

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**ENGENHARIA DOS MATERIAIS**

**HIDROGEL DA GOMA DO CHICHÁ (*Sterculia striata*) ASSOCIADO AO  
NEROLIDOL PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIMENTOS CUTÂNEOS EM  
CAMUNDONGOS E SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

**Mestrando: Idglan Sá de Lima**

**Orientador: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Alessandra Braga Ribeiro**

**Teresina - Piauí**

**2017**

**IDGLAN SÁ DE LIMA**

**HIDROGEL DA GOMA DO CHICHÁ (*Sterculia striata*) ASSOCIADO AO  
NEROLIDOL PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIMENTOS CUTÂNEOS EM  
CAMUNDONGOS E SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito complementar à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia dos Materiais.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**  
**CO-ORIENTADOR (A): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Alessandra Braga Ribeiro**

**Teresina-Piauí**

**2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

L732h Lima, Idglan Sá de.  
Hidrogel da Goma do Chichá (*Sterculia striata*) associado ao nerolidol para cicatrização de ferimentos cutâneos em camundongos e sua atividade antibacteriana / Idglan Sá de Lima. – 2017.  
89 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia dos Materiais) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.  
“Orientador: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho”.  
“Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Alessandra Braga Ribeiro”.

1. Ciência dos Materiais. 2. Microbiana. 3. Gel.  
4. Cicatrização. I. Título.

CDD 620.112

**“HIDROGEL DA GOMA DE CHICHÁ ASSOCIADO AO NEROLIDOL PARA  
CICATRIZAÇÃO DE FERIMENTOS CUTÂNEOS EM CAMUNDONGOS”**

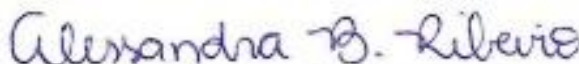
Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Materiais.

Aprovada em: 23/02/2017

**Banca Examinadora:**



**Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**  
Universidade Federal do Piauí  
Orientador



**Profa. Dra. Alessandra Braga Ribeiro**  
Universidade Federal do Piauí  
Coorientadora



**Prof. Dr. Bartolomeu Cruz Viana Neto**  
Universidade Federal do Piauí  
Examinador Interno



**Prof. Dr. Roosevelt Delano de Sousa Bezerra**  
Instituto Federal do Piauí  
Examinador Externo

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais, irmã e toda a minha família que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.*

*Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constante.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Agradeço aos meus pais Nilda e Itamar e minha irmã Daniele, e todos os Familiares pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais da Universidade Federal de Piauí (PPGCM – UFPI) por minha formação acadêmica.

Ao prof<sup>o</sup> Dr Edson Cavalcanti da Silva Filho e a Prof<sup>a</sup> Dra Alessandra Braga Ribeiro pela orientação e coorientação além da confiança e ajuda em realizar essa dissertação de Mestrado.

Aos Professores Marcia dos Santos Rizzo e Humberto Medeiros Barreto, pela colaboração e disponibilidade para esclarecimento das dúvidas.

Ao Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) – UFPI, Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LPM), pelas caracterizações e testes realizados para essa dissertação.

Aos colegas Guerra, Esmeralda e em especial a Onaira pela ajuda nos testes e execução deste trabalho de mestrado.

## SUMÁRIO

<u>1</u> INTRODUÇÃO .....	11
REFERÊNCIAS .....	13
<u>2</u> CAPÍTULO 1 PROPRIEDADES E APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DA GOMA DO CHICHÁ ( <i>Sterculia striata</i> ) E DO NEROLIDOL: UM ESTUDO PROSPECTIVO.....	14
RESUMO .....	16
ABSTRACT .....	17
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 METODOLOGIA .....	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
3.1 ANÁLISE E ESCOLHA DOS ARTIGOS .....	20
3.2 GOMA DO CHICHÁ.....	22
3.3 CARACTERIZAÇÕES.....	24
3.4 NEROLIDOL.....	25
3.5 AÇÃO CICATRIZANTE.....	31
4 CONCLUSÃO .....	37
REFERÊNCIAS .....	38
<u>3</u> CAPÍTULO 2 CICATRIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO HIDROGEL DA GOMA CHICHÁ ( <i>Sterculia striata</i> ) ASSOCIADO AO NEROLIDOL.....	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT .....	46
1 INTRODUÇÃO .....	47
2 PARTE EXPERIMENTAL .....	50
2.1 MATERIAIS.....	50
2.2 ISOLAMENTO DA GOMA DO CHICHA .....	51
2.3 SÍNTESE DOS HIDROGÉIS.....	51

2.3.1	HIDROGEL DE CHICHÁ COM NEROLIDOL 1 E 2%	51
2.4	CARACTERIZAÇÕES	52
2.5	TESTE DE CITOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	51
2.5.1.	PREPARO DA ÁGUA DO MAR SINTÉTICA	52
2.5.1	ENSAIO DE TOXICIDADE	53
2.6	TESTE ANTIBACTERIANO	53
2.6.1	LINHAGEM BACTERIANA	53
2.6.2	PREPARO DO INÓCULO	53
2.6.3	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	53
2.7	ENSAIOS DE CICATRIZAÇÃO	55
2.7.1	ASPECTOS ÉTICOS	55
2.7.2	ANIMAIS	55
2.7.3	DELIAMENTO EXPERIMENTAL	56
2.7.4	GRUPO EXPERIMENTAL I,II,III	56
2.7.5	PROCEDIMENTO DE OBTENÇÃO DE FERIMENTO CUTÂNEO	56
2.7.6	TRATAMENTO DAS FERIDAS	56
2.7.7	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DA LESÃO CUTÂNEA EM RATOS	57
2.7.8	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA LESÃO CUTÂNEA EM CAMUNDONGOS	57
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.1	CARACTERIZAÇÕES	59
3.1.1	ANÁLISE TÉRMICA	59
3.1.2	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	61
3.1.3	PROPRIEDADES MECÂNICAS	62



3.2 TOXICIDADE FRENTE A <i>artemia salina</i> .....	64
3.3 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA .....	66
3.3.1 TESTE DE CONTATO DIRETO COM OS HIDROGÉIS PURO E ASSOCIADOS AO NEROLIDOL .....	67
3.4 CICATRIZAÇÃO .....	70
3.4.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS FERIMENTOS .....	71
3.4.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS FERIMENTOS .....	74
4 CONCLUSÃO .....	81
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	82
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO 1**

Figura 1: estrutura química do nerolidol.....	26
Figura 2: Cepas mais citadas nos 10 artigos que realizaram testes antimicrobianos.....	26
Figura 3: tipos de cepas mais testadas nos testes de atividade antibacteriana com o nerolidol.....	28
Figura 4: tipos de cepas mais testadas nos testes de atividade antibacteriana com o nerolidol.....	29
Figura 5: Etapas do processo de cicatrização. Adaptada de Stein and Kuchler 2013.....	33

### **CAPÍTULO 2**

Figura 1 – Curvas de TG do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).....	59
Figura 2 – Curvas de DTG do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).....	60
Figura 3 – Espectros na região do infravermelho do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).....	61

Figura 4 – – Análise de textura dos hidrogéis. A1(Área 1), A2(Área 2), F1(Força 1), F2(Força2) do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).....	64
Figura 5 - Teste do contato direto para ácido acético pH 3 (a), pH 4 (b), pH 5 (c), pH 6 Teste do contato direto para HC, NRL1, NRL2, HCN1 e HCN2, frente <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25.923).....	68
Figura 6 - Teste do contato direto para HC, NRL1, NRL2, HCN1e HCN2, frente <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25.922).....	69
Figura 7 – – Análise macroscópica das lesões cutâneas em camundongos nos dias 1, 3, 7, 14 e 21 de tratamento com: Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel dechichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol(HCN2).....	72
Figura 8 – Evolução do diâmetro da lesão cutânea em camundongos os dia 1, 3, 7, 14 e21 de tratamento com: Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel de chichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol(HCN2).....	74
Figura 9 – Avaliação histológica da pele no 1º dia.....	74
Figura 10 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 3º dia de tratamento com Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel dechichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).....	75

Figura 11 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 7° dia de tratamento com Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel de chichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2) .....	77
Figura 12 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 14° dia de tratamento com Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel de chichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).....	78
Figura 13 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 21° dia de tratamento com Soro Fisiológico (SF), Hidrogel do Chichá (HC), Hidrogel do Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).....	79

## LISTA DETABELAS

### CAPITULO 1

Tabela 1. Combinações de palavras-chave utilizadas para busca de artigos nas bases SCOPUS, SCIELO e WEB OF SCIENCE, sem delimitação de tempo, realizada em janeiro de 2017.....	19
Tabela 2. Número de artigos encontrados por base de dados com as combinações de palavras-chave utilizadas sem delimitação de tempo, publicados até janeiro de 2017.....	20
Tabela 3: Resumo dos artigos que investigaram a goma do chichá para produção de nanopartículas e filmes.....	23
Tabela 4. Principais técnicas de caracterizações utilizadas nos 52 artigos referentes à goma do chichá ( <i>Sterculia striata</i> ) e ao nerolidol encontrados nos principais bancos de dados.....	24
Tabela 5: Espécies bacterianas, parasitária e fungicida testadas com nerolidol puro nos 10 artigos encontrados nos principais bancos de dados.....	27

### CAPITULO 2

Tabela 1 – Faixa de temperatura, temperaturas máximas de decomposição e variação da massa em porcentagem nos estágios 1º e 2º para as amostras de nerolidol (NRL), hidrogel de chichá (HC), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).....	61
Tabela 2 – Propriedades de textura dos hidrogéis para as amostras de nerolidol (NRL), hidrogel de chichá (HC), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).....	63
Tabela 3 – Toxicidade frente a <i>Artemia salinados</i> hidrogéis para as amostras de nerolidol (NRL), hidrogel de chichá (HC), hidrogel de chichá de nerolidol (HCN).....	65

Tabela 4 - Concentração inibitória mínima do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL) e hidrogel de chichá com nerolidol (HCN) para *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923) e *Escherichia coli* (ATCC 25.922).....66

Tabela5 - Atividade antibacteriana do HC, NRL1, NRL2, HCN1 e HCN2, frente *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923) e *Escherichia coli* (ATCC 25.922).....67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DRX	Difração de Raios X
DTG	Termogravimetria Derivada
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
HC	Hidrogel do chichá puro
HCN1	Hidrogel do chichá com 1% de Nerolidol
HHCN2	Hidrogel do chichá com 2% de Nerolidol
IV-TF	Infravermelho com Transformada de Fourier
NRL	Nerolidol
NRL1	Nerolidol a 1%
NRL2	Nerolidol a 2%
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TG	Termogravimetria

## RESUMO

Materiais poliméricos com propriedades antimicrobianas ganharam um crescente interesse, dentre eles a goma do chichá obtida a partir da planta *Sterculia striata*, que é um polissacarídeo que apresenta grupos hidroxilas em sua estrutura, os quais favorecem a formação de hidrogéis, possibilitando sua aplicação em sistemas de liberação de fármacos e a associação a outros materiais para melhorar algumas de suas propriedades biológicas. O objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar hidrogéis da goma do chichá associado ao nerolidol para cicatrização de ferimentos cutâneos em camundongos. No capítulo 1, é apresentado um estudo prospectivo sobre as propriedades e aplicações biológicas da goma do chichá e do nerolidol. No capítulo 2, são apresentados os resultados e discussões das caracterizações e atividades biológicas dos materiais sintetizados. Onde foram preparados hidrogéis de nerolidol nas concentrações de 1 e 2%, em seguida foram realizadas as caracterizações pelas técnicas de termogravimetria, espectroscopia na região do infravermelho e análise reológica dos hidrogéis, bem como a atividade antibacteriana dos produtos formulados contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922, e a citotoxicidade dos derivados frente a *Artemia salina* e adicionalmente o teste de cicatrização e ferimentos cutâneos em camundongos. A região do infravermelho comprovou a presença das substâncias no hidrogel. Os testes de contato direto com a *S. aureus* e *E. coli* indicaram um efeito sinérgico nos materiais. O estudo histológico revelou um início de cicatrização já no 7º dia do tratamento para os hidrogéis. Os resultados indicam que foi obtido um material promissor para ser usado como agente cicatrizante.

Palavras-Chaves: antimicrobiana, gel, cicatrização.



## ABSTRACT

Polymeric materials with antimicrobial properties gain an increasing interest, among them from the plant *Sterculia striata*, is a polysaccharide that presents hydroxyls in its structure, which favor a formation of hydrogels, allowing its application in systems of release of drugs and association with others Materials to improve some of its biological properties. The objective of this work is to prepare and characterize gum hydrogels of chichá associated with nerolidol for wound healing in mice. In Chapter 1, it is a prospective study on the biological properties and applications of chichá gum and nerolidol. In chapter 2, are the results and discussions on the characterization and biological activities of synthesized materials. Nitrolite hydrogels were performed at concentrations of 1 and 2%, then detected as characterizations by thermogravimetry techniques, infrared spectroscopy and rheological analysis of hydrogels, as well as an antibacterial activity of the products formulated against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia Coli* ATCC 25922, and the cytotoxicity of the derivatives against *Artemia salina* and additionally the test of wound healing and cutaneous in mice. Infrared region to verify the presence of the substances in the hydrogel. Direct contact tests with a *S. aureus* and *E. coli* indicated a synergistic effect on the materials. The histological study revealed the beginning of healing on the 7th day of treatment for hydrogels. The results indicate that a promising material was obtained for use as a healing agent.

Key words: antimicrobial, gel, healing.

## INTRODUÇÃO

Materiais poliméricos com propriedades antimicrobianas ganharam um crescente interesse devido as suas propriedades biológicas, embora a indústria química e farmacêutica tenha produzido uma grande variedade de antibióticos, nos últimos tempos tem sido observado um aumento acentuado nos índices de resistência bacteriana às drogas comumente usadas para fins terapêuticos (Harada e Asai, 2010; Pourakbariet al., 2010). Esse problema vem sendo encarado de forma séria em vários programas de pesquisa, cujo objetivo é descobrir novos materiais, novas formulações e diferentes formas de utilização dos fármacos para contornar esses problemas de resistência adquirida.

Os polímeros podem ser utilizados no desenvolvimento de hidrogéis, e essa forma de apresentação tem recebido bastante atenção por apresentarem características adequadas para aplicação nas áreas farmacêuticas. Os hidrogéis são formados pela reticulação química ou física de seus constituintes, podendo modificar sua forma e volume dependendo do estímulo que lhe é dado, como mudanças de PH, temperatura, força iônica e campos magnéticos e elétricos, o que garante sua versatilidade (Teng et al., 2010). Além de apresentarem algumas características com hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, permeabilidade seletiva e baixa tensão interfacial (Roy et al. 2010).

Em vista as possibilidades de aplicabilidade do hidrogel da goma de chichá, neste trabalho foram sintetizados hidrogéis de chichá contendo nerolidol nas concentrações de 1 e 2% em relação à água, que promoveu a protonação dos grupos da goma de chichá e por consequência o seu intumescimento e formação dos hidrogéis, por seguinte foram realizados estudos da atividade bacteriana as cepas *S. aureus* e *E. coli*, como também estudo da toxicidade frente a *Artemia salina*, além do estudo macroscópico

e histológico nos dias 1, 7, 14 e 21 da cicatrização de ferimentos cutâneos em camundongos. Esses materiais foram analisados por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier, Análise Térmica (Termogravimetria) e análises Reológicas.

Na literatura não são encontrados relatos da associação do hidrogel do chichá como nerolidol, produzidos neste trabalho, para estudo de sua atividade antibacteriana e seu uso como um agente cicatrizante. O nerolidol foi escolhido por apresentar propriedades antimicrobianas e biológicas em geral, como biocompatibilidade e não toxicidade (Braca et al. 2008; Fernandes et al. 2015; Li et al. 2014; Petrović et al. 2016).

Este trabalho teve como objetivo um estudo prospectivo como também a síntese e caracterização de hidrogéis da goma do chichá puro e associados a concentração de 1 e 2% de nerolidol para estudos de sua toxicidade, atividade antibacteriana e cicatrizante.

## REFERÊNCIAS

- Braca, Alessandra, Tiziana Siciliano, Manuela D'Arrigo, and Maria Paola Germanò. 2008. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Momordica Charantia Seed Essential Oil. *Fitoterapia* 79(2): 123–25.
- Fernandes, Fábio H. et al. 2015. Evaluation of Mutagenic and Antimicrobial Properties of Brown Propolis Essential Oil from the Brazilian Cerrado Biome. *Toxicology Reports* 2: 1482–88.
- Harada, K.; Asai. T. 2010. Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in Escherichia coli from food-producing animals in Japan. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, p.1-12.
- Li, Ren et al. 2014. Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activities of the Stem and Leaf Essential Oils from Piper Flaviflorum from Xishuangbanna, SW China. *Natural Product Communications* 9(7): 1011–14.
- Petrović, Nada V. et al. 2016. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Thymus Praecox Opiz Ssp. Polytrichus Essential Oil from Serbia. *Records of Natural Products* 10(5): 633–38.
- Pourakbari, B.; Mamishi, S.; Mashoori, N.; Mahboobi, N. Ashtiani, M.H., Afsharpaiman, S., Abedini, M. 2010 Frequency and antimicrobial susceptibility of Shigella species isolated in children medical Center hospital, Tehran, Iran, 2001-2006. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 14, n. 2, p. 153-157,.
- Roy N., Saha N., Kitano T., Saha 2010P. Development and characterization of novel medicated hydrogels for wound dressing. *Soft Materials*, 8, 130-148.
- Teng D.-Y., Wu Z.-M., Zhang X.-G., Wang Y.-X., Zheng C., Wang Z., LI C.-X. 2010 Synthesis and characterization of in situ cross-linked hydrogel based on self assembly of thiol-modified chitosan with PEG diacrylate using Michael type addition. *Polymer*, 51, 639-646.

## **CAPÍTULO 1: ESTUDO PROSPECTIVO**

**PROPRIEDADES E APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DA GOMA DO CHICHÁ**  
**(*Sterculia striata*) E DO NEROLIDOL: UM ESTUDO PROSPECTIVO**

## RESUMO

A cicatrização de um ferimento é um processo dinâmico e envolve diversos fatores e funções biológicas. Com vistas a acelerar a cicatrização e diminuir alguns efeitos indesejáveis a esse processo, como as infecções bacterianas, tem-se buscado novos modelos de curativos e tratamento. O chichá se apresenta como um material que pode ser utilizado este fim, principalmente pela biocompatibilidade e atividade antimicrobiana. Este estudo mostra uma revisão da literatura das propriedades e aplicações biológicas da goma do chichá e um extrato de óleo essencial, o nerolidol. Foram realizadas buscas de artigos publicados sem delimitação de tempo, nas bases SCOPUS, SCIELO e WEB OF SCIENCE. Alguns parâmetros como, atividade biológica investigada, metodologias de ensaios, principais caracterizações como análise térmica, morfologia, composição química e de liberação de fármacos foram analisadas nos artigos encontrados. O hidrogel de chichá apresenta boas propriedades reológicas para a liberação de fármacos. Para o nerolidol as análises de atividade antibacteriana as cepas que foram mais utilizadas são as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A atividade cicatrizante do nerolidol também é evidenciada em testes usando camundongos como modelo experimental. A partir dos artigos estudados, constatou-se que o hidrogel de chicha e o nerolidol mostram-se como materiais promissores para ser utilizado no tratamento de ferimentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** gel, antibacteriana, cicatrização.

