



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS BIOINSPIRADAS PARA
INCORPORAÇÃO DE FÁRMACOS VISANDO APLICAÇÕES
CUTÂNEAS**

GABRIELY CRISTINI BATISTA DE DEUS

Florianópolis

2024

Gabriely Cristini Batista de Deus

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS BIOINSPIRADAS PARA
INCORPORAÇÃO DE FÁRMACOS VISANDO APLICAÇÕES
CUTÂNEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Química Bacharelado do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Camila Fabiano de Freitas Marin.

Coorientadora: Dra. Eloah Latocheski.

Florianópolis
2024

Batista de Deus, Gabriely Cristini
Desenvolvimento de Membranas
Bioinspiradas para incorporação de
fármacos visando aplicações cutâneas . /
Gabriely Cristini Batista de Deus ;
orientador, Camila Fabiano de Freitas
Marin , coorientador, Eloah Latocheski,
2024.
65 p.

Trabalho de Conclusão de Curso
(graduação) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas
e Matemáticas, Graduação em Química -
Bacharelado, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química - Bacharelado. 2.
Membranas Bioinspiradas. 3. Feridas. 4.
Quitosana . 5. Pluronic F127®. I. de
Freitas Marin , Camila Fabiano . II.
Latocheski, Eloah . III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Graduação em
Química - Bacharelado. IV. Título.

Gabriely Cristini Batista de Deus

Desenvolvimento de Membranas Bioinspiradas para incorporação de fármacos visando aplicações cutâneas.

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso Bacharelado em Química.

Florianópolis, 03 de Dezembro de 2024.

Insira neste espaço
a assinatura

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Insira neste espaço
a assinatura

Prof^a. Dra. Camila Fabiano de Freitas Marin
Orientadora

Insira neste espaço
a assinatura

Dra. Eloah Latocheski
Coorientadora

Insira neste espaço
a assinatura

Prof^a. Dra. Adriana Passarella Gerola
Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço
a assinatura

Dra. Laíze Zaramello
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis
2024

Dedico este trabalho a mim mesma, por ter enfrentado e superado todas as adversidades até aqui. Esta conquista reflete minha determinação e fé, que sempre me guiaram. Que essa jornada sirva de inspiração para futuras realizações!

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dra. Camila Fabiano De Freitas Marin, minha orientadora, vai a minha mais profunda e sincera gratidão. Sua paciência, seu direcionamento preciso e, principalmente, sua crença de que tudo seria possível, foram os pilares que sustentaram este projeto. Seus ensinamentos não apenas me ajudaram a superar os desafios encontrados, mas também me mostraram o verdadeiro significado de resiliência e perseverança. Você me inspirou a crescer, a persistir e a acreditar em mim mesma.

À Dra. Eloah Latocheski, minha coorientadora, dedico um agradecimento igualmente especial. Seu acompanhamento próximo, sua dedicação incansável e sua paciência foram fundamentais para que este trabalho ganhasse forma. Sinto que você e minha orientadora, juntas, me pegaram pela mão e, com firmeza e empatia, me guiaram passo a passo por este caminho. O impacto do apoio de vocês é imensurável, e sem ele, este trabalho de conclusão de curso jamais seria o mesmo.

Aos membros do laboratório POLIMAT, meu reconhecimento e gratidão. Cada contribuição — seja por meio de discussões, orientações ou simples trocas de ideias — foi essencial para a construção deste trabalho e para o meu amadurecimento profissional.

Aos meus amigos, que foram minha fortaleza durante os anos de graduação, meu mais profundo agradecimento. Vocês estiveram ao meu lado nos momentos de incerteza, oferecendo ajuda e me mostrando, com empatia, que eu era capaz de vencer qualquer adversidade. Em especial, ao Bruno Vieira Costa e à Manuela Santo Corrêa, meu muito obrigado por se tornarem minha família ao longo dessa jornada. Juntos enfrentamos a fome, as dificuldades financeiras e qualquer insegurança que ameaçasse nos deter. Suas ações ultrapassaram os limites da sala de aula, tornando-se gestos de amor e apoio que levarei para sempre no coração.

Ao Prof^o. Dr. Diego Galvan, minha gratidão pelas contribuições essenciais que fundamentaram este trabalho, cuja dedicação e disponibilidade foram de grande importância para o seu desenvolvimento.

Ao Prof^o. Dr. Eduard Westphal, minha eterna gratidão pela primeira oportunidade em um laboratório de pesquisa e por seu apoio inestimável durante o difícil período da pandemia. Sua disposição em me auxiliar naquele momento crítico foi um ato de generosidade que jamais esquecerei e que me inspirou profundamente.

Aos professores Dr. Alexandre Luis Parize, Dra. Daniela Zambelli Mezalira, Dr. Antonio Luiz Braga, Dra. Iolanda da Cruz Vieira, Dr. Miguel Soriano Balparda Caro, Dr. Thiago Ferreira da Conceição e Dr. Elias Paiva Ferreira Neto, meu reconhecimento pelo impacto que

tiveram em minha formação. Suas aulas foram mais do que momentos de aprendizado — foram experiências transformadoras. Com paciência, dedicação e humanidade, vocês ensinaram muito mais do que conteúdo acadêmico: moldaram vidas.

Aos doutorandos do PPGQ/UFSC Luiz Eduardo Welter, Iago Reis e LÍzia Alana Xavier, minha gratidão por suas monitorias e pela forma dinâmica e acolhedora com que compartilharam seus conhecimentos.

Ao mestrando Daniel Lima Alves (PPGQ/UFSC) e ao Prof^o. Mestre Samuel Santos (doutorando no PPGQ/UFRGS), obrigada por todo o suporte e incentivo ao longo da graduação. Suas orientações foram preciosas e me ajudaram a enfrentar os desafios com mais clareza e determinação.

Aos seres divinos nos quais acredito, dedico um agradecimento especial. Foi com fé que percorri este caminho árduo e superei cada obstáculo. Agradeço por terem iluminado minha jornada e me conduzido até esta conquista.

Por fim, à professora Dra. Marta Elisa Rosso Dotto, agradeço imensamente pela disponibilidade e pelo comprometimento em auxiliar na realização deste trabalho de conclusão de curso. Sua dedicação fez toda a diferença, e sou profundamente grata por seu apoio.

A cada pessoa que fez parte desta trajetória, deixo aqui meu mais sincero e profundo agradecimento. Este trabalho é reflexo não só do meu esforço, mas do apoio, da confiança e do incentivo de todos vocês. Muito obrigada por acreditarem em mim e por fazerem parte desta conquista.

RESUMO

O desenvolvimento de membranas bioinspiradas visa aprimorar o tratamento de feridas cutâneas, especialmente aquelas decorrentes de queimaduras. Neste estudo, foram obtidas membranas à base de quitosana (QT) e Pluronic® F127, incorporadas com sulfadiazina de prata (SSD) e piperina (PIP). A QT, biopolímero reconhecido por sua biocompatibilidade e propriedades antimicrobianas, foi combinada ao Pluronic® F127, um copolímero termossensível que promove liberação sustentada de fármacos. A SSD, padrão-ouro no tratamento de queimaduras, foi adicionada para inibir infecções, enquanto a PIP como promotor de permeação, com objetivo de aumentar a biodisponibilidade do fármaco. As membranas foram obtidas pelo método secagem de solvente (*casting*), em um planejamento fatorial empregando-se como fatores as concentrações de QT, F127, SSD e PIP em dois níveis com três replicatas do ponto central. As amostras obtidas no planejamento, um total de dezanove, foram avaliadas para a obtenção das respostas: (i) espessura das membranas, (ii) uniformidade/ presença de defeitos e/ou rachaduras e (iii) nível de cristalinidade da amostra. A amostra otimizada (membrana de n° 2) e seus controles foram então obtidas e caracterizadas por diversas técnicas, incluindo microscopia de força atômica, análises térmicas, molhabilidade, intumescimento e dissolução. De um modo geral, as amostras otimizadas apresentaram propriedades morfológicas e funcionais ajustáveis às necessidades terapêuticas. Os resultados indicaram que a matriz polimérica otimizada apresenta boa estabilidade térmica, alta absorção de fluidos, indicando a capacidade de capacidade de liberação sustentada dos ativos incorporados. Assim destacando-se como uma alternativa promissora para curativos bioativos no tratamento de feridas.

Palavras-chave: Feridas, queimaduras, quitosana, Pluronic F127®, membranas bioinspiradas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Feridas	3
2.2. Curativos para ferimentos cutâneos	5
2.3. Membranas.....	6
2.4. Quitosana.....	8
2.5. Pluronic® F127	9
2.6. Sulfadiazina de Prata	11
2.7. Piperina.....	13
2.8. Quimiometria Aplicada.....	14
3. OBJETIVO GERAL	15
3.1 Objetivos Específicos	15
4. METODOLOGIA	16
4.1 Materiais.....	16
4.2 Equipamentos.....	16
4.3 Procedimentos Experimentais	17
4.3.1 <i>Obtenção das membranas de quitosana/Pluronic® F127</i>	17
4.3.2 <i>Espessura</i>	19
4.3.3 <i>Microscopia óptica com luz polarizada (PLOM)</i>	19
4.3.4. <i>Microscopia de Força Atômica (AFM)</i>	20
4.3.5 <i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	20
4.3.6. <i>Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)</i>	20
4.3.7. <i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	21
4.3.8. <i>Molhabilidade por ângulo de contato</i>	21
4.3.9. <i>Determinação de grau de dissolução das membranas</i>	21
4.3.10. <i>Determinação de grau de intumescimento das membranas</i>	22
4.3.11. <i>Segurança no laboratório e descarte de resíduos</i>	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Caracterização morfológica preliminar para otimização	24
5.1.1 <i>Análise de Homogeneidade e Fragilidade</i>	24
5.1.2 <i>Análise de Espessura e Massa</i>	25
5.1.3 <i>Microscopia óptica com luz polarizada (PLOM)</i>	28
5.2 Caracterização Físico-Química e Estrutural das Membranas	33
5.2.1 <i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	33

<i>5.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)</i>	35
<i>5.2.3 Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	37
<i>5.2.4 Molhabilidade por Ângulo de contato</i>	39
<i>5.2.5. Microscopia de Força Atômica (AFM)</i>	41
<i>5.2.6 Determinação de grau de dissolução das membranas</i>	43
<i>5.2.7 Determinação de grau de intumescimento das membranas</i>	45
6. CONCLUSÃO	47
7. REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

O tratamento de feridas cutâneas é uma área crucial da medicina que visa promover a cicatrização adequada e prevenir futuras complicações. Feridas cutâneas podem variar desde abrasões simples até lacerações profundas, e seus cuidados englobam uma série de abordagens terapêuticas. No que se refere exclusivamente às feridas provenientes de queimaduras, as estatísticas da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam para cerca de 180.000 casos anualmente, sendo mais frequentes em países de baixa e média renda. Além disso, as lesões decorrentes de queimaduras ocasionam mais de 150.000 internações anuais. Esses dados ressaltam a importância da prestação de cuidados médicos adequados direcionados a esse tipo específico de ferida cutânea.

Os curativos desempenham um papel crucial no tratamento das queimaduras, tendo como missão a proteção da área afetada contra infecções, a promoção da cicatrização e a redução na dor. Com isso, a escolha do curativo adequado é uma etapa crucial que envolve a proteção da ferida, a absorção do exsudato e a promoção da cicatrização. Nesse sentido, os curativos convencionais, disponíveis no mercado, são amplamente empregados. No entanto, é importante notar que esses curativos têm como função apenas a cobertura da lesão em relação ao ambiente externo. Sob tal perspectiva, o desenvolvimento de materiais inovadores que não apenas cubram, mas que também auxiliem no processo de cicatrização de lesões, traz à tona uma nova categoria de curativos. Estes curativos, denominados bioativos, interagem com o leito da lesão, proporcionando um ambiente úmido e fornecendo ingredientes para a manutenção e recuperação do tecido lesionado. Eles geralmente são constituídos por polímeros e carregam fármacos com propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e analgésicas.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo elaborar curativos bioativos baseados em membranas bioinspiradas. Essas membranas foram constituídas por quitosana (QT), um polímero natural com propriedades biocompatíveis, biodegradáveis e antimicrobianas, e por Pluronic® F127, um copolímero sintético tribloco composto por poli(óxido de etileno) (PEO) e poli(óxido de propileno) (PPO). Esse material é conhecido por sua termossensibilidade, permitindo a formação de géis em temperaturas fisiológicas e promovendo a liberação sustentada de fármacos.

Além disso, objetivou-se a incorporação de sulfadiazina de prata (SSD) às membranas, reconhecida como padrão-ouro no tratamento de infecções associadas à cicatrização de feridas. Com o intuito de aprimorar a permeabilidade do fármaco, propôs-se a incorporação de

piperina (PIP), um promotor de permeabilidade obtido a partir da pimenta preta. Essa estratégia visa não apenas facilitar a difusão da SSD na lesão, mas também otimizar a absorção de nutrientes, favorecer a remoção de exsudatos e estimular a regeneração celular, contribuindo para a aceleração do processo cicatricial.

As membranas que foram desenvolvidas neste projeto têm o potencial de se tornarem alternativas promissoras, que se destacam perante os curativos convencionais utilizados no tratamento de feridas. A sua composição majoritariamente natural e biocompatibilidade tende a minimizar os riscos de reações adversas e favorecer a aceitação pelo organismo. Logo, a possibilidade de ajuste das propriedades das membranas, como porosidade e espessura, permite a adaptação do material às necessidades específicas de cada indivíduo e tipo de lesão.

Desta forma, o desenvolvimento de membranas à base de QT e Pluronic® F127, incorporadas com SSD e PIP, representa uma estratégia com potencial para o tratamento de feridas cutâneas. Esses materiais oferecem uma combinação única de propriedades antimicrobianas, cicatrizantes e permeáveis, contribuindo para uma melhor qualidade de vida dos pacientes e para a eficácia dos tratamentos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Feridas

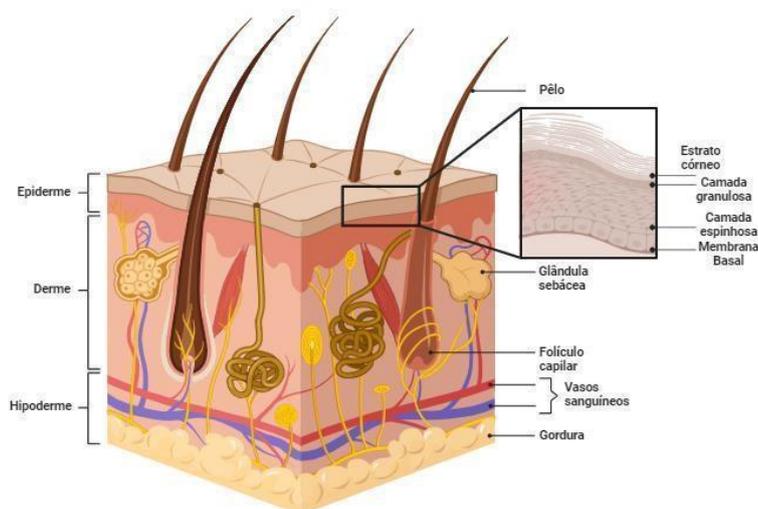
Como o maior órgão do corpo humano, a pele exerce um papel fundamental na defesa do organismo e na interação com o ambiente externo. Por isso, é essencial que permaneça íntegra e saudável. Ela apresenta um pH ácido, variando entre 4 e 6, conforme a área do corpo e a idade do indivíduo.¹

Anatomicamente, a pele é composta por três camadas distintas: a epiderme, a derme e a hipoderme, conforme representado na Figura 1. Cada camada possui uma composição única e desempenha funções específicas na proteção do organismo. Essas camadas formam a primeira barreira contra agentes externos e têm a capacidade de se regenerar após lesões, incluindo aquelas ocasionadas por queimaduras, cortes ou condições clínicas como o diabetes.²

A epiderme, variando de 0,006 a 0,6 mm de espessura, é composta por camadas de tecido epitelial queratinizado, com uma capacidade dinâmica de autorrenovação contínua. Os queratinócitos, que são as células predominantes nessa camada, possuem a habilidade de se diferenciar e produzir diversas proteínas e lipídios, fundamentais para a regeneração da epiderme.³ A derme, por outro lado, é a camada mais espessa do tecido conjuntivo, com espessura de 1 a 4 mm. Ela é composta por várias células, incluindo células endoteliais, musculares lisas, mastócitos e fibroblastos, além de uma matriz extracelular e componentes estruturais como fibras de elastina e colágeno, que lhe conferem resistência mecânica e elasticidade.⁴ Por fim, a hipoderme, também chamada de tecido subcutâneo, é a camada mais profunda da pele, situada abaixo da derme. Em sua estrutura são encontrados adipócitos (células de gordura), tecido conjuntivo, vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, além de células de defesa imunológica. Essa camada da pele desempenha funções cruciais como isolamento térmico, proteção contra traumas e armazenamento de energia. Sua espessura varia amplamente, podendo ser de alguns milímetros em áreas como as pálpebras até vários centímetros em regiões como o abdômen e as nádegas, dependendo de fatores individuais como idade, sexo, genética e índice de massa corporal.⁴

As feridas são lesões que comprometem a integridade da pele ou de tecidos subjacentes e podem ocorrer de diversas formas, desde pequenos cortes até ferimentos graves. Sendo uma temática significativa em saúde pública, devido aos seus impactos na qualidade de vida dos pacientes e nos recursos dos sistemas de saúde.

