UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Mecânica

MARCELO ROBERTO FORMIGONI PINTO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA CO-ELETROFIADA COMPOSTA POR POLI(L-CO-D,L-ÁCIDO LÁTICO)/BORRACHA NATURAL/ÓLEO DE COPAÍBA PARA APLICAÇÃO COMO CURATIVO NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

CAMPINAS
2024

MARCELO ROBERTO FORMIGONI PINTO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA CO-ELETROFIADA COMPOSTA POR POLI(L-CO-D,L-ÁCIDO LÁTICO)/BORRACHA NATURAL/ÓLEO DE COPAÍBA PARA APLICAÇÃO COMO CURATIVO NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Mecânica e Instituto de Geociências da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Mecânica, na área de Materiais e Processos de Fabricação.

Orientadora: Profª. Drª. Eliana Aparecida de Rezende Duek

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO MARCELO ROBERTO FORMIGONI PINTO, E ORIENTADO PELA PROFA. DRA. ELIANA APARECIDA DE REZENDE DUEK

CAMPINAS
2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Elizangela Aparecida dos Santos Souza - CRB 8/8098

P658d

Pinto, Marcelo Roberto Formigoni, 1982-
Desenvolvimento e caracterização de membrana co-eletrofiada composta por Poli(L-CO-D,L-ácido lático)/borracha natural/óleo de copaiba para aplicação como curativo no tratamento de queimaduras / Marcelo Roberto Formigoni Pinto. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Eliana Aparecida de Rezende Duek.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Agentes antibacterianos. 2. Óleo de copaíba. 3. Cicatrização de ferida. I. Duek, Eliana Aparecida de Rezende, 1961-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Developmento and caracterization of co-electrospun membrane composed of poly(L-CO-D,L lactic acid)/natural rubber/ copaiba oil for application as wound dressingin the treatment of burns treatment of burns
Palavras-chave em inglês:
Bacterial agents
Copaiba oil
Wound healing
Área de concentração: Materiais e Processos de Fabricação
Titulação: Doutor em Engenharia Mecânica
Banca examinadora:
Eliana Aparecida de Rezende Duek [Orientador]
Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia
Laís Pellizzer Gabriel
Elaine Conceição de Oliveira
Data de defesa: 26-06-2024
Programa de Pós-Graduação: Engenharia Mecânica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)
- ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0003-2547-1020
- Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/3779439966643152

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA

TESE DE DOUTORADO ACADÊMICO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA CO-ELETROFIADA COMPOSTA POR POLI(L-CO-D,L-ÁCIDO LÁTICO)/BORRACHA NATURAL/ÓLEO DE COPAÍBA PARA APLICAÇÃO COMO CURATIVO NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

Autor: Marcelo Roberto Formigoni Pinto

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Tese:

Profa. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek (Presidente da Banca)
Eng. de Materiais da Faculdade de Eng. Mecânica/Campinas/UNICAMP

Profa. Dra. Cecilia Amélia de Carvalho Zavaglia
Eng. De Manufatura e Materiais/Campinas/UNICAMP

Profa. Dra. Elaine Conceição de Oliveira
Sistemas Biomédicos/Sorocaba/Faculdade de Tecnologia de Sorocaba (Fatec)

Profa. Dra. Laís Pellizzer Gabriel
Faculdade de Ciências Aplicadas/Sorocaba/UNICAMP

Profa. Dra. Ariana de Souza Moraes dos Santos
Programa de Pós-Graduação em Biomateriais e Medicina Regenerativa/Sorocaba/Pontifícia Universidade Católica (PUC)

A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Campinas, 26 de junho de 2024.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão a todos que contribuíram para a realização desta tese de doutorado. Em primeiro lugar, minha orientadora, Profa. Dra. Eliana Duek, cuja orientação, paciência e sabedoria foram fundamentais para o desenvolvimento deste projeto. Sua dedicação e apoio foram essenciais em cada etapa do processo, e sou eternamente grato por suas contribuições inestimáveis.