## **ABSTRACT**

Healing of a wound is a dynamic process and involves several biological factors and functions. In order to accelerate healing and reduce some undesirable effects to this process, such as bacterial infections, we have sought new models of dressings and treatment. Chichá presents as a material that can be used for this purpose, mainly by the biocompatibility and antimicrobial activity. This study shows a literature review of the properties and biological applications of chichar gum and an extract of essential oil, nerolidol. Some of the parameters such as biological activity investigated, methodologies of tests, main characterizations such as thermal analysis, morphology, chemical composition and drug release were analyzed. The results were analyzed using the SCOPUS, SCIELO and WEB OF SCIENCE databases. In found articles. The chichá hydrogel has good rheological properties for the release of drugs. For the nerolidol the analyzes of antibacterial activity were the most used being the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* the most used in the tests. The cicatrizing activity of nerolidol is also evidenced in tests using mice as an experimental model. From the articles studied, chicha hydrogel and nerolidol were found to be promising materials for use in the treatment of wounds.

**KEY-WORDS:** gel, bactericide, healing.



## 1. INTRODUÇÃO

Materiais poliméricos, em especial os biopolímeros são destaque na pesquisa científica por apresentarem biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de serem provenientes de fontes renováveis e economicamente viáveis pelo seu baixo custo. Somado a isso, alguns polímeros naturais apresentam atividade contra microorganismos, bactérias e fungos, são antioxidantes e anti-inflamatórios, atividade imunoestimulante, entre outras funções biológicas (Dario et al. 2010; Silva et al. 2014; Sousa et al. 2012; Viswanathan et al. 2016).

Dentre esses biopolímeros pode-se destacar a goma do chichá, um polissacarídeo, conhecido por participar e influenciar muitos processos biológicos de defesa da planta ao sofrer injúrias. Além disso, a goma do chichá pode ser utilizada nas mais diversas áreas, como produtos farmacêuticos, aplicações industriais, alimentação, etc. (Charernsriwilaiwat et al. 2014; Magalhães et al. 2016; Sousa et al. 2012).

A crescente necessidade de materiais que apresentem essas propriedades tem estimulado pesquisadores no desenvolvimento e melhoramento de materiais para aplicações biomédicas. Além do chichá, o nerolidol, um sesquiterpeno de conhecida ação antimicrobiana e cicatrizante vem sendo investigado a fim de conseguir novas formulações para diversas aplicações na área de saúde. (Ferreira et al., 2016; Lee et al. 2007).

A realização deste estudo prospectivo teve o objetivo conhecer as principais aplicações biomédicas do hidrogel de chicha e do nerolidol, as caracterizações mais comumente utilizadas, as bactérias e técnicas utilizadas para avaliar a atividade antibacteriana dos hidrogéis, além de conhecer os resultados na utilização deste material na cicatrização de ferimentos.

## 2. METODOLOGIA

A busca de artigos deste estudo prospectivo foi realizada nas bases SCOPUS, SCIELO e WEB OF SCIENCE, em janeiro de 2017, para artigos publicados sem delimitação de tempo. A busca foi delimitada aos campos “título, resumo e palavras-chave”, utilizando as combinações de palavras-chave listadas na Tabela 1. Foi utilizado como critério de exclusão: artigos repetidos entre as bases, artigos de revisão ou que não estiverem diretamente relacionados a área em estudo.

Tabela 1. Combinações de palavras-chave utilizadas para busca de artigos nas bases SCOPUS, SCIELO e WEB OF SCIENCE, sem delimitação de tempo, realizada em janeiro de 2017.

<b>Palavras- chave</b>	<b>Palavras- chave</b>
<b>Chicha</b>	<b>hydrogel AND chicha</b>
<b>“<i>Sterculia striata</i>”</b>	<b>hydrogel AND chicha AND bactericidal</b>
<b>chicha AND bactericidal</b>	<b>hydrogel AND chicha AND antibacterial</b>
<b>chicha AND antibacterial</b>	<b>hydrogel AND chicha AND antimicrobial</b>
<b>chicha AND antimicrobial</b>	<b>hydrogel AND chicha AND bactericidal AND healing</b>
<b>chicha AND healing</b>	<b>hydrogel AND chicha AND antibacterial AND healing</b>
<b>nerolidol AND healing</b>	<b>hydrogel AND chicha AND antimicrobial AND healing</b>
<b>nerolidol AND bactericidal</b>	<b>hydrogel AND chicha AND bactericidal AND healing</b>
<b>nerolidol AND antibacterial</b>	<b>hydrogel AND chicha AND nerolidol</b>
<b>nerolidol AND antimicrobial</b>	<b>hydrogel and chicha AND healing AND nerolidol</b>
<b>chicha AND nerolidol</b>	

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 ANÁLISE E ESCOLHA DOS ARTIGOS

O número de artigos encontrados com as palavras-chaves utilizadas para a busca nas bases de artigos está discriminado na Tabela 2.

Tabela 2. Número de artigos encontrados por base de dados com as combinações de palavras-chave utilizadas sem delimitação de tempo, publicados até janeiro de 2017.

Palavras- chave	Scopus	Web of Science	SciELO
<b>Chicha</b>	71	49	22
<b>“<i>Sterculia striata</i>”</b>	24	33	6
<b>chicha AND bactericidal</b>	0	0	0
<b>chicha AND antibacterial</b>	0	0	0
<b>chicha AND antimicrobial</b>	0	0	0
<b>chicha AND healing</b>	0	0	0
<b>nerolidol AND healing</b>	1	1	0
<b>nerolidol AND bactericidal</b>	21	5	0
<b>nerolidol AND antibacterial</b>	101	53	1
<b>nerolidol AND antimicrobial</b>	118	79	3
<b>chicha AND nerolidol</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND bactericidal</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND antibacterial</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND antimicrobial</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND bactericidal AND healing</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND antibacterial AND healing</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND antimicrobial AND healing</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND bactericidal AND healing</b>	0	0	0
<b>hydrogel AND chicha AND nerolidol</b>	0	0	0
<b>hydrogel and chicha AND healing AND nerolidol</b>	0	0	0
<b>TOTAL</b>	336	170	32

Foram encontrados 538 artigos nas três bases de dados pesquisadas, SCOPUS, SCIELO e WEB OF SCIENCE, deste total 100 artigos se repetiam entre as bases, 13 se tratavam de revisões bibliográficas e 70 não estavam relacionados diretamente ao chichá ou ao nerolidol, com isso, restaram 52 artigos para análise. Foram observadas e analisadas os testes de atividade antimicrobiana e os métodos e cepas utilizadas nos trabalhos, os principais parâmetros físico-químicos e macroscópicos considerados ao se trabalhar com chichá e nerolidol, as técnicas utilizadas para caracterizar estes materiais e por fim as aplicações e a que outros compostos o chichá e o nerolidol foram associados.

### 3.1 *Sterculia striata*

*Sterculia striata* é uma planta frutífera bastante abundante na natureza e de uma ampla distribuição no Brasil, neste estudo prospectivo foram encontrados 63 artigos utilizando as palavras-chave “*Sterculia striata*”, após a exclusão dos artigos repetidos ou que não estavam relacionados a este trabalho, restaram 8 artigos, os quais, a maioria fazem referência ao estudo da composição química do seu extrato e nutricional de suas amêndoas.

Estudos sobre a composição fitoquímica da casca do caule de *Sterculia striata* por métodos cromatográficos levou ao isolamento de alguns compostos como sitosterol, estigmas-terol e sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, além de triterpenóides pentacíclicos, lupeol, 3- $\beta$ - Acil-lupeol, lupenona e ácido betulínico. O lupeol puro, é o principal constituinte químico do extratoetanólico de *Sterculia striata*, e em estudos demonstraram sua atividade anti-inflamatória e gastroprotetora comprovada. Porém

Atividade gastroprotetora não é atribuída somente ao lupeol, porque outros compostos gastroprotetores bem conhecidos, tais como o  $\beta$ -sitosterol e o stigmasterol, estão também presentes no extrato e podem também contribuir para o efeito gastroprotetora (F. V Silva et al. 2014; Sousa et al. 2012).

### 3.2 Goma do Chichá

A goma do chichá, um polissacarídeo obtido do exsudato da *Sterculia striata*, teve suas propriedades investigadas em quatro artigos desse total de 142 encontrados, os quais pesquisaram suas propriedades reológicas (De Brito et al. 2005; D. A. Silva et al. 2003), filmes para adsorção de Silício (Dario et al. 2010) e o uso de nanopartículas de chichá para liberação de fármacos (Magalhães et al. 2016).

A gelificação da goma do chichá pode ser devida à formação de zonas de junção intermoleculares, que envolve interação iônica entre segmentos homogalacturônicos de diferentes cadeias e íons de cálcio e ligação de Hidrogênio entre segmentos de ramnose nas áreas hidrofóbicas. Podem também ocorrer interações iônicas entre dois ou mais resíduos de ácido galacturônico, como também em diferentes cadeias principais ou ácido glucurônico em segmentos de cadeia ramificados ou não regulares (D. A. Silva et al. 2003).

Brito et al. (2005) e Silva et al. (2003), investigaram as propriedades reológicas da goma do chichá em sua forma acetilada e desacetilada e evidenciaram que a desacetilação de polissacarídeo de *S. striata* conduz a diferentes comportamentos viscoelásticos e a uma diminuição na resistência do gel e que a adição de sais monovalentes melhora a capacidade de gelificação. A goma do chichá de acordo com os autores, possui 10,7% de grupos acetil e quando desacetilada passa a apresentar 57,8% de açúcares neutros

(23,4% de galactose; 28,8% de ramnose e 5,6% de xilose) e 42,2% de resíduos de ácidos urônicos.

Além do uso do polímero como agentes gelificantes, outros estudos relatam a utilização da goma do chichá como agentes formadores de nanopartículas para a liberação de fármacos e também para a produção de filmes para a adsorção enzimática.

Tabela 3: Resumo dos artigos que investigaram a goma do chichá para produção de nanopartículas e filmes.

<b>Título</b>	<b>Referencia</b>	<b>Resumo</b>
<b>Chitosan/<i>Sterculia striata</i> polysaccharides nanocomplex as a potential chloroquine drug release device.</b>	Magalhães Jr. et al., 2016	As nanopartículas são produzidas por meio da complexação de polieletrólitos (PEC) de quitosana polimiônica carregada de forma oposta (CH) com polissacarídeo polianiónico extraído de exsudatos de <i>Sterculia striata</i> (polissacarídeo do tipo rhamnogalacturonoglicano (RG)). As nanopartículas CH / RG estão associadas à cloroquina (CQ) com uma eficiência de 28% e libertam-na até 60% em 10 h, enquanto que no último, apenas 40% da CQ foi libertada após 24 h.
<b>Effect of solvent on the adsorption behavior and on the surface properties of <i>Sterculia striata</i> polysaccharide</b>	Dario et al., 2010	Caracterização de filmes de polissacarídeos de <i>Sterculia striata</i> (SSP) adsorvidos em de Si a partir de soluções preparadas em acetato de etilmetilimidazólio (EmimAc), água ou NaOH 0,01 mol / L foi sistematicamente estudados por elipsometria, microscopia de força atômica e medidas de ângulos de contato a atividade enzimática de LYS moléculas foi maior quando foram imobilizadas em filmes de SSP.

### 3.3 Caracterizações

Dos 52 artigos analisados, 40 se tratavam do uso de óleos essenciais que possuíam o nerolidol como componente majoritário e utilizaram técnicas de caracterização para identificar esse sesquiterpeno. A cromatografia gasosa (CG) foi a técnica mais utilizada para identificação da presença do nerolidol em óleos essenciais de plantas. Os 12 artigos que se referem a *Sterculia striata* e goma do chichá utilizavam outras técnicas de caracterização de seus materiais, como por exemplo, o Infravermelho (FT-IR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) análise termogravimétrica (TG), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Análises Térmicas, Zetasizer(tabela4).

Tabela 4. Principais técnicas de caracterizações utilizadas nos 52 artigos referentes à goma do chichá (*Sterculia striata*) e ao nerolidol encontrados nos principais bancos de dados.

<b>Caracterizações</b>	<b>Número de Artigos</b>
<b>CG</b>	29
<b>FT-IR</b>	03
<b>RMN</b>	04
<b>DSC</b>	03
<b>DLS</b>	01
<b>TG</b>	03

Segundo Ferreira e colaboradores (2016), o nerolidol apresenta boa estabilidade térmica para ser usado em tratamentos tópicos, pois sua temperatura de decomposição é superior a 100 °C. Na Análise de FTIR foi constatado a presenças de alguns grupos funcionais característicos desse sesquiterpeno, tais como grupos metílicos na região de

2900 cm<sup>-1</sup>, grupos hidroxilas por volta de 3500 cm<sup>-1</sup> e bandas de alcanos por volta de 1400cm<sup>-1</sup>.

Em análises de RMN os resultados obtidos para amostras selecionadas recolhidas a 150 ° C, 210 ° C, 240 ° C, 250 ° C, 300 ° C e 350 ° C do óleo essencial de *Sterculia striata*, estão relacionados com: CH<sub>2</sub> do anel ciclopropenilo (0,76 ppm, singleto); CH<sub>3</sub> terminais (0,8 ppm, multiplete); CH<sub>2</sub> em cadeia (1,2 ppm, multiplete); CH<sub>2</sub> em C β ao grupo éster, (1,56 ppm, multiplete); CH<sub>2</sub> em C α ao ciclopropenilo (2,3 ppm, multiplete); CH<sub>2</sub> em C α ao grupo éster (2,7 ppm, multiplete); CH<sub>2</sub> (4,1-4,2 ppm, multiplete) e CH (5,2-5,4 ppm, multiplete), (Mangas, Mello, and Suarez 2013)

Magalhães jr e colaboradores (2016) ao estudarem a formação de nanocomplexos de polissacarídeos de quitosana com a goma do chichá constataram que. As nanopartículas foram formadas por auto-montagem eletrostática espontânea dos polieletrólitos em solução aquosa, sem necessidade de entrada de energia nem de reticulação covalente. Onde verificou-se que o tamanho de partícula foi de um diâmetro médio de partícula <100 nm.

### 3.4 Nerolidol

Nerolidol é um sesquiterpeno presente em óleos essenciais de várias plantas. É utilizado em muitos produtos perfumados e como um agente aromatizante de alimentos, sua estrutura química é mostrada na Figura 1. O nerolidol possui muitas propriedades terapêuticas, incluindo antitumor, anti-úlceras antioxidante e antibacteriano, bem como atividade contra vários protozoários (Braca et al. 2008; F. M. Ferreira et al. 2012; Triana et al. 2013).



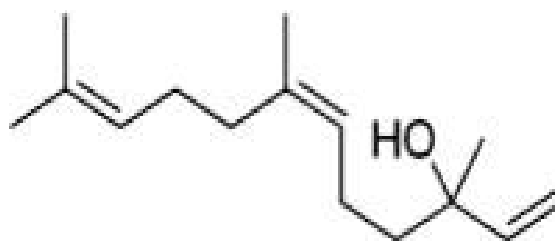


Figura 1: Estrutura química do nerolidol. Extraída de Ferreira et al., 2012.

### 3.4.1 Atividade antimicrobiana

A eficiência do nerolidol contra cepas bacterianas é relatada pela literatura. Dos 52 artigos analisados, 10 investigaram as propriedades antimicrobianas e parasitárias do nerolidol puro. Os microorganismos mais citados foram a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* como mostra a Figura 2.

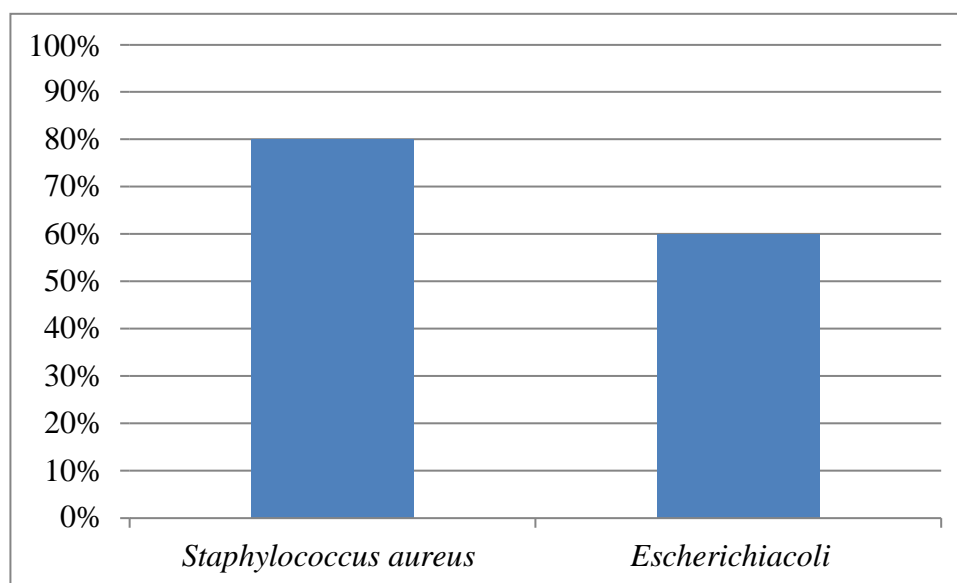


Figura 2: Cepas mais citadas nos 10 artigos que realizaram testes antimicrobianos.

Também foram encontrados estudos mostrando a atividade do nerolidol contra cepas de outras espécies bacterianas, parasitas e fungos (Bonikowski et al. 2015;

Radosław Bonikowski, Świtakowska, and Kula 2015; Brehm-Stecher and Johnson 2003; Camargos et al. 2014; Ferreira et al. 2016; Gonçalves et al. 2011; Inoue et al. 2004; Lee et al. 2007; Simões et al. 2008; Thapa et al. 2012). Na Tabela 3 estão citadas as bactérias, parasitas e fungos investigados.

Tabela 5: Espécies bacterianas, parasitárias e fungicidas testadas com nerolidol puro nos 10 artigos encontrados nos principais bancos de dados.

<b>MICROORGANISMO</b>	
<b>BACTÉRIA</b>	<b>NÚMERO DE ARTIGOS</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8
<i>Escherichia coli</i>	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	2
<i>Enterococcus faecium</i>	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2
<i>Clostridium difficile</i>	1
<i>Clostridium perfringens</i>	1
<i>Salmonella typhimurium</i>	1
<i>Salmonella Enteritidis</i>	1
<b>PARASITA</b>	
<i>Leishmania amazonenses</i>	1
<b>FUNGO</b>	
<i>Microsporium gypseum</i>	1

O nerolidol puro já foi testado contra 10 espécies diferentes de bactérias, das quais 50% eram do tipo Gram-positiva e as outras 50% Gram-negativa (Figura 3). Reconhecidamente o nerolidol apresenta maior ação contra bactérias Gram-positiva, a *Staphylococcus aureus* que é a mais citada delas (Radosław Bonikowski, Świtakowska, and Kula 2015; M. O. G. Ferreira et al. 2016; Gonçalves et al. 2011)

A maior atividade do nerolidol contra a *S. aureus* está provavelmente relacionada às interações do nerolidol com a membrana celular das bactérias Gram-positivas serem menos complexas que as bactérias Gram-negativas como é o caso da *E. coli* e essa menor eficácia seria pelo fato dessas bactérias apresentarem uma membrana mais externa, que estaria impedindo a entrada de numerosas moléculas de antibióticos e o espaço periplasmático conter enzimas, que são capazes de quebrar moléculas estranhas introduzidas no meio (Duffy & Power, 2001).