Figura 1- Representação da estrutura da pele.



Fonte: Figura adaptada de Hama *et al* (2023).⁵

As razões para a ruptura da integridade da pele são diversas, traumas resultantes de acidentes, quedas, cortes ou ferimentos por objetos pontiagudos, representam as principais causas. Além disso, as queimaduras, provocadas pelo calor, eletricidade, produtos químicos ou radiação, também se tornaram uma fonte comum de ferimentos na pele.⁶ Existem também as úlceras, que são lesões crônicas resultantes de diversas condições, como pressão constante, circulação inadequada ou diabetes. E por fim, as lesões cirúrgicas, decorrentes de incisões e área de excisão de tecido.⁷

Em vista disso, os tipos de feridas podem variar em gravidade e características, podendo ser feridas abertas, que apresentam exposição de tecidos subjacentes ou feridas fechadas, que não possuem exposição de tecidos. Além disso, as feridas também podem ser classificadas em agudas e crônicas com base na patogênese e nas consequências.⁸ De um modo geral, uma ferida crônica é uma lesão que não cicatriza dentro do tempo previsto (até doze semanas) e é marcada por problemas contínuos como inflamação persistente, infecções e necrose.⁹ Por outro lado, feridas agudas são aquelas que cicatrizam dentro do prazo previsto.

Na cicatrização de feridas agudas, são identificadas quatro fases sobrepostas: hemostasia, inflamação, fase proliferativa e remodelação.¹⁰ A hemostasia é a primeira resposta a uma ferida aguda, interrompendo o sangramento e prevenindo a perda de sangue. Na fase inflamatória, a lesão ativa uma resposta imunológica que combate os patógenos que invadem a ferida e prepara o tecido para a recuperação anatômica. A fase proliferativa, que se segue, envolve a formação de tecido de granulação, neovascularização e reepitelização.^{11,12}

Finalmente, a cicatrização das feridas agudas termina com a fase de remodelação, na qual o tecido de granulação é substituído por uma cicatriz, e a epiderme é limpa das células imunológicas, que morrem por apoptose ou se movem para a derme.¹³

2.2. Curativos para ferimentos cutâneos

Atualmente, existe uma grande diversidade de curativos disponíveis, incluindo emplastos, gazes e hidrocoloides com uma variedade de funcionalidades.¹⁴ Dada a vasta gama de opções, os curativos têm sido classificados de acordo com as interações existentes com o ambiente da lesão em: (i) passivos, (ii) interativos e (iii) bioativos.

Os curativos convencionais e as gazes são considerados curativos passivos ou não oclusivos. Eles têm sido empregados no isolamento de lesões em relação ao ambiente externo tanto em feridas infectadas quanto não infectadas. Apesar de sua ampla utilização, esses curativos apresentam forte tendência em aderir à pele dada à absorção de exsudatos, resultando em trauma, desbridamento mecânico e dor.¹⁵ Além disso, podem deixar resíduos que ativam o sistema imunológico e acarretam alergias, além de exigirem trocas frequentes. Dessa forma, os curativos convencionais são convenientes para lesões secas, onde não há presença de exsudato. Para feridas contendo exsudato são indicados os curativos interativos ou semioclusivos, disponíveis na forma de filmes, espumas, hidrogéis e hidrocoloides. Esses curativos têm a capacidade de se ajustar aos contornos do corpo, oferecendo proteção contra traumas, além de impedir a entrada de patógenos externos. Ademais, podem ser combinados com antibióticos, anti-inflamatórios e analgésicos geralmente na forma de pomadas para o tratamento de lesões.

Apesar dos benefícios encontrados em curativos passivos e interativos, esforços têm sido realizados para o desenvolvimento de curativos que não apenas isolem a ferida, mas que por si só também auxiliem no processo de cicatrização.¹⁶ Nesse cenário se destacam os curativos bioativos, ou inteligentes, capazes de fornecer substâncias ativas ao longo do processo de cicatrização da lesão.¹⁴ Esses curativos devem incluir características como biocompatibilidade, biodegradabilidade, absorção adequada de fluidos e efeito antioxidante, aspectos cruciais para o processo de cicatrização de lesões. De um modo geral, curativos bioativos são constituídos por matrizes poliméricas incorporadas com substâncias ativas, que podem se apresentar na forma de membranas ou filmes. Esses materiais têm despertado crescente interesse na comunidade acadêmica ao longo das últimas décadas, em razão de suas

propriedades biocompatíveis e ao potencial de aprimoramento ou adequação das características físico-químicas dada a possibilidade de seleção dos polímeros e fármacos envolvidos.

Considerando-se a importância dessas aplicações na área da saúde pública, é fundamental explorar e desenvolver novas tecnologias que ofereçam aprimoramentos aos tratamentos já existentes. A contínua pesquisa e inovação nesse campo têm o potencial de não apenas melhorar a eficácia dos curativos, mas também de proporcionar benefícios significativos para os pacientes, incluindo cicatrização mais rápida, redução do risco de infecções e maior conforto durante o processo de tratamento.

2.3. Membranas

Em termos gerais, as membranas são estruturas bidimensionais capazes de controlar o transporte de substâncias de maneira específica atuando como uma interface entre duas diferentes fases. Diferentes materiais podem ser estruturados na forma de membranas, incluindo polímeros, cerâmicas, metais, nanocompósitos, materiais funcionais, bioativos, entre outros.¹⁷ Além disso, as membranas podem ser classificadas estruturalmente como isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas). Assim, membranas isotrópicas apresentam uma distribuição uniforme dos poros, podendo ser densas ou porosas. Por outro lado, membranas anisotrópicas são caracterizadas pela presença de heterogeneidade na distribuição e tamanho de seus poros, apresentando uma fina camada superficial porosa ou densa suportada em uma camada altamente porosa, combinando alta eficiência de separação e permeabilidade.¹⁸

As membranas poliméricas podem ser classificadas em três categorias., sendo elas as membranas de matriz mista (MMM), as membranas baseadas em polímeros de microporosidade intrínseca (MPI) e as membranas bioinspiradas (MBI).^{12,13} Dessa forma, as MMM são obtidas combinando-se o material polimérico com partículas inorgânicas de domínio nanométrico como zeólitas, óxidos metálicos, nanotubos de carbono, grafeno, e outros materiais. Já as MPI são amplamente empregadas na separação de gases e operações que exigem alta resistência química e térmica. Essas membranas são obtidas empregando-se polímeros capazes de formar poros com tamanhos médios menores que dois nanômetros, devido à estrutura rígida de suas cadeias. Por fim, as MBI são baseadas em fenômenos ou princípios biológicos, almejando reproduzir funções e propriedades típicas das membranas

majoritariamente naturais, como seletividade, permeabilidade e a habilidade de realizar processos específicos de separação e transporte de substâncias.

Entre esses diferentes tipos de membranas, as MBI podem favorecer a cicatrização de feridas, principalmente se constituídas por polímeros naturais, como alginato de sódio, ácido hialurônico, quitosana, celulose, dextrana, colágeno, gelatina, elastina e fibroína da seda.^{19,20} Assim, as MBI têm demonstrado eficácia promissora na cicatrização de feridas devido às suas características intrínsecas, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, não imunogenicidade, alta capacidade de absorção e propriedades de liberação de fármacos no local da ferida para proporcionar um efeito terapêutico prolongado que aumenta a adesão do paciente ao tratamento.²¹

No âmbito do tratamento de feridas, as membranas desempenham um papel extremamente relevante, sendo materiais finos e flexíveis empregados para estimular a cicatrização e proteger a região afetada. Destacam-se pela facilidade de aplicação e remoção, proporcionando conforto ao paciente. Sua flexibilidade permite uma adaptação precisa a diferentes áreas do corpo, enquanto sua natureza biocompatível e segura minimiza os riscos de reações adversas, consolidando sua eficácia como parte integrante do tratamento de feridas.²²

Nesse cenário, biopolímeros, como os polissacarídeos, têm recebido grande atenção devido às suas características biológicas e habilidade de criar estruturas para transportar compostos ativos, como membranas, filmes e hidrogéis. Aliás, possuem mínima toxicidade em comparação com polímeros sintéticos, graças à sua compatibilidade com a estrutura extracelular da pele.²³ Diante disso, estudos anteriores relataram a obtenção de membranas à base de QT e Pluronic® F127, onde a QT oferece biocompatibilidade e atividade antimicrobiana, enquanto o Pluronic® F127 contribui com propriedades termossensíveis e liberação sustentada de fármacos, essenciais para a estabilidade do sistema.²⁴ Essa combinação melhora as propriedades mecânicas das membranas, como maior resistência ao estresse mecânico e capacidade de alongamento, além de potencializar a atividade antibacteriana e antioxidante.²⁵

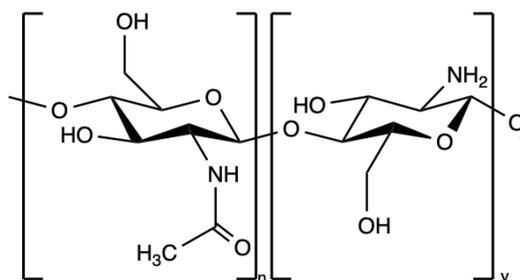
Outros exemplos comuns na literatura incluem a utilização de polímeros como o alginato e a gelatina, bem como biopolímeros como o ácido polilático (PLA) e o ácido poliglicólico (PGA).²⁶ Estes materiais são frequentemente empregados na medicina regenerativa devido às suas propriedades biocompatíveis e biodegradáveis. Por exemplo, a combinação de alginato com quitosana pode resultar em membranas com alta capacidade de retenção de água, enquanto

sistemas baseados em PLA e PGA são conhecidos por suas excelentes propriedades mecânicas.²⁷

2.4. Quitosana

A quitosana, (poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosse]), QT, é um polissacarídeo derivado da quitina, obtido a partir de uma reação de desacetilação parcial em meio alcalino. A quitina é um polímero natural encontrado no exoesqueleto de invertebrados, sendo amplamente reconhecido como o segundo polímero mais relevante do mundo, logo após a celulose.²⁸ Estruturalmente, a QT obtida é um copolímero linear constituído por 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosse (unidade desacetilada) e 2-acetoamido-2-desoxi-D-glicopiranosse (unidade acetilada) unidas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4), conforme Figura 2.²⁹ Quando o número de unidades de N-acetilglicosamina é inferior a 50%, o composto é classificado como quitosana. Este biopolímero é amplamente estudado devido à sua capacidade de solubilização em ácidos, facilitando sua utilização e modificação por meio de reações químicas. A Figura 2 traz a estrutura molecular da quitosana.³⁰

Figura 2- Estrutura das unidades repetitivas da quitosana parcialmente acetilada, $y > n$.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

Para produzir QT, a quitina é isolada dos outros elementos da carapaça de crustáceos por meio de um processo químico. O procedimento inclui etapas de desmineralização, desproteinização e descoloração. A quitina resultante contém grupos acetil, os quais são removidos com uma solução concentrada de NaOH, resultando em QT.³¹

Nesse cenário, a QT caracteriza-se pela presença de cargas positivas dependendo do pH (pKa de aproximadamente 6,5 em meio aquoso), sendo, portanto, um polycation.²⁶ Tem sido alvo de considerável interesse devido às suas propriedades atrativas inerentes, tais como

biocompatibilidade, não toxicidade, biodegradabilidade, adesão biológica, capacidade de formação de filmes e atividade contra fungos, bactérias e vírus.³²

Na área biomédica a QT encontra sua maior aplicação, sendo alvo de inúmeros estudos acerca de suas interações específicas com os componentes da matriz extracelular. Essas pesquisas têm impulsionado seu uso crescente na engenharia de tecidos, particularmente no reparo de pele, ossos e cartilagens.³³ Aliado a isso, estudos clínicos demonstraram que biomateriais contendo QT não desencadeiam reações alérgicas no corpo humano após implantação, injeção, aplicação tópica ou ingestão.³⁰

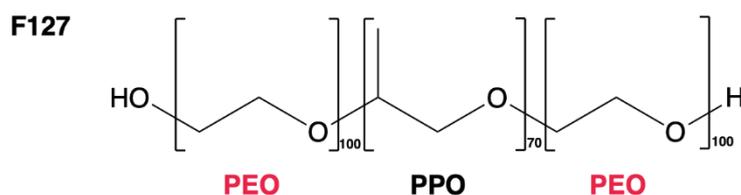
No que se refere à obtenção de membranas de QT, a sua utilização tem sido extensivamente reportada na literatura.³⁴ Isso se deve ao seu baixo custo, disponibilidade natural, não toxicidade, biodegradabilidade e não periculosidade, portanto, uma opção promissora para tal aplicação. Além disso, suas propriedades permitem modificações para atender a diferentes necessidades, como adsorção de metais pesados e corantes, aplicações biomédicas em nanofibras, e tratamento de águas residuais, por exemplo.³⁵

Especificamente no campo biomédico, apesar da QT possibilitar a obtenção de membranas e filmes com sucesso, sua resistência mecânica é baixa, assim como sua capacidade de absorver fluidos corpóreos. Diante dessas limitações, a combinação de QT com outros materiais emerge como uma alternativa promissora na obtenção de MBI, permitindo a superação desses desafios e ampliando ainda mais as aplicações biomédicas deste biopolímero versátil.³²

2.5. Pluronic® F127

Pluronic® F127 (F127), também comercializado como Poloxamer 407, é um copolímero tribloco constituído por um bloco central hidrofóbico de poli(óxido de propileno) e dois blocos laterais hidrofílicos de poli(óxido de etileno), Figura 3.³⁶ Por sua natureza anfifílica, o F127 apresenta propriedades de autoassociação, formando micelas e géis conforme a concentração e temperatura variam.³⁷ Essas propriedades fazem do F127 um material adequado para sistemas de liberação de fármacos, principalmente em aplicações cutâneas, onde é desejável uma liberação sustentada e adesão eficiente à pele.³⁸

Figura 3- Estrutura química do copolímero Pluronic® F127.



Fonte: Aatoria Própria, 2024.

Uma das principais vantagens do Pluronic® F127 é seu comportamento termossensível. Dependendo da concentração de trabalho, a baixas temperaturas, ele permanece em estado líquido, mas, ao atingir temperaturas fisiológicas, transforma-se em gel.³⁹ Essa transição sol-gel facilita sua aplicação tópica, pois permite que a formulação seja administrada como líquido na pele e, em seguida, se solidifique em gel, promovendo uma retenção mais prolongada do fármaco no local de aplicação.⁴⁰ Tal comportamento tem sido amplamente investigado e utilizado em sistemas de membranas bioinspiradas, favorecendo a cicatrização de feridas e outras terapias para pele.

O Pluronic® F127 é vastamente utilizado em formulações farmacêuticas devido à sua biocompatibilidade e baixa toxicidade.⁴¹ Em sistemas de liberação de fármacos para uso tópico, foi incorporado com sucesso em membranas contendo curcumina e piperina, demonstrando melhoria na solubilidade dos fármacos e aumento da permeação através da pele.⁴² Estudos têm mostrado que os sistemas baseados em Pluronic podem modular o perfil de liberação de fármacos, com uma liberação inicial rápida seguida de uma liberação sustentada, o que é vantajoso em tratamentos que requerem efeitos tanto imediatos quanto de longo prazo.^{41,42}

Além disso, a capacidade do F127 de interagir com outros polímeros, como quitosana e carragenina, aumenta sua funcionalidade em sistemas de liberação de fármacos.²⁵ Essas interações resultam em membranas com propriedades mecânicas e bioadesivas aprimoradas, além de um comportamento de intumescimento mais eficiente, fatores essenciais para a aplicação eficaz na pele.⁴³ Ajustes na formulação polimérica permitem otimizar características como permeabilidade e resistência mecânica, adaptando-as ao tipo de fármaco e à necessidade terapêutica específica.⁴⁴

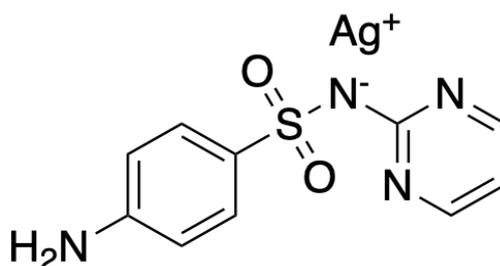
Logo, o Pluronic® F127 é um polímero versátil e eficaz no desenvolvimento de membranas bioinspiradas para incorporação de fármacos com aplicação cutânea. Suas propriedades termossensíveis, biocompatibilidade e capacidade de formar géis tornando uma escolha ideal para sistemas que exigem liberação sustentada de fármacos e adesão prolongada à pele.