Agradeço também, o apoio, das técnicas Amantina Aparecida Costa e Ângela Maria Carrocci e coordenadora Marcela Pellegrini Peçanha do Laboratório de Microbiologia da PUC-SP (Sorocaba). A colaboração e o suporte de vocês foram cruciais para a realização das análises e experimentos necessários para este estudo.

Por fim, meu sincero agradecimento ao Laboratório de Biomateriais (LABIOMAT) da PUC. O ambiente de pesquisa e os recursos disponibilizados foram fundamentais para a concretização deste projeto. A colaboração e o suporte contínuo deste laboratório foram indispensáveis para o desenvolvimento das minhas pesquisas.

A todos vocês, meu mais profundo agradecimento. Sem a colaboração e o apoio de cada um, este trabalho não teria sido possível.

RESUMO

A cicatrização de feridas decorrentes de queimaduras representa um desafio significativo para o sistema de saúde global, devido aos elevados custos financeiros e aos impactos físicos e emocionais enfrentados pelas vítimas. Há uma demanda crescente por novas alternativas de tratamento, e a técnica de co-eletrofiação emerge como uma promissora abordagem. A co-eletrofiação é uma técnica que permite a produção de membranas eletrofiadas de forma simultânea compostas por polímeros naturais e sintéticos, com propriedades mecânicas ajustáveis que auxiliam na cicatrização tecidual. A incorporação de compostos bioativos, como o óleo de copaíba (OC) com propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes, apresenta-se como uma alternativa promissora, especialmente diante da recente prevalência de complicações de saúde pública associadas à resistência aos antibióticos. Deste modo, o presente estudo visa integrar as excelentes propriedades mecânicas do poliéster poli(L-co-D,L-ácido láctico) (PLDLA) com as propriedades biológicas e elásticas do látex de borracha natural (BN), associando o OC ao material obtido. Nesse contexto, a primeira etapa deste estudo consistiu na co-eletrofiação de PLDLA com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%). Os resultados revelaram que o material co-eletrofiado por PLDLA e 1,5% de BN (PLDLA+1,5% BN) apresentou propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas adequadas para a cicatrização de feridas. Por sua vez, a segunda etapa do trabalho, consistiu na adição de diferentes concentrações de OC (25%, 50% e 75%) ao material co-eletrofiado. O material obtido promoveu efeitos bacteriostáticos e antibacterianos contra *Staphylococcus aureus*, além de prevenir a formação de biofilmes bacterianos, proporcionando um ambiente seguro para a recuperação do tecido lesionado. Assim, a combinação de OC com a membrana co-eletrofiada apresentou forte potencial como curativo para feridas, oferecendo uma barreira física com propriedades antimicrobianas profiláticas, que podem auxiliar no processo de hemostasia e prevenção de infecções durante o processo de cicatrização tecidual em queimaduras.

Palavras-Chave: PLDLA; *Hevea brasiliensis*; Antibacteriano; Bacteriostático; Membrana co-eletrofiada; Co-eletrofiação; Extrato Natural.

ABSTRACT

The healing of burn wounds represents a significant challenge for the global healthcare system, due to the high financial costs and physical and emotional impacts faced by victims. There is a growing demand for new treatment alternatives, and the co-electrospinning technique is emerging as a promising approach. Co-electrospinning is a technique that allows the production of electrospun membranes simultaneously composed of natural and synthetic polymers, with adjustable mechanical properties that assist in tissue healing. The incorporation of bioactive compounds, such as copaiba oil (CO) with antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant properties, presents itself as a promising alternative, especially given the recent prevalence of public health complications associated with antibiotic resistance. Therefore, the present study aims to integrate the excellent mechanical properties of poly(L-co-D,L-lactic acid) (PLDLA) polyester with the biological and elastic properties of natural rubber latex (NR), by associating CO with the material obtained. In this context, the first stage of this study consisted of the co-electrospinning of PLDLA with different concentrations of NR (1.5%, 2.0%, and 2.5%). The results revealed that the material co-electrospun with PLDLA and 1.5% NR (PLDLA+1.5% NR) exhibited physicochemical, mechanical, and biological properties suitable for wound healing. In the second stage of the work consisted of adding different concentrations of CO (25%, 50%, and 75%) to the co-electrospun material. The material obtained promoted bacteriostatic and antibacterial effects against *Staphylococcus aureus*, in addition to preventing the formation of bacterial biofilms, thereby providing a safe environment for the recovery of injured tissue. Thus, the combination of CO with the co-electrospun membrane showed strong potential as a wound dressing, offering a physical barrier with prophylactic antimicrobial properties, which can assist in the process of hemostasis and prevent infections during the tissue healing process in burns.