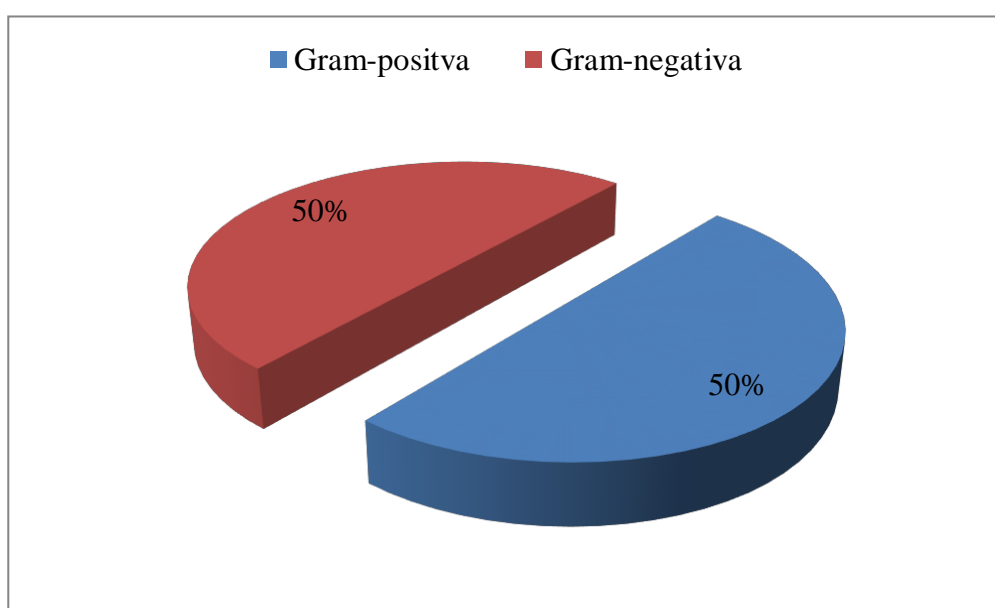


Figura 3: tipos de cepas mais testadas nos testes de atividade antibacteriana com o nerolidol.

As infecções comumente adquiridas em hospitais e comunidades de todos os países do mundo são causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) e *Escherichia coli* resistentes à cefalosporina de terceira geração e fluoroquinolonas (Chua et al., 2014, Uhlemann et al., 2014). A resistência bacteriana está relacionada aos mecanismos de ação de um antimicrobiano, como interferência na síntese da parede celular e do ácido nucléico, inibição a síntese protéica, inibição de uma via

metabólica, rompimento da estrutura da membrana bacteriana e a diminuição da permeabilidade do agente antimicrobiano (Tenover, 2006).

Os tipos de infecções clínicas associadas à *S. aureus* vão desde infecções cutâneas relativamente menores à infecções mais graves, atingindo tanto o hospedeiro saudável como os pacientes imunocomprometidos, por ser um patógeno simultaneamente comensal e humano (Lowy, 1998).

A *E. coli* é um patógeno comensal facultativa do trato intestinal dos animais de sangue quente, produzem enterotoxinas e citotoxinas que na flora intestinal não causa nenhum dano, mas, se alcançar as vias urinárias, causam infecções no trato urinário (Hughes et al. 1982; Matias et al. 2010).

Dentre os métodos utilizados para os testes de atividade antimicrobiana, destacam-se o teste de microdiluição (CIM), teste de Difusão de Discos e o teste de Contato Direto (Figura 2).

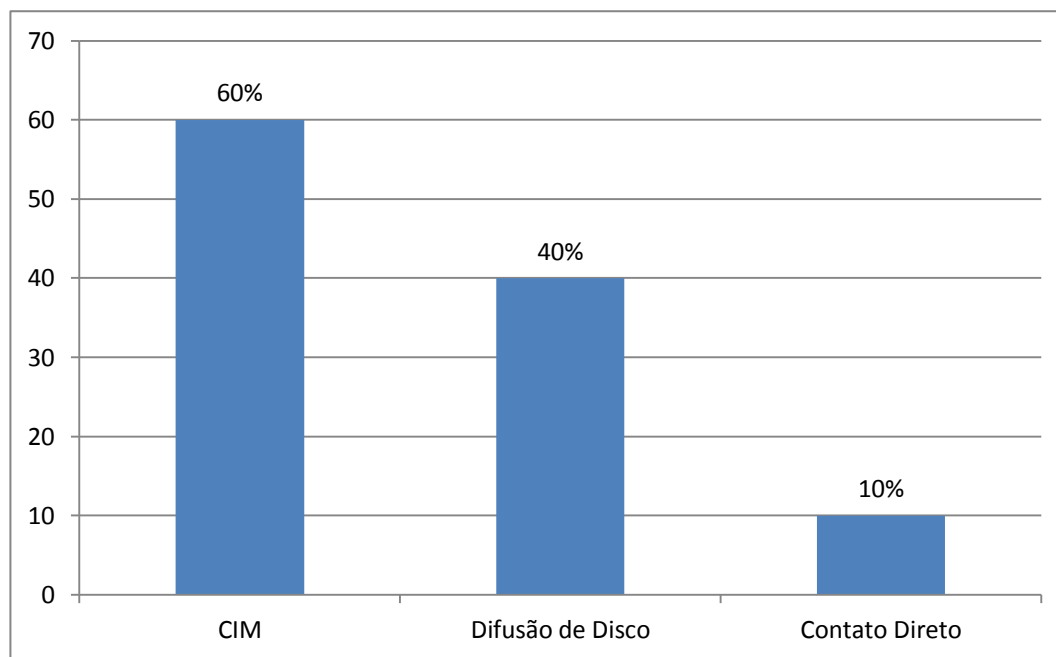


Figura 4: principais técnicas usadas para determinação da atividade antimicrobiana.

O teste de difusão em disco estabelecido como padrão pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) consiste na aplicação de 10 µL da solução de agente antimicrobiano em discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro, nas diferentes concentrações a serem testadas.

O método de diluição é usado para determinar a concentração mínima de um agente necessário para inibir ou matar um microrganismo. A microdiluição utiliza microplacas com 96 poços, com volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL. Os agentes antimicrobianos são geralmente testados em diluições consecutivas, e a menor concentração capaz de inibir o crescimento de um organismo é considerada como a Concentração Inibitória Mínima (CIM) (Ostrosky et al., 2008).

O teste de contato direto consiste na aplicação do material a ser testado sobre o meio de cultura contendo o microrganismo teste. A leitura se dá pela contagem no número de colônias que serão formadas, tendo como um comparativo na diminuição no número da mesma uma placa controle (Zheng et al., 2003).

A escolha do método a ser utilizado depende do tipo de microrganismos e do material a ser testado. O método de microdiluição é o mais utilizado por apresentar características como baixo custo e uma quantidade baixa de substância necessária para a execução dos testes, além de uma boa reprodutibilidade, conferindo assim uma maior confiabilidade nos testes. Porém Eloff (1998) utilizou a técnica de diluição em microplacas para verificar a atividade antimicrobiana em extratos vegetais e observou inconvenientes na técnica, tais como células de alguns microrganismos que se aderiam à base do poço, enquanto as de outros permaneciam em suspensão. Ainda, compostos presentes em alguns extratos precipitavam, e a coloração verde da clorofila em concentração muito alta interferia na análise.

#### *4.0 Ação Cicatrizante*

A pele é um órgão do corpo humano que tem como um de suas funções proteger o corpo de ameaças externas, no entanto, por vezes, esse órgão pode ser atingido por traumas mecânicos, procedimentos cirúrgicos, queimaduras, entre outros. Esses ferimentos, normalmente são rapidamente curados, isso porque a cicatrização é um processo sistêmico e dinâmico, alguns ferimentos necessitam de assistência médica e de medicamentos para que ocorra a regeneração do tecido e a cura do ferimento (Antunes et al. 2015; Stein and Kuchler, 2013).

Assim, é importante ressaltar que o processo de cicatrização de um ferimento é regulado por diversos parâmetros fisiológicos e envolve quatro etapas, a hemostasia, 12 inflamação, proliferação e maturação celular, os quais ocorrem em uma sequencia bem organizada, e esse processo refere-se tanto a ferimentos agudos quanto crônicos (Chen et al. 2015; Chen et al. 2013; Ferreira et al. 2016).

A primeira etapa da cicatrização está relacionada com a contenção de uma hemorragia, sem que para isso haja interrupção do fluxo sanguíneo, logo após essa contenção é formado um coágulo, dando início a segunda fase da cicatrização, a inflamatória (Chen et al. 2015). Essa segunda etapa é marcada pela migração de células sanguíneas até a lesão, é neste momento que os glóbulos brancos (leucócitos e macrófagos) irão atuar para limpar a região lesionada de bactérias e células mortas, e estimular as demais ações bioquímicas para a recuperação, como a liberação de mediadores químicos (Nada et al.2015).

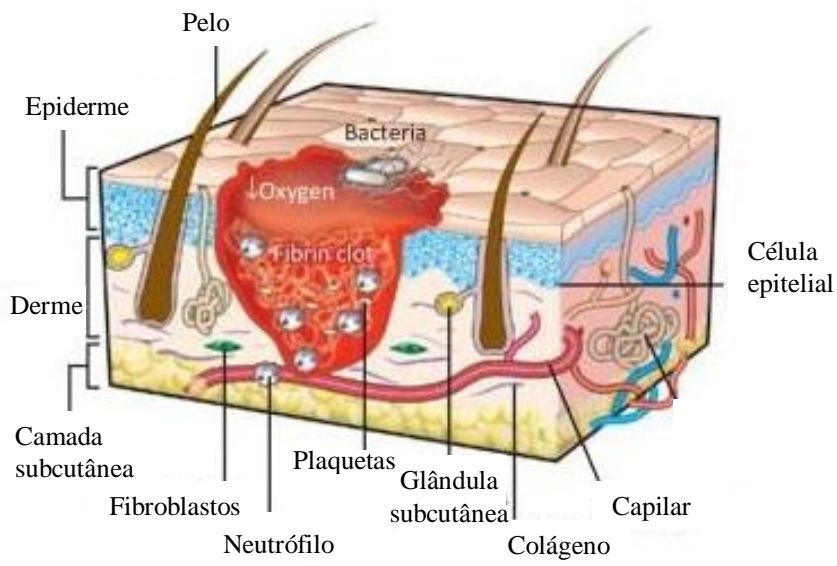
Passados cerca de três dias, tem-se início a etapa da proliferação celular, na qual ocorre a degradação do coágulo, por meio dos tecidos de granulação, sendo os fibroblastos uma importante célula desse tecido. Os fibroblastos produzem o colágeno que confere força e resistência a ferida. Além dos fibroblastos, os capilares também fazem parte do tecido de

granulação e são os responsáveis por trazer oxigênio e nutrientes para a região da ferida (Karri et al.2016).

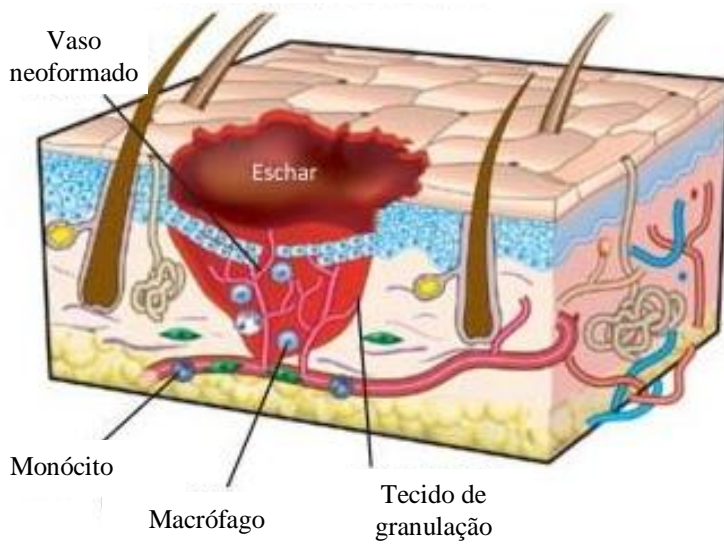
Com esse ambiente favorável a cicatrização, com presença de oxigênio e vasos, células da epiderme começam a migrar para as margens da ferida, formando uma cobertura protetora, finalmente inicia-se a fase da maturação celular, que pode levar até dois anos para se completar. Nesse período há uma maior contração da ferida, e o sucesso da cicatrização é atingido quando uma nova matriz de colágeno, mais espesso e organizado ao longo das linhas de tensão, é formada e substitui o colágeno produzido inicialmente, que é mais fino (colágeno tipo III) (Karri et al. 2016).

Conhecida as etapas da cicatrização, que podem ser visualizadas na Figura 5, é importante saber que alguns fatores podem interferir nesse processo, tais como profundidade da lesão, tamanho, tipo, presença de infecção, diabetes e idade (Moura et al. 2014). A presença de agentes complicadores pode exigir o tratamento dos ferimentos por meio de curativos e medicamentos, e para isso diferentes estratégias vem sendo estudadas e adotadas, para tanto, são necessários materiais que mantenham o ferimento úmido, permitam trocas gasosas, sejam biocompatíveis, não tóxicos e que inibam a proliferação de bactérias e fungos (Nada et al. 2015).

a) Fase inflamatória



b) Fase proliferativa / reepitelização



c) Maturação

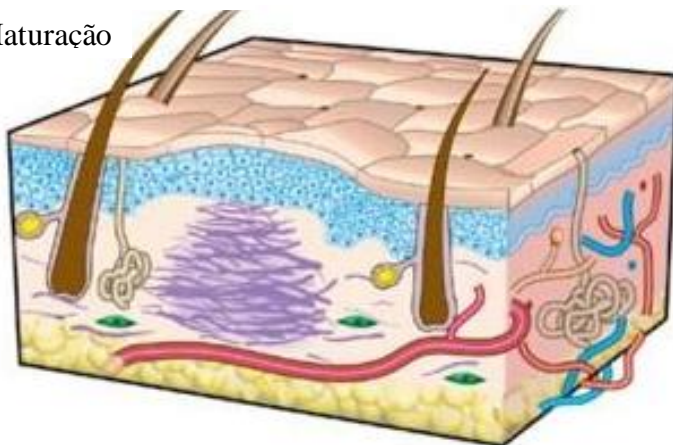


Figura 5: Etapas do processo de cicatrização. Adaptada de Stein and Kuchler 2013.



O nerolidol apresenta-se como um material alternativo para uso como agente cicatrizante, principalmente pelo seu potencial antioxidante e antimicrobiano (Hsouna et al. 2013). Alguns autores relataram ter realizado ensaios de cicatrização em ferimentos cutâneos *in vivo* com esse sesquiterpeno associado a alguns polissacarídeos, que demonstraram serem capazes de inibir infecções e acelerar o processo de cicatrização (Ferreira et al. 2016; Lee et al. 2007).

Com o objetivo de superar algumas limitações encontradas nos curativos atuais e diminuir o tempo de recuperação e retração da ferida, Ferreira e colaboradores (2016), analisaram um hidrogel à base de quitosana e nerolidol em diferentes proporções. Segundo estes autores, atividade antibacteriana do nerolidol está relacionada à sua hidrofobicidade e consequente interação com a membrana plasmática das bactérias, além da presença em sua estrutura de grupos alcoóis, que foram comprovados pelas análises de infravermelho.

Ainda segundo Ferreira et al. 2016, o nerolidol pode ser usado como um auxiliar no processo de cicatrização, tendo em vista que em concentrações maiores ele demonstrou induzir intensos focos inflamatórios e maior tempo de retração da ferida. A concentração que demonstrou melhores resultados nos ensaios realizados por estes autores foi a de 2% de nerolidol associado ao hidrogel de quitosana, nessa mesma concentração o material mostrou-se eficiente também contra cepas bacterianas.

Ferreira et al. (2016), mostraram em seus estudos que os ferimentos tratados com hidrogel de quitosana e nerolidol a 2% apresentaram uma reepitelização total com reestruturação da matriz conjuntiva, além de ter estimulado uma intensa proliferação de fibroblastos e neovascularização. Enquanto que os resultados para ferimentos tratados com hidrogel de quitosana e nerolidol a 4%, no 21º dia de tratamento ainda não havia a formação de folículos pilosos e nem de papilas dérmicas, e o tecido conjuntivo ainda estava

num princípio de reorganização da estrutura densa não modelada.

Assim, apesar do nerolidol apresentar propriedades que auxiliam na cicatrização de ferimentos, como inibição e tratamento de infecções, sensibilizando a ação de antibióticos ou em cepas com resistência clínica (Ferreira et al. 2012), o ideal é que ele seja associado a outros materiais para ter suas propriedades potencializadas, assim como Ferreira et al. 2016 utilizaram, a sugestão é que esse extrato de óleo essencial seja associado à polissacarídeos naturais, como a quitosana, a goma chicha, goma do cajueiro e celulose, entre outros.

A goma do chichá, assim como a quitosana utilizada no trabalho de Ferreira e colaboradores (2016) apresenta propriedades que podem ser favoráveis ao uso desse polissacarídeo como agente cicatrizante. Algumas dessas características são o fato da goma do chichá ser biocompatível, apresenta atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, atividade gastroprotetora, não é tóxica, biodegradável, de baixo custo, resiste à temperaturas de trabalho de até 100° C e apresenta grupos hidroxilas que permitem a formação de hidrogéis (Mangas, Mello, and Suarez 2013; Diniz et al. 2008; Oliveira et al. 2000; Silva et al. 2014; Sousa et al. 2012).

Lee et al. 2007, também verificaram a atividade cicatrizante do nerolidol, neste caso os ferimentos foram infectados com o fungo *Microsporum gypseum* para avaliar sua atividade antifúngica em um modelo experimental animal. Em seus estudos foram que o Nerolidol possui atividade antifúngicas contra *M. gypseum*, com 0,5-2% de CIM. Além de sua atividade o nerolidol, também contribui para atividade antibacteriana a outros antibióticos aumentando a permeabilidade ou susceptibilidade bacteriana a drogas, promovendo o rompimento da barreira da membrana bacteriana normal por vazamento de íons potássio. Assim, o Nerolidol pode ter uma potente atividade antifúngica quando administrada como terapia de combinação com outros antifúngicos. Foi observada a fase de proliferação de *M. gypseum* nas cobaias infectadas

durante 5º a 11º dias, seguido de um período de cicatrização até 26 dias após a infecção. O tratamento dos ferimentos infectados foi iniciado após 5 dias de infecção até o 26º dia de tratamento. O nerolidol reduziu significativamente as lesões cutâneas durante a primeira semana no período de proliferação fúngica. Concluindo que o nerolidol efetivamente melhorou as lesões cutâneas infectadas por *M. gypseum*. E sugerindo também o uso do mesmo como um antifúngico suplementar de medicamentos para a diminuição clínica de dermatofitoses.

#### 4. CONCLUSÃO

Esse estudo permitiu constatar que o de hidrogel da goma do chichá possuem boas propriedades farmacêuticas e pode ser usada tanto para cicatrização como para atividade antibacteriana, porém é uma área ainda pouco explorada. O nerolidol tem ações antimicrobiana e cicatrizante comprovada e pode ser utilizado em diversas aplicações biomédicas.

O nerolidol utilizado na cicatrização de ferimentos pode ter suas propriedades melhoradas e otimizadas quando associado a outras substâncias. Nenhuma pesquisa sobre a ação cicatrizante associou o nerolidol ao hidrogel da goma do chichá, isso é um indicativo de que essa associação frente as características citadas poderá resultar em um matéria novo e inovador.

