), o qual traz informações extremamente relevantes sobre diferentes tipos de obtenção de nanofibrilas de celulose, afirma que o tamanho médio do diâmetro deste material varia dentro de algumas dezenas de nanômetros de diâmetro e algumas dezenas de micrômetros de largura. Por isso, podemos evidenciar que houve uma desfibrilação satisfatória das fibras da celulose.

5.4 Análise termogravimétrica

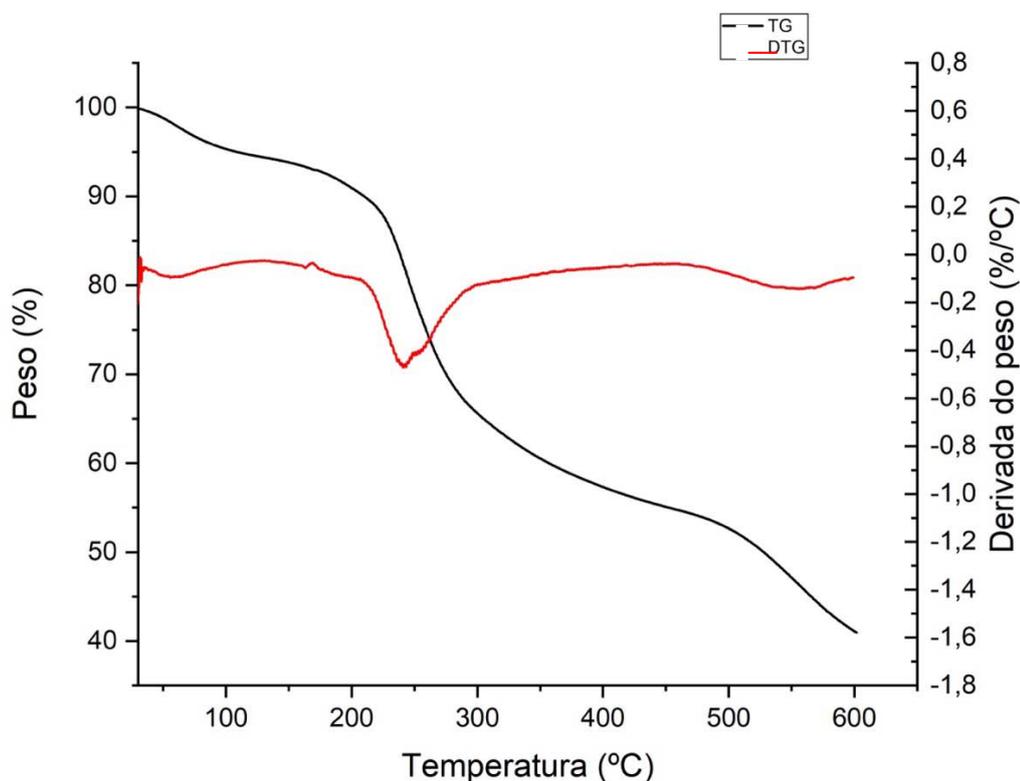


Figura 9 - Perfil da decomposição térmica da curva de TG/DTG do curativo (OXN 1%)

A estabilidade térmica do filme OXN 1% foi avaliada usando as técnicas de termogravimetria, o termograma pode ser visualizado na figura 9. De acordo com os

resultados, pode ser observado que 59,3% da massa da amostra foi desintegrada aos 600°C. A remoção da água adsorvida e estrutural (5,4%~) indicam o primeiro estágio de perda de massa entre 30 e 100°C (SRINIVASAN et al., 2017). O segundo estágio de decomposição ocorre entre 150 e 450°C, onde ocorre uma perda de mais 23,8% da massa. Essa curva provavelmente indica a decomposição de aminas (COSTA FILHO et al., 2021). Uma terceira curva iniciando em 475°C indo até os 600°C indicam a degradação das cadeias poliméricas da CNF e da NQTS (SUGASHINI et al., 2022). Essa estabilidade térmica é satisfatória se for considerada a aplicação no corpo humano em adultos em condição de saúde que varia de 36,1 a 37,2 °C, precedida de autoclavagem que pode chegar a uma temperatura média de 135°C.