Keywords: PLDLA; *Hevea brasiliensis*; Antibacterial; Bacteriostatic; Co-electrospinning membrane; Natural Extract.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema ilustrativo da derme e suas subcamadas..... 19

Figura 2. Anatomia e classificação da queimadura em relação a sua profundidade..... 20

Figura 3. Estrutura química do copolímero PLDLA..... 28

Figura 4. Sistema coloidal de partícula de BN e estrutura química do poli(*cis*-1,4-isopreno)..... 30

Figura 5. Evolução anual do número de publicações sobre BN para aplicações biomédicas de acordo com o *Web of Science*..... 31

Figura 6. Ilustração esquemática do equipamento de eletrofiação..... 33

Figura 7. Técnica ilustrativa do processo de co-eletrofiação..... 36

Figura 8. Efeitos antimicrobianos de diferentes espécies de C*opaifera*..... 38

Figura 9. Estrutura química dos principais sesquiterpenos e diterpeno presente no OC..... 39

Figura 10. Fluxograma representativo das etapas do projeto..... 41

Figura 11. Sistema de eletrofiação utilizado para a produção das membranas co-eletrofiadas..... 43

Figura 12. Característica macroscópica da membrana co-eletrofiada (PLDLA/BN)..... 44

Figura 13. Esquema ilustrativo da incorporação de diferentes concentrações (25%, 50% e 75%) de óleo de copaíba (OC) na membrana co-eletrofiada (PLDLA + 1,5% BN)..... 45

Figura 14. Espectros de FTIR de látex de borracha natural sem purificar (LBN) e látex de borracha natural após o processo de purificação (BN)..... 53

Figura 15. Espectro de FTIR de PLDLA eletrofiado, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%)..... 54

Figura 16. Micrografias (MEV) em dois níveis de ampliação (1000 e 1500x) para as fibras eletrofiadas de PLDLA e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%), com histogramas da variação do diâmetro. Barra: 10 µm..... 56

Figura 17. Curva de **(A)** TG e **(B)** DTG do PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5% 2,0% e 2,5%) 58

Figura 18. DSC das amostras de PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%) 60

Figura 19. Gráfico dos valores médios de Tensão *versus* Deformação da membrana eletrofiada de PLDLA e do mesmo co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%) 62

Figura 20. Ângulos de contato com a água para a membrana eletrofiada de PLDLA e da mesma co-eletrofiada com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%). Significância entre os dados é expressa por *(P<0,05) 65

Figura 21. Potencial Zeta (ζ) em função da variação do pH para a amostra de PLDLA e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%) 67

Figura 22. Gráfico de viabilidade celular do grupo PLDLA+1,5% BN. O controle negativo consiste em células semeadas diretamente na placa e o controle de morte no qual as células foram submetidas à morte. O nível de significância entre os grupos é expresso como *p<0,05 e ***p<0,001 em 24 e 72 horas..... 70

Figura 23. Espectros de FTIR de OC, membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN e PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC 71

Figura 24. Porcentagem de intumescimento de membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN e PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC..... 73

Figura 25. Potencial Zeta (ζ) em função da variação de pH da membrana de PLDLA/BN PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC..... 74

Figura 26. Perfil de liberação de OC da membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC..... 76

Figura 27. Modelo matemático do perfil de liberação de OC, plotado por dois métodos **(A)** Lei das Potências de Korsmeyer-Peppas e **(B)** Higuchi..... 79

Figura 28. Atividade antimicrobiana de OC contra *S. aureus* obtida pelo teste de difusão em ágar após 8 e 24 horas de cultura. Doxiciclina (DOX) foi utilizada como controle antibiótico comercial, solução de etanol e Tween 20 foi utilizado como controle negativo (CN1), assim como o disco da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiado livre de OC (CN 2) 81