## 5. REFERENCIAS

- Antunes, B. P., A. F. Moreira, V. M. Gaspar, and I. J. Correia. 2015. Chitosan/arginine - Chitosan Polymer Blends for Assembly of Nanofibrous Membranes for Wound Regeneration. *Carbohydrate Polymers*,130, 104–12.
- A.C. Uhlemann, M. Otto, F.D. Lowy, F.R. 2014 DeLeoEvolution of community- and healthcare- associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* InfectInfection, *Genetics and Evolution.*, 21, 563–574.
- Boateng, K.H. Matthews, H.N.E. Stevens, G.M. Eccleston 2008 Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 2892–2923
- Bonikowski, Radosław, Paulina Świtakowska, and Józef Kula. 2015. “Synthesis, Odour Evaluation and Antimicrobial Activity of Some Geranyl Acetone and Nerolidol Analogues.” *Flavour and Fragrance Journal*,30, 238–44.
- Braca, Alessandra, Tiziana Siciliano, Manuela D’Arrigo, and Maria Paola Germanò. 2008. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Momordica Charantia Seed Essential Oil. *Fitoterapia*,79,123–25.
- Brehm-Stecher, Byron F., and Eric A. Johnson. 2003. Sensitization of Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli to Antibiotics by the Sesquiterpenoids Nerolidol, Farnesol, Bisabolol, and Apritone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,47,3357–60.
- De Brito, Ana Cristina F et al. 2005. Dynamic Rheological Study of Sterculia Striata and Karaya Polysaccharides in Aqueous Solution.*Food Hydrocolloids* 19, 861–67.
- Camargos, Heverton Silva et al. 2014. Terpenes Increase the Lipid Dynamics in the Leishmania Plasma Membrane at Concentrations Similar to Their IC50 Values. *PLoS ONE* 9(8).
- Charernsriwilaiwat, Natthan, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, and Praneet Opanasopit. 2014. Electrospun Chitosan/polyvinyl Alcohol Nanofibre Mats for

Wound Healing. *International Wound Journal* 11, 215–22.

Chen, Shixuan et al. 2015. A Laminin Mimetic Peptide SIKVAV-Conjugated Chitosan Hydrogel Promoting Wound Healing by Enhancing Angiogenesis, Re-Epithelialization and Collagen Deposition. *J. Mater. Chem.* , 6798–6804.

Chen, Szu Hsien et al. 2013. Assessment of Reinforced Poly(ethylene Glycol) Chitosan Hydrogels as Dressings in a Mouse Skin Wound Defect Model.” *Materials Science and Engineering C* 33,2584–94.

Dario, Aline F. et al. 2010. Effect of Solvent on the Adsorption Behavior and on the Surface Properties of Sterculia Striata Polysaccharide. *Carbohydrate Polymers* 81, 284–90.

Duffy, C. F., & Power, R. F. 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17, 527–529.

D.W. Thomas, I. Hopkinson, K.G. Hardning, J.P. 1994 Shepherd The pathogenesis of hypertrophic/keloid scarring *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 24, 232–235

Fernandes, Fábio H. et al. 2015. Evaluation of Mutagenic and Antimicrobial Properties of Brown Propolis Essential Oil from the Brazilian Cerrado Biome. *Toxicology Reports* 2: 1482–88.

Ferreira, Fernanda M. et al. 2012. Nerolidol Effects on Mitochondrial and Cellular Energetics. *Toxicology in Vitro* 26,189–96.

Ferreira, M. O. G., Leite, L. L. R., de Lima, I. S., Barreto, H. M., Nunes, L. C. C., Ribeiro, A. B., ... da Silva Filho, E. C. (2016). Chitosan Hydrogel in combination with Nerolidol for healing wounds. *Carbohydrate Polymers*, 152, 409–418.

Gonçalves, Odete et al. 2011. Evaluation of the Mutagenicity of Sesquiterpenic Compounds

and Their Influence on the Susceptibility towards Antibiotics of Two Clinically Relevant Bacterial Strains. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 723, 18–25.

Ben Hsouna, Anis, Naceur Hamdi, Nihed Ben Halima, and Slim Abdelkafi. 2013. Characterization of Essential Oil from Citrus Aurantium L. Flowers: Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of oleo science* 62, 763–72.

Hughes, C., D. Müller, J. Hacker, and W. Goebel. 1982. Genetics and Pathogenic Role of Escherichia Coli Haemolysin. *Toxicon* 20, 247–52.

Inoue, Yoshihiro et al. 2004. “The Antibacterial Effects of Terpene Alcohols on Staphylococcus Aureus and Their Mode of Action.” *FEMS Microbiology Letters* 237, 325–31.

Karri, Veera Venkata Satyanarayana Reddy et al. 2016. Curcumin Loaded Chitosan Nanoparticles Impregnated into Collagen-Alginate Scaffolds for Diabetic Wound Healing. *International Journal of Biological Macromolecules* 93, 1519–29.

K.Y.L. Chua, B.P. Howden, J.-H. Jiang, T. Stinear, A.Y. 2014. Population genetics and the evolution of virulence in *Staphylococcus aureus*. *Infect. Genetics and Evolution.*, 21, 554– 562

Y. Emes, B. Aybar, P. Vural, et al. (2014), Effects of hemostatic agents on fibroblast cells. *International Journal of Implant Dentistry*, 23 , 641–647

Lee, Sook-Jin et al. 2007. Antifungal Effect of Eugenol and Nerolidol against *Microsporum Gypseum* in a Guinea Pig Model. *Biological & pharmaceutical bulletin* 30, 184–88.

Li, Ren et al. 2014. “Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activities of the Stem and Leaf Essential Oils from *Piper Flaviflorum* from

Xishuangbanna, SW China.”*Natural Product Communications* 9, 1011–14.

Lowy, 1998F.D. Lowy Staphylococcus aureus infections *New England Journal of Medicine*, 339, 520–532

Magalhães, Guilherme A. et al. 2016. “Chitosan/Sterculia Striata Polysaccharides Nanocomplex as a Potential Chloroquine Drug Release Device.”*International Journal of Biological Macromolecules* 88: 244–53.

Mangas, Maria Beatriz Pereira, Vinicius Moreira Mello, and Paulo Anselmo Ziani Suarez. 2013. Thermal Behavior of Sterculia Striata Oil.*Thermochimica Acta* 564, 39–42.

Matias, Edinaldo F F et al. 2010. Atividade Antibacteriana In Vitro de Croton Campestris A ., Ocimum Gratissimum L . E Cordia Verbenacea DC .*Revista Brasileira de Biociências*: 294–98.

Moura, Liane I F et al. 2014. Chitosan-Based Dressings Loaded with Neurotensin - An Efficient Strategy to Improve Early Diabetic Wound Healing.” *Acta Biomaterialia* 10, 843–57.

Nada, Ahmed A. et al. 2015. Biomaterials Based on Essential Fatty Acids and Carbohydrates for Chronic Wounds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 5,13–21.

Nitão Diniz, Zeomar, Pushkar Singh Bora, Vicente Queiroga Neto, and José Marcelino Oliveira Cavalheiro. 2008. *Sterculia Striata* Seed Kernel Oil: Characterization and Thermal Stability.*Grasas y Aceites* 59, 160–65.

Oliveira, J. T A et al. 2000. Composition and Nutritional Properties of Seeds from Pachira Aquatica Aubl, Sterculia Striata St Hil et Naud and Terminalia Catappa Linn.*Food Chemistry* 70, 185–91.

Duffy, C. F., & Power, R. F. (2001). Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6), 527–529.



Ferreira, M. O. G., Leite, L. L. R., de Lima, I. S., Barreto, H. M., Nunes, L. C. C., Ribeiro, A. B., ... da Silva Filho, E. C. (2016). Chitosan Hydrogel in combination with Nerolidol for healing wounds. *Carbohydrate Polymers*, 152, 409–418.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.037>

Ostrosky, E. A., Mizumoto, M. K., Lima, M. E. L., Kaneko, T. M., Nishikawa, S. O., & Freitas, B. R. (2008). Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(2), 301–307. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>

Petrović, Nada V. et al. 2016. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Thymus Praecox* Opiz Ssp. *Polytrichus* Essential Oil from Serbia. *Records of Natural Products* 10, 633–38.

P.D. Bowman, X. Wang, M.A. Meledeo, M.A. Dubick, B.S. 2011 Kheirabadi Toxicity of aluminum silicates used in hemostatic dressings toward human umbilical veins endothelial cells, HeLa cells, and RAW267.4 mouse *macrophages* *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 71 , 727–732

Silva, D. A. et al. 2003. Effect of Mono and Divalent Salts on Gelation of Native, Na and Deacetylated *Sterculia Striata* and *Sterculia Urens* Polysaccharide Gels. *Carbohydrate Polymers* 54, 229–36.

Silva, Francilene V et al. 2014. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of *Sterculia Striata* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae) in Rodents. *Journal of medicinal food* 17, 694–700.

Simões, Manuel, Sílvia Rocha, Manuel a Coimbra, and Maria J Vieira. 2008. Enhancement of *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus* Antibiotic Susceptibility Using Sesquiterpenoids. *Medicinal chemistry (Shariqah (United Arab Emirates))* 4, 616–23.

Sousa, Joubert A. et al. 2012. Gastroprotective Activity of *Sterculia Striata* A. St. Hil. &

Naudin (Malvaceae) in Rodents. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences* 67, 163–71.

S. Guo, L.A. 2010 Dipietro Factors affecting wound healing *Journal of Dental Research* 89 , 219–229

Stein, Christoph, and Sarah K??chler. 2013. Targeting Inflammation and Wound Healing by Opioids. *Trends in Pharmacological Sciences* 34, 303–12.

Thapa, Dinesh, Riccardo Losa, Béatrice Zweifel, and R John Wallace. 2012. Sensitivity of Pathogenic and Commensal Bacteria from the Human Colon to Essential Oils. *Microbiology (Reading, England)* 158, 2870–77.

Triana, Jorge et al. 2013. A Chemotaxonomic Study of Endemic Species of Genus *Tanacetum* from the Canary Islands. *Phytochemistry* 92, 87–104.

TENOVER, F. C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine* 119,3-10.

T.K. Chatterjee, B.J. Aronow, W.S. Tong, et al. 2013 Human coronary artery perivascular adipocytes overexpress genes responsible for regulating vascular morphology, inflammation, and hemostasis *Physiol Genomics*, 45, 697–709

Viswanathan, Kaliyaperumal et al. 2016. Chlorhexidine-Calcium Phosphate Nanoparticles - Polymer Mixer Based Wound Healing Cream and Their Applications. *Materials Science and Engineering* 67,516–21.

**CAPITULO 2: CICATRIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO  
HIDROGEL DA GOMA CHICHÁ (*Sterculia striata*) ASSOCIADO AO  
NEROLIDOL**

# CICATRIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO HIDROGEL DA GOMA CHICHÁ (*Sterculia striata*) ASSOCIADO AO NEROLIDOL

Idglan Sá de Lima<sup>1\*</sup>, Alessandra Braga Ribeiro<sup>1</sup>, Edson Cavalcanti da Silva Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais, Laboratório Interdisciplinar de  
Materiais Avançados – LIMAV, Centro de Ciências da Natureza-CCN, Universidade  
Federal do Piauí-UFPI, Teresina-PI, CEP 64049-550

## RESUMO

A goma do chichá, obtida a partir da planta *Sterculia striata*, é um polissacarídeo que apresenta grupos hidroxilas em sua estrutura, os quais favorecem a formação de hidrogéis, possibilitando sua aplicação em sistemas de liberação de fármacos e a associação a outros materiais para melhorar algumas de suas propriedades biológicas. O objetivo deste trabalho foi realizar a síntese de hidrogéis a partir da goma de chichá em associação ao nerolidol nas concentrações de 1 e 2% para cicatrização de ferimentos cutâneos. Para tanto, foi realizada a caracterização química pela técnica de termogravimetria (TG), infravermelho (FTIR) e análise reológica dos hidrogéis, os hidrogéis foram testados frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, por meio dos testes de microdiluição em caldo e contato direto em meio sólido, a citotoxicidade foi avaliada frente a *Artemia salina*, e por fim os ensaios *in vivo* de cicatrização foram realizados. As caracterizações químicas comprovaram a presença do nerolidol na matriz do hidrogel de chicha. A análise reológica mostrou que a medida que ocorre o aumento da concentração de nerolidol no hidrogel do chichá, os parâmetros adesividade e coesividade diminuem em relação ao hidrogel puro. A associação dos materiais e formação dos hidrogéis resultou em um aumento no efeito inibitório destes materiais no crescimento bacteriano comparados aos materiais de partida, e também uma toxicidade frente moderada. O hidrogel de chicha apresentou-se como o melhor agente cicatrizante dentre os materiais testados, promovendo uma reepitelização e cura mais rápida. Dessa maneira pode-se concluir que os materiais produzidos mostraram-se promissores como agentes antibacterianos e cicatrizantes.

**PALAVRAS-CHAVE:** antimicrobiano, polímero, toxicidade.

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HYDROGEL OF GUM CHICHA (*Sterculia striata*) ASSOCIATED NEROLIDOL**

*Idglan Sá de Lima<sup>1\*</sup>, Alessandra Braga Ribeiro<sup>1</sup>, Edson Cavalcanti da Silva Filho<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Graduate Program in Material Science, Interdisciplinary Laboratory for Advanced Materials – ILAM, Science Center Of Nature-SCN, Federal University of Piauí-UFPI PI, Teresina-PI, CEP 64049-550*

**ABSTRACT**

The chichá gum, obtained from the plant *Sterculia striata*, is a polysaccharide that presents hydroxyl groups in its structure, which favor the formation of hydrogels, allowing its application in drug delivery systems and the association with other materials to improve some of its biological properties. The objective of this work was to perform the synthesis of hydrogels from chichá gum in association with nerolidol at concentrations of 1 and 2% for healing of cutaneous wounds. For this purpose, the chemical characterization by the thermogravimetry (TG), infrared (IR) and rheological analysis of the hydrogels was carried out, the hydrogels were tested against the strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by means of the microdilution tests in broth and direct contact in solid medium, cytotoxicity was evaluated against *Artemia salina*, and finally the in vivo healing assays were performed. The chemical characterization confirmed the presence of nerolidol in the chicha hydrogel matrix. The rheological analysis showed that as the increase of the nerolidol concentration in the chichá hydrogel occurs, the adhesiveness and cohesiveness parameters decrease with respect to the pure hydrogel. The association of the materials and formation of the hydrogels resulted in an increase in the inhibitory effect of these materials on bacterial growth compared to the starting materials, as well as moderate toxicity. The chicha hydrogel presented as the best healing agent among the materials tested, promoting a reepithelization and faster healing. In this way it can be concluded that the produced materials have shown to be promising as antibacterial and cicatrizantes agents.

**KEYWORDS:** antimicrobial, polymer, toxicity.

## 1. INTRODUÇÃO

O chichá (*Sterculia striata*) é uma árvore frutífera não cultivada, porém, abundante na natureza, conhecida com xixá do cerrado, arachá, chichazeiro do cerrado, castanha de macaco, essa planta tem ocorrência no cerrado e ampla distribuição no Brasil, principalmente nos estados do Piauí, Maranhão, Bahia, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e Distrito Federal (Silva et al., 2001; Lorenzi et al., 2006).

A goma do chichá é obtida a partir do exsudato da planta *Sterculia striata*, o qual é produzido quando o tecido vegetal é danificado ou sofre algum tipo de injúria, com o intuito de evitar o ressecamento, diminuir o risco de ataque de microrganismos e consequentemente de evitar possíveis infecções na planta. Os exsudatos são ricos em metabólitos secundários e desempenha papel fundamental na sobrevivência de uma espécie, desde a adaptação de uma planta ao seu ambiente, atividade antimicrobiana e, antigeminativa, fitoalexinas e proteção contra raios ultravioletas, devido provavelmente a presença de substâncias farmacológicas ativas (Fumagali et al., 2008).

Quimicamente e funcionalmente a goma do chichá é semelhante à goma karaya, a qual possui ampla utilização na indústria farmacêutica como emulsificante e aglutinante, na qual se diferencia da goma chichá pela ausência de xilose. A goma do chichá, em sua forma nativa, possui 10,7% de grupos acetil e quando desacetilada passa a apresentar 57,8% de açúcares neutros (23,4% de galactose; 28,8% de ramnose e 5,6% de xilose) e 42,2% de resíduos de ácidos urônicos (Brito et al., 2005, 2004). Considerando as características já citadas pode-se verificar que a goma do chichá é um polissacarídeo promissor para utilização em formulações como hidrogéis e nanopartículas, com possibilidade de utilização em sistemas de liberação controlada de fármacos, além do apelo

para valorização de matérias-primas regionais.

As gomas, de maneira geral, podem ser utilizadas para o desenvolvimento de hidrogéis, os quais são fabricados a partir de polímeros naturais e tem recebido considerável atenção nos últimos anos por apresentarem inúmeras características desejáveis. Apresentam aplicabilidade na medicina, na indústria de cosméticos, na agricultura e biotecnologia, sua flexibilidade de utilização é devido a possibilidade de modificação da forma e volume, o que dependente do estímulo aplicado, como mudanças de pH, temperatura, força iônica e campos magnéticos e elétricos (Kaewpirom e Boonsang, 2006; Teng et al., 2010). Além de se apresentarem como materiais hidrofílicos, biocompatíveis, com permeabilidade seletiva e, baixa tensão interfacial (Lorenzo, 2002; Royet al., 2010).

A semelhança da goma do chichá com a goma karaya (Brito et al., 2004), tornam esse material atrativo para a área biomédica, e por isso vem se despertando um interesse em estudá-las. Trabalhos recentes apontam que o extrato etanólico da casca de seu caule possui atividade anti-inflamatória e anticonceptiva (Silva et al., 2014). Assim a goma de chicha pode ser associada às diversas moléculas biologicamente ativas a fim de potencializar suas propriedades e aumentar o seu valor agregado (Magalhães Jr ET al., 2016).

Dentre as substâncias que podem ser incorporadas nas formulações à base de goma de chichá, estão os óleos essenciais, os quais possuem muitas aplicações no campo farmacêutico, químico e alimentar, no entanto, o seu uso é limitado ao fato de serem muito instáveis, exigindo a sua proteção, visando preservar as suas propriedades (Paula et al., 2016). Essas substâncias apresentam atividade antimicrobiana e antioxidante já extensivamente reportadas na literatura científica, assim apresentam aplicações biomédicas promissoras (Bakkali, et al., 2008, Burt, 2004).

De acordo com a *International Standard Organization* (ISO 9235:1997), os óleos

essenciais são obtidos a partir de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, normalmente odoríferas e líquidas (Genebra, 1997). Seus constituintes são produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas, dentre eles destacam-se os terpenos e fenilpropanoides que desempenham papel fundamental na defesa contra microrganismos (Gonçalves et al., 2003, Silva et al., 2003).

O nerolidol pode ser encontrado em óleos essenciais de plantas, tais como a pimenta, kiwi, morango e milho (Marques et al., 2010; Vitali et al., 2016). É um sesquiterpeno acíclico, que atua como antineoplásico (Berger *et al.*, 2004), na defesa contra predadores em plantas (Curvelo et al., 2014), como cicatrizante (Ferreira et al., 2016), como potencial intensificador da penetração na pele para a administração transdérmica de fármacos (Costa *et al.*, 2009; Pacifico *et al.*, 2008), além de diversos estudos indicarem possível atividade antimicrobiana, leishmanicida, larvicida e antioxidante (Nogueira, Sousa & Freitas, 2013; Arruda *et al.*, 2005; Koudou *et al.*, 2005).

Apesar da grande variedade de fármacos antimicrobianos, as bactérias patogênicas multirresistentes são um problema de saúde a nível mundial (Harada et al., 2010, Pourakbari et al., 2010). Dessa maneira a busca por novas substâncias com propriedades antimicrobianas que venham a auxiliar no tratamento de infecções bacterianas tornou-se urgente (Pereira et al., 2004).

As espécies *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E.coli*) são bactérias patogênicas oportunistas que estão naturalmente presentes no corpo humano e entram em ação principalmente quando o sistema imunológico encontra-se deprimido. *S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva, capaz de causar infecções cutâneas e de tecidos moles, bem como infecções invasivas, tais como bacteremia, artrite séptica, osteomielite e pneumonia necrotizante (Otto, 2012; Seymour & Golding, 2009). Já a *E. coli* é bacilo



Gram-negativo e algumas formas/cepas podem provocar graves infecções intestinais em seres humanos, sendo a principal via utilizada por estas cepas patogênicas a fecal-oral, pela ingestão ou contato de água e alimentos contaminados (Ding et al., 2013; Mahae et al., 2011). Adicionalmente, *S. aureus* e *E. coli* são as espécies bacterianas mais frequentemente encontradas em feridas infectadas (Sasikala, et al., 2013).