5.5 Cinética de liberação cumulativa do OXN

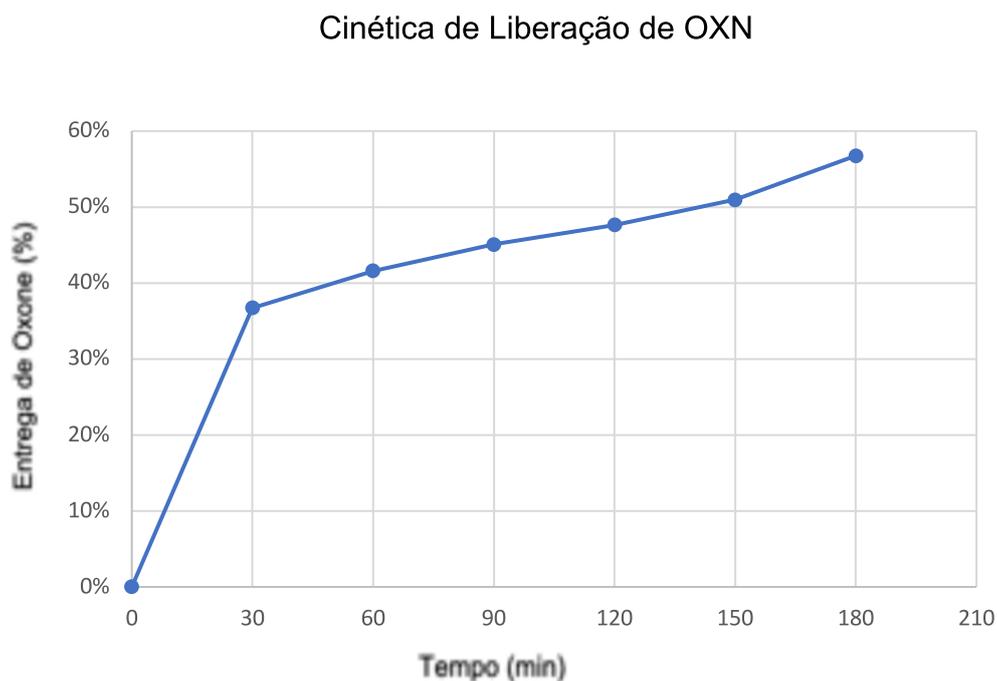


Figura 10. Gráfico da cinética de liberação cumulativa de OXN

Primeiramente, foi realizada uma varredura para determinar o comprimento de onda no qual as leituras seriam realizadas e o comprimento de onda de 202 nm foi selecionado. A figura 10 apresenta a cinética de liberação do OXN em função do tempo (min) do filme OXN1%, variável que teve melhor comportamento em relação ao objetivo do trabalho. A partir disso, podemos observar que o filme é capaz de liberar este composto antimicrobiano com desempenho satisfatório e de forma gradual, na

medida que comprova a interação dos componentes do filme, já que dentro do período analisado obteve uma média de liberação de 4% a cada 30 minutos.

De acordo com Taher et al. (2020), que avaliou a cinética de liberação de mel de filmes de nanocelulose, observou que os filmes foram capazes de manter uma liberação sustentada da quantidade máxima de princípios ativos por um longo período de exposição. Por outro lado, Saeedi et al. (2022) apresenta diversos estudos que comprovam que a NQTS também pode ser utilizada como um componente capaz de entregar compostos ativos de forma controlada. Por tanto, a matriz do filme de NQTS e CNF provou ser um veículo promissor para a entrega controlada de OXN, visto que ambos possuem potencial para isso.