Cabe destacar que, embora tenham potencial para curativos avançados, as propriedades biológicas dos polímeros podem não ser suficientes para um tratamento eficiente devido à variação em suas estruturas, influenciada pela fonte de obtenção. Desta forma, é relevante incorporar compostos químicos com atividade biológica às membranas para proporcionar ações como antimicrobiana e anti-inflamatória na obtenção de MBI efetivas no tratamento de lesões cutâneas.^{45,46}

2.6. Sulfadiazina de Prata

A Sulfadiazina de Prata (SSD), cuja estrutura está ilustrada na Figura 4, é um antibiótico de amplo espectro amplamente utilizado no tratamento de feridas cutâneas, especialmente aquelas causadas por queimaduras. Reconhecido mundialmente como o padrão-ouro no tratamento de queimaduras, este fármaco destaca-se por sua eficácia antimicrobiana, especialmente quando utilizado na concentração de 1% em massa (marcas conhecidas incluem Silvadene®, Thermazene®, Flamazine® e outros). É frequentemente escolhido para tratar queimaduras de segundo e terceiro grau, dada sua ampla ação antimicrobiana, baixo custo e aplicação indolor.⁴⁷

Figura 4- Estrutura química da Sulfadiazina de Prata.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

Desenvolvida inicialmente na década de 60, a SSD é uma combinação de AgNO_3 com sulfadiazina, um agente antibiótico (SD) que atua diretamente na parede das bactérias. Efetiva contra uma variedade de bactérias e alguns fungos, a SSD inibe a replicação bacteriana ao reagir com o DNA microbiano. Além disso, enfraquece a parede e a membrana celular, levando à ruptura da célula por pressão osmótica.⁴⁸ Destaca-se que a SSD demonstra atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, um agente comum em infecções associadas a feridas por queimaduras.⁴⁹

Atualmente, disponível em forma de creme ou suspensão aquosa a 1% em massa, a SSD é um dos tratamentos mais comuns em centros de queimados em todo o mundo. No entanto, sua ação é temporária, exigindo reaplicação diária. A escolha da SSD é respaldada não apenas por seu custo-benefício, mas também pela sua capacidade de prevenir complicações e reduzir a necessidade de procedimentos cirúrgicos adicionais, mitigando os riscos associados às queimaduras.⁵⁰

O mecanismo de ação preciso da SSD ainda não foi completamente elucidado, mas evidências sugerem que tanto a prata quanto os componentes de SD podem atuar sinergicamente. O potencial antimicrobiano da prata, conhecido como "efeito oligodinâmico" tem sido associado à liberação sustentada de SSD nos fluidos da ferida, melhorando sua eficácia.⁵¹ Infelizmente, o uso de SSD não está isento de efeitos adversos, como alergias e toxicidades sistêmicas. Além disso, a citotoxicidade *in vitro* da prata tem sido associada à cicatrização retardada de feridas.⁵² Dessa maneira, apesar da ampla aceitação da SSD como tratamento padrão-ouro para infecções em feridas por queimaduras, sua eficácia e segurança ainda enfrentam desafios significativos. Para solucionar esses entraves, a indústria farmacêutica e a comunidade científica vêm se empenhando no aprimoramento da formulação.

Diante do exposto, uma associação benéfica tem sido observada com o uso de géis de QT em conjunto com a SSD, resultando em uma maior produção de fibroblastos e uma melhor angiogênese, o que sugere uma evolução significativa no processo de cicatrização.⁴⁷ Com base na literatura, a combinação de SSD com nanopartículas de QT acarretaram em benefícios no tratamento de feridas associados à liberação sustentada do fármaco no tecido alvo, proporcionando um contato prolongado e ininterrupto com a ferida, o que ajuda a gerenciar a sepse e a infecção.⁵³ Além disso, um estudo envolvendo hidrogéis de QT reticulados com genipina incorporado com nanocristais de SSD apresentou uma significativa redução na citotoxicidade dos fibroblastos, mantendo a eficácia antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.⁵⁴ Ademais, estudos em modelos de feridas em camundongos, os nanocristais de SSD em hidrogéis aumentaram significativamente os níveis de fatores de crescimento como VEGF-A e TGF-1, promovendo uma melhor cicatrização das feridas.⁵⁴

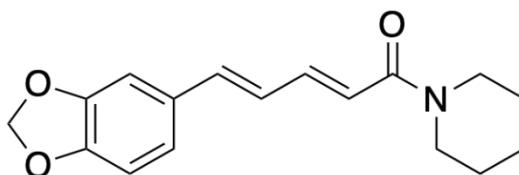
Sendo assim, a obtenção de um curativo de QT/F127 combinado com SSD constitui uma estratégia promissora no tratamento de feridas ocasionadas por queimaduras. Para esse fim, é crucial considerar certas características, incluindo a liberação sustentada de prata e sua capacidade de manter um ambiente úmido para promover a cicatrização. O curativo antimicrobiano ideal deve ter amplo espectro de ação, baixa toxicidade, rápida ação, e ser eficaz

mesmo na presença de exsudato, sem causar irritação ou aderências indesejadas.³¹ Por fim, é crucial garantir que a SSD seja capaz de se difundir a partir da membrana e alcançar a profundidade de permeação suficiente para garantir a inibição dos microrganismos presentes. Nesse sentido, promotores de permeabilidade têm sido investigados, dentre os quais a piperina.

2.7. Piperina

Encontrada na pimenta-preta (*Piper nigrum*), a piperina (PIP) é a principal responsável pelo sabor picante que caracteriza a família Piper. Este composto, geralmente incolor e cristalino, às vezes assume uma tonalidade amarelada, cuja estrutura é representada na Figura 5. Apesar da baixa solubilidade em água, a PIP se dissolve facilmente em etanol, piridina, acetona, éter etílico e clorofórmio.⁵⁵

Figura 5- Estrutura química da piperina.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

Mais do que um tempero picante, a PIP possui diversas propriedades benéficas para a saúde, como ação antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e neuroprotetora. Um de seus destaques é a capacidade de aumentar a permeação de outros compostos ativos, isso significa que a PIP pode potencializar a ação de diversos fármacos, tanto por via oral quanto transdérmica.^{47,55,56} O efeito biopotencializador da PIP tem sido atribuído a vários mecanismos, como a atuação sobre enzimas metabolizadoras de fármacos, indução de alterações na dinâmica das membranas, aumento do suprimento sanguíneo e aprimoramento do transporte de fármacos.^{57,58} Em estudos com humanos envolvendo a via de administração oral, a combinação de curcumina e PIP na proporção de 200:1 acarretou um aumento da biodisponibilidade oral da curcumina de até 2000%.⁵⁹ Com relação ao efeito potencializar por via transdérmica, a PIP já demonstrou um aumento na permeação cutânea de aceclofenaco e da repaglinida em cerca de 2 a 8 vezes.⁶⁰ Os estudos até então realizados apontam para um mecanismo envolvendo a extração parcial dos lipídios do estrato córneo, a interação com a queratina do estrato córneo e

a ruptura das proteínas de junções estreitas. Além disso, estudos utilizando técnicas de química quântica e *docking* molecular, mostraram que a PIP pode formar complexos intermoleculares com fármacos, aumentando assim, sua biodisponibilidade.⁶¹

Nesse contexto, no presente estudo, a combinação de PIP e SSD é particularmente promissora, podendo levar a um efeito potencializador de permeação da SSD e até mesmo a uma ação sinérgica.

2.8. Quimiometria Aplicada

O planejamento fatorial é uma técnica quimiométrica utilizada para avaliar os efeitos de variáveis independentes, denominadas fatores, sobre as variáveis dependentes, conhecidas como respostas. Em um planejamento fatorial completo, todas as combinações possíveis entre os níveis dos fatores são testadas, o que possibilita identificar tanto os efeitos individuais de cada fator quanto as interações entre eles. Esse método é amplamente empregado em estudos que demandam uma análise sistemática e abrangente dos parâmetros experimentais.⁶²

A análise de variância (ANOVA) é uma ferramenta estatística frequentemente utilizada em conjunto com o planejamento fatorial. A ANOVA permite verificar a significância dos efeitos principais e das interações entre os fatores, baseando-se na comparação da variabilidade explicada pelos fatores com a variabilidade residual. Assim, essa técnica fornece uma base robusta para determinar a influência relativa de cada variável experimental e a adequação do modelo ao sistema estudado.⁶³

Outro conceito relevante é o índice de desejabilidade, uma abordagem que possibilita a otimização de múltiplas respostas simultaneamente. Por meio desse índice, as diferentes respostas são combinadas em uma métrica única, permitindo a identificação de condições experimentais que maximizem as características desejadas. Essa metodologia é especialmente útil em estudos onde múltiplos critérios precisam ser considerados na escolha da condição ideal.⁶⁴

A integração dessas ferramentas quimiométricas na pesquisa científica tem contribuído significativamente para o avanço de processos experimentais, permitindo a obtenção de dados confiáveis e a otimização de sistemas complexos com maior eficiência.

3. OBJETIVO GERAL

Desenvolver membranas bioinspiradas à base de quitosana e Pluronic® F127 capazes de incorporar de forma eficaz a sulfadiazina de prata e piperina, com propósito de viabilizar sua aplicação tópica, visando a obtenção de uma plataforma eficiente para o tratamento de feridas provenientes de queimaduras e outras lesões cutâneas.

3.1 Objetivos Específicos

- i. Preparar e otimizar membranas à base de quitosana e Pluronic® F127, utilizando o método de secagem por solvente (*casting*), com a incorporação de sulfadiazina de prata e piperina, por meio de um planejamento 2⁴.
- ii. Caracterizar as membranas obtidas por microscopia óptica com luz polarizada (PLOM), grau de uniformidade, integridade e uniformidade da espessura.
- iii. Selecionar e caracterizar a membrana otimizada e seus controles por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), calorimetria diferencial de varredura (DSC) e por análise Termogravimétrica (TGA) e microscopia de força atômica (AFM);
- iv. Avaliar a molhabilidade, o grau de dissolução e o grau de intumescimento da membrana otimizada e de seus controles;

4. METODOLOGIA

4.1 Materiais

O Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos (POLIMAT) dispôs de todos os reagentes e solventes necessários para a obtenção das membranas poliméricas. A quitosana de média massa molar (CAS 9012-76-4), com um grau de desacetilação de 87% e massa molar viscosimétrica de $10,6 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$, foi utilizada. A sulfadiazina de prata (SSD, 98% de pureza, CAS 22199-08-2), a piperina (PIP, 92% de pureza, CAS 94-62-2) e o Pluronic® (F127, 99% de pureza, CAS 9003-11-6) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich. Acetona, acetonitrila, ácido acético, cloreto de potássio, cloreto de sódio, etanol, fosfato de sódio dibásico e fosfato de potássio monobásico foram adquiridos da NEON. A água ultrapura foi usada em todos os experimentos.

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de qualidade analítica e empregados sem purificação prévia.

4.2 Equipamentos

Ao longo deste estudo, diversos instrumentos disponíveis no laboratório POLIMAT foram utilizados. Quando necessário, também recorreremos a equipamentos multiusuários ou pertencentes a outros grupos de pesquisa da UFSC, além de contar com o apoio da central de análises do Departamento de Química.

As medições térmicas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) foram conduzidas no calorímetro Q2000, fabricado pela TA Instruments. Para a análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), foi utilizado o espectrômetro IR-PRESTIGE 21 da Shimadzu. Já as análises de microscopia óptica com luz polarizada (PLOM) foram realizadas utilizando o microscópio Olympus BX50, equipado com câmera digital Olympus modelo DP73.

As medições térmicas por análise termogravimétrica (TGA) foram realizadas com o analisador termogravimétrico TGA-50, também da Shimadzu. Adicionalmente, a microscopia de força atômica (AFM) foi realizada com o equipamento FlexAFM easyScan 2 Controller, da Nanosurf. Para a determinação do ângulo de contato das gotas de água sobre as membranas,

utilizamos o goniômetro modelo 250-F1 da Ramé-Hart Inst. Co., conectado a uma câmera que captura imagens através do software Droplmage versão 3.54.

4.3 Procedimentos Experimentais

4.3.1 Obtenção das membranas de quitosana/Pluronic® F127

As membranas poliméricas de QT e Pluronic® F127, incorporadas com SSD e PIP, foram obtidas pelo método de secagem por solvente.⁶⁵ As soluções de F127 foram preparadas em banho de aquecimento (~50 °C), sob agitação magnética a 300 rpm por 1 hora, enquanto as soluções de QT foram preparadas a temperatura ambiente em meio aquoso contendo 1% (V/V) de ácido acético, sob agitação mecânica a 700 rpm por 24 horas.⁶⁶ A SSD e a PIP foram pesadas em balança analítica e dissolvidas separadamente em 2,5 mL de solução de F127, sob agitação magnética a 500 rpm por 30 minutos, conforme indicado na Tabela 1.

As membranas foram otimizadas empregando-se um planejamento fatorial 2⁴ com triplicata no ponto central, Tabelas 1 e 2, preparadas seguindo o delineamento experimental com base no software Design-Expert®.

Tabela 1- Planejamento Fatorial 2⁴ com dois níveis e um ponto central.

Níveis	QT (mg mL ⁻¹)	F127(mg mL ⁻¹)	PIP(mg mL ⁻¹)	SSD(mg mL ⁻¹)
+ 1	20	20	0,15	0,200
0	15	15	0,10	0,125
-1	10	10	0,05	0,050

Fonte: Aatoria Própria, 2024.

Tabela 2- Planejamento codificado e decodificado.

Experimento	[Qt]	[F127]	[SSD]	[PIP]	[QT] (mg mL ⁻¹)	[F127] (mg mL ⁻¹)	[SSD] (mg mL ⁻¹)	[PIP] (mg mL ⁻¹)
1	-1	-1	-1	-1	10	10	0,050	0,050
2	1	-1	-1	-1	20	10	0,050	0,050
3	-1	1	-1	-1	10	20	0,050	0,050
4	1	1	-1	-1	20	20	0,050	0,050
5	-1	-1	1	-1	10	10	0,200	0,050
6	1	-1	1	-1	20	10	0,200	0,050
7	-1	1	1	-1	10	20	0,200	0,050
8	1	1	1	-1	20	20	0,200	0,050
9	-1	-1	-1	1	10	10	0,050	0,200
10	1	-1	-1	1	20	10	0,050	0,200
11	-1	1	-1	1	10	20	0,050	0,200
12	1	1	-1	1	20	20	0,050	0,200
13	-1	-1	1	1	10	10	0,200	0,200
14	1	-1	1	1	20	10	0,200	0,200
15	-1	1	1	1	10	20	0,200	0,200
16	1	1	1	1	20	20	0,200	0,200
17	0	0	0	0	15	15	0,125	0,125
18	0	0	0	0	15	15	0,125	0,125
19	0	0	0	0	15	15	0,125	0,125

Fonte: Autoria Própria, 2024.

As soluções de QT foram transferidas gota a gota nas soluções de Pluronic® F127 (contendo 2,5 mL de PIP e 2,5 mL contendo SSD). A solução contendo todos os ativos foi agitada durante 1 hora a 700 rpm para assegurar a uniformidade do meio líquido. Logo, as soluções filmogênicas foram transferidas para placas de Petri de poliestireno, com diâmetro de 5 cm, e deixadas em repouso em estufa de circulação de ar a 40 °C por 24 horas, assegurando a formação adequada das membranas para posterior aplicação.

A resposta foi avaliada com base na (i) espessura das membranas, (ii) uniformidade/ presença de defeitos e/ou rachaduras e (iii) nível de cristalinidade a amostra. Para tanto, todas as amostras foram primeiramente sujeitas à análise visual e fotográfica, utilizando a câmera traseira de um smartphone Samsung Galaxy S21, com resolução de 12 MP (grande angular), 12 MP (ultragrande angular) e 8 MP (teleobjetiva). Na sequência, as amostras foram avaliadas por microscopia de luz polarizada (PLOM). Os dados foram analisados utilizando o software Statistica, visando identificar as possíveis interações entre os parâmetros avaliados nos ensaios.

A condição ótima foi determinada com base no cálculo do índice de desejabilidade (*Desirability Index*), que consolida múltiplas respostas em uma única métrica. A membrana com os melhores resultados (espessura uniforme, ausência de defeitos e ausência de cristais) foi também avaliada quanto às demais técnicas de caracterização. Vale destacar que, para a amostra otimizada, foram preparados controles que incluem as seguintes membranas: QT/F127, QT/F127/PIP, QT/F127/SSD, além de membranas de controle compostas exclusivamente por QT e por F127 separadamente.

4.3.2 Espessura

A espessura de todas as membranas foi medida com um micrômetro digital (Marathon), calculando-se a média aritmética de três pontos: um central e dois nas laterais de cada membrana.

4.3.3 Microscopia óptica com luz polarizada (PLOM)

A microscopia óptica com luz polarizada (PLOM) foi capaz de fornecer informações detalhadas sobre a morfologia e a dispersão dos compostos nas membranas, evidenciando a presença ou ausência de partículas cristalinas, que apareceram como pontos luminosos nas imagens.

A birrefringência é o fenômeno responsável por esses pontos luminosos quando os cristais estiverem presentes, uma vez que os cristais possuem índices de refração diferentes, permitindo que a luz se divida em dois raios de polarização cruzada. A cristalinidade foi determinada observando visualmente a birrefringência dos cristais (quando presentes) em contraste com as regiões amorfas, que não mostraram birrefringência.

As análises das membranas foram conduzidas colocando as amostras em lâminas de vidro e movimentando-as com o suporte do microscópio.