Portanto, em face do potencial do hidrogel de chichá e do nerolidol, e considerando a profunda dificuldade em encontrar produtos naturais que possam combater bactérias, esses materiais apresentam-se com uma alternativa viável para o desenvolvimento de diferentes produtos para aplicações biomédicas, tais como agente cicatrizante e antimicrobiana.

Assim, este trabalho tem como objetivo a síntese de hidrogéis de chichá associados ao nerolidol a 1 e 2%, verificar a atividade antimicrobiana dos produtos desenvolvidos, bem como avaliar suas características químicas e reológicas para futuras aplicações como agente cicatrizante de feridas.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1. MATERIAIS**

Neste trabalho foi utilizado nerolidol (NRL), uma mistura dos isômeros geométricos *cis*- e *trans*-nerolidol, com 98% de pureza produzido pela Sigma Aldrich (EUA). Os reagentes, Cloreto de Magnésio (MgCl) (IMPEX), Cloreto de Cálcio (CaCl<sub>2</sub>) (DIÂMICA), Cloreto de Sódio (NaCl) (DINÂMICA), Cloreto de Potássio (KCl) (DINÂMICA), Sulfato de Magnésio Heptahidratado (MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O) (VETEC), Bicarbonato de Sódio (NaHCO<sub>3</sub>) (DINÂMICA), Álcool Etílico (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) (ISO FAR), Brain Heart Infusion (BHI) (HIMEDIA), Agar Mueller Hinton (HIMEDIA), Resazurina (SIGMA), Dimetilsufóxido (HIMEDIA) apresentam alta pureza (98- 99,9%). A água utilizada em todos os processos e etapas de síntese foi à água destilada. Todos os reagentes foram utilizados sem purificação

prévia.

## 2.2. ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA DO CHICHÁ

A goma do chichá foi isolada a partir de nódulos livres coletados das cascas de árvores de chichá (*Sterculia striata*), plantadas na EMBRAPA-Meio Norte, localizada na cidade de Teresina-PI e registradas no Herbário Graziela Barroso com o número TEPB:30418. A goma do chichá foi isolada na forma de sal, seguindo o método Rinaudo-Milas, com algumas modificações (Costa, Rodrigues, & Paula, 1996). Inicialmente, o polissacarídeo bruto (1,0 g) foi dissolvido em água destilada (100,0 mL) à temperatura ambiente por 24h. Em seguida, adicionou-se 1,0 g de NaCl e, após dissolução deste, filtrou-se a solução e ajustou-se seu pH para 7,0 com solução de NaOH 0,1 mol/L. O polissacarídeo foi precipitado com etanol, lavado com acetona, seco em estufa com fluxo de ar quente e macerado para sua obtenção de pó e estocado protegido da luz e umidade.

## 2.3 SÍNTESE DOS HIDROGÉIS

O hidrogel de chichá puro (HC) foi obtido a partir da reação da goma do chichá isolada em água destilada, sendo 1,5 g de goma do chichá para 98,5 mL de água destilada, a solução foi submetida à rotação magnética por 30 minutos.

### 2.3.1. Hidrogel de chichá com nerolidol a 1 e 2%

O hidrogel do chichá associado ao nerolidol a 1% (HCN1), foi sintetizado por meio da adição de 1 mL de nerolidol (NRL) a 99 mL do HC, e agitados por mais 30 minutos. O mesmo procedimento foi realizado para obtenção do hidrogel de chichá com 2% de nerolidol (HCN2), com a proporção ajustada para 2 mL de nerolidol a cada 98 mL de HC.

## 2.4. CARACTERIZAÇÕES

A estabilidade térmica dos materiais foi estudada por meio da técnica de termogravimetria (TG), as curvas termogravimétricas foram obtidas utilizando-se o aparelho SDT Q600 V20.9 Build 20, modelo DSC-TGA Standard, com razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , em atmosfera de nitrogênio, porta amostra de alumina, na faixa de temperatura de 0 a  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ , e massa de aproximadamente 10 mg.

Os espectros de FTIR dos hidrogéis e do nerolidol foram obtidos usando o espectrofotômetro Varian 660-IR pelo método da pastilha em KBr 1% (m/m) de amostra, em 32 varreduras na região de  $400\text{ a }4000\text{ cm}^{-1}$  com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ .

As propriedades mecânicas foram determinadas em analisador de textura TA- XT plus (Stable Micro Systems), operando no modo TPA (Texture Profile Analysis). As amostras foram comprimidas duas vezes pela prova analítica cilíndrica (10 mm), que penetrou a uma profundidade de 10 mm na amostra, em velocidade de  $0,5\text{ mm/s}^{-1}$ , com um intervalo de 5 s entre as compressões. A partir dos dados das curvas força *versus* tempo, geradas pelo software Texture Exponent Lite durante os dois ciclos de compressão da amostra, foram obtidos os valores de dureza, adesividade e coesividade.

## 2.5 TESTE DE CITOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

### 2.5.2. Preparo da água do mar sintética

A água do mar sintética foi preparada por meio da adição de 15,153g de NaCl, 1,398g de MgCl. 1,888g de MgSO<sub>4</sub>, 0,652g de CaCl<sub>2</sub>, 0,414g de KCl e 0,116g de NaHCO<sub>3</sub> e completada com água destilada para 1,0 L de volume final.

### **2.5.3. Ensaio de toxicidade**

Este teste foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Meyer et al. (1982). Os ovos de *Artemia salina* foram eclodidos em água de salinidade a 12 ppm e após 48 horas, as larvas foram coletadas para a realização do bioensaio. As diluições das amostras e do teste em branco foram realizadas em água do mar e 0.5 mL de dimetilsulfóxido.

Foram preparadas soluções em triplicata das amostras a serem testadas nas concentrações 1000, 100, 10 e 1 µg/mL, e adicionados 10 náuplios de *A. salina* por frasco, sendo a contagem dos sobreviventes realizada após 24 horas.

## **2.6. TESTES ANTIBACTERIANOS**

### **2.6.1. Linhagem Bacterianas**

Foram utilizadas as cepas bacterianas de espécies Gram-positivas e Gram-negativas padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* ATCC 25922, respectivamente, ambas fornecidas pelo Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

### **2.6.2 Preparo do inóculo**

As culturas foram obtidas transferindo-se uma alçada do crescimento bacteriano em ágar nutriente para um tubo falcon contendo 3,0 mL do meio Brain Heart Infusion (BHI), seguido de incubação a 37 °C por 24 h. O inóculo bacteriano utilizado nos bioensaios foi preparado transferindo-se 1,0 mL da cultura para um tubo falcon contendo 9,0 mL do meio BHI.

### **2.6.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada utilizando o BHI a 10%, pelo método de microdiluição em caldo, utilizando-se placas de 96 poços, usando uma suspensão de  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL), padronizada segundo o método para a diluição de teste de sensibilidade aos antimicrobianos para bactérias que crescem aerobicamente (NCCLS, 2003). Foram utilizados 100  $\mu$ L do inóculo padronizado e uma quantidade de 100  $\mu$ L dos hidrogéis de chichá contendo as substâncias teste, em seguida com diluição em série 1: 2, com concentrações iniciais de 20.000 $\mu$ g/mL a 156 $\mu$ g/mL (Javadpour et al. 1996). A CIM foi definida como a menor concentração na qual nenhum crescimento microbiano foi observado.

Para avaliação da atividade antibacteriana foram utilizados os seguintes critérios: boa atividade inibitória (CIMs  $\leq 100$   $\mu$ g/mL), atividade inibitória moderada (CIMs variando de 100 a 500  $\mu$ g/mL), atividade inibitória fraca (CIMs de 500-1000  $\mu$ g/mL), e sem nenhuma atividade inibitória (CIMs  $> 1000$   $\mu$ g/mL) (Holetz *et al.*, 2002).

### **3.6.4 Atividade antibacteriana pelo método de contato direto**

O teste de contato direto em meio sólido foi realizado de acordo com Zheng e Zhu (2003). Para realização destes ensaios, foram transferidos 100 $\mu$ g/mL do material a ser testado e 100  $\mu$ L da suspensão do inóculo padronizado a  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL), para placas de Petri contendo o meio ágar Mueller Hinton e semeadas com o auxílio de uma alça de Drigalski pelo método *spread plate*, seguido de incubação a 37°C por 24 h. Como controle positivo semeou-se apenas os inóculos bacterianos nas placas. Os ensaios foram realizados em triplicata.

O efeito inibitório produzido por cada solução-teste foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\eta = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100\%$$

Equação (01)

Onde  $\eta$  é definido como o efeito inibitório,  $N_1$  é a média aritmética das unidades formadoras de colônia das placas controle e  $N_2$  é a média aritmética das unidades formadoras de colônia de cada uma das soluções testadas.

## 2.7 ENSAIOS DE CICATRIZAÇÃO DEFERIMENTOS

### 2.7.1 Aspectos Éticos

A pesquisa foi realizada de acordo com as recomendações “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (Institute of Laboratory Animals Resources, National Academy of Science, Washington, D.C., 2011). Todos os procedimentos com animais foram guiados por princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Animais de experimentação Animal (CONCEA) e pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPI, seguindo as determinações da Lei 11.794, de 08.10.2008.

### 2.7.2 Animais

Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss, fêmeas, com idade de 2-4 meses e massa corpórea em torno de 25 a 30g, provenientes do Biotério Central do Centro de

Ciências Agrárias - CCA da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os animais foram mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a  $26 \pm 1$  °C, com ração e água ad libitum, e ciclo claro/escuro de 12 horas.

### **2.7.3 Delineamento Experimental**

Os animais que sofreram o ferimento cutâneo foram divididos em três grupos experimentais: Grupo I, com 12 animais, foram tratados com solução fisiológica a 0,9% (controle negativo do experimento); Grupo II, com 12 animais, foram tratados com hidrogel de chichá (HC); Grupo III com 12 animais foram tratados com hidrogel de chichá associado ao nerolidol a 2% (HCN2).

### **2.7.4 Grupo Experimental I, II e III.**

Camundongos tratados com solução fisiológica a 0,9%, com HC e HCN2 foram eutanasiados nos tempos experimentais de 3 (N=3), 7 (N=3), 14 (N=3) e 21 dias (N=3) pós procedimento cirúrgico para a obtenção das feridas cutâneas.

### **2.7.5 Procedimento de obtenção de ferimento cutâneo**

Antes da realização do ferimento cutâneo, os camundongos foram pré-medicados com anestésicos com uma associação de 1/1 de xilazina (10mg/kg: cloridrato de xilazina) e cetamina (10 mg/kg: cloridrato de cetamina), preparados na mesma seringa, e administrados por via intramuscular. Posteriormente à indução anestésica, cada camundongo foi tricotomizado e um fragmento circular de pele 0,6 cm de diâmetro foi retirado por meio de um punch (instrumento dotado de uma superfície circular cortante), até a exposição da fáscia muscular dorsal. Ao final do procedimento cirúrgico, a ferida de

cada animal foi tratada diariamente com o soro fisiológico ou com os hidrogéis, sendo recolocados nas suas respectivas gaiolas, e mantidos sob observação diária.

#### **2.7.6 Tratamento das feridas**

Os ferimentos foram tratados e avaliados diariamente. O tratamento de cada grupo foi administrado por via tópica, na região lesionada, obedecendo sempre o mesmo horário, com os produtos designados para cada grupo. As feridas foram limpas com soro fisiológico 0,9% a cada nova aplicação dos produtos em análise (Santos et al., 2002; Rahal et al., 2001). A eutanásia dos animais de cada grupo experimental dar-se-á pela sobre dosagem da associação anestésica de xilazina (15 mg/kg: cloridrato de xilazina 2%) e cetamina (150 mg/kg: cloridrato de cetamina 50 mg/ml), preparados na mesma seringa e administrados por via intraperitoneal (IP). Em seguida foi realizada a exérese do fragmento de pele para posterior análise histológica, encerrando o estudo com 21 dias de tratamento.

#### **2.7.7 Avaliação macroscópica da lesão cutânea em Ratos**

Os animais tratados com os diferentes materiais em análise foram acompanhados diariamente através da observação do reparo da lesão, referindo-se às alterações quanto à presença ou não de edema, exsudado e crosta, e coloração da ferida. Foi realizado o registro fotográfico digital da ferida de todos os animais dos grupos experimentais durante os tratamentos e as lesões foram medidas com auxílio de um paquímetro analógico nos dias 3, 7, 14 e 21 de tratamento.

#### **2.7.8 Avaliação histológica da lesão cutânea em camundongos**

Um fragmento retangular da pele do dorso, com 0,5 x 1,0 cm foi dissecado de cada



animal após a eutanásia, sendo que cada segmento continha uma área central lesada e outra área periférica de pele íntegra, que servirá como controle negativo. Este procedimento repetiu-se no 3º, 7º, 14º e 21º dias de tratamento (Herrmann et. al., 2011). Todas as amostras das lesões cutâneas obtidas foram fixadas em solução de formaldeído a 10% tamponado com hidróxido de sódio (pH em torno de 7,0) e mantidos por um período mínimo de 48 h, para, posteriormente, serem conduzidos à rotina histológica habitual, que constitui nos processos de desidratação, diafanização, impregnação com parafina, emblocagem, microtomia, desparafinização. Cortes de 4,0µm foram confeccionados e aderidos em lâminas de vidro em seguida, submetido à coloração histoquímica convencional (Hematoxilina-Eosina), após o procedimento foi realizada análise das amostras por microscopia de luz.

Na avaliação histológica foram observadas a evolução do processo inflamatório e cicatricial por meio dos parâmetros de presença de tecido de granulação (proliferação vascular e fibroplasia) tipo e intensidade do infiltrado inflamatório e re-epitelização.

### 3. RESULTADOS EDISCUSSÃO

#### 3.1. Caracterizações

##### 3.1.1. Análise Térmica

As curvas termogravimétricas (TGA) e derivadas (DTG) referentes ao hidrogel de chichá puro e associado ao nerolidol 1 e 2% estão ilustradas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. É possível observar que o nerolidol apresenta uma maior estabilidade térmica comparada aos hidrogéis puro e associados. Até acima dos 100 °C, o nerolidol mantém cerca de 100% de sua massa, iniciando uma perda de massa mais significativa a partir dos 130 °C até 200 °C, com temperatura máxima de decomposição em 192,92 °C, na qual cerca de 85% da massa do material foi degradada. Assim como o nerolidol, o hidrogel de chichá (HC) apresentou apenas um estágio de decomposição, em uma temperatura máxima de decomposição aproximada de 80 °C. A decomposição do HC se dá até cerca de 90°C, isso se explica pelo fato deste material ter em sua matriz 98% de água.

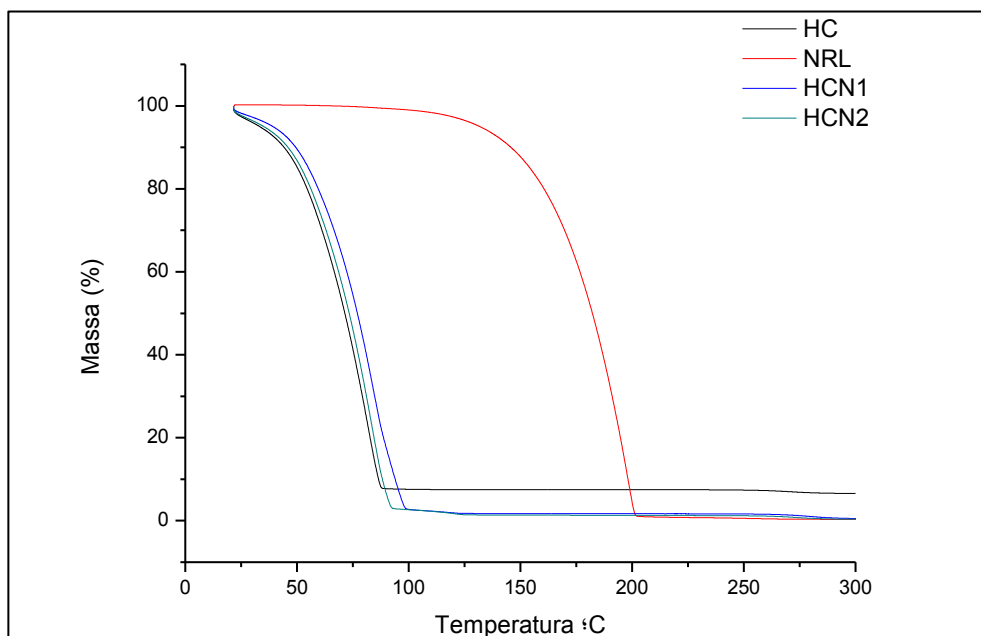


Figura 1 – Curvas de TG do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).

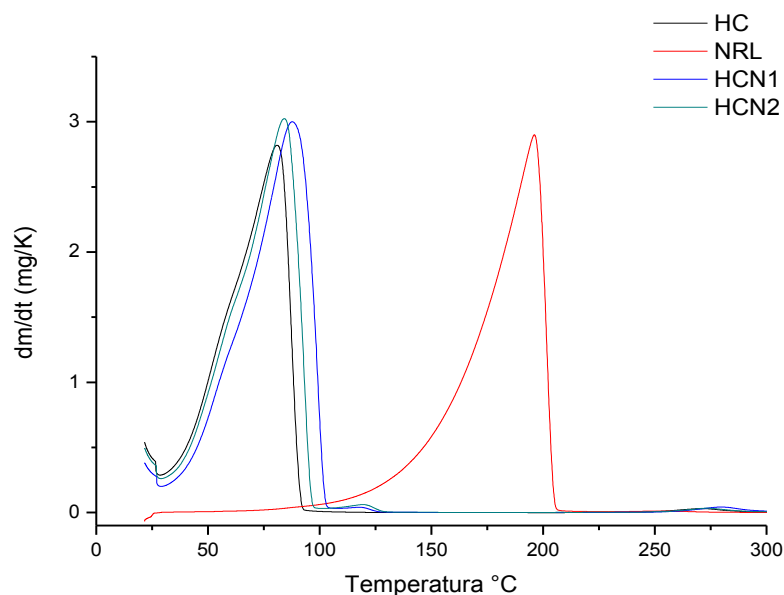


Figura 2 – Curvas de DTG do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).

Os hidrogéis de chichá associados ao nerolidol, HCN1 e HCN2, apresentam dois eventos térmicos, sendo que, o que ocorreu na faixa de 21,61 a 102 °C encontra-se na mesma região do hidrogel de chichá puro. É possível observar um segundo evento discreto na faixa de temperatura de 102 a 128°C para os hidrogéis associados, essa perda de massa indica a presença do nerolidol, o qual é mais estável termicamente do que o chichá. No caso do HCN2, como há maior quantidade de NRL em relação ao HCN1, esse segundo evento ocorre com uma temperatura de decomposição máxima igual a 117,29 e para o HCN1 o evento fica evidenciado a 107,98 °C, sendo a variação de massa de apenas 0,5% (Tabela 1).

Tabela 1 – Faixa de temperatura, temperaturas máximas de decomposição e variação da massa em porcentagem nos estágios 1° e 2° para as amostras de nerolidol (NRL), hidrogel de chichá (HC), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).

Amostra	Faixa de Temperatura (°C)		Temperatura Máxima de Decomposição (°C)		Variação de Massa (%)	
	1°	2°	1°	2°	1°	2°
NRL	90 - 207	-	195,92	-	99,0	-
HC	21,61 - 89,17	-	79,95	-	92,25	-
HCN1	14,27 - 92,84	102,25 -	80,08	107,98	97,16	0,5
		117,29				
HCN2	20,56 - 95,30	100 - 128,7	81,24	117,29	97,31	1,16

### 3.1.2. Espectroscopia na região do Infravermelho

Os espectros de FTIR do hidrogel de chicha (HC), hidrogel de chicha com nerolidol a 1% (HCN1), hidrogel de chicha com nerolidol a 2% (HCN2) e do nerolidol (NRL) encontram-se na Figura 3.