5.6 Viabilidade Celular

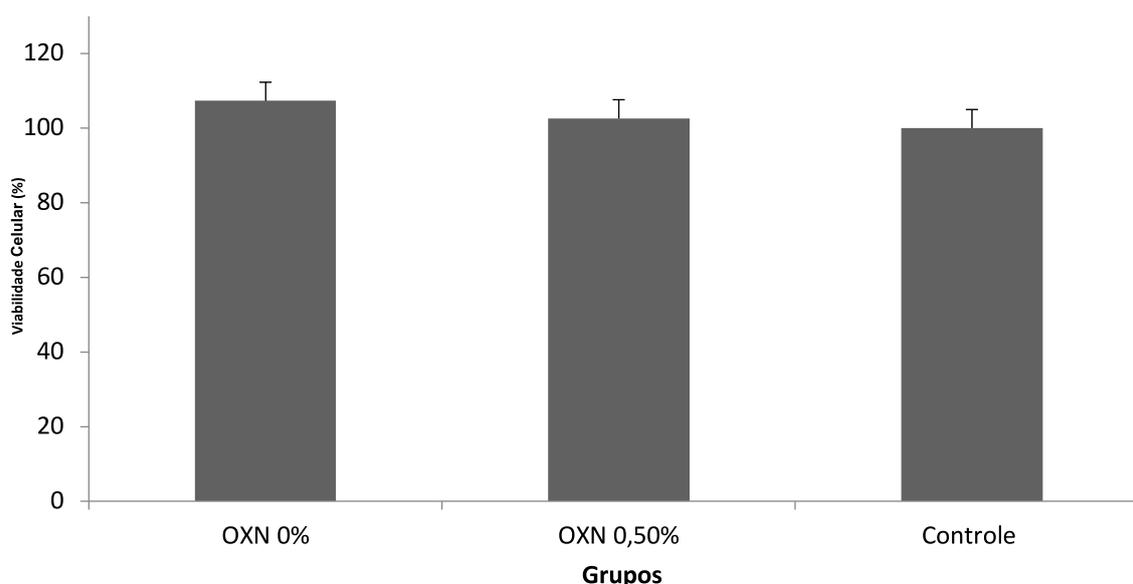


Figura 11. Viabilidade celular das células de fibroblastos de camundongos após exposição dos filmes OXN 0%, OXN 0,5% e controle.

De acordo com a Figura 11, podemos observar que todos os filmes avaliados, em suas diferentes concentrações de OXN, resultaram em altos níveis de viabilidade celular. De acordo com a ISO10993:2010, é possível afirmar que uma vez que a proliferação celular for superior a 70% é constatado que não houve citotoxicidade, por tanto para todas as concentrações testadas no estudo, assim como a formulação do filme apresentaram citocompatibilidade.

Além disso, a viabilidade celular do grupo sem OXN e com 0,5% de mostraram 7% e 2% superiores na proliferação celular quando comparado ao grupo controle, uma

vez que seus resultados de viabilidade foram semelhantes ao grupo controle. Acredita-se que a viabilidade celular superior em relação ao grupo controle possa estar diretamente associada à presença da NTQS que por possuir potencial antioxidante desempenham um papel importante na proteção celular contra os efeitos oxidativos do OXN (POMPEU et al., 2023).

Um estudo publicado por Zmejkoski et al. (2021) avalia a viabilidade celular perante a NQTS e a celulose e mostra que estes compostos não apresentam propriedades citotóxicas. Entretanto, o OXN, por ser um composto utilizado como desinfetante deve ser levado em consideração. Contudo, Juskiewicz et al. (2020) avaliou a citotoxicidade do OXN a diferentes concentrações e comprovou que este composto a uma concentração de 1% (p/v) não é tóxica às células, já a amostra testada a 2% (p/v) se mostrou citotóxica.

Logo, foi observado que as células 3T3 apresentaram biocompatibilidade quando adicionados nas concentrações testados nos biofilmes desenvolvidos. De modo geral, tanto o filme contendo OXN quanto o filme sem OXN demonstraram uma elevada viabilidade celular, indicando ausência de citotoxicidade na linhagem avaliada. No entanto, é recomendado a realização de ensaios adicionais de viabilidade celular utilizando uma concentração de 1% de OXN bem como utilizando linhagem de queratinócitos.