Figura 29. Micrografias obtidas por MEV de membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas expostas a *S. aureus* durante 24h de incubação. (A) Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada livre de OC (400x); (B) Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada livre de OC (x1200) (com bactérias (indicadas por setas) e colônia (*)indicada na região ampliada (10000x)); (C) Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 25% de OC (400x); (D) Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 25% de OC (com vestígio de bactérias (*) indicadas na região ampliada (10000x)); (E) e (F) Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 50% de OC (400 e 1200x); (G) e (H) Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 75% de OC (400 e 1200x). Barras: 50, 10 e 1 µm..... 84

Figura 30. Imagem representativa da turbidez do cultivo de *S. aureus* em membrana co-eletrofiada de PLDLA/BN sem adição de OC (0%) e com a adição de 25, 50 e 75% de OC. Gráfico da análise da coloração com Cristal Violeta, com porcentagem de bactérias presentes na formação de biofilmes nas membranas co-eletrofiadas (PLDLA/BN) e as respectivas concentrações de OC, onde *** é p>0,0001 e **** é p<0,0001..... 86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos disponíveis comercialmente para queimaduras..... 24

Tabela 2. Estudos de potenciais tratamentos para queimaduras utilizando biomateriais poliméricos..... 27

Tabela 3. Estudos sobre nanofibras eletrofiadas para aplicação no tratamento de lesões dérmicas..... 35

Tabela 4. Estudos sobre nanofibras co-eletrofiadas para aplicação como curativos para tratamento de lesões dérmicas..... 37

Tabela 5. Propriedades térmicas determinadas por TG e DTG das amostras de PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5; 2,0 e 2,5%) 59

Tabela 6. Valores médios (quintuplicata) e respectivos desvios-padrão do módulo de Young, tensão no escoamento e tensão na ruptura para a membrana de PLDLA eletrofiada e de PLDLA co-eletrofiada com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%)..... 63

Tabela 7. Resultados das propriedades mucoadesivas..... 69

Tabela 8. Valores de modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Ordem Zero e Primeira Ordem aplicados aos perfis de liberação de óleo de copaíba (OC)……..78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PLDLA	poli(L-co-D,L-ácido láctico)
BN	Látex de borracha natural
OC	Óleo de Copaíba
OMS	Organização Mundial da Saúde
SBQ	Sociedade Brasileira de Queimaduras
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
PU	poliuretana
PVP	polivinilpirrolidona
PVA	álcool polivinílico
PCL	poli(ε- caprolactona)
SIS	poli(estireno-b-isopreno-b-estireno)
PIB	poliisopreno
CMC	carboximetilcelulose de sódio
C5	resina de petróleo
PLA	poli(ácido láctico)
PLLA	poli(L-ácido láctico)
TMC	carbonato trimetileno
PLGA	poli(ácido lático-co-ácido glicólico)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
ATR	Reflectância Total Atenuada
TG	Termogravimetria
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
BHI	*Brain Heart Infusion*
PBS	Tampão fosfato salino
HMSD	Hexametildisilazano
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
T_{onset}	Temperatura de início de perda de massa
T_{endset}	Temperatura final de perda de massa
T_{max}	Temperatura de degradação máxima
T_g	Temperatura de transição vítrea
ζ	Potencial zeta
DOX	Doxiciclina
CN	Controle negativo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO....14
1.1 Visão geral....14
1.2 Objetivos....18
1.2.1 Geral....18
1.2.2 Específicos....18
1.2.2.1 Etapa 1....18
1.2.2.2 Etapa 2....18
2 REVISÃO DA LITERATURA....18
2.1 Queimaduras....19
2.2 Estratégias terapêuticas para tratar queimaduras....22
2.3 Biomateriais poliméricos para o tratamento de queimaduras....25
2.4 Poli(L-co-D,L-Ácido Láctico) (PLDLA)....28
2.5 Látex de borracha natural (BN)....29
2.6 Processo de eletrofiação....32
2.6.1 Processo de co-eletrofiação....35
2.7 Óleo de copaíba (OC)....37
3 ANÁLISE EXPERIMENTAL....40
3.1 Planejamento experimental....40
3.2 Métodos....41
3.2.1 Síntese de PLDLA 70/30....41
3.2.2 Purificação da borracha natural....42
3.2.3 Preparo das membranas por co-eletrofiação....42
3.2.4 Incorporação do óleo de copaíba....44
3.3 Caracterização....45
3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)....45
3.3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)....45
3.3.3 Termogravimetria (TG)....45
3.3.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)....46
3.3.5 Ensaio mecânico de tração....46
3.3.6 Ângulo de contato....46
3.3.7 Ensaio de intumescimento....46
3.3.8 Potencial zeta....47