4.3.4. Microscopia de Força Atômica (AFM)

As micrografias foram obtidas utilizando um microscópio de força atômica (AFM) modelo Nanosurf FlexAFM easyScan 2 Controller, fabricado na Suíça. O equipamento foi operado no modo de contato intermitente, empregando um cantiléver modelo TAP190A1-G (raio < 10 nm), com frequência de ressonância de 190 kHz e constante de mola de $48 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$. As imagens foram capturadas com uma frequência de varredura de 1 Hz e resolução de 512×512 pixels, sendo posteriormente processadas pelo software WSxM 5.0, disponível gratuitamente online.⁶⁷ Além de avaliar as características morfológicas da superfície da amostra, também foram investigadas propriedades, como a rugosidade essencial para a aplicação desejada.

4.3.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para avaliar as interações entre os componentes das membranas. Foram analisadas amostras individuais de Quitosana (QT) e Pluronic® F127, além das membranas QT/F127, QT/F127/PIP, QT/F127/SSD e QT/F127/PIP/SSD. Para a caracterização das membranas, empregou-se a técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR), enquanto, para o Pluronic® F127, as análises foram realizadas utilizando pastilhas de KBr.

Adicionalmente, um microscópio acoplado ao sistema permitiu uma análise detalhada das áreas específicas das amostras, aprimorando a precisão na coleta dos dados espectroscópicos. As quantidades foram ajustadas devido à alta intensidade de absorbância dos componentes, a qual pode exceder o limite de linearidade do equipamento. As medições foram realizadas em modo de absorbância, na faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e 60 acumulações para garantir alta sensibilidade dos dados.

4.3.6. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Para estudar as interações entre os constituintes das membranas, foram preparadas amostras individuais de QT, Pluronic® F127, assim como das membranas de QT/F127,

QT/F127/PIP, QT/F127/SSD e QT/F127/PIP/SSD. Foram utilizados 6 mg de cada amostra para as análises, realizadas em uma faixa de temperatura de 0-200 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio. A análise foi conduzida no equipamento TA Instruments Q20, disponível no Laboratório de Análises Térmicas da Central de Análise do Departamento de Química.

4.3.7. Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas utilizando um Analisador Termogravimétrico Shimadzu TGA-50, operando em uma atmosfera controlada de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min. As amostras foram aquecidas a uma taxa constante de 10 °C/min, atingindo uma temperatura final de 700 °C. Durante os experimentos, as amostras foram acondicionadas em células de platina, proporcionando estabilidade térmica e minimizando possíveis interferências durante a medição da perda de massa.

4.3.8. Molhabilidade por ângulo de contato

Para medir o ângulo de contato e a hidrofobicidade das superfícies das membranas, foi empregado um goniômetro com uma câmera acoplada. As amostras das membranas foram fixadas com fita dupla face em lâminas de vidro e posicionadas em um suporte diante da câmera. Em seguida, gotas de água foram depositadas nas membranas utilizando uma pipeta de Pasteur descartável, mantendo uma certa distância entre elas. Assim que cada gota se depositou, a imagem foi capturada, e o software realizou 10 medições do ângulo de contato a cada segundo de exposição da gota no material.

4.3.9. Determinação de grau de dissolução das membranas

Foi realizada a avaliação da dissolução das membranas em soluções tamponadas com tampão de acetato a pH 5,5 e tampão de fosfato a pH 7,4. Para isso, as amostras das membranas foram cortadas com furador circular de 1,5 cm de diâmetro, pesadas em uma balança analítica

de alta precisão e colocadas em tubos Falcon contendo 25 mL das soluções tampão. As amostras foram mantidas em banho termostático a $37 \pm 0,5$ °C.

Após 24 horas de experimento, as amostras foram retiradas dos tubos, secas com papel toalha, colocadas em um dessecador por 48 horas para remover a água residual e, em seguida, pesadas novamente na balança. Para calcular o grau de dissolução, foi utilizada a Equação 1:

$$\%GD = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

Na qual *GD* indica o grau de dissolução, *m_i* refere-se à massa inicial da amostra da membrana, e *m_f* corresponde à massa após 24 horas. Desse modo, foi viável calcular o grau de dissolução das diversas formulações em resposta a diferentes valores de pH e analisar como os polímeros se comportam nesses meios.

4.3.10. Determinação de grau de intumescimento das membranas

Análises sobre o grau de intumescimento das membranas foram realizadas para avaliar a capacidade de absorção de água das matrizes poliméricas. Tal característica se tornará relevante quando aplicada a curativos para feridas, pois, na presença de lesões, haverá produção de exsudatos e troca de fluidos na pele, necessitando de um material capaz de absorver esses líquidos.

O grau de intumescimento foi estudado usando um método gravimétrico. Primeiro as amostras das membranas foram cortadas com um perfurador de 1,5 cm de diâmetro. Depois, essas amostras foram colocadas em béqueres contendo 25 mL de solução tampão de fosfato (pH 7,4). O experimento foi realizado com as amostras mantidas em agitação a uma temperatura controlada de $37 \pm 0,5$ °C em um banho termostático.

As amostras foram pesadas em intervalos fixos utilizando uma balança de precisão analítica. Em cada medição, as amostras foram secas com papel toalha para remover o excesso de umidade e, em seguida, devolvidas à solução tamponada. Inicialmente, as amostras foram retiradas das soluções a cada 5 minutos. Após 60 minutos de estudo, as análises passaram a ser realizadas a cada hora, até completar 3 horas de experimento. Foram feitas mais três pesagens, após 23 horas, 24 horas e 72 horas para determinar a constância das massas das amostras.

O cálculo do grau de intumescimento pode ser calculado através da Equação 2:

$$\%GI = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100 \quad (2)$$

Em que GI é o grau de intumescimento, m_t é a massa da amostra no tempo t e m_0 é a massa da amostra no início do experimento.

4.3.11. Segurança no laboratório e descarte de resíduos

Durante a realização dos experimentos, foram adotadas rigorosas medidas de segurança, utilizando equipamentos de proteção individual (EPIs) como jaleco, luvas e máscara, além de vestimentas adequadas, como calças e sapatos fechados. O laboratório é equipado com capelas de exaustão, extintores de incêndio e saídas de emergência para garantir a máxima segurança dos operadores.

Vale destacar que dentre os reagentes utilizados encontram-se os biopolímeros que geram resíduos biodegradáveis, garantindo um menor impacto ambiental. Além disso, todos os experimentos foram conduzidos utilizando a menor quantidade de reagentes possível, visando a rota mais eficiente e a minimização da geração de resíduos. A separação dos resíduos gerados foi feita em sólidos e líquidos, com os líquidos sendo categorizados em orgânicos, aquosos e halogenados. Todos os resíduos foram encaminhados para descarte adequado pela empresa responsável pela gestão de resíduos químicos do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

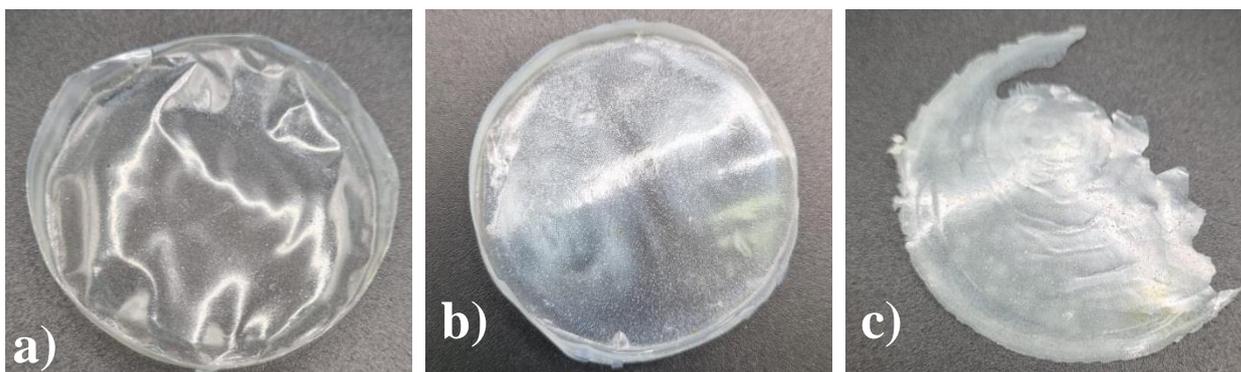
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização morfológica preliminar para otimização

5.1.1 Análise de Homogeneidade e Fragilidade

Todas as amostras obtidas no planejamento fatorial 2^4 com triplicata do ponto central foram analisadas primeiramente por análise visual e fotográfica. Durante essa análise, aspectos como homogeneidade, heterogeneidade e tendência à quebra/fragilidade foram observados, conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6: Fotos representativas dos grupos de membranas obtidas (a) membrana homogênea, (b) membrana heterogênea e (c) membrana heterogênea e quebradiça.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

As membranas homogêneas (n° 2, 6, 10, 14) apresentaram distribuição uniforme dos componentes, principalmente devido à interação balanceada entre a quitosana (QT) e o Pluronic® F127. A QT, um biopolímero catiônico, possui alta afinidade por soluções aquosas ácidas devido à sua estrutura hidrofílica e capacidade de formar ligações de hidrogênio, proporcionando uma matriz coesa que facilita a dispersão homogênea do Pluronic.²⁹ Por sua vez, o Pluronic® F127, um copolímero tribloco com propriedades anfifílicas, tende a organizar-se em micelas estáveis em solução aquosa.³⁷ Quando esses componentes estão em concentrações compatíveis, a membrana formada apresenta uma rede estruturada e uniforme, o que reduz significativamente a probabilidade de fraturas, devido à coesão entre as fases.

No entanto, nas membranas classificadas como heterogêneas e quebradiças (n° 3, 7, 11, 15), foi constatada uma segregação de fases que pode ser explicada pela incompatibilidade das concentrações de QT e Pluronic® F127. Em concentrações mais elevadas de F127, por exemplo, observa-se a formação de agregados maiores e menos integradas à matriz de QT, levando à separação de fases.⁶⁸ Esse comportamento reflete a tendência do Pluronic® F127 de formar estruturas autoassociativas que, quando não suficientemente estabilizadas pela matriz polimérica da QT, resultam em áreas de fragilidade. Essas áreas segregadas comprometem a continuidade da membrana, resultando em pontos de tensão onde ocorre a fratura.⁶⁹

Além disso, o Pluronic® F127, sendo um copolímero termossensível, pode induzir mudanças na estrutura da membrana ao resfriar, exacerbando a heterogeneidade em formulações com concentrações inadequadas de QT para suportar essa reorganização. Por outro lado, em formulações balanceadas, o Pluronic® F127 contribui para a flexibilidade e estabilidade da membrana, mas sem ultrapassar o ponto em que ocorre segregação.

Esses resultados indicam que a homogeneidade das membranas está intrinsecamente ligada à interação entre QT e Pluronic® F127. A estrutura coesa e resistente das membranas homogêneas é alcançada apenas quando há uma compatibilidade nas concentrações, maximizando a interação entre as fases poliméricas e minimizando a ocorrência de áreas segregadas e pontos de fragilidade.

5.1.2 Análise de Espessura e Massa

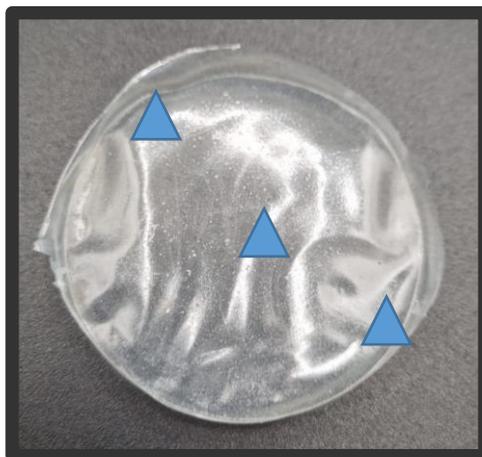
As análises quantitativas iniciais foram realizadas considerando o peso e a espessura das membranas, com a espessura medida por um micrômetro digital (Marathon), conforme indicado na Tabela 3.

Tabela 3- Dados de espessura e massa das membranas obtidas.

Membrana	Massa (g)	Ponto central (mm)	Extremidade 1 (mm)	Extremidade 2 (mm)	Média (mm)	Desvio (mm)
1	0,114	0,034	0,025	0,033	0,0307	0,004
2	0,170	0,040	0,045	0,040	0,042	0,002
3	0,094	0,041	0,037	0,043	0,040	0,002
4	0,212	0,049	0,043	0,050	0,047	0,003
5	0,107	0,026	0,023	0,020	0,023	0,002
6	0,174	0,033	0,034	0,036	0,034	0,001
7	-	-	-	-	-	-
8	0,176	0,038	0,042	0,044	0,041	0,002
9	0,114	0,028	0,026	0,026	0,027	0,001
10	0,179	0,041	0,032	0,029	0,034	0,005
11	-	-	-	-	-	-
12	0,218	0,049	0,052	0,049	0,050	0,001
13	0,119	0,030	0,002	0,002	0,012	0,012
14	0,189	0,004	0,032	0,027	0,021	0,011
15	0,106	0,044	0,050	0,043	0,046	0,003
16	0,228	0,056	0,035	0,046	0,046	0,007
17	0,158	0,029	0,035	0,028	0,031	0,003
18	0,165	0,043	0,030	0,033	0,035	0,005
19	0,163	0,039	0,043	0,037	0,040	0,002

Fonte: Autoria Própria, 2024.

A espessura foi medida em três pontos de cada membrana, no ponto central e nas extremidades laterais, com o auxílio de um micrômetro, conforme indicado na Figura 8. A média aritmética foi calculada para cada membrana, de acordo com o esquema ilustrado na Figura 7.

Figura 7 - Pontos de Medição da Espessura

Fonte: Autoria Própria, 2024.

Figura 8 - Micrômetro digital

Fonte: Autoria Própria, 2024.

A análise dos dados de espessura revela que as membranas com menor desvio padrão (por exemplo, membrana 6, com desvio de 0,001 mm) exibem maior homogeneidade, indicando uma distribuição uniforme dos componentes em toda a superfície. Essa uniformidade está correlacionada à estabilidade estrutural e à coesão da matriz polimérica, o que também se reflete em uma menor propensão à quebra. Em contraste, membranas com desvios elevados (como a membrana 13, com desvio de 0,012 mm) apresenta uma estrutura menos uniforme, possivelmente devido à separação de fases entre QT e Pluronic® F127. Essa segregação contribui para a formação de regiões de fragilidade que comprometem a resistência mecânica, tornando essas membranas mais suscetíveis à quebra.

Além disso, as variações de massa entre as membranas indicam possíveis diferenças no conteúdo residual de solventes ou na absorção de umidade, especialmente nas membranas com

massa superior aos valores esperados para os componentes sólidos. Membranas como a nº 4 e nº 16, que apresentam massas de 0,212 g e 0,228 g, respectivamente, podem ter retido maior quantidade de solvente, resultando em variações que influenciam tanto a espessura quanto a densidade da membrana. Essa retenção pode afetar negativamente a homogeneidade, especialmente em formulações onde a evaporação completa do solvente é crucial para a obtenção de uma estrutura coesa e uniforme.

Diante do exposto, com base na análise das espessuras das membranas produzidas, os valores médios obtidos variam entre aproximadamente 0,021 mm e 0,056 mm. Em comparação, a espessura da epiderme humana geralmente varia de 0,05 mm a 1,5 mm, dependendo da área do corpo e do estado de hidratação. As membranas mais finas, como a membrana nº 5 (0,023 mm), aproximam-se da espessura da camada mais superficial da epiderme, que varia entre 10 a 20 μm em áreas finas. Essa proximidade em espessura sugere que as membranas bioinspiradas podem ser viáveis para aplicação cutânea, promovendo uma adaptação mais eficiente à topografia da pele, o que pode facilitar a incorporação de fármacos e sua liberação localizada. Além disso, as membranas de maior espessura, próximas de 0,05 mm, aproximam-se do limite inferior da epiderme como um todo, o que as torna promissoras para mimetizar as barreiras epidérmicas e potencializar a proteção e liberação sustentada do fármaco.