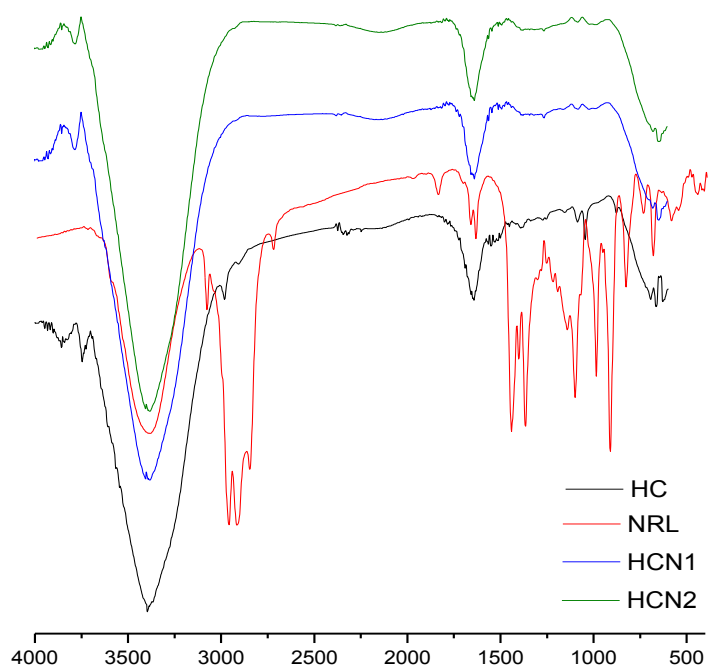


Figura 3 – FTIR do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).

A região de  $1750\text{ cm}^{-1}$ ,  $1630\text{ cm}^{-1}$  e  $1425\text{ cm}^{-1}$  é caracterizada pela presença de grupos carboxílicos, característicos das gomas do gênero *Sterculia*, que são rica em ácido urônicos

(Lenzi et al., 2013). Ainda no hidrogel de chichá, é possível visualizar em 3550- 3100  $\text{cm}^{-1}$  observa-se a presença das bandas de deformação axial de N—H e vibração de estiramento OH das hidroxilas.

O perfil dos hidrogéis derivados mantém-se semelhantes ao do hidrogel de chichá puro, porém é observado um aumento de intensidade nos hidrogéis HCN1 e HCN2 comparado ao chichá e ao nerolidol puro, que são referentes às vibrações de estiramento OH presente em ambos os materiais, indicando as diversas interações existentes na formação do gel com a presença do nerolidol nas bandas referentes a 3100-3550  $\text{cm}^{-1}$  (Silverstein et al., 2013; Boributh, Chanachai & Jiratananon, 2009).

Os hidrogéis associados não apresentaram na região de 2900  $\text{cm}^{-1}$  os grupos metílicos característicos do nerolidol, isso pode ser justificado pela sobreposição dessa bandas devido ao alargamento na região de 3500  $\text{cm}^{-1}$  referente aos grupos hidroxilas presentes nos materiais puros e associados. A região 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$  é marcada pela deformação dos grupos alcenos presentes no nerolidol, por volta de 1400  $\text{cm}^{-1}$  ocorreu uma sobreposição das bandas de alcanos dos grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  presentes no NRL (Ferreira et al. 2016).

### **3.1.3. Propriedades Mecânicas**

A estabilidade física de uma formulação e suas propriedades como coesão e adesividade são parâmetros importantes a serem considerados na fabricação, estocagem e aplicação de produtos de uso tópico. Cada categoria de produto deve assim apresentar um comportamento reológico adequado à aplicação (Leonardi et al., 2001). A coesão expressa à capacidade de estrutura interna de um material de manter-se fortemente interligada com certo nível de resistência contra a ruptura (Lau et al., 2000; Morris et al. 2012) e adesividade exprime a capacidade de um material para aderir a um dado material, isto é, a

força total necessária para separar a sonda da amostra (Huang et al., 2007). Durante o ensaio de textura, a coesão é calculada como a relação da área positiva durante a compressão e ruptura no hidrogel e a adesividade é calculada como a relação da área negativa após a ruptura e aderência do hidrogel.

Em uma análise comparativa entre os hidrogéis HC, HCN1 e HCN2 os maiores valores de coesividade e adesividade foram alcançados pelo HC como é mostrado na Tabela 2 e Figura 3. Esse fato pode ser atribuído à rigidez de redes construídas por dupla ligação cruzada presentes na matriz do hidrogel, quando houve a introdução do nerolidol, essas estruturas tornaram-se mais frágeis e os hidrogéis foram mais facilmente rompidos quando a tensão foi aplicada. Como resultado, a coesão e adesividade dos hidrogéis diminuíram à medida que houve o aumento da concentração de nerolidol tornando o material menos viscoso, o que pode ser atribuído à interação dessa substância ao hidrogel puro, evento anteriormente evidenciado pela TG. Esta diminuição na viscosidade poderá influenciar na liberação, na distribuição do fármaco no local de aplicação, na absorção e, por fim, na atividade terapêutica (Corrêa et al., 2005).

Tabela 2 – Propriedades de textura dos hidrogéis para as amostras de nerolidol (NRL), hidrogel de chichá (HC), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).

<b>Amostra</b>	<b>Área 1 [g*s] (coesividade)</b>	<b>Área 2[g*s] (adesividade)</b>	<b>Força 1[g] (força máxima de</b>	<b>Força 2[g] (força mínima retração)</b>
<b>HC</b>	23,3	-1,8	1,9	-2,9
<b>HCN1</b>	18,9	-1,6	1,9	-1,6
<b>HCN2</b>	19,1	-1,4	1,9	-1,4

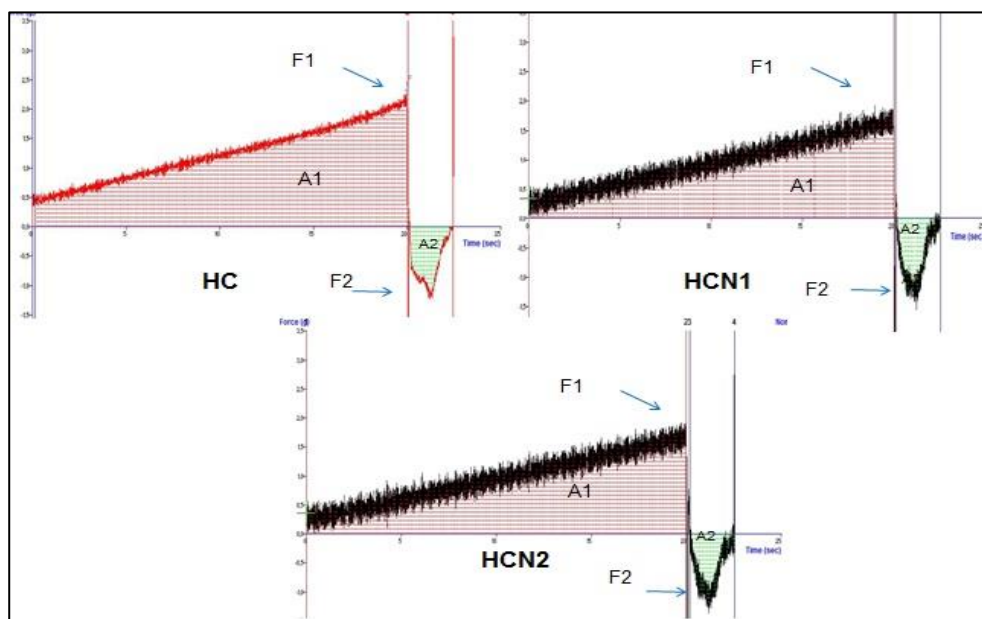


Figura 4 – Análise de textura dos hidrogéis. A1(Área 1), A2(Área 2), F1(Força 1), F2 (Força 2) do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel chichá com 2% de nerolidol (HCN2).

### 3.2. Toxicidade Frente a *Artemia salina*

O método utilizando de *Artemia salina* foi proposto por Meyer et al. (1982) como um bioensaio simples para determinação da dose letal mediana(DL<sub>50</sub>) das substâncias testadas. Náuplios de *Artemia salina* são usados como um indicador biológico da toxicidade porque são alimentadores de filtro obrigatório não-seletivos quais filtram quaisquer detritos presentes e/ou dissolvidos na água. A toxicidade para este crustáceo tem demonstrado uma boa correlação com a atividade citotóxica contra tumores humanos (Mclaughlin et al.1991)

Resultados de DL<sub>50</sub> menores que 100 µg/mL apontam como sendo o produto como sendo altamente tóxico, entre 100 a 500 µg/mL indica uma toxicidade moderada, entre 500 a 1000 µg/mL baixa toxicidade e acima de 1000 µg. mL representa uma amostra atóxica (Meyer et al. 1982).Os resultados para o ensaio de toxicidade são mostrados na

Tabela 3, e verifica-se que a DL<sub>50</sub> para *A. salina* encontrada para o HC foi >1000 µg/mL, o que indica que essa amostra não é tóxica. No entanto, para o NRL e HCN a DL<sub>50</sub> foi de 100 µg/mL sendo considerados moderadamente tóxicas de acordo com a classificação citada acima.

Neto et al. (2012) em seus estudos de toxicidade utilizando outro modelo de experimentação aguda em camundongos sugere que o nerolidol apresenta um valor de DL<sub>50</sub> elevado, sendo considerado moderadamente tóxico quando administrado em altas doses. Ainda segundo os autores, na maior dose testada (75 mg/kg) de nerolidol foi possível verificar efeitos sedativos e ansiolíticos, porém, não houve atividade relaxante muscular.

O uso do nerolidol associado a matrizes poliméricas mostra-se promissor, em estudos feitos por Ferreira et al. (2016) o nerolidol associado à quitosana mostrou um potencial farmacológico na cicatrização de ferimentos cutâneos em camundongos.

Tabela 3 – Toxicidade frente à *Artemia salina* dos hidrogéis para as amostras de nerolidol (NRL), hidrogel de chichá (HC), hidrogel de chichá de nerolidol (HCN).

Mortalidade (%)				
Concentração (µg/mL)				
Amostras	1000	100	10	1
NRL	100	100	0	0
HC	0	0	0	0
HCN	100	100	0	0

Amarante et al. (2011) em seus estudos de toxicidade frente a *A. salina* com a espécie *Montrichardia linifera* verificou que na fração diclorometânica que apresentou alta toxicidade contra *A. Salina* (DL<sub>50</sub><31µg/mL) foi a que melhor demonstrou atividade antiplasmódica, mostrando-se promissora na atividade antimalárica e que em geral, extratos de plantas e derivados com alta toxicidade contra a *A. salina* sugerem



alto potencial para atividades biológicas, sendo muito útil à utilização deste bioensaio, no direcionamento de estudos fitoquímicos, na busca de substâncias bioativas.

### 3.3. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

#### 3.3.1. Teste de Microdiluição em caldo com o hidrogel puro e associado ao nerolidol

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo e os resultados são apresentados na Tabela 4. Para *S.aureus* o NRL apresentou uma CIM de 156,25 µg/mL, sendo esse mesmo resultado mantido para o HCN, o qual é proveniente da associação do HC com NRL, comprovando assim a eficiência na produção do hidrogel associado, uma vez que para o HC não é observada inibição na maior concentração testada (15.000µg/mL).

Os materiais HC, NRL e HCN não apresentam efeito inibitório frente a *E.coli* nas concentrações testadas, o que pode ser explicado pelo fato de que a membrana externa das bactérias Gram negativas é conhecida por apresentar uma barreira à penetração de determinadas moléculas; o espaço Peri plasmático contém enzimas, as quais são capazes de quebrar moléculas estranhas introduzidas nesse espaço (Sartori et al. 2003).

Tabela 4 - Concentração inibitória mínima do hidrogel de chichá (HC), nerolidol (NRL) e hidrogel de chichá com nerolidol (HCN) para *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923) e *Escherichia coli* (ATCC 10536).

CIM(µg/mL)		
Amostras	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
HC	≥15.000	≥15.000
NRL	156,25	≥10.000
HCN	156,25	≥10.000

Assim atividade antibacteriana do NRL é resultante provavelmente da capacidade dessa substância em aumentar a permeabilidade da membrana plasmática da bactéria (Brehm-Stecher & Johnson, 2003).

Ao estudar a atividade antimicrobiana do nerolidol contra hifas de *Trichophyton mentagrophytes*, Park et al., (2009) verificaram que o mesmo apresentou um efeito inibitório e propuseram que a atividade pode ser devida a ruptura celular irreversível. Observaram também interações morfológicas na ultraestrutura do fungo, as quais foram comprovadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão microscopia (MET). Assim, os mesmos sugerem autores possíveis aplicações em campos médicos e cosméticos como um ingrediente antifúngico.

### 3.3.2. Teste de contato direto com o hidrogel puro e associado ao nerolidol

Na Tabela 5e nas Figuras 4 e 5 encontram-se apresentados os resultados da atividade antibacteriana para o teste de contato direto do hidrogel de chichá puro (HC), nerolidol a 1% (NRL1), nerolidol a 2% (NRL2), hidrogel de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e hidrogel de chichá com 2% de nerolidol (HCN2) frente às espécies *S. Aureus* e *E.coli*.

Tabela4 - Atividade antibacteriana do HC, NRL1, NRL2, HCN1 e HCN2, frente *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923) e *Escherichia coli* (ATCC 10536).

Efeito inibitório (%)		
Amostra	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
NRL1	40,1 ± 4,2	19,2 ± 3,5
NRL2	56,4 ± 3,5	29,1 ± 5,3
HC	36,6 ± 7,3	32 ± 3,2
HCN1	66,6 ± 3,9	24 ± 3,1

O HC exibiu um efeito antibacteriano de 36,6%, o NRL1 exibiu um efeito antibacteriano de 40,1% e para o NRL2 observou-se um efeito inibitório de 56,4% contra cepa de *S. aureus*. Após a associação dos materiais e formação dos hidrogéis de chichá com 1% de nerolidol (HCN1) e de chichá com 2% de nerolidol (HCN2), nota-se um aumento no efeito inibitório destes materiais de 26,5 % para o HCN1 e de 27,2% para o HCN2 em relação ao nerolidol puro (Figura 4).

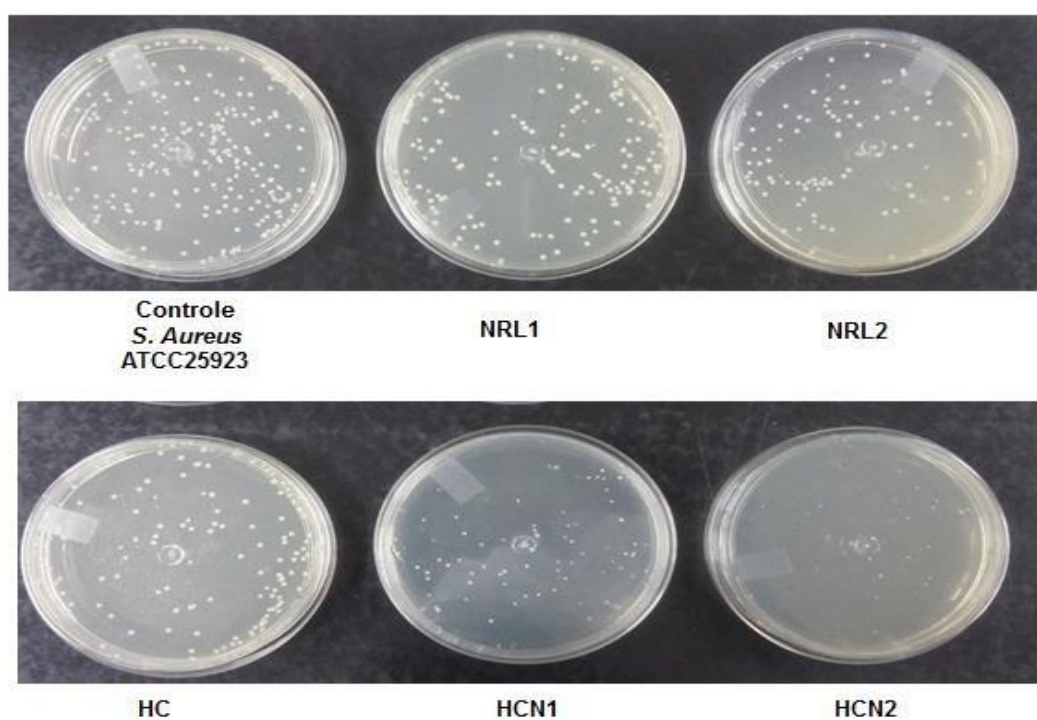


Figura 5- Teste do contato direto para HC, NRL1, NRL2, HCN1 e HCN2, frente *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923).

Contra a *E.coli* do HC, NRL1 e NRL2, exibiram um efeito inibitório, assim como para a *S. aureus*. Após a associação dos materiais e formação dos hidrogéis HCN1 e HCN2, nota-se um aumento no efeito inibitório destes materiais de aproximadamente 5,0 % para o HCN1 e de -9,0 % para o HCN2 (Figura 5).

A incorporação do nerolidol no HC, confirmado pelo TG e DTG, melhorou a atividade antibacteriana comparado ao nerolidol e hidrogel de chichá puros, contra as cepas testadas, sendo observado o sinergismo entre as propriedades do nerolidol e hidrogel de chichá.

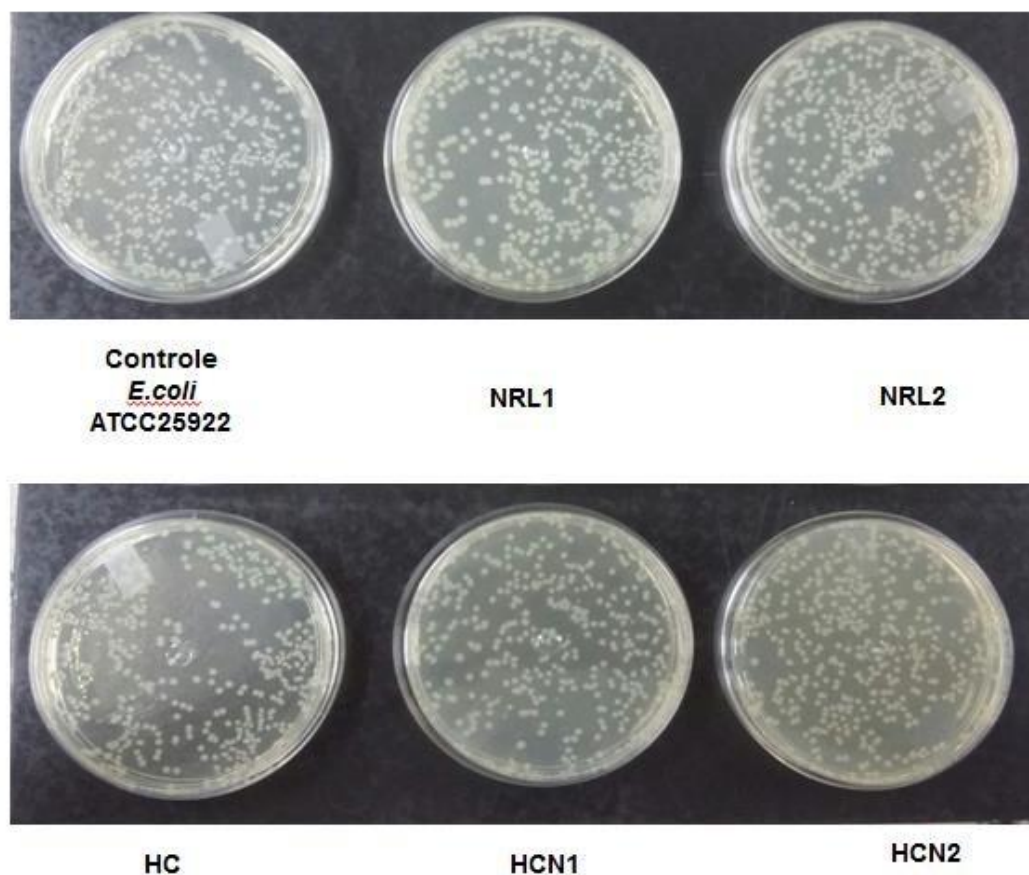


Figura 6- Teste do contato direto para HC, NRL1, NRL2, HCN1e HCN2, frente.