3.3.9 Propriedades mucoadesivas 47
3.3.10 Ensaio de liberação do óleo de copaíba (UV-Vís) 48
3.3.11 Ensaio microbiológico 49
3.3.11.1 Preparação da bactéria 49
3.3.11.2 Antibiograma 49
3.3.11.3 Formação de biofilme analisada por MEV 50
3.3.11.4 Formação de biofilme por ensaio de cristal violeta 50
3.3.12 Ensaio de viabilidade e proliferação celular 51
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES 52
4.1 ETAPA 1 52
4.1.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 52
4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 55
4.1.3 Termogravimetria (TG) 57
4.1.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC) 60
4.1.5 Ensaio mecânico de tração 61
4.1.6 Ângulo de contato 64
4.1.7 Potencial zeta 67
4.1.8 Propriedades mucoadesivas 68
4.1.9 Ensaio de viabilidade e proliferação celular 70
4.2 ETAPA 2 71
4.2.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 71
4.2.2 Ensaio de intumescimento 72
4.2.3 Potencial zeta 74
4.2.4 Ensaio de liberação do óleo de copaíba (UV-Vís) 76
4.2.5 Antibiograma 80
4.2.6 Formação de biofilme analisada por MEV 83
4.2.7 Ensaio de cristal violeta 85
5 CONCLUSÃO 88
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 88
REFERÊNCIAS 89
APÊNDICE 105
APÊNDICE A – Artigo publicado na revista "*Journal of Applied Polymer Science*" (2024). 105
APÊNDICE B – Artigo publicado na revista "*Antibiotics*" (2023). 106

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho é estruturado em cinco capítulos distintos. O **Capítulo 1** fornece uma visão geral do estudo, apresentando brevemente a questão abordada, bem como a técnica de co-eletrofiação, os polímeros (PLDLA/BN) e o biocomposto (OC) empregado na formulação do material resultante. Além disso, o capítulo também apresenta o objetivo geral e específico da tese. O **Capítulo 2,** por sua vez, expõe uma revisão da literatura, abordando de forma concisa os principais pontos deste trabalho, tais como as queimaduras, as principais estratégias terapêuticas e os principais biomateriais poliméricos para tratar essa enfermidade, como o PLDLA e a BN. O capítulo também aborda a técnica de eletrofiação e co-eletrofiação e a incorporação de compostos bioativos, como o OC, introduzido no material resultante. O **Capítulo 3** descreve o procedimento e o planejamento experimental, assim como a metodologia empregada na formulação dos materiais co-eletrofiados e incorporados com OC. O **Capítulo 4** apresenta todos os resultados e discussões obtidos nas duas etapas deste trabalho. O capítulo mostra os principais resultados obtidos na *Etapa 1*, os quais auxiliaram na escolha da melhor concentração de BN co-eletrofiada com PLDLA. Deste modo, as amostras foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria (TG), calorimetria diferencial de varredura (DSC), ensaio mecânico de tração, ângulo de contato, potencial zeta, mucoadesividade e ensaio de viabilidade e proliferação celular. Por outro lado, a *Etapa 2*, também apresentada neste capítulo, aborda a adsorção de diferentes concentrações de OC na superfície da membrana designada na *Etapa 1* deste capítulo. A membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN com as distintas concentrações de OC foram analisadas por FTIR, ensaio de intumescimento, potencial zeta e perfil de liberação. A sua atividade antimicrobiana contra *S. aureus* foi avaliada por meio de antibiograma, enquanto a inibição da formação de biofilme foi analisada por MEV, que foi corroborada pela turbidez do meio e ensaio de cristal violeta. O trabalho é seguido de um cronograma e referências bibliográficas utilizadas.