5.1.3 Microscopia óptica com luz polarizada (PLOM)

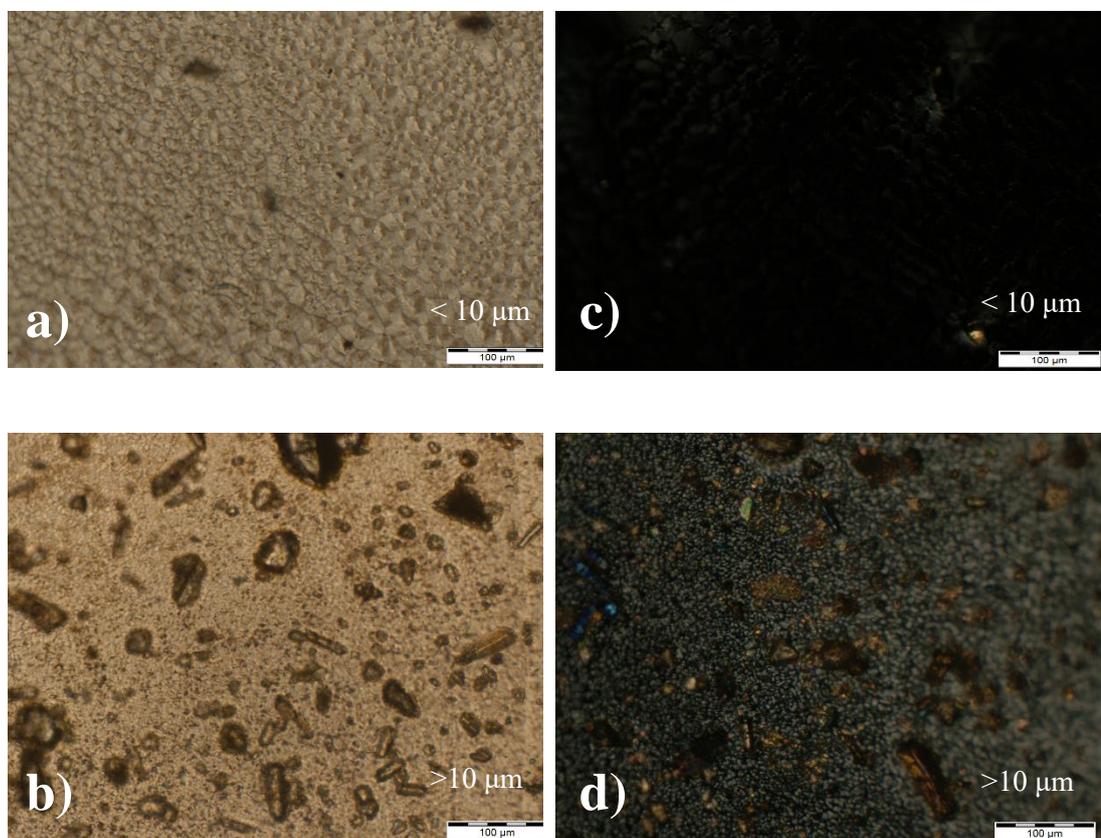
A microscopia de luz polarizada foi empregada para investigar a cristalinidade das membranas, com análise realizada em três regiões distintas para garantir a ampliação ideal e detalhamento da estrutura. Essa etapa é essencial para avaliar a homogeneidade das membranas, já que a aplicação desejada exige ausência ou minimização de cristais, assegurando uma estrutura uniforme e funcional. De um modo geral, a amorficidade dos fármacos incorporados em membranas acarreta vantagens relacionadas à solubilidade e biodisponibilidade do princípio ativo.⁷⁰ Essa característica é particularmente importante para fármacos de baixa solubilidade em água, tal como a SSD, pois facilita sua dissolução e promove uma liberação mais eficiente no local da aplicação. A forma amorfa dos ativos apresenta maior energia livre em comparação à forma cristalina, o que resulta em uma solubilidade superior nos fluidos biológicos.⁷¹ Dessa forma, a amorficidade pode otimizar a absorção do fármaco pela pele, melhorando a eficácia terapêutica e o processo de cicatrização das feridas. Além disso, essa característica pode ser

explorada para controlar a liberação do fármaco de maneira prolongada ou localizada, atendendo às necessidades específicas de tratamento das feridas.

A microscopia de luz polarizada permite diferenciar áreas cristalinas de regiões amorfas na matriz polimérica, as regiões claras representam pontos de birrefringência, indicando a presença de cristais, enquanto as áreas escuras refletem uma fase amorfa e desorganizada, conforme indicado na Figura 9.

Como supracitado, a presença de cristais nas membranas é indesejável, pois compromete a permeação uniforme do fármaco ao introduzir barreiras estruturais na matriz polimérica. Cristais podem reduzir a eficiência da liberação do fármaco, dificultando a difusão homogênea e, conseqüentemente, limitando a eficácia terapêutica da aplicação cutânea. Dessa forma, assegurar a ausência de cristalinidade é essencial para o desenvolvimento de uma membrana ideal. As amostras indicadas na Figura 9, nas subfiguras a) e c), correspondem, respectivamente, à membrana nº 2, enquanto as subfiguras b) e d) representam a membrana nº 9.

Figura 9- Microscopias óticas das membranas de nº 2 e nº9. (a, b) Imagem de Interferência de Luz Polarizada. (c,d) Imagem em Condição de Polarização Total.



Após a análise das 19 membranas obtidas no planejamento fatorial, a presença de cristais foi categorizada conforme o tamanho, em partículas com diâmetro inferior a 10 μm ($<10 \mu\text{m}$) e superior a 10 μm ($>10 \mu\text{m}$). A maioria das membranas apresentou cristais menores que 10 μm , sugerindo uma dispersão mais uniforme dos cristais, o que minimiza o impacto direto nas propriedades mecânicas e contribui para a uniformidade da matriz polimérica. No entanto, algumas membranas (1, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18 e 19) exibiram tanto cristais pequenos ($<10 \mu\text{m}$) quanto maiores ($>10 \mu\text{m}$), o que pode indicar segregação e desordem na estrutura polimérica.

A presença de cristais maiores que 10 μm introduz descontinuidades na matriz, favorecendo a formação de áreas de fragilidade e comprometendo a homogeneidade da membrana. Essas descontinuidades criam pontos de tensão que podem enfraquecer as propriedades mecânicas, prejudicando a distribuição uniforme dos componentes ativos e, consequentemente, a eficácia da membrana. Portanto, a predominância de cristais $<10 \mu\text{m}$ nas membranas avaliadas sugere uma estrutura mais robusta, enquanto a ocorrência de cristais $>10 \mu\text{m}$ destaca a importância de controlar rigorosamente o processo de formulação para evitar aglomerados que possam comprometer a integridade estrutural.

Assim, a ausência ou minimização de cristalinidade é fundamental para preservar a integridade mecânica e garantir a eficácia na incorporação de fármacos, assegurando uma aplicação eficiente e estável das membranas no contexto desejado.

Após a análise individual de cada uma das respostas empregadas no planejamento fatorial ((i) espessura das membranas, (ii) uniformidade/ presença de defeitos e/ou rachaduras e (iii) nível de cristalinidade da amostra), procedeu-se a análise de variância (Anova) e avaliou-se o índice de desejabilidade. Os dados obtidos para a análise de variância são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4- Análise de Variância (ANOVA) para a otimização de membranas em que SS (Soma dos Quadrados), dF (Graus de Liberdade), MS (Quadrado Médio), F (Estatística F) e p (valor p) para avaliar a significância das variáveis no processo de otimização das membranas.

	SS	df	MS	F	p
Modelo	1,451599	10	0,145160	4,95	0,022542
Curvatr.	0,058498	1	0,058498	2,32	0,171210
Error	0,176191	7	0,025170		
Total SS	1,686288	18			

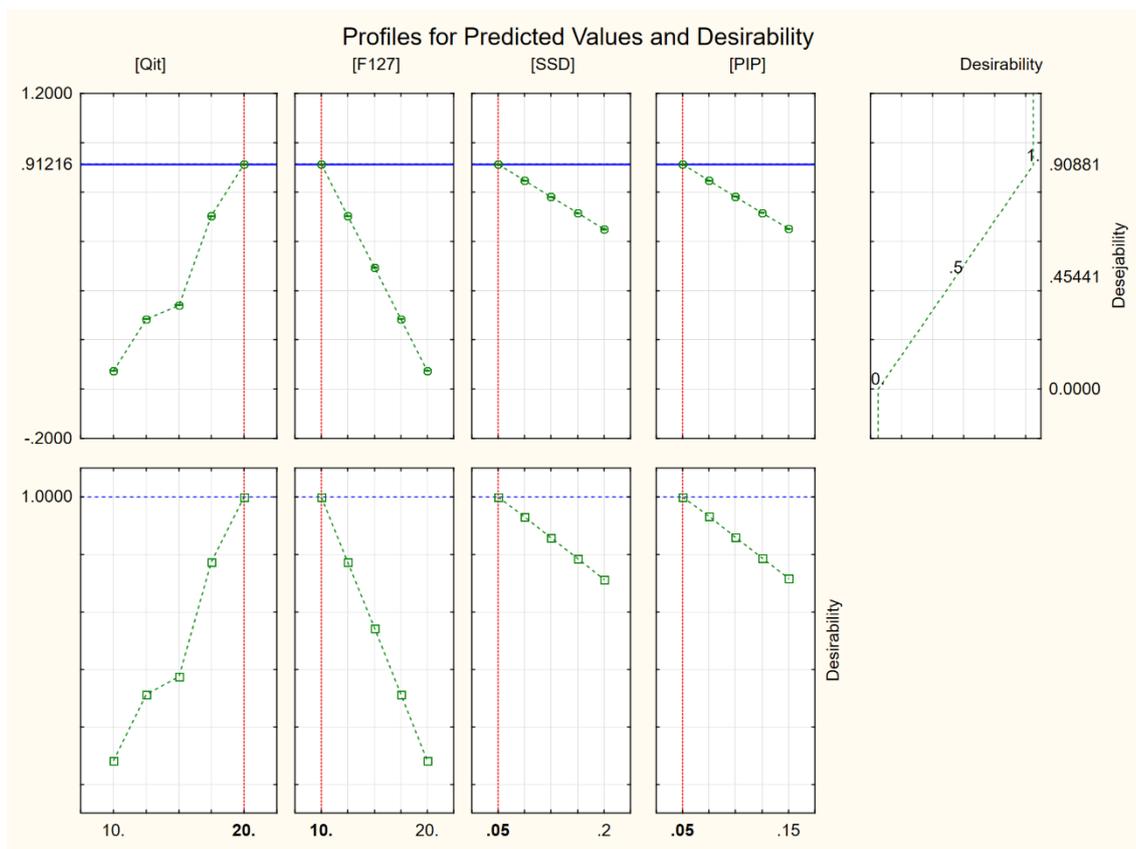
$R^2=0.89552$; Adj:0.73132

*Os valores de F, p e interações significativas entre os fatores experimentais são apresentados para avaliar a influência dos diferentes parâmetros na performance das membranas. A significância estatística foi estabelecida para um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

A análise dos dados apresentados na Tabela 4 revela que o modelo ajustado é estatisticamente significativo ($p = 0,0225$), explicando 89,55% da variação total nos dados ($R^2 = 0,89552$). O valor de R^2 ajustado, de 73,13%, indica um bom ajuste considerando o número de variáveis incluídas. A componente de curvatura não foi estatisticamente significativa ($p = 0,1712$), sugerindo que sua contribuição ao modelo é limitada. Esse é um bom resultado, pois significa que o modelo não precisa de um termo extra para capturar efeitos de curvatura, o que simplifica a explicação e a interpretação do modelo, sem perder a qualidade do ajuste. O erro residual apresenta uma variação de 0,1762, com um quadrado médio de 0,0252, refletindo a variação não explicada pelo modelo. Esses resultados destacam a adequação geral do modelo.

Na sequência procedeu-se a análise de desejabilidade e os dados obtidos são apresentados na Figura 10.

Figura 10. Mapas de Desejabilidade para cada par de fatores com a escala de cores indicando os níveis de desejabilidade para diferentes combinações de fatores, permitindo visualizar as áreas ótimas de interação entre os parâmetros analisados.



O índice de desejabilidade é uma ferramenta estatística avançada utilizada para otimizar formulações em que múltiplas respostas ou variáveis precisam ser avaliadas simultaneamente. Esse índice permite combinar diferentes respostas (ou fatores) em um único valor numérico, facilitando a análise multidimensional e a identificação das condições ideais para o sistema em estudo.

O conceito baseia-se na atribuição de uma "desejabilidade" a cada resposta, por meio de uma função matemática que varia de 0 a 1. Um valor de índice igual a 1 indica que todas as respostas atingiram as condições ótimas desejadas, enquanto um valor próximo de 0 sinaliza uma situação indesejável. A desejabilidade é calculada de maneira a refletir a conformidade com os objetivos específicos de cada fator, permitindo que os pesquisadores ajustem as condições experimentais para alcançar o melhor desempenho do sistema.

O cálculo do índice faz necessário a avaliação de cada resposta e sua conversão em uma escala de desejabilidade, dependendo do tipo de variável. Assim, são estabelecidas as condições desejadas, por exemplo, quanto maior, melhor ou quanto menor, melhor ou ainda um intervalo ideal. A seguir, essas escalas são combinadas de forma ponderada, levando em consideração a importância relativa de cada variável no processo.

Com base nessas informações, a Figura 10 nota-se que a maximização da QT e a minimização dos demais fatores conduz à condição de desejabilidade. Os dados numéricos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5- Índices de desejabilidade para as membranas bioinspiradas em que ID é o índice de desejabilidade.

Experimento	[Qt] mg/mL	[F127] mg/mL	[SSD] mg/mL	[PIP] mg/mL	ID
1	10	10	0,050	0,050	0,0000
2	20	10	0,050	0,050	0,9088
3	10	20	0,050	0,050	0,0000
4	20	20	0,050	0,050	0,0000
5	10	10	0,200	0,050	0,0000
6	20	10	0,200	0,050	0,7648
7	10	20	0,200	0,050	0,0000
8	20	20	0,200	0,050	0,0000
9	10	10	0,050	0,200	0,0000
10	20	10	0,050	0,200	0,7678
11	10	20	0,050	0,200	0,0000
12	20	20	0,050	0,200	0,0000
13	10	10	0,200	0,200	0,0000

14	20	10	0,200	0,200	0,0000
15	10	20	0,200	0,200	0,0000
16	20	20	0,200	0,200	0,0000
17	15	15	0,125	0,125	0,0000
18	15	15	0,125	0,125	0,0000
19	15	15	0,125	0,125	0,0000

Fonte: Autoria Própria, 2024.

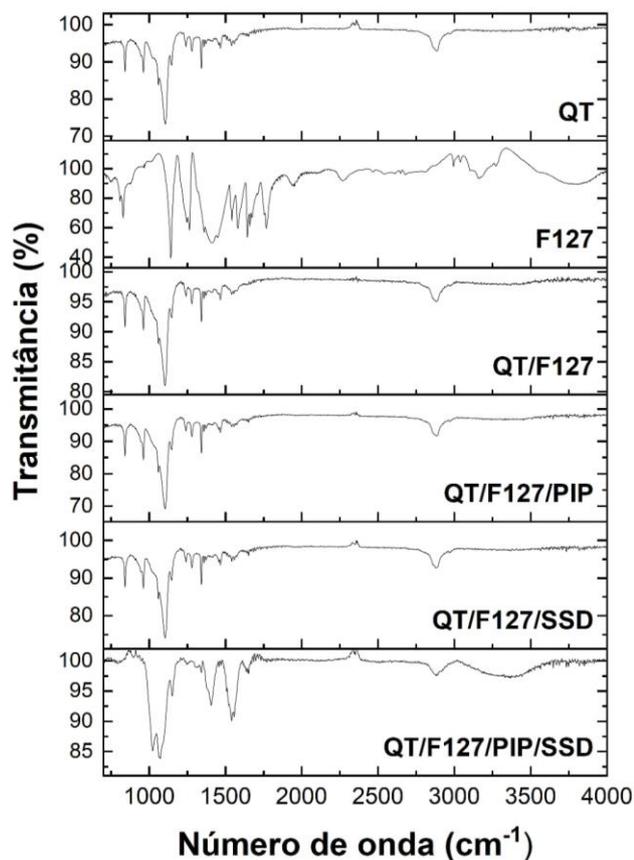
A análise dos dados apresentados na Tabela 5 deixa claro que a amostra 20 mg mL⁻¹ de QT, 10 mg mL⁻¹ de F127, 0,050 mg mL⁻¹ de SSD e 0,050 mg mL⁻¹ de PIP, apresentou o melhor ID, sendo escolhida para a continuidade do estudo. A partir de agora, essa amostra será referida como QT/F127/SSD/PIP e os seus controles, seguindo as concentrações definidas no planejamento, serão obtidos: QT/F127, QT/F127/SSD E QT/F127/PIP.

5.2 Caracterização Físico-Química e Estrutural das Membranas

5.2.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) apresentados na Figura 11 foram utilizados para caracterizar a matriz formada por QT, F127 e as formulações contendo PIP e SSD. A análise desses espectros fornece informações sobre as interações intermoleculares ocorridas devido à incorporação dos compostos.

Figura 11 - Espectros de FTIR obtidos para a membrana otimizada de n° 2 (QT/F127/PIP/SSD) e seus controles.



Fonte: Aatoria Própria, 2024.

No espectro da QT isolada, a banda em torno de 1650 cm^{-1} corresponde ao estiramento C=O do grupo amida I, enquanto a banda próxima a 1550 cm^{-1} está associada ao modo de deformação N-H (amida II).⁷² Além disso, a banda em $1050\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuída às vibrações de estiramento C-O-C presentes na estrutura da quitosana.⁷³

Para o F127, destaca-se a banda intensa em torno de 1100 cm^{-1} , correspondente às vibrações de estiramento C-O-C, característica da unidade repetitiva de óxido de etileno. Também é possível identificar uma banda em 2880 cm^{-1} , associada ao estiramento C-H dos grupos metila e metileno.⁷⁴

Na matriz QT/F127, observa-se a combinação das principais bandas das duas substâncias, indicando a formação de uma mistura homogênea, especialmente nas regiões associadas as vibrações de -OH e -NH ($3200\text{ - }3400\text{ cm}^{-1}$) e do grupo C-O-C ($1100\text{ - }1140\text{ cm}^{-1}$). Pequenas alterações na intensidade e no deslocamento das bandas indicam interações intermoleculares.