5.7 Atividade antimicrobiana

Todas as variáveis foram testadas quanto a sua atividade antimicrobiana, entretanto, conforme a figura 12, somente a amostra contendo 1% de ONX (OXN 1%) inibiu completamente o crescimento da bactéria *E. coli*. Realizando uma análise macroscópica, é possível observar uma leve redução no crescimento das colônias do filme OXN 0,5% quando comparado ao OXN 0%. Tal resultado se justifica devido a presença do composto ativo, pois, de acordo com Kunanusont et al. (2020) o OXN tem poder de inibir o crescimento deste tipo de bactéria em proporções semelhantes a da amostra OXN 0,5%. Observando os controles positivo e negativo, o experimento se mostrou válido.

O composto monopersulfato de potássio na concentração de 1% tem reconhecida eficiência inclusive contra *Salmonella* Infantis, *Escherichia coli* e *Salmonella* Infantis (Kunanusont et al. 2020; UMEMURA et al., 2022). Além de possuir

efeito antiviral (ELERAKY; POTGIETER; KENNEDY, 2002) o baixo índice de corrosão torna o produto de potencial interesse em diversos segmentos da saúde humana.

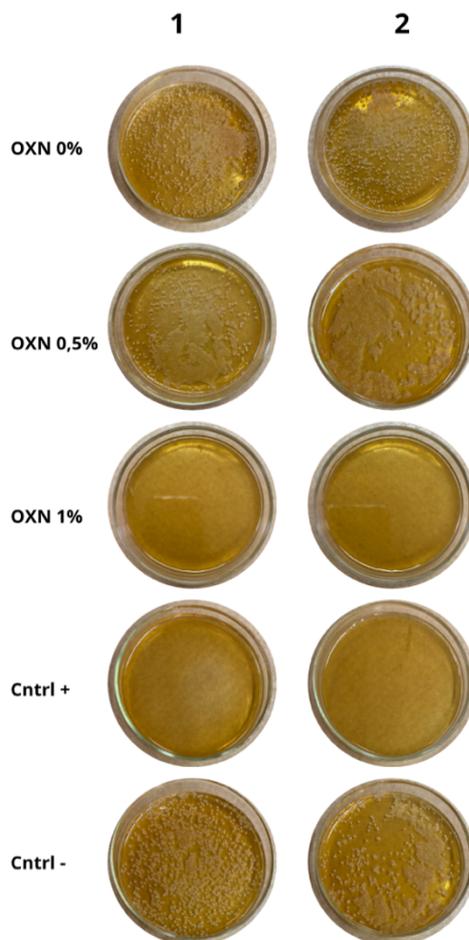


Figura 12 - Representação dos resultados obtidos do ensaio microbiológico das amostras OXN 0%, OXN 0,5%, OXN 1%, controles positivo e negativo

6. Conclusão

Considerando as limitações do presente estudo é possível concluir que o processo de obtenção do filme de aplicação como curativo dermatológico descritas no presente estudo demonstraram viabilidade. Em relação as caracterizações realizadas, foi possível concluir que o delineamento experimental demonstrou propriedades satisfatórias para caracterização inicial em função das características micromorfológicas do filme obtido com potencial efeito antibacteriano e biocompatibilidade. Maiores estudos serão necessários para uma caracterização mais completa do filme diante situações simuladas em nível pré-clínico de curativos para pele.

7. Limitações e sugestões de trabalhos futuros

Considerando que as caracterizações realizadas no presente estudo são iniciais, os filmes desenvolvidos necessitam de caracterizações mais completas, levando em consideração eventos histológicos celulares e de reparo tecidual (histomorfometria). Estudos avaliando a cinética de liberação do OXN em condições de tempo mais extensas são necessárias, de modo que no atual estudo seu potencial foi avaliado somente por 3,5h. Além disso, devido a aglomeração formada pelas nanofibrilas de celulose, é necessário que seja realizada uma análise de microscopia eletrônica de transmissão, para averiguar com clareza o tamanho real dos diâmetros da CNF.

Portanto, novos estudos serão essenciais para obtenção de evidências *in vivo* ainda em nível pré-clínico, assim como análises físico-químicas complementares, de modo a obter uma caracterização mais completa visando satisfazer os requisitos regulatórios de órgãos reguladores diante de uma eventual disponibilização comercial de nova tecnologia.