1.1 Visão geral

As queimaduras continuam a representar uma das principais causas de morbilidade e mortalidade em escala global, resultando em danos físicos e psicológicos significativos para os pacientes. Os tratamentos e processo de cicatrização associados a essa condição são conhecidos por sua complexidade, devido aos custos associados e à dificuldade de tratamento, que está

diretamente ligada à extensão e gravidade das lesões. Mesmo atualmente, as queimaduras persistem como um desafio substancial em termos clínicos, sociais e econômicos, tornando-se assim uma importante questão de saúde pública que requer a busca contínua por novas abordagens terapêuticas eficazes (Ouyang *et al.*, 2018; Stokes; Johnson, 2017).

Sendo assim, é crescente a busca pelo desenvolvimento de novos biomateriais que possam vir a tratar e recuperar os tecidos lesionados (Brassolatti *et al.*, 2018). Entre as técnicas existentes para o desenvolvimento de novos biomateriais, a eletrofiação destaca-se como um método versátil, simples e economicamente viável, com capacidade de produzir fibras e nanofibras com potencial significativo para aplicações na área biomédica (Xing *et al*., 2023). As fibras resultantes do processo de eletrofiação possuem a capacidade de mimetizar a matriz extracelular, contribuindo para o processo de reparo tecidual (Zhang X. *et al.*, 2021; Yang *et al*., 2022, Mani *et al*., 2023). As características porosas e grande área superficial das nanofibras permitem a absorção de exsudatos enquanto mantém a lesão hidratada, permitindo a troca de gases e transporte de nutrientes. Além disso, a técnica de eletrofiação possibilita o carregamento de moléculas sintéticas e naturais, seja através da mistura direta com a solução polimérica ou a incorporação direta sobre a superfície das fibras/nanofibras obtidas, contribuindo para a liberação transdérmica *in situ* destas moléculas ativas (Miguel *et al*, 2019; Chagas *et al.*, 2021; Rahmati, *et al.*, 2021). Apesar da sua versatilidade, o método tradicional de eletrofiação permite apenas a produção de membranas fibrosas homogêneas, cujas propriedades muitas vezes limitam sua aplicabilidade no campo biomédico (Xing *et al*., 2023). No entanto, essa técnica pode ser aperfeiçoada e empregada em diversas configurações, o que permite a eletrofiação versátil de diferentes e múltiplos materiais. Isto, por sua vez, contribui para o potencial de desenvolvimento de uma ampla variedade de biomateriais com propriedades heterogêneas aprimoradas. Diante deste contexto, a eletrofiação simultânea, também conhecida como eletrofiação biaxial (Yang *et al.*, 2022) ou co-eletrofiação (Montoya e*t al.*, 2021), consiste na aplicação da técnica de eletrofiação em que duas ou mais fieiras são utilizadas simultaneamente em um único coletor. Essa técnica possibilita a obtenção de estruturas morfológicas compostas por fibras mistas, resultando em características únicas e distintas (Montoya e*t al.*, 2021). Essas estruturas podem ser utilizadas no desenvolvimento de novos biomateriais para diversas aplicações na área biomédica. No entanto, há uma deficiência de estudos que abordem a utilização de membranas fibrosas produzidas pela técnica de co-eletrofiação para aplicação em curativos dérmicos com propriedades antibacterianas, que contribuam para a hemostasia e cicatrização de feridas, incluindo as queimaduras (Yang *et al.*, 2022).