Com a incorporação da Piperina em QT/F127/PIP e da Sulfadiazina de Prata em QT/F127/SSD, não foram evidenciados sinais claros desses compostos nos espectros de FTIR. Essa ausência é explicada, em primeiro lugar, pela baixa concentração de PIP e SSD nas formulações, o que reduz significativamente a intensidade de suas bandas características, tornando-as menos perceptíveis. Além disso, a sobreposição espectral com os componentes majoritários, como a Quitosana (QT) e o Pluronic® F127, dificulta a detecção de bandas específicas desses fármacos, uma vez que seus grupos funcionais (como amidas, sulfonamidas e carboxilas) vibram em regiões do espectro já dominadas por sinais intensos da matriz.

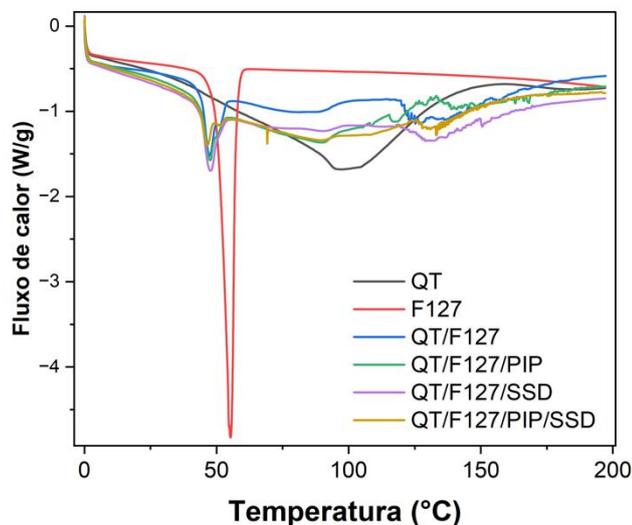
Por fim, o espectro da membrana completa otimizada de QT/F127/PIP/SSD mostra que os sinais característicos da Quitosana e do Pluronic® F127 continuam predominantes. No entanto bandas específicas de PIP e SSD não são claramente identificadas, como relatado anteriormente. Assim estes resultados evidenciam que a QT e o F127 são os componentes majoritários na matriz polimérica, apresentando bandas bem definidas em todas as formulações analisadas.

Logo, embora tenha ocorrido a incorporação de PIP e SSD, a falta de identificação clara de suas bandas sugere que outras técnicas analíticas complementares, como a análise térmica (TGA e DSC), seriam mais adequadas para analisar a presença desses compostos e avaliar suas interações com a matriz polimérica.

5.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Os resultados apresentados na Figura 12 correspondem à análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) realizada para caracterizar as membranas em termos de suas propriedades térmicas, estabilidade e possíveis interações entre os componentes, fatores essenciais para aplicações terapêuticas. Observou-se que a formulação contendo apenas F127 não foi capaz de formar uma membrana estruturada, devido à ausência de componentes que promovam coesão e reticulação. Como resultado, esse material precisou ser raspado e analisado em forma de pó para viabilizar a avaliação térmica.

Figura 12 - Curvas de DSC da membrana otimizada e seus controles.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

A membrana de QT apresentou um pico endotérmico em torno de 95,6 °C, atribuído à evaporação de água, evidenciando umidade residual. Também foram observados picos em aproximadamente 164,7 °C e 174,4 °C, associados à transição vítrea da QT, indicando estabilidade térmica elevada até essa faixa de temperatura.⁷⁵

O F127, por sua vez, mostrou um pico endotérmico a 55,2 °C, relacionado à fusão do copolímero. As amostras contendo QT em combinação com F127 e outros aditivos apresentaram alterações nos perfis térmicos, indicando interações entre os componentes. Por exemplo, a membrana QT/F127 exibiu picos em 47,2 °C e 87,6 °C, com o primeiro atribuído ao F127 e o segundo a QT, indicando a presença de interações entre os polímeros.⁷⁶

Na formulação QT/F127/SSD, foram observados picos em 47,3 °C e 91,4 °C, sendo este último associado a um evento de reorganização estrutural da matriz polimérica devido à interação entre SSD e os polímeros, sugerindo leve aumento na estabilidade térmica. Já na QT/F127/PIP, além de picos similares, houve uma transição intermediária em 57,2 °C, característica que pode ser associada às propriedades únicas da PIP, conferindo maior resistência térmica.⁷⁷

Para a composição completa contendo QT/F127/PIP/SSD, o termograma revelou um comportamento térmico característico. Foram identificados picos principais em 46,1 °C e 51,7 °C, indicando transições relacionadas ao F127 e à interação com os demais componentes.

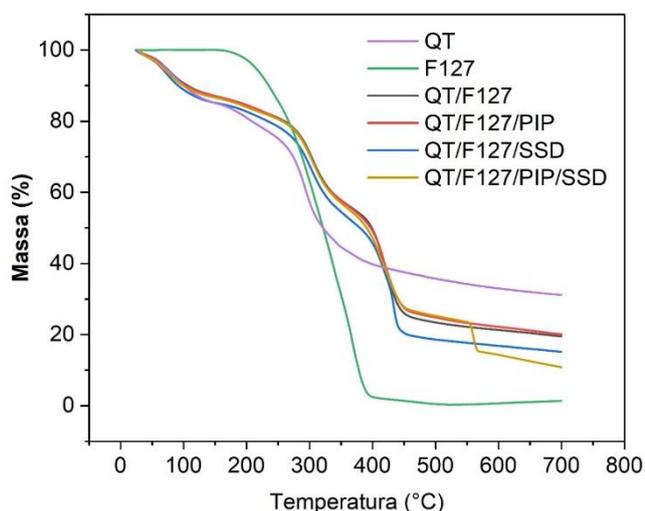
Esses dados reforçam o papel sinérgico da SSD e PIP na modulação da resposta térmica e na melhora das propriedades estruturais.²⁸

Logo, os resultados demonstram que a QT antes da transição vítrea, oferece uma base estável, enquanto o F127, combinado com SSD e PIP, permite ajustes na resposta térmica das membranas. Isso torna o material adequado para diversas aplicações terapêuticas, especialmente em contextos que demandam estabilidade térmica, liberação sustentada de fármacos e ação antimicrobiana eficaz.

5.2.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) das diferentes amostras de membranas e componentes foi realizada para avaliar a estabilidade térmica e os processos de decomposição. A Figura 13 mostra a variação de massa em função da temperatura para as amostras QT/F127, QT/F127/PIP, QT/F127/SSD, F127, QT e a membrana completa otimizada, permitindo uma análise comparativa entre as diferentes formulações.

Figura 13 - Perfil da análise termogravimétrica (TGA) para a membrana otimizada e seus controles.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

A primeira etapa de perda de massa, observada entre 50 e 150 °C, pode ser atribuída à evaporação de água. Esse comportamento é comum em materiais que possuem água adsorvida, seja na superfície ou em poros. Todas as amostras exibem uma leve perda de massa nessa faixa

de temperatura, sugerindo que umidade residual foi absorvida, possivelmente durante o processo de preparação ou armazenagem das membranas.

Após a perda inicial de água, observam-se distintas faixas de degradação térmica para cada amostra, especialmente na faixa entre 200 e 400 °C. Essa segunda fase de perda de massa é tipicamente associada à decomposição dos componentes orgânicos das amostras, que apresentam diferentes temperaturas de início de degradação, refletindo suas estabilidades térmicas. A amostra QT, por exemplo, começa a perder massa significativamente antes das demais, indicando uma menor estabilidade térmica comparada às demais formulações.⁷⁸ Em contraste, a amostra contendo apenas F127 apresenta uma perda acentuada de massa próximo a 300-400 °C, o que está de acordo com a decomposição esperada de polímeros que apresentam menor resistência térmica.⁷⁹

Observa-se ainda que a amostra QT/F127/SSD apresenta um perfil de degradação um pouco distinto, com uma perda de massa significativa ocorrendo em uma faixa de temperatura ligeiramente mais elevada em comparação às amostras contendo apenas QT ou F127. Isso sugere que a presença de SSD na formulação pode conferir uma ligeira melhoria na estabilidade térmica da membrana, possivelmente devido a interações que estabilizam a matriz polimérica.

Em temperaturas superiores a 600 °C, a maioria das amostras já não apresenta perdas significativas de massa, indicando que grande parte dos componentes orgânicos foi completamente degradada. Conforme indicado na Tabela 6, o resíduo final, correspondente à massa remanescente ao término da análise (entre 700 e 800 °C), representa uma medida dos componentes com maior resistência à decomposição térmica presentes em cada amostra.

Tabela 6- Porcentagem de Resíduo gerado após a análise (TGA).

Amostra	Resíduo (%)
QT	31,1
F127	1,2
QT/F127	19,2
QT/F127/SSD	15,2
QT/F127/PIP	20,2
QT/F127/PIP/SSD	10,9

Fonte: A autoria Própria, 2024.

Dentre as amostras analisadas, QT, QT/F127 e QT/F127/PIP apresentaram as maiores quantidades de resíduo na análise térmica. Esse resultado pode estar relacionado à composição química dessas amostras, especialmente pela maior proporção de quitosana, que, apesar de não ser termicamente estável, tende a formar resíduos sólidos significativos durante a decomposição devido à carbonização parcial de sua estrutura.⁸⁰

Desta forma, a análise TGA revelou diferentes perfis de degradação para cada formulação, destacando a influência dos componentes individuais na estabilidade térmica das membranas desenvolvidas. A amostra QT, ao exibir uma decomposição em temperaturas mais baixas, mostrou-se menos estável termicamente, enquanto as formulações contendo SSD e a membrana QT/F127/SSD/PIP apresentaram um comportamento mais resistente à degradação térmica.

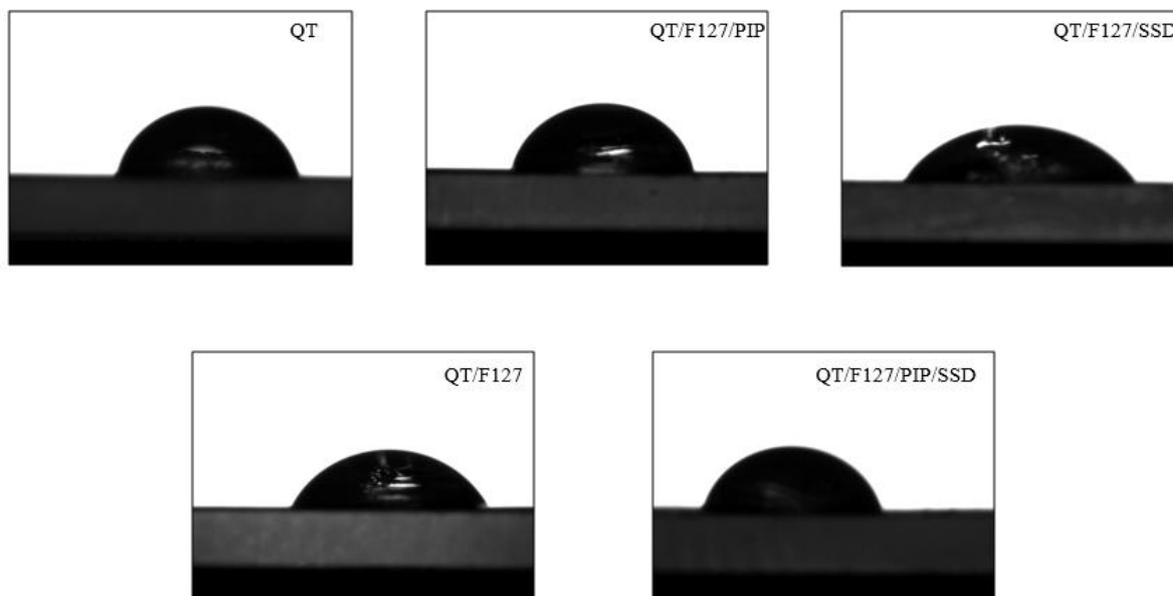
5.2.4 Molhabilidade por Ângulo de contato

A análise de ângulo de contato revelou variações significativas entre as diferentes formulações das membranas desenvolvidas. As amostras foram caracterizadas da seguinte forma: 1A (QT/F127), 2A (QT/F127/PIP), 3A (QT/F127/SSD), 5A (QT) e MB (QT/F127/PIP/SSD). A adição de diferentes componentes influenciou diretamente as características superficiais e as interações das membranas com a água, refletidas nos ângulos de contato como está indicado na Tabela 7 e ilustrado na Figura 14.

Tabela 7 - Ângulos de contato determinados para as membranas de QT, F127, PIP e SSD.

AMOSTRA					
Medida	QT/F127	QT/F127/PIP	QT/F127/SSD	QT	QT/F127/PIP/SSD
1	46,6	47,0	60,1	81,2	75,0
2	64,0	77,1	61,5	77,2	70,8
3	44,6	65,6	63,9	101,1	71,0
Média	51,7°	63,2°	61,8°	86,5°	72,3°
DP	10,7	15,2	2,0	12,8	2,3

Figura 14 - Fotografias obtidas nos ensaios de ângulo de contato das gotas de água nas superfícies.



Fonte: Autorial Própria, 2024.

A amostra composta apenas por QT/F127, apresentou uma média de ângulo de contato de $51,7^\circ$, indicando uma superfície mais hidrofílica em relação às outras. Essa característica pode ser atribuída à presença do copolímero F127, conhecido por sua afinidade com água devido às unidades polioxietileno em sua estrutura. Essa hidrofiliabilidade é vantajosa para promover a interação inicial com fluidos biológicos, facilitando a adesão da membrana à pele.

A incorporação de PIP na amostra na QT/F127/PIP resultou em um aumento do ângulo de contato para $63,2^\circ$, sugerindo uma redução na hidrofiliabilidade. A PIP, sendo um composto de baixa polaridade ($\log P$ 3,3), pode ter reduzido a interação da superfície com a água ao introduzir características hidrofóbicas à matriz. Essa modificação pode ser benéfica para aplicações em que uma barreira moderada à umidade seja desejável, preservando a estabilidade da formulação.⁸¹

Na amostra QT/F127/SSD, com a incorporação de SSD, o ângulo de contato foi de $61,8^\circ$, próximo ao observado em QT/F127/PIP. Esse comportamento pode ser explicado pelas propriedades anfífilas ($\log P$ 0,5) da sulfadiazina de prata, que equilibra hidrofiliabilidade e hidrofobicidade na superfície.⁸² Isso é particularmente relevante em aplicações antimicrobianas, onde o controle da interação com a umidade é essencial para a liberação sustentada do fármaco.

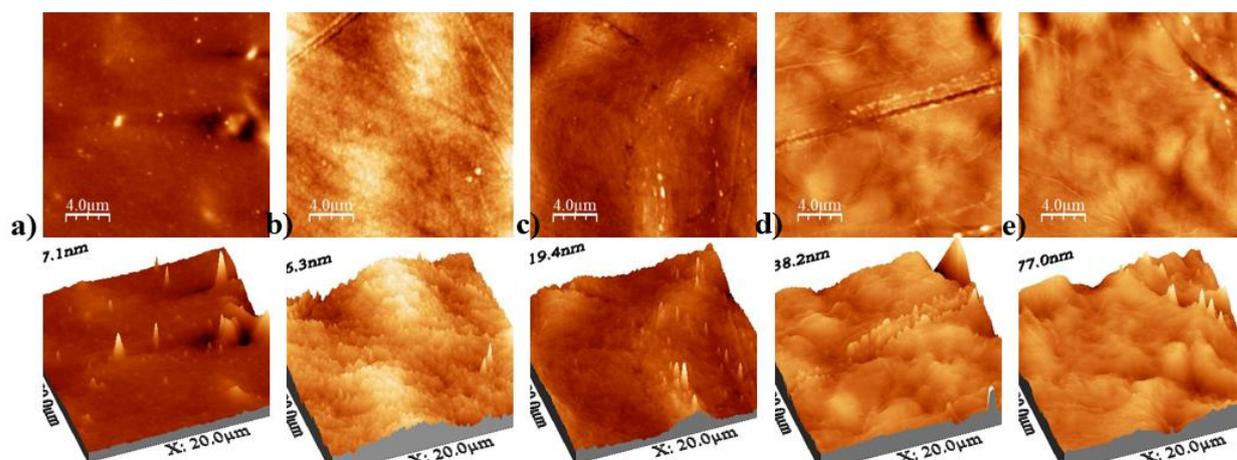
A amostra composta apenas por QT, apresentou o maior ângulo de contato ($86,5^\circ$), caracterizando uma superfície mais hidrofóbica. A ausência do F127 e dos ativos incorporados contribui para a redução da afinidade com a água, dado que a QT, isoladamente, exibe menor hidrofiliabilidade devido à sua estrutura polimérica rígida.

Por fim, a formulação completa otimizada combinando QT/F127/SSD/PIP, apresentou um ângulo de contato intermediário de $72,3^\circ$. Esse resultado reflete o efeito combinado dos componentes, onde o F127 contribui para a hidrofiliabilidade, enquanto a PIP e a SSD modulam a hidrofobicidade. Essa combinação balanceada é promissora para aplicações em que é necessário tanto um controle de liberação do fármaco quanto proteção contra o excesso de umidade externa.