8. Produção científica

- Publicação de artigo na revista Algal research: Extraction of fatty acids and cellulose from the biomass of algae *Durvillaea antarctica* and *Ulva lactuca*: An alternative for biorefineries
Autores: Alaor Valério Filho, Luiza Ribeiro Santana, Naiane Garcia Motta, Luan Ferreira Passos, Silvana Ines Wolke, Andrés Mansilla, Maria Soledad Astorga-España, Emilene Mendes Becker, Claudio Martin Pereira de Pereira, Neftali Lenin Villarreal Carreño,
Volume 71, 2023.
- Apresentação de trabalho no 39º Encontro do Grupo Brasileiro de Materiais Dentários: Avaliação da liberação de cálcio, pH e viabilidade celular de um novo cimento por óxido de magnésio.
Autores: Naiane Garcia Motta, Julia Cadorim Facenda, Felipe Immich, Tatiana Ramos, Josiane Rutz, Adriana Fernandes da Silva, Wellington Luis de Oliveira da Rosa, Evandro Piva.

Referências Bibliográficas

- ABDELHAMID, H. N.; MATHEW, A. P. Cellulose-Based Nanomaterials Advance Biomedicine: A Review. **International Journal of Molecular Sciences MDPI**, , 1 maio 2022.
- ALVEN, S. et al. Polymer-Based Wound Dressing Materials Loaded with Bioactive Agents: Potential Materials for the Treatment of Diabetic Wounds. **Polymers MDPI**, , 1 fev. 2022.
- ALVEN, S.; ADERIBIGBE, B. A. Chitosan and cellulose-based hydrogels for wound management. **International Journal of Molecular Sciences MDPI AG**, , 2 dez. 2020a.
- BAGHAEI, B.; SKRIFVARS, M. All-Cellulose Composites: A Review of Recent Studies on Structure, Properties and Applications. **Molecules MDPI AG**, , 1 jun. 2020.
- BARBOSA, A. M. et al. Cellulose Nanocrystal Membranes as Excipients for Drug Delivery Systems. 2017.
- BRASIL. Entendendo a Incorporação de Tecnologias em Saúde no SUS - Como se envolver. **Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro**. Brasília, 2016.
- BASU, A. et al. In Vitro and in Vivo Evaluation of the Wound Healing Properties of Nanofibrillated Cellulose Hydrogels. **ACS Applied Bio Materials**, v. 1, n. 6, p. 1853–1863, 17 dez. 2018.
- COMINO-SANZ, I. M. et al. The role of antioxidants on wound healing: A review of the current evidence. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 16, 2 ago. 2021.
- COSTA FILHO, E. A. et al. Aplicação da metodologia de superfície resposta na avaliação da degradação térmica de Polivinilpirrolidona/Quitosana. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e119101522665, 21 nov. 2021.
- DA S. FERREIRA, G. et al. Eco-friendly and effective antimicrobial *Melaleuca alternifolia* essential oil Pickering emulsions stabilized with cellulose nanofibrils against bacteria and SARS-CoV-2. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 243, p. 125228, jul. 2023.
- DE OLIVEIRA, A. C. et al. Qualidade de vida de pessoas com feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 32, n. 2, p. 194–201, 10 jun. 2019.
- DHIVYA, S.; PADMA, V. V.; SANTHINI, E. Wound dressings - A review. **BioMedicine (Netherlands)China Medical University**, , 1 dez. 2015.
- DU, H. et al. Cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils based hydrogels for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers Elsevier Ltd**, , 1 abr. 2019.
- ELERAKY, N. Z.; POTGIETER, L. N. D.; KENNEDY, M. A. Virucidal Efficacy of Four New Disinfectants. (2002).

FARAHANI, M.; SHAFIEE, A. Wound Healing: From Passive to Smart Dressings. *Advanced Healthcare Materials* **John Wiley and Sons Inc**, , 1 ago. 2021.

FERREIRA, P. G. et al. Chitosans and Nanochitosans: Recent Advances in Skin Protection, Regeneration, and Repair. *Pharmaceutics* MDPI, , 1 jun. 2022.