*Escherichia coli* (ATCC 25.922).

Estudos sobre o mecanismo de ação antimicrobiana de gomas naturais mostram que há um aumento na rugosidade e diminuição do tamanho celular causando ruptura, levando à lise celular e consequente liberação do conteúdo intracelular (Campos *et al.* 2012). A atividade antimicrobiana do nerolidol está relacionada ao seu caráter hidrofóbico, as caudas de hidrocarbonetos e aos grupos álcoois, os quais podem alterar as

funções da membrana celular da bactéria permitindo a ação de agentes antibacterianos e potencializando a permeação de drogas na forma transdérmica (Brehm-Stecher & Johnson, 2003).

Por não possuírem uma barreira adicional de permeabilidade na parede celular a eficiência na inibição do crescimento de colônias nos testes de contato direto a atividade antibacteriana são maiores frente a *S. aureus*. Bactérias Gram-negativas são menos sensíveis a substâncias hidrofóbicas, como o nerolidol, que bactérias Gram-positivas, pois a parede celular das Gram-negativas é rica em polissacarídeos o que inibe a penetração das substâncias antimicrobianas (BURT, 2004).

Ferreira et al. (2016), ao promover a associação do hidrogel de quitosana com nerolidol, verificou maior efeito inibitório dos materiais associados em relação aos materiais isoladamente contra a *Staphylococcus aureus*. Esses dados corroboram com os resultados aqui expostos, pois o hidrogel de chichá demonstrou possuir atividade antibacteriana contra cepas de bactérias Gram-positivas e, após associação com nerolidol, essa ação foi melhorada, provavelmente devido o nerolidol ser uma substância hidrofóbica, o que possibilitou a melhor aderência das gomas à parede celular bacteriana. Entretanto, mais estudos são necessários para o entendimento exato do mecanismo de ação antibacteriana destes derivados.

### 3.3 ENSAIOS DE CICATRIZAÇÃO

Um curativo produzido a partir de um de hidrogel apresenta boas características por conferir ao ferimento um ambiente úmido, com capacidade de absorver exsudatos de tecido, permitir que o oxigênio permeie e diminua a temperatura da superfície da ferida, levando ao alívio da dor para os pacientes (Dong et al., 2014, Gong et al. 2013).

A cicatrização da ferida é conseguida através de quatro fases, nomeadamente

hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação sendo um processo dinâmico que envolve ação coordenada de populações de células residentes e migratórias dentro da matriz extracelular e das citocinas acompanhantes (Thomas et al., 1994, Guo et al 2010).

A hemostasia é um processo que inclui processos rigorosamente regulados de coagulação sanguínea, ativação plaquetária e reparo vascular.

O sistema hemostático engata uma multiplicidade de receptores vasculares e extra vasculares que atuam em conjunto com os componentes sanguíneos para selar uma ferida no sistema vascular. A coagulação desempenha um papel importante no processo de hemostasia (Bowman et al., 2011, Chatterjee et al., 2013, Emes et al., 2014).

Desta forma, os hidrogéis à base de polissacarídeos, como a goma do chichá são atrativos para serem utilizados como agentes cicatrizantes, especialmente por serem biocompatíveis e antimicrobianos, além disso, nas plantas, quando elas sofrem algum tipo de injúria, o exsudado, que dá origem à goma do chichá, atua como agente de cura e proteção. Assim, investigou-se neste trabalho o potencial uso da goma do chichá na forma de hidrogel para cicatrização de ferimentos, tanto na forma pura quanto associada ao nerolidol a 2%.

### **3.6.1 Análise Macroscópica dos Ferimentos**

Na Figura 6 estão às imagens macroscópicas dos ferimentos cutâneos em camundongos tratados com soro fisiológico (SF), hidrogel de chichá (HC) e hidrogel de chichá com nerolidol a 2% (HCN2). A concentração de nerolidol foi escolhida com base em resultados reportados na literatura, conforme descrito por Ferreira et al. (2016), concentrações superiores a 2% podem desencadear processos inflamatórios. Além disso, pelos resultados de atividade antibacteriana citados anteriormente, a concentração de 2%

de nerolidol mostrou-se mais eficiente do que o hidrogel de chichá com nerolidol a 1%

tanto para bactérias Gram-positivas quanto para Gram-negativas.
















DIA / GRUPO	1°	3°	7°	14°	21°
GRUPO I					
GRUPO II					
GRUPO III					

Figura 7 – Análise macroscópica das lesões cutâneas em camundongos nos dias 1, 3, 7, 14 e 21 de tratamento com: Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel de chichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol(HCN2).

A evolução macroscópica dos ferimentos apresentou uma boa retração do tamanho da lesão, e crescimento de pelo normal para os grupos I e II já a partir do 14° dia, e para o Grupo III, apenas no 21° dia. No terceiro dia foi verificada a presença de hemorragia e secreções nos três grupos, sendo que o Grupo III, tratado com hidrogel de chichá com nerolidol a 2% foi observada secreção purulenta em alguns animais, esses eventos podem prejudicar a recuperação da ferida e evidenciam a presença de infecções no ferimento (Zhu et al., 2017).

No 7° dia é possível visualizar que em todos os grupos houve a formação da crosta, o que contribui para proliferação de células (Silva et al., 2013). No 14° dia de tratamento todos os grupos mostraram que as lesões estavam totalmente fechadas, indicando que um

processo conhecido por acantose, às células da epiderme proliferando pra tentar fechar a borda da ferida, estava ocorrendo com sucesso, no entanto esse processo só pode ser confirmado pelas análises histológicas (Trancoso et al., 2016).

A evolução do diâmetro da lesão provocado nos camundongos durante 21 dias de tratamento pode ser acompanhado na Figura 7. Observa-se que para os grupos I e III no terceiro dia houve um aumento no tamanho das feridas, isso é esperado, pois nesse tempo há um intenso processo inflamatório que irá delimitar o tamanho da ferida (Histing et al., 2016), já para o III tratado com HCN2 o diâmetro permaneceu igual a 0,6 cm como no primeiro dia.

No 7º dia, todos os grupos mostraram retração da ferida, mas apenas o Grupo III, tratado com hidrogel de chichá associado ao nerolidol a 2% apresentou um menor diâmetro comparado ao primeiro dia, demonstrando ter maior capacidade em diminuir a área lesionada em menos tempo. A partir do 14º dia, todas as feridas estavam fechadas, portanto, com zero diâmetro de lesão. Isso auxilia no processo cicatricial, pois impede a entrada de microrganismos que poderiam provocar infecções, mas também pode ser prejudicial se houverem focos inflamatórios no interior da lesão (Histing et al., 2016).



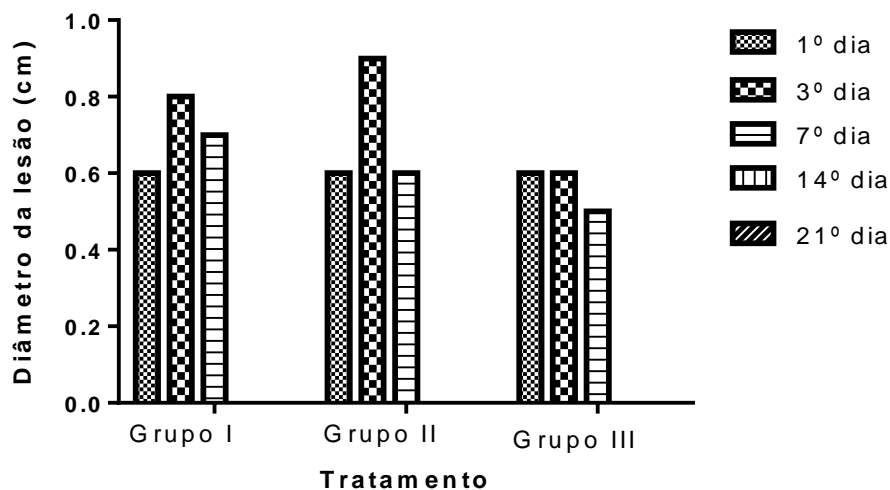


Figura 8 – Evolução do diâmetro da lesão cutânea em camundongos os dia 1, 3, 7, 14 e 21 de tratamento com: Grupo I - Soro Fisiológico (SF); Grupo II - Hidrogel de chichá (HC); e Grupo III - Hidrogel de Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).

### 3.6.2 Análise Histológica dos Ferimentos

A amostra de pele do primeiro dia foi analisada para mostrar o tecido íntegro. Na Figura 9 é possível observar o tecido com epitélio estratificado pavimento queratinizado, glândulas sebáceas, o bulbo capilar, presença de fibras colágenas, tecido adiposo e a musculatura do animal.

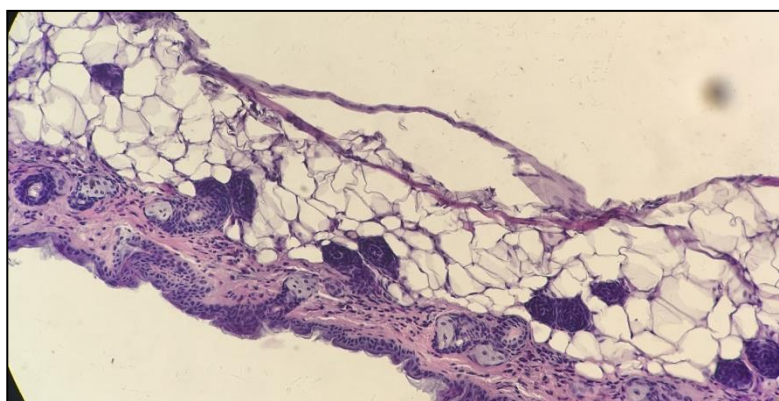


Figura 9 – Avaliação histológica da pele no 1º dia de tratamento.

A Figura 10 mostra os resultados para o 3º dia de tratamento com todos os grupos. No Grupo I, tratado com soro fisiológico (grupo controle), é possível observar a presença de um

infiltrado inflamatório, macrófago, coágulo, neutrófilo degenerado, o qual tem a função de retirar o coágulo e com isso estimular a formação de um novo tecido, o tecido cicatricial. Essas observações se confirmam pelo exsudato purulento, visualizado macroscopicamente, e que se caracteriza microscopicamente pela presença de tecido morto e neutrófilo degenerado (Trancoso et al., 2016).

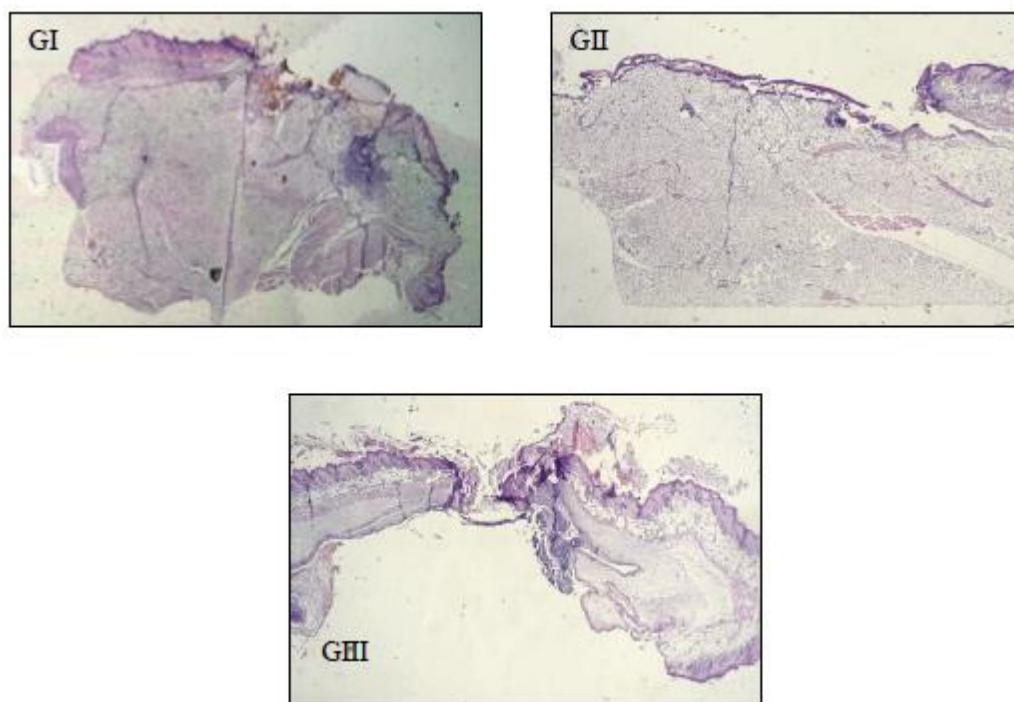


Figura 10 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 3º dia de tratamento com Soro Fisiológico (SF), Hidrogel do Chichá (HC), Hidrogel do Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).

No Grupo I após três dias de tratamento ainda não há formação de tecido cicatricial, os vasos sanguíneos estão congestionados, com hemorragia, há ainda a presença de muitas células inflamatórias migrando para a região da ferida. A presença do exsudato purulento indica uma infecção, uma infecção bacteriana impede a formação de um novo tecido, atrasando a cicatrização. (Duffy & Power, 2001; Ostrosky et al., 2008).

Ainda na Figura 10 verifica-se que para o Grupo tratado com hidrogel de chicha (HC), o Grupo II, apresenta um processo inflamatório menos intenso do que o Grupo I, sem a

presença de úlcera e coágulo. Há alguns focos inflamatórios, com agregados celulares multifocais, mas sem a presença de colônia bacteriana, os neutrófilos presentes estão concentrados na porção mais anterior ao corte, com menos inflamação nas porções profundas da pele e pouca inflamação do tecido subcutâneo.

O grupo III, tratado com hidrogel de chicha associado à nerolidol a 2% (HCN2), apresentou uma concentração intermediária de células, tem mais infiltrado e restos celulares do que o grupo II há a presença de coágulo e colônia bacteriana, o que indica que o HCN2 ainda não foi capaz de impedir uma infecção secundária, no entanto, é menos intenso do que o grupo I, pois neste caso não foi observado exudato purulento. É possível observar também para o grupo II, a presença de neutrófilo, a remoção de tecido morto por meio dos macrófagos, que ao mesmo tempo em que realizam a fagocitose, liberam fator de crescimento dos fibroblastos (Zhao et al., 2017).

No 7º dia de tratamento está ocorrendo em todos os grupos, o processo de acantose, no qual as células da epiderme começam a proliferar pra tentar fechar a borda da ferida, há também vasos neoformados que permitirão o crescimento do tecido, portanto, há uma intensa angiogênese, que irá auxiliar na proliferação celular. Foi observado um espessamento da epiderme, proliferando no sentido da ferida (Zhao et al., 2017. Na et al., 2017) (Figura 11).

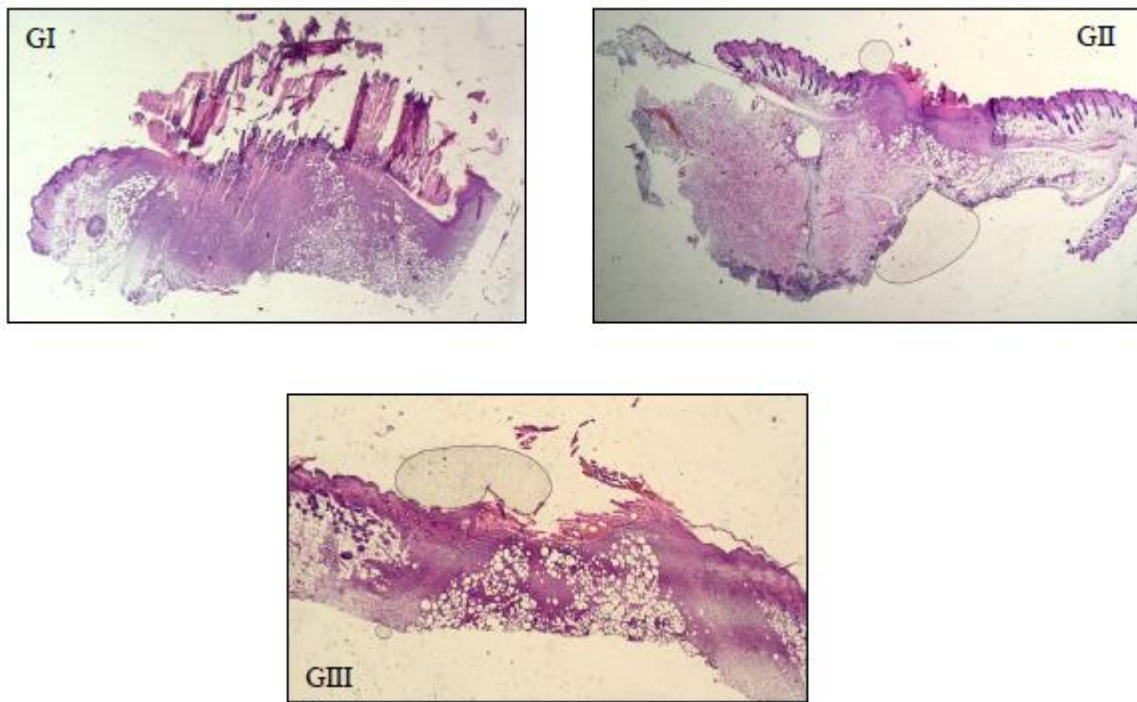


Figura 11 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 7º dia de tratamento com Soro Fisiológico (SF), Hidrogel do Chichá (HC), Hidrogel do Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).

Há a proliferação de fibroblasto nos três grupos, com presença de hemácias mais intensa no Grupo I, neste grupo também foi verificado células mononucleares, neutrófilos e macrófagos, ainda tem fibrina e restos celulares.

Em ambos os grupos não há presença de colônia bacteriana, não tem pus, e no grupo tratado com soro fisiológico é possível verificar que a úlcera está sendo retirada, há presença de crosta, que é um coágulo desidratado, mas ainda há infiltrado inflamatório, caracterizado pela presença de monócitos (Marei et al, 2017; Chen et al., 2013).

A Figura 12 traz as análises histopatológicas dos grupos controle e experimental no 14º dia de tratamento. Para o Grupo I, a análise revelou a presença de uma delgada camada de re-epitelização parcial da epiderme na região da antiga ferida, além de área extensa de colagenização na junção derme epidérmica (fibras colágenas não individualizadas), com infiltrado de células mononucleares e fibroblastos, e diminuição no número de vasos

neoformados (Zhao et al., 2017; Marei et al., 2017).