5.2.5. Microscopia de Força Atômica (AFM)

As análises realizadas por Microscopia de Força Atômica (AFM) permitiram a caracterização da morfologia superficial das membranas desenvolvidas, evidenciando a influência dos diferentes componentes incorporados na matriz. A rugosidade, que se refere à variação da altura da superfície em diferentes escalas, é um parâmetro crucial para a avaliação da qualidade e funcionalidade das membranas, especialmente em aplicações cutâneas, pois pode afetar a adesão celular, a liberação do fármaco e a interação com a pele.⁸³ As imagens 2D e 3D das membranas estão indicadas na Figura 15, enquanto os valores de rugosidade estão apresentados na Tabela 8.

Figura 15- Imagens 2D e 3D obtidas por AFM das membranas a) QT, b) QT/F127, c) QT/F127/SSD, d) QT/F127/PIP, e) QT/F127/SSD/PIP



Fonte: Autoria Própria, 2024.

Tabela 8 - Dados da Rugosidade obtidos através do software WSxM 5.0.

Amostra	Rugosidade (nm)
QT	10
QT/F127	13
QT/F127/SSD	16
QT/F127/PIP	67
QT/F127/PIP/SSD	56

Fonte: Autoria Própria, 2024.

A membrana composta apenas por QT apresentou uma rugosidade média de 10 nm, refletindo uma superfície homogênea e característica deste polímero, que forma matrizes uniformes e adequadas para aplicações em liberação sustentada de fármacos. A adição de Pluronic® F127 (QT/F127) resultou em um leve aumento da rugosidade para 13 nm, conferindo

a formação de interações entre as cadeias poliméricas de QT e F127, mantendo, porém, a homogeneidade estrutural da superfície.

Com a inclusão da SSD na matriz de QT/F127, observou-se um incremento na rugosidade para 16 nm, atribuído à dispersão da SSD na matriz e à formação de uma superfície levemente mais texturizada. Este comportamento é coerente com a natureza da SSD, que além de contribuir para propriedades antimicrobianas, também pode modificar a morfologia superficial devido à sua interação com a matriz polimérica.

A incorporação de PIP na matriz QT/F127 resultou em um aumento significativo da rugosidade, atingindo 67 nm. Este resultado reflete a dominância estrutural da PIP, que gera uma superfície mais irregular devido à formação de agregados e à menor miscibilidade com os componentes da matriz. No entanto, na membrana contendo todos os componentes (QT/F127/PIP/SSD), a rugosidade reduziu para 56 nm, indicando um efeito de suavização promovido pela presença de QT, F127 e SSD, que apresentam valores de rugosidade relativamente baixos. Este efeito demonstra a capacidade dos componentes de menor rugosidade de equilibrar a contribuição da PIP, resultando em uma superfície menos irregular.

Adicionalmente, as imagens obtidas revelaram a preservação de estrias características das membranas, indicando que a organização estrutural da matriz foi mantida, mesmo com a adição dos diferentes componentes. Esses resultados sugerem que as interações entre os constituintes permitem modular a superfície das membranas, ajustando suas propriedades para aplicações específicas. A matriz QT/F127/PIP/SSD, por exemplo, apresenta características promissoras para aplicações cutâneas, onde a combinação de propriedades antimicrobianas, liberação sustentada e morfologia equilibrada são essenciais para o desempenho.

5.2.6 Determinação de grau de dissolução das membranas

As membranas otimizadas foram primeiramente avaliadas quanto aos graus de dissolução no intuito de avaliar sua estabilidade e desintegração em condições de pH fisiologicamente relevantes, visando entender seu potencial para aplicações cutâneas. As membranas foram imersas em soluções tamponadas de pH 5,5 e pH 7,4 a 37 °C, com o grau de dissolução medido após 24 horas de imersão.

Os resultados, apresentados na Tabela 9 indicaram que as membranas de controle expostas ao tampão de acetato com pH 5,5 foram completamente dissolvidas após 24 horas,

mostrando uma alta sensibilidade a ambientes levemente ácidos. Esse comportamento pode ser favorável em alguns tipos específicos de aplicação, por exemplo em áreas de pele inflamada, onde o pH é reduzido e no qual se deseja uma liberação acelerada dos fármacos incorporados, promovendo um efeito terapêutico direcionado e localizado.

Em contraste, os ensaios realizados em pH 7,4 revelaram menor grau de dissolução, indicando maior estabilidade das membranas em condições neutras, próximas ao pH da pele saudável.

Tabela 9 - Grau de dissolução (%) das membranas de QTS e F127 em soluções tampão de fosfato pH 7,4 a 37 °C após 24 h.

Amostra	Grau de Dissolução (%)
QT/F127	35,11
QT/F127/PIP	37,32
QT/F127/SSD	43,26
QT	29,77
QT/F127/SSD/PIP	38,69

Fonte: Aatoria Própria, 2024.

Vale destacar que alguns tipos de feridas, especialmente quando não ocorre o processo de cicatrização adequadamente, podem apresentar pH mais elevado, mais próximo de 8. Em alguns casos, a alteração do pH alcalino pode ser associado à presença de infecções bacterianas, especialmente por bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*. Em ambientes alcalinos, a função das células envolvidas na cicatrização, fibroblastos e queratinócitos, pode ser prejudicada. Além disso, pode reduzir a eficácia de algumas enzimas que participam da regeneração dos tecidos, dificultando a ação do sistema imune.⁸⁴ Nesses casos, as membranas desenvolvidas

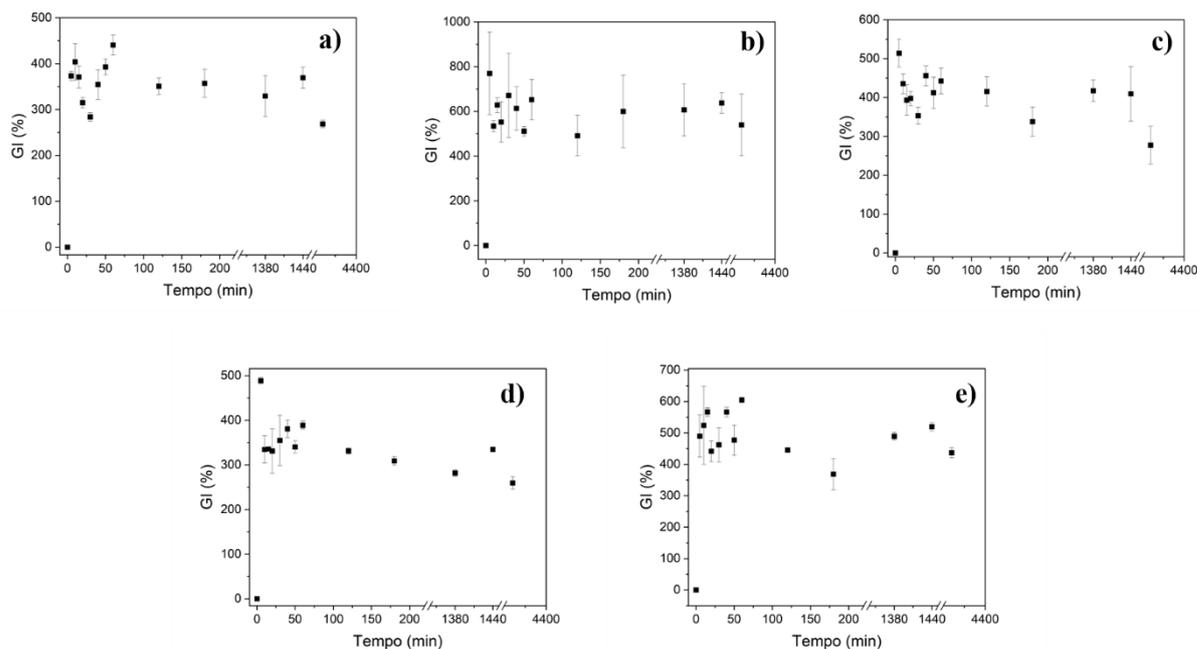
podem ser empregadas, agora com um tempo maior de desintegração, favorecendo a inibição dos microrganismos e a correção do pH necessário para a cicatrização.

Esses dados, apresentados na Tabela 9, sugerem que as membranas podem ser ajustadas para responder de maneira diferenciada às condições específicas do microambiente cutâneo, possuindo potencial para uma liberação controlada em pH neutro e uma liberação mais intensa em condições ácidas, conforme necessário para o tratamento.

5.2.7 Determinação de grau de intumescimento das membranas

A análise do grau de intumescimento das membranas foi realizada para avaliar sua capacidade de absorver água, uma propriedade essencial para curativos de feridas, pois permite a gestão de exsudatos e a promoção de um ambiente úmido para a cicatrização. O procedimento consistiu em imergir amostras das membranas em solução tampão de fosfato (pH 7,4) a 37 °C, simulando condições fisiológicas. As amostras foram pesadas em intervalos regulares, sendo calculado o grau de intumescimento com base na variação de massa ao longo do tempo, conforme indicado na Figura 16.

Figura 16- Perfil de intumescimento das diferentes formulações em função do tempo em pH 7,4 a 37 °C. a) QT/F127, b) QT/F127/PIP, c) QT/F127/SDD, d) QT, e) QT/F127/PIP/SSD.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

Os resultados mostraram que as membranas absorvem rapidamente grandes volumes de água, atingindo um platô em curto prazo, o que indica saturação. A membrana QT apresentou menor capacidade de intumescimento, enquanto as membranas modificadas (QT/F127, QT/F127/PIP, QT/F127/SSD e QT/F127/PIP/SSD) demonstraram melhor desempenho. A adição de F127 conferiu maior absorção, enquanto a SSD, embora tenha reduzido levemente a capacidade de intumescimento, trouxe propriedades antimicrobianas. A combinação QT/F127/PIP/SSD exibiu o perfil mais equilibrado, com alta absorção e estabilidade prolongada, sendo a mais promissora para curativos multifuncionais.⁸⁵

Os resultados deste estudo, que demonstraram aumento no intumescimento das membranas modificadas com F127 e PIP, estão em consonância com outros estudos que indicaram maior absorção de água em membranas de quitosana modificadas com F127⁸⁶. A adição de SSD reduziu levemente o intumescimento, como observado em pesquisas anteriores⁸⁷. A combinação F127/PIP/SSD obteve bom desempenho, equilibrando absorção e estabilidade. Contudo, as membranas se dissolveram em solução tampão de acetato (pH 5,5), o que limita sua aplicação em ambientes ácidos e sugere a necessidade de ajustes para feridas com pH levemente ácido.

No geral, as membranas apresentaram grande potencial para absorver exsudatos de feridas e favorecer a cicatrização, especialmente em condições próximas ao pH fisiológico e em feridas com nas quais o processo de cicatrização falha (pH alcalino).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou o elevado potencial das membranas bioinspiradas à base de quitosana e Pluronic® F127, incorporadas com sulfadiazina de prata (SSD) e piperina (PIP), como alternativas inovadoras para o tratamento de feridas cutâneas, com destaque para queimaduras. A metodologia empregada, baseada no método de secagem por solvente e em uma ampla caracterização físico-química, morfológica e funcional das amostras, permitiu a otimização das condições de formulação, assegurando propriedades adequadas às aplicações terapêuticas.

Os resultados obtidos confirmaram que a matriz polimérica otimizada apresenta elevada estabilidade térmica, alta capacidade de absorção de fluidos e propriedades ajustáveis às necessidades terapêuticas. A inclusão de SSD proporcionará uma ação antimicrobiana eficaz, enquanto a PIP atuará como agente potencializador da permeação cutânea, ampliando a biodisponibilidade do fármaco. Além disso, as características das membranas exibem potencial para promoção sustentada dos ativos incorporados e de criação de um ambiente favorável à regeneração tecidual, atendendo integralmente aos objetivos propostos

Por conseguinte, as membranas desenvolvidas apresentam características indispensáveis para aplicações biomédicas, como biocompatibilidade, funcionalidade aprimorada e propriedades específicas para uso tópico em feridas cutâneas. Este trabalho contribui significativamente para o avanço da ciência de materiais aplicados à saúde, representando uma importante inovação no desenvolvimento de curativos bioativos mais eficazes e seguros. Contudo, a validação plena da eficácia terapêutica e a translação para a prática clínica demandam investigações adicionais que serão realizados posteriormente, incluindo estudos de cinética de liberação *in vitro* da SSD e ensaios de permeação *ex vivo* em pele humana.

7. REFERÊNCIAS

- ¹ JORGE, S. A.; DANTAS, S. R. P. E. *Abordagem multiprofissional do tratamento de feridas* Editora Atheneu: São Paulo, 2003.
- ² SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A *Dermatologia* Artes Médicas: São Paulo, 2007.
- ³ SAVOJI, H. et al *Skin Tissue Substitutes and Biomaterial Risk Assessment and Testing*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2018.
- ⁴ Chua, A. W. C.; Khoo, Y. C.; Tan, B. K.; Tan, K. C.; Foo, C. L.; Chong, S. J. Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications. *Burns & Trauma* **2016**, *4*, s41038. <https://doi.org/10.1186/s41038-016-0027-y>.
- ⁵ Hama, R.; Reinhardt, J. W.; Ulziibayar, A.; Watanabe, T.; Kelly, J.; Shinoka, T. Recent Tissue Engineering Approaches to Mimicking the Extracellular Matrix Structure for Skin Regeneration. *Biomimetics* **2023**, *8*, 130. <https://doi.org/10.3390/biomimetics8010130>.
- ⁶ Santos, M. de O.; Lima, F. C. da S. de; Martins, L. F. L.; Oliveira, J. F. P.; Almeida, L. M. de; Cancela, M. de C. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. *Revista Brasileira de Cancerologia* **2023**, *69*, e. <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>.
- ⁷ Bolzinger, M.-A.; Briançon, S.; Pelletier, J.; Chevalier, Y. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2012**, *17*, 156. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2012.02.001>.
- ⁸ Mandelbaum, S. H.; Di Santis, É. P.; Mandelbaum, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An. Bras. Dermatol.* **2003**, *78*, 393. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962003000400002>.
- ⁹ Razyieva, K.; Kim, Y.; Zharkinbekov, Z.; Kassymbek, K.; Jimi, S.; Saparov, A. Immunology of Acute and Chronic Wound Healing. *Biomolecules* **2021**, *11*, 700. <https://doi.org/10.3390/biom11050700> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34066746>.
- ¹⁰ Larouche, J.; Sheoran, S.; Maruyama, K.; Martino, M. M. Immune Regulation of Skin Wound Healing: Mechanisms and Novel Therapeutic Targets. *Advances in Wound Care* **2018**, *7*, 209. <https://doi.org/10.1089/wound.2017.0761>.
- ¹¹ Rodrigues, M.; Kosaric, N.; Bonham, C. A.; Gurtner, G. C. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiological Reviews* **2019**, *99*, 665. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>.
- ¹² Ellis, S.; Lin, E. J.; Tartar, D. Immunology of Wound Healing. *Curr Derm Rep* **2018**, *7*, 350. <https://doi.org/10.1007/s13671-018-0234-9>.
- ¹³ Tottoli, E. M.; Dorati, R.; Genta, I.; Chiesa, E.; Pisani, S.; Conti, B. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 735. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080735>.