GUIMARÃES, M. F. et al. Chemical and physical properties of nanocrystalline chitosan by the method: Modified nanochitosan complex and process of obtaining modified nanochitosan. *Carbohydrate Research*, v. 493, 1 jul. 2020.

GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, v. 89, n. 3, p. 219–229, mar. 2010.

HAKKARAINEN, T. et al. Nanofibrillar cellulose wound dressing in skin graft donor site treatment. *Journal of Controlled Release*, v. 244, p. 292–301, 28 dez. 2016.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in Therapy* **Springer Healthcare**, , 1 mar. 2017.

HAWTHORNE, B. et al. Enhancing wound healing dressing development through interdisciplinary collaboration. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. John Wiley and Sons Inc, 1 dez. 2021.

IDF – **International Diabetes Federation Atlas**. 10th Edition. 2021.

IKONO, R. et al. Nanochitosan antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* dual-species biofilms. *BMC Research Notes*, v. 12, n. 1, 8 jul. 2019.

JOSÉ ALVES, H. et al. Alternative methods for the pilot-scale production and characterization of chitosan nanoparticles. *Environmental Science and Pollution Research* . 2020.

JUSZKIEWICZ, M. et al. Effectiveness of chemical compounds used against african swine fever virus in commercial available disinfectants. *Pathogens*, v. 9, n. 11, p. 1–10, 1 nov. 2020.

KASIEWICZ, L. N.; WHITEHEAD, K. A. Recent advances in biomaterials for the treatment of diabetic foot ulcers. *Biomaterials Science* Royal **Society of Chemistry**, , 1 out. 2017.

KUMAR GUPTA, P. et al. An Update on Overview of Cellulose, Its Structure and Applications. 2019.

KUNANUSONT, N. et al. Bactericidal efficacy of potassium peroxydisulfate under various concentrations, organic material conditions, exposure timing and its application on various surface carriers. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 82, n. 3, p. 320–324, 2020.

LEE, G. H. et al. Comparative efficacy evaluation of disinfectants against severe acute respiratory syndrome coronavirus-2. **Journal of Hospital Infection**, v. 131, p. 12–22, 1 jan. 2023.

LIU, H. et al. Cellulose Nanofibrils-based Hydrogels for Biomedical Applications: Progresses and Challenges. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 28, p. 4622–4646, 3 mar. 2020.

MAGALHÃES, W.; CLARO, F. C. Produção de filmes de celulose nanofibrilada. 2018.

LUNG, C. W. et al. Emerging technologies for the prevention and management of diabetic foot ulcers. **Journal of Tissue Viability Tissue Viability Society**, , 1 maio 2020.

M., S. et al. Adsorption Studies of Lead(II) from aqueous solution onto Nanochitosan /Polyurethane /Polypropylene glycol ternary blends. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1436–1448, 1 nov. 2017.

MA, J.; WU, C. Bioactive inorganic particles-based biomaterials for skin tissue engineering. **Exploration**, v. 2, n. 5, p. 20210083, out. 2022.

MALI, P.; SHERJE, A. P. Cellulose nanocrystals: Fundamentals and biomedical applications. **Carbohydrate Polymers Elsevier Ltd**, , 1 jan. 2022.

MITCHELL, A. Assessment of wounds in adults. **British Journal of Nursing** Vol. 29, No. 20. 2020.

MOHAMMED, M. A. et al. An overview of chitosan nanoparticles and its application in non-parenteral drug delivery. **Pharmaceutics MDPI AG**, 1 dez. 2017.

MUELLER, A. Skin, The Body's Largest Organ. **Biomimetic Nanotechnology**. p. 86–102. 2017. Gruyter, 2017.

NEGUT, I.; GRUMEZESCU, V.; GRUMEZESCU, A. M. Treatment strategies for infected wounds. **Molecules MDPI AG**, 18 set. 2018.

PARK, J. U. et al. Chitosan-Based Dressing Materials for Problematic Wound Management. Em: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l.] Springer New York LLC. v. 1077p. 527–537., 2018.