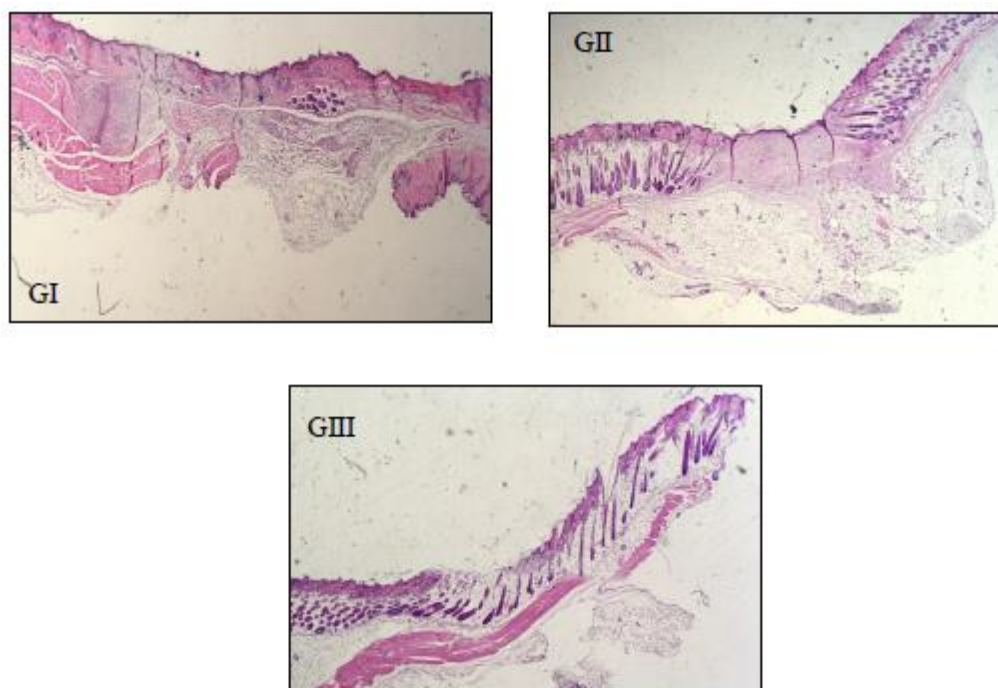


Figura 12 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 14<sup>o</sup> dia de tratamento com Soro Fisiológico (SF), Hidrogel do Chichá (HC), Hidrogel do Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).

O Grupo II apresentou, já no 14<sup>o</sup> dia, uma re-epitelização completa do tecido, com a presença de tecidos colagenosos. A granulação passou pelo processo de re-epitelização onde a maioria dos fibroblastos estão na posição horizontal da ferida, promovendo o processo de maturação e contração do tecido, com maior quantidade de queratina, vasos neoformados e pouca quantidade de hemácias.

Já o grupo III, apesar de ter tido uma re-epitelização completa, ainda havia a presença de infiltrado inflamatório mononuclear, vasos sanguíneos, e também atrofia do folículo piloso que por conta da lesão está se degenerando. Foi observado fibroblastos tanto na posição horizontal como vertical. Em comparação o grupo II o tecido mostra-se mais imaturo, devido à contaminação. Uma vez que a contaminação bacteriana atrasa o processo cicatricial observando assim que o HCN2 não impediu a infecção bacteriana.

Na Figura 13 estão às análises do 21º dia de tratamento, o Grupo I, no último dia de tratamento apresentou a re-epitelização completa da epiderme, com grande área de deposição colagênica na junção derme epidérmica. Presença de área focal de estrato necrose subcutânea e com calcificação. Ainda foi observado moderado infiltrado inflamatório mononuclear e hiperplasia de fibroblastos, além de ter sido visualizado característica histológica de baixa contração da ferida (Zhao et al., 2017; Na et al., 2017).

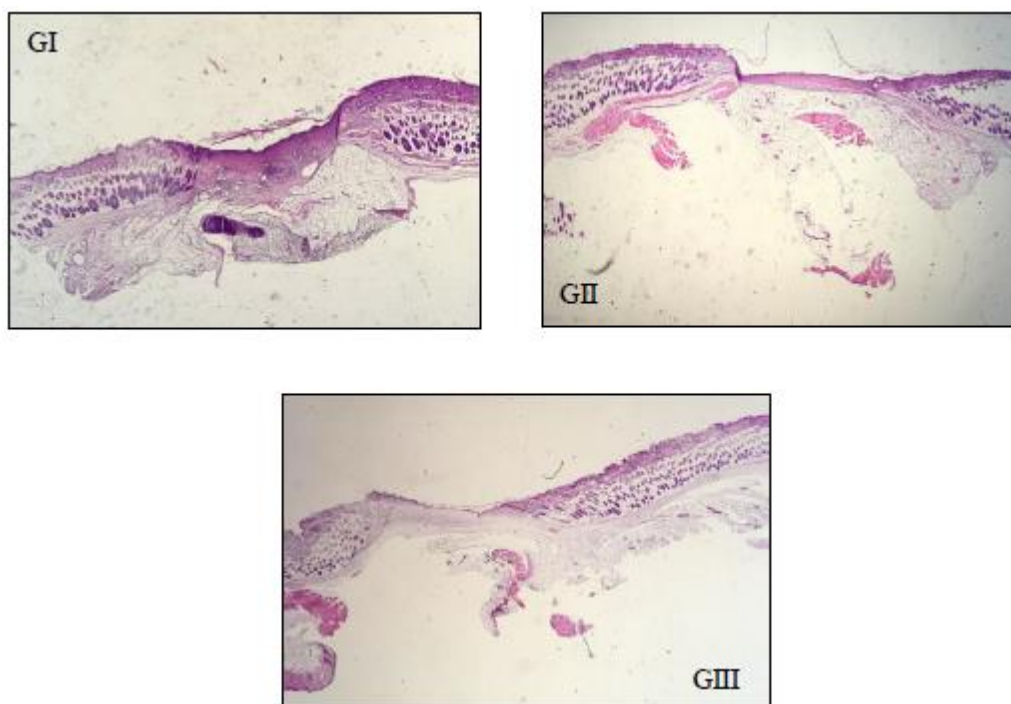


Figura 13 – Avaliação histológica lesão cutânea em camundongos no 21º dia de tratamento com Soro Fisiológico (SF), Hidrogel do Chichá (HC), Hidrogel do Chichá com 2% de Nerolidol (HCN2).

Como já era esperado, o Grupo II apresentou completa re-epitelização da epiderme, que já havia sido observado desde o 14º dia de tratamento. Foi observado tecido de granulação maduro na junção derme epidérmica e pouca presença de células mononucleares na área da ferida. O Grupo III, também apresentou re-epitelização completa da epiderme, com deposição colágena na interface derme epidérmica, além da presença de células mononucleares, hiperplasia fibrobástica e pequena área focal de estrato necrose em

adipócitos do tecido subcutâneo (Azad et al., 2004, . Chen et al., 2013; Du et al., 2012).

#### 4. CONCLUSÃO

A síntese dos materiais foi realizada de maneira simples e eficiente, a técnica de caracterização comprovou a presença do nerolidol nos hidrogéis de chichá, como pode ser verificado nos perfis de degradação térmica. As análises de textura mostram que as características de adesividade e coesividade dos hidrogéis diminuíram à medida que houve o aumento da concentração de nerolidol tornando o material menos coesivo e adesivo, o que pode ser atribuído a interação dessa substância ao hidrogel puro.

Embora o teste de toxicidade tenha mostrado perfil moderadamente tóxico do nerolidol, os testes antimicrobianos mostram que o hidrogel de chichá associado ao nerolidol possuem atividade inibitória contra a *S. aureuse E. coli*, sendo viável seu uso como agente antimicrobiano, Os resultados do teste de cicatrização mostram que houve melhorias no processo de cicatrização sendo o HC com melhores resultados mostrando-se um material de fácil e baixo custo de produção, o que o torna atraente tanto economicamente, como para aplicações biomédicas.



## 5. REFERÊNCIAS

Amarante, C. B; Muller, A. H; Póvoa, M. M; Dolabela, M. F; (2011). Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*), *Acta Amazonica*, 41(3), 431-434.

Arruda, D; D'Alexandri, F; Katzin, A; Uliana, S; (2005). Antileishmanial activity of the terpene Nerolidol. *Antimicrob Agents, Chemother*, 49, 1679–1687.

Azad, A. K.; Sermsintham, N.; Chandkrachang, S. e Stevens, W. F. (2004). Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application. *Journal Biomeicined Material Researche B Applied Biomaterials*, 69 (2), 22-216.

Bakkali, F. A. B; Averbeck, S.A; Averbeck, D. A; Idaomar , M. B; (2008). Biological effects of essential oils –A review, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.

Berger, J; Reist, M; Mayer, J. M; Felt, O; Peppas, N.A; Gurny, R; (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57(1), 19-34.

Boributh, Somnuk; Chanachai, Ampai e Jiraratananon, Ratana (2009). Modification of PVDF membrane by chitosan solution for reducing protein fouling. *Journal of Membrane Science*, 342, 97-104.

Brehm-Stecher, B. F; Johnson, E.A; (2003). Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to Antibiotics by the Sesquiterpenoids Nerolidol, Farnesol, Bisabolol, and Apritone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(10), 3357–3360.

Brito, A. C. F; Silva, D.A; Paula, R. C. M; Feitosa, J. P.A; (2004). *Sterculia striata* exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with *Sterculia urens* (karaya) polysaccharide, *Polymer International*, 53, 1025– 1032.

Burt, S; (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.

Campos, D. A; Ribeiro, A. C; Costa, E. M; Fernandes, J. C; Tavarina, F. K; Araruna, F. B; Eiras, C; Eaton, P; Leite, J. R. S. A; Pintado, M. M; (2012). Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum, *Carbohydrate Polymers*, 90, 270-274.

Corrêa, N. M; Camargo Júnior, F. B; Ignácio, R. F; Leonardi, G. R; (2005). Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis Hidrofílicos, *Revista Brasileira de Ciencia Farmaceutica*, 41(1), 73-8.

Costa, S. M. O; Rodrigues, J. F; Paula, R. C. M; (1996). Monitorização do processo de purificação de gomas naturais: Goma de cajueiro, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2, 49– 55.

Costa, E. V; Pinheiro, M. L. B; Silva, J. R. A; Maia, B. H. L. N. S; Duarte, M. C. T; Amaral, A. C. F; Machado, G. M. C; Leon, L. L; (2009). Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae), *Química Nova*, 32(1), 78-81.

Curvelo, J. A. R; Marques A. M; Barreto, A. L. S; Romanos, M. T. V; Portela, M. B;

Kaplan, M. A. C; Soares, R. M. A;(2014). A novel nerolidol-rich essential oil from *Piper claussonianum* modulates *Candida albicans* biofilm,*J Med Microbiol*, 63, 697–702.

Ding, F;Nie, Z; Deng, H; Xiao, L; Du, Y; Shi, X; (2013). Antibacterial hydrogel coating by electrophoretic co-deposition of chitosan alkynyl chitosan, *Carbohydrate Polymers*, 98, 1547– 1552.

Du, Lina; Tong, Li; Jin, Yiguang; Jia, Junwei; Liu, Yangpu; Su, Chang; Yu, Shanjiang e Li, Xin (2012). A multifunctional in situ-forming hydrogel for wound healing. *Wound Repair and Regeneration*,20, 904–910.

Ferreira, M. O. G;Leite, L. L. R; Lima, I. S;Barreto, H. M; Nunes, L. C. C; Ribeiro, A. B; Osajima, J. A; Filho, E. C. S; (2016).Chitosan hydrogel in combination with nerolidol for healing wounds,*Carbohydrate polymers*, 152,408-418.

Fumagali, E; Gonçalves, R. A. C; Machado, M. de F. P. S; Vidoti, G. J; Oliveira, A. J. B; (1996). Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*,*Revista brasileira Farmacognosia*,18, 4.

Genebra.(1997)International organization for standardization, Aromatic natural raw materials- Vocabulary.ISO 9235:1997.

Gonçalves, L. A; Barbosa, L. C. A; Azevedo, A. A;Casali, V. W. D;Nascimento, E. A; (2003).Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar,*Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 6, 8-14.

Harada, K; Asai, T; (2010).Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors

on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food-producing animals in Japan, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1, (12), 1-12.

Hsieh, K. -H. (2013). Assessment of reinforced poly(ethylene glycol) chitosanhydrogel as dressings in a mouse skin wound defect model. *Materials Science and Engineering C*, 33(5), 2584-2594.

Holetz, F.B; (2002) Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, 1027-1031.

Huang, M; Kennedy, J. F; Li, B; Xu, X; Xie, B. J; (2007). Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan, and gluco- mannan: a texture profile analysis study, *Carbohydrate Polymer*, 69, 411–418.

Javadpour, M. M; Juban, M. M; LO, W. C; Bishop, S. M; Alberty, J. B; (1996). the new antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity, *Journal Medicinal Chemical*, 39, 3107-3131.

Lau, M.H., Tang, J., Paulson, A.T., (2000). Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels, *Food Res. Int.* 33, 665–671.

Lenzi, R. M., Campestrini, L. H., Okumura, L. M., Bertol, G., Kaiser, S., Ortega, G. G., Gomes, E. M., Bovo, F., Zawadzki-Baggio, S. F., Stevan-Hancke, F. R., & Maurer, J. B. B. (2013). Effects of aqueous fractions of *Uncaria tomentosa* (Willd.) D. C. on macrophage

modulatory activities. *Food Research International*, 53, 767-779.

Leonardi, G. R; Maia Campos, P. M. B. G; (2001).Estabilidade de formulações cosméticas. *Int. J. Pharm. Compounding*, 3, 54-156.

Lorenzi, H; Bacher, L; Lacerda, M; Sartori, S; (2006). Frutas brasileiras e exóticas cultivadas, Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda. Brasil.

Kaewpirom, S; Boonsang, S; (2006). Electrical response characterisation of poly(ethylene glycol) macromer (PEGM)/chitosan hydrogels in NaCl solution,*European Polymer Journal*, 42,1609-1616.

Koudou, J; Abena, A. A; Ngaissona, P; Bessiére, J. M. (2005). Chemical composition and pharmacological activity of essential oil of *Canarium schweinfurthii*, *Fitoterapia*, 76 (7-8), 700-713.

Maha, N; Chalat, C; Muhamud, P; (2011).Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-sugar complex.*International Food Research Journal*, 8(4), 1543-1551.

Magalhães Jr, G. A; Neto, E. M; Sombra, V. G; Richter, A. R; Abreu, C. M. W, S; Feitosa, J. P. A; Paula, H. C. B; Goycoolea, F. M; De Paula, R. C. M; (2016).Chitosan/*Sterculia striata* polysaccharides nanocomplex as a potential chloroquine drug release device.*International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 244–25.

Marei, N. H; El-Mazny, W; El-Shaer, A; Zaki, K. D; Hussein, Z. S; M. Abd-El-Sami, E 2017, Enhanced wound healing activity of desert locust (*Schistocerca gregaria*) vs. shrimp (*Penaeus monodon*) chitosan based scaffolds, *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 23-33.

Marques, A. M; Barreto, A. L; Batista, E. M; Curvelo, J. A; Velozo, L. S; Moreira, D. L; Guimarães, E. F; Soares, R. M; Kaplan, M. A; (2010). Chemistry and biological activity of essential oils from *Piper claussonianum* (Piperaceae). *Natural Product Communications*, 5(11), 1837-1840.

Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnan, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; Mcl. Aughlin, J.; (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*, 45, 31-34.

Morris, E. R; Nishinari, K; Rinaudo, M; (2012). Gelation of gellan – A review. *Food Hydrocoll*, 28, 373–411.

Mclaughlin, J. I; Chang, C. J; Smith, D. I; (1991). Bench-top bioassays for the discovery of bioactive natural products, *Studies in Natural Product Chemistry*, 9, 383- 409.

Na, Y. K; Jae, J. B.; Lee M; Im, W; Kim, M. 2017, Wound healing potential of adipose tissue stem cell extract, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 25, 30-34.

Neto, J. D. N; Almeida, A. A. C; Silva, O. A; Carvalho, R. B. F; Sousa, D. P; Freitas, R. M; (2012). Avaliação da toxicidade aguda e das propriedades ansiolíticas do nerolidol em camundongos, *Biofar, revista de biologia e farmácia*, 08, 42- 56.

Nogueira, J. D. N; Sousa, D. P.; Freitas, R. M; (2013). Avaliação do potencial antioxidante in vitro do nerolidol. *Revista de Ciências Farmacêutica Básica Aplicada*, 34(1), 125-130.

Nccls. 2003. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 6th ed, NCCLS document M7-A6. Wayne: NCCLS.

Otto, M; (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection is associated with increased mortality, *Future Microbiology*,7,189-191.

Paula, H. C. B; Oliveira, E. F; Carneiro, M.J. M; Paula,R. C. M; (2016).Matrix Effect on the Spray Drying Nanoencapsulationof Lippia sidoides Essential Oil in Chitosan-Native GumBlends,*Planta Medica*, 16, 1387-1445.

Pacifico, S; D'Abrosca, B; Golino, A; Mastellone, C; Piccolella, S; Fiorentino, A; Monaco, P; (2008). Antioxidant evaluation of polyhydroxylatednerolidols from redrootpigweed (*Amaranthusretroflexus*) leaves. *LWT – Food Science and Technology*,41(9), 1665–1671

Park, M. J; Gwaka, K. S; Yang, I; Kim, K. W; Jeungd, E. B; Chang, J. W; (2009).Effect of citral, eugenol, nerolidol and  $\alpha$ -terpineol on the ultra structuralchanges of Trichophyton metagrophytes,*Fitoterapia*, 80,290–296.

Pereira, M.S. V; Siqueira, J. P;Júnior takaki, G. M. C; (2004). Elimination of resistance to drugs by fluoroquinolones in bovine strains of *Staphylococcus aureus*.*Pesquisa Vet Brasil*,24,11-14.

Pourakbari, B; Mamishi, S; Mashoori, N; Mahboobi, N; Ashtiani, M.H; Afsharpaiman, S; Abedini, M; (2010). Frequency and antimicrobial susceptibility of *Shigella* species isolated in children medical Center hospital, Tehran, Iran.*Braz. J. Infect. Dis*, 14, 153- 157.

Sartori, M. R. K; Pretto, J. B;Cruz, A. B;Bresciani, L. F;Yunes,R. A;Sortino,M;Zacchino, S. A; (2003).Cechinel VFAntifungal achvity of fracthons and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmeta brasfliensis*) (Asteraceae).*Pharmazie*, 58 (8),567-569.

Seymour, P; Golding, J; (2009).Hospital-acquired and community-acquired MRSA.Two distinct infections, *Emergency Medicine*, 41, 36-41.

Silva, D. B; Silva J. A; Junqueira, N. T. V; Andrade, L. R. M; (2001). Pomada orgânica natural ou solução salina isotônica no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. Frutas do cerrado. Brasília: Embrapa. *Ciência Rural*, 31, 6-14.

Silva, A. F; Barbosa, L.C. A; Azevedo, A. A; Casali, V.W. D; Nascimento, E.A; (2003). Composição química do Óleo Essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.(Lamiaceae) . *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s,6, 1-7.

Silverstein, R. M., e Webster, F. X. (2013). Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. (7th ed.). Rio de Janeiro. Pag. 490.

Wu Z. M.; Zhang, X. G.; Wang, Y. X.; Zheng, C.; Wang, Z.; Li, C.; ( 2010). X.Synthesis and characterization of in situ cross-linked hydrogel based on self assembly of thiol-modified chitosan with PEG diacrylate using Michael type addition, *Polymer*, 51,639-646.

Zhao, X; Wu, H; Guo, B; Dong, R; Qiu ,Y; Ma, P.X. 2017,Antibacterial anti-oxidant electroactive injectable hydrogel as self-healing wound dressing with hemostasis and adhesiveness for cutaneous wound healing ,*Biomaterial*, 122, 34-47

Zheng, L; Zhu, J; (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with diferente molecular weights, *Carbohydrate Polymers*, 54, 527-530.



## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo descreveu o processo de a síntese de hidrogéis de chichá associados ao nerolidol a 1 e 2%, suas características químicas e reológicas, bem como seu potencial biológico em testes de atividade antimicrobiana e avaliação de sua aplicações como agente cicatrizante de feridas.

Assim, considerando os resultados, discussões e conclusões abordadas nesta pesquisa, faz-se necessário à implementação de novos estudos para a comprovação dos efeitos dos hidrogéis desenvolvidos e da possibilidade de maior aplicabilidade da mesma como alternativa medicamentosa.