- ¹⁴ Farahani, M.; Shafiee, A. Wound Healing: From Passive to Smart Dressings. *Adv Healthcare Materials* **2021**, *10*, 2100477. <https://doi.org/10.1002/adhm.202100477>.
- ¹⁵ Ochoa, M.; Rahimi, R.; Zhou, J.; Jiang, H.; Yoon, C. K.; Maddipatla, D.; Narakathu, B. B.; Jain, V.; Oscari, M. M.; Morken, T. J.; Oliveira, R. H.; Campana, G. L.; Cummings, O. W.; Zieger, M. A.; Sood, R.; Atashbar, M. Z.; Ziaie, B. Integrated sensing and delivery of oxygen for next-generation smart wound dressings. *Microsyst Nanoeng* **2020**, *6*, 46. <https://doi.org/10.1038/s41378-020-0141-7>.
- ¹⁶ Brauer, E.; Lippens, E.; Klein, O.; Nebrich, G.; Schreivogel, S.; Korus, G.; Duda, G. N.; Petersen, A. Collagen Fibrils Mechanically Contribute to Tissue Contraction in an In Vitro Wound Healing Scenario. *Advanced Science* **2019**, *6*, 1801780. <https://doi.org/10.1002/advs.201801780>.
- ¹⁷ Ulbricht, M. Advanced functional polymer membranes. *Polymer* **2006**, *47*, 2217. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2006.01.084>.
- ¹⁸ Firouzi, N.; Žur, K. K. On the generalized nonlinear mechanics of compressible, incompressible, isotropic, and anisotropic hyperelastic membranes. *International Journal of Solids and Structures* **2023**, *264*, 112088. <https://doi.org/10.1016/j.ijsolstr.2022.112088>.
- ¹⁹ Ganewatta, M. S.; Wang, Z.; Tang, C. Chemical syntheses of bioinspired and biomimetic polymers toward biobased materials. *Nat Rev Chem* **2021**, *5*, 753. <https://doi.org/10.1038/s41570-021-00325-x>.
- ²⁰ Zhao, J.; Zhao, X.; Jiang, Z.; Li, Z.; Fan, X.; Zhu, J.; Wu, H.; Su, Y.; Yang, D.; Pan, F.; Shi, J. Biomimetic and bioinspired membranes: Preparation and application. *Progress in Polymer Science* **2014**, *39*, 1668. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2014.06.001>.
- ²¹ Tu, Y.-M.; Samineni, L.; Ren, T.; Schantz, A. B.; Song, W.; Sharma, S.; Kumar, M. Prospective applications of nanometer-scale pore size biomimetic and bioinspired membranes. *Journal of Membrane Science* **2021**, *620*, 118968. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2020.118968>.
- ²² Hoque, J.; Prakash, R. G.; Paramanandham, K.; Shome, B. R.; Haldar, J. Biocompatible Injectable Hydrogel with Potent Wound Healing and Antibacterial Properties. *Mol. Pharmaceutics* **2017**, *14*, 1218. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b01104>.
- ²³ Rinaudo, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International* **2008**, *57*, 397. <https://doi.org/10.1002/pi.2378>.
- ²⁴ Mukherjee, D.; Azamthulla, M.; Santhosh, S.; Dath, G.; Ghosh, A.; Natholia, R.; Anbu, J.; Teja, B. V.; Muzammil, K. M. Development and characterization of chitosan-based hydrogels as wound dressing materials. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2018**, *46*, 498. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.06.008>.
- ²⁵ Lupu, A.; Rosca, I.; Gradinaru, V. R.; Bercea, M. Temperature Induced Gelation and Antimicrobial Properties of Pluronic F127 Based Systems. *Polymers* **2023**, *15*, 355. <https://doi.org/10.3390/polym15020355>.

- ²⁶ Lee, K. Y.; Mooney, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science* **2012**, *37*, 106. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>.
- ²⁷ Goh, C. H.; Heng, P. W. S.; Chan, L. W. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *88*, 1. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.012>.
- ²⁸ Ravi Kumar, M. N. V. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers* **2000**, *46*, 1. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9).
- ²⁹ Rinaudo, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science* **2006**, *31*, 603. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.
- ³⁰ Khor, E.; Lim, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials* **2003**, *24*, 2339. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00026-7).
- ³¹ Paula Rodrigues, A. Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões, Doutor em Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- ³² Kumar, S.; Negi, Y. S. Cellulose and Xylan Based Prodrug of Diclofenac Sodium: Synthesis, Physicochemical Characterization and In Vitro Release. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* **2014**, *63*, 283. <https://doi.org/10.1080/00914037.2013.830256>.
- ³³ Khan, A.; Alamry, K. A. Recent advances of emerging green chitosan-based biomaterials with potential biomedical applications: A review. *Carbohydrate Research* **2021**, *506*, 108368. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2021.108368>.
- ³⁴ Vedula, S. S.; Yadav, G. D. Chitosan-based membranes preparation and applications: Challenges and opportunities. *Journal of the Indian Chemical Society* **2021**, *98*, 100017. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2021.100017>.
- ³⁵ Yadav, M.; Kaushik, B.; Rao, G. K.; Srivastava, C. M.; Vaya, D. Advances and challenges in the use of chitosan and its derivatives in biomedical fields: A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* **2023**, *5*, 100323. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100323>.
- ³⁶ Bodratti, A.; Alexandridis, P. Formulation of Poloxamers for Drug Delivery. *JFB* **2018**, *9*, 11. <https://doi.org/10.3390/jfb9010011>.
- ³⁷ Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A. Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. *Macromolecules* **1994**, *27*, 2414. <https://doi.org/10.1021/ma00087a009>.
- ³⁸ Kabanov, A. V.; Alakhov, V. Y. Pluronic block copolymers in drug delivery: from micellar nanocontainers to biological response modifiers. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* **2002**, *19*, 1.

<https://doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v19.i1.10>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12046891>.

³⁹ Lee, Y.; Chung, H. J.; Yeo, S.; Ahn, C.-H.; Lee, H.; Messersmith, P. B.; Park, T. G. Thermo-sensitive, injectable, and tissue adhesive sol–gel transition hyaluronic acid/pluronic composite hydrogels prepared from bio-inspired catechol-thiol reaction. *Soft Matter* **2010**, *6*, 977. <https://doi.org/10.1039/B919944F>.

⁴⁰ Li, S.; Yang, C.; Li, J.; Zhang, C.; Zhu, L.; Song, Y.; Guo, Y.; Wang, R.; Gan, D.; Shi, J.; Ma, P.; Gao, F.; Su, H. Progress in Pluronic F127 Derivatives for Application in Wound Healing and Repair. *IJN* **2023**, *Volume 18*, 4485. <https://doi.org/10.2147/IJN.S418534>.

⁴¹ Khaliq, N. U.; Lee, J.; Kim, S.; Sung, D.; Kim, H. Pluronic F-68 and F-127 Based Nanomedicines for Advancing Combination Cancer Therapy. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 2102. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082102>.

⁴² Escobar-Chávez, J. J.; López-Cervantes, M.; Kalia, Y. N.; Quintanar-Guerrero, D. APPLICATIONS OF THERMO- REVERSIBLE PLURONIC F-127 GELS IN PHARMACEUTICAL FORMULATIONS. **2006**.

⁴³ Salama, A. H. PLURONIC F127 AND ITS APPLICATIONS. [s.d.].

⁴⁴ philippe Development and optimization of pluronic® F127 and HPMC based thermosensitive gel for the skin delivery of metoprolol succinate. *Pharma Excipients* **2016**, <https://www.pharmaexcipients.com/news/development-and-optimization-of-pluronic-f127-and-hPMC-based-thermosensitive-gel-for-the-skin-delivery-of-metoprolol-succinate/>.

⁴⁵ ENUMO, A. Desenvolvimento de Membranas a Base de Quitosana Contendo Curcumina Encapsulada Em Copolímeros Anfífilos Para Posterior Recobrimento Em Fibras de Acetato de Celulose, Dissertação (Doutorado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, 2020.

⁴⁶ Krishnan, R.; Rajeswari, R.; Venugopal, J.; Sundarrajan, S.; Sridhar, R.; Shayanti, M.; Ramakrishna, S. Polysaccharide nanofibrous scaffolds as a model for in vitro skin tissue regeneration. *J Mater Sci: Mater Med* **2012**, *23*, 1511. <https://doi.org/10.1007/s10856-012-4630-6>.

⁴⁷ Peripato, A. P. B. S. O.; Albregard, L. A cobertura ideal para tratamento em paciente queimado: uma revisão integrativa da literatura. *Revista Brasileira de Queimaduras* **2017**, *16*, 188.

⁴⁸ Ferreira, E.; Lucas, R.; Rossi, L. A.; Andrade, D. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. *Rev. esc. enferm. USP* **2003**, *37*, 44. <https://doi.org/10.1590/S0080-62342003000100006>.

⁴⁹ Di Domenico, E. G.; De Angelis, B.; Cavallo, I.; Sivori, F.; Orlandi, F.; Fernandes Lopes Morais D’Autilio, M.; Di Segni, C.; Gentile, P.; Scioli, M. G.; Orlandi, A.; D’Agosto, G.; Trento, E.; Kovacs, D.; Cardinali, G.; Stefanile, A.; Koudriavtseva, T.; Prignano, G.; Pimpinelli, F.; Lesnoni La Parola, I.; Toma, L.; Cervelli, V.; Ensoli, F. Silver Sulfadiazine

Eradicates Antibiotic-Tolerant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in Patients with Infected Diabetic Foot Ulcers. *JCM* **2020**, *9*, 3807. <https://doi.org/10.3390/jcm9123807>.

⁵⁰ Pereima, H. M.; Rodrigues, R.; Lopes, M. J. Evolução dos curativos de prata no tratamento de queimaduras de espessura parcial. *Revista Brasileira de Queimaduras* **2013**, *12*, 60.

⁵¹ Fox, C. L.; Modak, S. M. Mechanism of Silver Sulfadiazine Action on Burn Wound Infections. *Antimicrob Agents Chemother* **1974**, *5*, 582. <https://doi.org/10.1128/AAC.5.6.582>.

⁵² Fuller, F. W. The Side Effects of Silver Sulfadiazine: *Journal of Burn Care & Research* **2009**, *30*, 464. <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3181a28c9b>.

⁵³ El-Feky, G. S.; Sharaf, S. S.; El Shafei, A.; Hegazy, A. A. Using chitosan nanoparticles as drug carriers for the development of a silver sulfadiazine wound dressing. *Carbohydrate Polymers* **2017**, *158*, 11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.054>.

⁵⁴ Gao, L.; Gan, H.; Meng, Z.; Gu, R.; Wu, Z.; Zhu, X.; Sun, W.; Li, J.; Zheng, Y.; Sun, T.; Dou, G. Evaluation of genipin-crosslinked chitosan hydrogels as a potential carrier for silver sulfadiazine nanocrystals. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2016**, *148*, 343. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.06.016>.

⁵⁵ Chen, S.; Li, Q.; McClements, D. J.; Han, Y.; Dai, L.; Mao, L.; Gao, Y. Co-delivery of curcumin and piperine in zein-carrageenan core-shell nanoparticles: Formation, structure, stability and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Hydrocolloids* **2020**, *99*, 105334. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105334>.

⁵⁶ Kesarwani, K.; Gupta, R. Bioavailability enhancers of herbal origin: An overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2013**, *3*, 253. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60060-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60060-X).

⁵⁷ Khajuria, A.; Thusu, N.; Zutshi, U. Piperine modulates permeability characteristics of intestine by inducing alterations in membrane dynamics: Influence on brush border membrane fluidity, ultrastructure and enzyme kinetics. *Phytomedicine* **2002**, *9*, 224. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00114>.

⁵⁸ Atal, N.; Bedi, K. Bioenhancers: Revolutionary concept to market. *J Ayurveda Integr Med* **2010**, *1*, 96. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.65073>.

⁵⁹ Shoba, G.; Joy, D.; Joseph, T.; Majeed, M.; Rajendran, R.; Srinivas, P. Influence of Piperine on the Pharmacokinetics of Curcumin in Animals and Human Volunteers. *Planta Med* **1998**, *64*, 353. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957450>.

⁶⁰ Kaushal, N. Influence of Piperine on Transcutaneous Permeation of Repaglinide in Rats and on Tight Junction Proteins in HaCaT Cells: Unveiling the Mechanisms for Enhanced Permeation. *Sci. Pharm.* **2009**, <https://doi.org/10.3797/scipharm.0907-06>.

- ⁶¹ Das, A.; Ahmed, A. B. NATURAL PERMEATION ENHANCER FOR TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM AND PERMEATION EVALUATION: A REVIEW. *Asian J Pharm Clin Res* **2017**, *10*, 5. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i9.19389>.
- ⁶² Teófilo, R. F.; Ferreira, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Quím. Nova* **2006**, *29*, 338. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200026>.
- ⁶³ Bezerra, M. A.; Santelli, R. E.; Oliveira, E. P.; Villar, L. S.; Escalera, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* **2008**, *76*, 965. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>.
- ⁶⁴ Derringer, G.; Suich, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology* **1980**, *12*, 214. <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>.
- ⁶⁵ Ren, J.; Wang, R. *Em Membrane and Desalination Technologies*; Wang, L. K.,; Chen, J. P.,; Hung, Y.-T.,; Shamas, N. K., orgs.; Humana Press: Totowa, NJ, 2011.
- ⁶⁶ Luo, Y.; Pan, X.; Ling, Y.; Wang, X.; Sun, R. Facile fabrication of chitosan active film with xylan via direct immersion. *Cellulose* **2014**, *21*, 1873. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0156-4>.
- ⁶⁷ Horcas, I.; Fernández, R.; Gómez-Rodríguez, J. M.; Colchero, J.; Gómez-Herrero, J.; Baro, A. M. WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. *Review of Scientific Instruments* **2007**, *78*, 013705. <https://doi.org/10.1063/1.2432410>.
- ⁶⁸ Schmolka, I. R. A review of block polymer surfactants. *J Americ Oil Chem Soc* **1977**, *54*, 110. <https://doi.org/10.1007/BF02894385>.
- ⁶⁹ Kosti, E.-M.; Sotiropoulou, H.; Tsihli, I.; Tsakiri, M.; Naziris, N.; Demetzos, C. Impact of Pluronic F-127 on the Stability of Quercetin-Loaded Liposomes: Insights from DSC Preformulation Studies. *Materials* **2024**, *17*, <https://doi.org/10.3390/ma17225454>.
- ⁷⁰ Laitinen, R.; Löbmann, K.; Strachan, C. J.; Grohgan, H.; Rades, T. Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs. *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, *453*, 65. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.04.066>.
- ⁷¹ Savjani, K. T.; Gajjar, A. K.; Savjani, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharmaceutics* **2012**, *2012*, 1. <https://doi.org/10.5402/2012/195727>.
- ⁷² Chen, Q.; Xiao, S.; Shi, S. Q.; Cai, L. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of N-substituted quaternized chitosan and its cellulose-based composite film. *BioRes* **2019**, *15*, 415. <https://doi.org/10.15376/biores.15.1.415-428>.
- ⁷³ Yaşayan, G. Chitosan films and chitosan/pectin polyelectrolyte complexes encapsulating silver sulfadiazine for wound healing. *IJP* **2020**, *50*, <https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2020.0021>.

- ⁷⁴ Innocenzi, P.; Malfatti, L.; Piccinini, M.; Marcelli, A. Evaporation-Induced Crystallization of Pluronic F127 Studied in Situ by Time-Resolved Infrared Spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 304. <https://doi.org/10.1021/jp908162z>.
- ⁷⁵ Rios, R. V.; Lannes, S. C. da S. THERMAL ANALYSIS OF CHITOSAN DERIVATIVES. [s.d.], <https://proceedings.science/cipca-2023/trabalhos/thermal-analysis-of-chitosan-derivatives?lang=en>.
- ⁷⁶ Zhang, W.; Gilstrap, K.; Wu, L.; K. C., R. B.; Moss, M. A.; Wang, Q.; Lu, X.; He, X. Synthesis and Characterization of Thermally Responsive Pluronic F127–Chitosan Nanocapsules for Controlled Release and Intracellular Delivery of Small Molecules. *ACS Nano* **2010**, *4*, 6747. <https://doi.org/10.1021/nn101617n>.
- ⁷⁷ Dash, M.; Chiellini, F.; Ottenbrite, R. M.; Chiellini, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* **2011**, *36*, 981. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001>.
- ⁷⁸ Georgieva, V.; Zvezdova, D.; Vlaev, L. Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan. *Chemistry Central Journal* **2012**, *6*, 81. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-81>.
- ⁷⁹ Dou, Q.; Abdul Karim, A.; Loh, X. Modification of Thermal and Mechanical Properties of PEG-PPG-PEG Copolymer (F127) with MA-POSS. *Polymers* **2016**, *8*, 341. <https://doi.org/10.3390/polym8090341>.
- ⁸⁰ Szymańska, E.; Winnicka, K. Stability of Chitosan—A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Marine Drugs* **2015**, *13*, 1819. <https://doi.org/10.3390/md13041819>.
- ⁸¹ Tiwari, A.; Mahadik, K. R.; Gabhe, S. Y. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties. *Medicine in Drug Discovery* **2020**, *7*, 100027. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100027>.
- ⁸² Coelho, J. M.; Antonioli, A. B.; Nunes E Silva, D.; Carvalho, T. M. M. B.; Pontes, E. R. J. C.; Odashiro, A. N. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Rev. Col. Bras. Cir.* **2010**, *37*, 045. <https://doi.org/10.1590/S0100-69912010000100010>.
- ⁸³ Feng, P.; Luo, Y.; Ke, C.; Qiu, H.; Wang, W.; Zhu, Y.; Hou, R.; Xu, L.; Wu, S. Chitosan-Based Functional Materials for Skin Wound Repair: Mechanisms and Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2021**, *9*, 650598. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.650598>.
- ⁸⁴ Lr, B.; Cn, M.; Rj, S.; Amb, M. The pH of wounds during healing and infection: a descriptive literature review. **2017**, *25*.
- ⁸⁵ Babu, M. R.; Kumar, B. S.; Ragini, B.; Sravani, A. Emerging Diverse Medicinal Properties of Piperine: A Review. **2020**.
- ⁸⁶ Sanches, M.; Gross, I.; Saatkamp, R.; Parize, A.; Soldi, V. Chitosan-Sodium Alginate Polyelectrolyte Complex Coating Pluronic® F127 Nanoparticles Loaded with Citronella Essential Oil. *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**, <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190244>.

⁸⁷ Elias, A. L. de S.; Barbosa, F. C. CURATIVOS DE QUITOSANA/NANOPARTICULAS DE PRATA PARA O TRATAMENTO DE LESÕES DE PELE INFECCIONADAS. *Anais do Congresso de Iniciação Científica, Desenvolvimento Tecnológico e Inovação da Universidade Federal de Campina Grande* **2023**, *20*, <https://revistas.editora.ufcg.edu.br/index.php/cicufcg/article/view/4651>.