International Standard Organization (2007) **Plastics-Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces**. (ISO 2296:2007)

International Standard Organization (2010) **Biological evaluation of medical devices Evaluation and testing within a risk management process** (ISO 10993:2010)

POMPEU, L. D. et al. Evaluation of cytotoxicity, reactive oxygen species and nitrous oxide of nanochitosan from shrimp shell. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 235, 30 abr. 2023.

RUIZ, Q. et al. New eco-friendly synthesized thermosets from isoeugenol-based epoxy resins. **Polymers**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2020.

RUSSO, C. et al. Bud-Poplar-Extract-Embedded Chitosan Films as Multifunctional Wound Healing Dressing. **Molecules**, v. 27, n. 22, 1 nov. 2022.

SABERIAN, M. et al. Fabrication and characterization of alginate/chitosan hydrogel combined with honey and aloe vera for wound dressing applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 47, 15 dez. 2021.

SAEEDI, M. et al. Customizing nano-chitosan for sustainable drug delivery. **Journal of Controlled Release. Elsevier B.V.**, 1 out. 2022.

SAHANA, T. G.; REKHA, P. D. Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering. **Molecular Biology Reports. Springer Netherlands**, , 1 dez. 2018.

SHAH, S. A. et al. Biopolymer-based biomaterials for accelerated diabetic wound healing: A critical review. **International Journal of Biological Macromolecules Elsevier B.V.**, 15 out. 2019.

SHI, C. et al. Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **Frontiers Media S.A.**, 19 mar. 2020.

SINGLA, R. et al. In vivo diabetic wound healing potential of nanobiocomposites containing bamboo cellulose nanocrystals impregnated with silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 45–55, 1 dez. 2017.

SORG, H. et al. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **European Surgical Research**. S. Karger AG, , 1 fev. 2017.

SUBHEDAR, A. et al. Nanocellulose in biomedical and biosensing applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules Elsevier B.V.*, 1 jan. 2021.

SUGASHINI, S. et al. Nanochitosan/carboxymethyl cellulose/TiO₂ biocomposite for visible-light-induced photocatalytic degradation of crystal violet dye. **Environmental Research**, v. 204, 1 mar. 2022.

SUN, B. K.; SIPRASHVILI, Z.; KHAVARI, P. A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. 2014.

TAHER, M. A. et al. Nanocellulose as drug delivery system for honey as antimicrobial wound dressing. **Materials Today: Proceedings. Elsevier Ltd**, 1 jan. 2020.

TULALAMBA, W. et al. Evaluation of potassium peroxymonosulfate (MPS) efficacy against SARS-CoV-2 virus using RT-qPCR-based method. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 110, p. 162–164, 1 set. 2021.

UMEMURA, T. et al. Impact of hospital environmental cleaning with a potassium peroxymonosulphate-based environmental disinfectant and antimicrobial stewardship

on the reduction of hospital-onset *Clostridioides difficile* infections. **Journal of Hospital Infection**, v. 129, p. 181–188, 1 nov. 2022.

WANG, L. et al. Review on Nonconventional Fibrillation Methods of Producing Cellulose Nanofibrils and Their Applications. *Biomacromolecules American Chemical Society*, , 11 out. 2021.

WU, M. et al. ZnO nanoparticles stabilized oregano essential oil Pickering emulsion for functional cellulose nanofibrils packaging films with antimicrobial and antioxidant activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 190, p. 433–440, 1 nov. 2021.

XU, X. et al. Efficient inactivation of bacteria in ballast water by adding potassium peroxymonosulfate alone: Role of halide ions. **Chemosphere**, v. 253, 1 ago. 2020.

ZENG, Q. et al. Wound Dressing: From Nanomaterials to Diagnostic Dressings and Healing Evaluations. **ACS Nano American Chemical Society**, , 22 fev. 2022.

ZMEJKOSKI, D. Z. et al. Photoactive and antioxidant nanochitosan dots/biocellulose hydrogels for wound healing treatment. **Materials Science and Engineering C**, v. 122, 1 mar. 2021.