A técnica de co-eletrofiação possibilita a combinação de uma ampla variedade de polímeros, tanto naturais quanto sintéticos, que corroboram com o design de dispositivos inovadores para aplicações biomédicas (Yang *et al.*, 2022; Chagas *et al*., 2021). Esses materiais desempenham funções, não apenas na proteção e cicatrização, mas também na liberação sustentada de compostos ativos e bioativos que influenciam o processo regenerativo de lesões (Gsib *et al*., 2018). Um exemplo notável é o poli(L-co-D,L-ácido láctico) (PLDLA), um poliéster alifático composto pela polimerização dos monômeros L-ácido lático e D,L-ácido láctico. Na proporção 70/30 (L-ácido lático/D,L-ácido láctico), é amorfo e caracterizado como um copolímero biocompatível, bioabsorvível, biodegradável e com boas propriedades mecânicas (Leal *et al*., 2019). Devido à sua aplicabilidade, é amplamente empregado na formulação de biomateriais (Motta *et al*., 2008). Além disso, quando empregado como scaffold, o PLDLA exibe uma notável capacidade de atuar como suporte para o crescimento celular (Más *et al*., 2016; Kemppi *et al*., 2021). Contudo, para atuar como curativo há uma necessidade permanente de aumentar sua elasticidade, garantindo assim uma cobertura eficaz da área lesionada (Komatsu *et al*., 2019). Nesse contexto, a co-eletrofiação do PLDLA com outros polímeros naturais emerge como uma estratégia para contribuir para sua bioatividade e potencializar a sua maleabilidade, tornando-o mais adequado para atuar como curativo.

Pesquisas têm destacado a viabilidade de incorporar o látex de borracha natural (BN) a outros polímeros visando aumentar a flexibilidade, maleabilidade e bioatividade desses materiais (Chagas *et al*., 2021; Andrade *et al*., 2022; Carazzai *et al*., 2021). A BN é um polímero natural, extraído de seringueiras *Hevea brasiliensis* e composta por longas cadeias de poli(*cis*-1,4-isopreno), o qual tem se destacado em pesquisas biomédicas devido à sua biocompatibilidade, capacidade de promover a angiogênese e acelerar o processo de cicatrização, especialmente em lesões decorrentes de queimaduras (Garcia *et al.*, 2021; Guerra *et al*., 2021; Tanaka *et al.*, 2021). Embora a aplicação da técnica de co-eletrofiação utilizando BN em conjunto com outros polímeros ainda não tenha sido extensivamente relatada, o processo de eletrofiação convencional possibilita sua implementação no campo das ciências biomédicas (Andrade *et al*., 2023). Contudo, a viabilidade de processamento, a viscosidade e a miscibilidade com outros polímeros devem ser cuidadosamente considerados.

Além das abordagens mencionadas, uma estratégia promissora que também tem ganhado notoriedade para aprimorar o processo de reparação tecidual em casos de queimaduras é a inclusão de compostos ativos/bioativos aos curativos transdérmicos (Tanaka *et al.*, 2021). Neste âmbito, terapias medicinais com compostos bioativos naturais têm ganhado relevância nos últimos anos, especialmente devido aos desafios relacionados à resistência bacteriana

associada ao uso de antibióticos. Entre os produtos naturais em destaque, os óleos essenciais têm se sobressaído por suas propriedades antimicrobianas derivadas de seus constituintes ativos, que desempenham um papel crucial na inibição da formação de biofilme bacteriano (Miguel *et al*., 2019).

O óleo de copaíba (OC), extraído dos troncos das árvores do gênero *Copaifera* (*Caesalpiniaceae*), tem recebido destaque devido às suas propriedades farmacológicas, incluindo atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas (principalmente contra bactérias gram-positivas como a *Staphylococcus aureus*, que é prevalente na derme humana) e cicatrizantes, atribuídas à presença de sesquiterpenos e diterpenos em sua composição (Becker *et al.,* 2020; Debone *et al.,* 2019; Paranhos *et al.,* 2022; Waibel *et al.,* 2021). Estudos indicam que as propriedades intrínsecas do OC desempenham um papel positivo no tratamento e cicatrização de pacientes acometidos por queimaduras.

Considerando a necessidade contínua de desenvolver tratamentos eficazes para lesões cutâneas decorrentes de queimaduras e a lacuna na pesquisa explorando a metodologia e aplicação de ambos os polímeros, este estudo tem como objetivo, integrar as excelentes propriedades mecânicas do poliéster (PLDLA) com as propriedades biológicas do elastômero (BN), visando o desenvolvimento de um novo biomaterial estruturalmente estável que contribua significativamente no processo de reparo tecidual. Deste modo, a primeira etapa do projeto consiste no desenvolvimento e análise das propriedades físico-química, mecânicas e biológicas da co-eletrofiação de PLDLA com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%), associado às propriedades intrínsecas das fibras resultantes do processo de co-eletrofiação entre o PLDLA e BN, e a capacidade de carregamento de biomoléculas. A segunda etapa deste estudo visou avaliar as propriedades sinérgicas da incorporação de diferentes concentrações de OC (25%, 50% e 75%) nas membranas co-eletrofiadas (PLDLA/BN). Essa abordagem visa oferecer uma alternativa versátil para o tratamento de queimaduras, criando um ambiente propício para restrição e inibição da atividade microbiológica, prevenindo a formação de biofilme bacteriano e aprimorando o processo de cicatrização. Esta iniciativa propõe otimizar o desempenho do material obtido para uso como curativos para queimaduras, enfatizando seu potencial no contexto clínico. O escasso número de estudos demonstrando a capacidade dos materiais obtidos pela técnica de co-eletrofiação em promover hemostasia e cicatrização tecidual torna o presente estudo relevante para a comunidade científica.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

Investigar o potencial da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada, incorporada com diferentes concentrações de OC para tratamento de lesões ocasionadas por queimaduras, por meio da obtenção e caracterização físico-química, mecânica e biológica das microfibras.

1.2.2 Específicos

1.2.2.1 Etapa 1

- Produzir microfibras co-eletrofiadas de PLDLA com diferentes concentrações de látex de borracha natural purificado (BN) (1,5%, 2,0% e 2,5%);
- Caracterizar e analisar as propriedades físico-química, mecânica e biológica das microfibras resultantes da técnica de co-eletrofiação;
- Comparar, avaliar e determinar qual microfibra apresentou os melhores resultados.

1.2.2.2 Etapa 2

- Incorporar diferentes concentrações de OC (25%, 50% e 75%) à microfibra que apresentar o melhor resultado nas análises descritas na Etapa 1;
- Determinar as propriedades físico-químicas, perfil e a cinética de liberação, bem como a atividade antimicrobiana e biológica do OC incorporado às microfibras;
- Obter um material que possa atuar como possível curativo para tratar lesões ocasionadas por queimaduras.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo apresenta, inicialmente, um breve levantamento sobre as queimaduras e as estratégias terapêuticas para tratar essa enfermidade, assim como, os biomateriais poliméricos com finalidade terapêutica. Os polímeros que compõem a membrana obtida, e a técnica de eletrofiação e co-eletrofiação também são apresentados. Por fim, o uso de compostos bioativos, como o óleo de copaíba e suas propriedades são detalhadas.

2.1 Queimaduras

A pele é o maior órgão do corpo humano, podendo corresponder até 15% da massa corporal (Liang *et al.*, 2022). Conforme ilustrado na Figura 1, a pele é subdividida em três camadas distintas e ordenadas, a epiderme, derme e hipoderme. Cada camada é constituída por diferentes tipos de células, que se complementam e auxiliam na estabilidade corporal (Yucha; Tamamoto; Kaplan, 2019). De um modo geral, a pele é composta por tecido conjuntivo, queratinócitos, adipócitos, macrófagos e fibroblastos. As subcamadas são responsáveis por dar suporte a vasos sanguíneos, glândulas sebáceas, folículos capilares, entre outros. Além de atuar como a primeira defesa do organismo, em forma de barreira física e imunológica contra o ambiente externo e potenciais patógenos, a pele possui múltiplas funções. Dentre essas funções, destacam-se a homeostase, termorregulação corporal, hidratação, capacidade sensorial e síntese de vitamina D (Abdo; Sopko; Milner, 2020). As fibras elásticas presentes na derme também são responsáveis por fornecer propriedades mecânicas adequadas à pele, como força, elasticidade e resistência (Brown; Krishnamurthy, 2021).

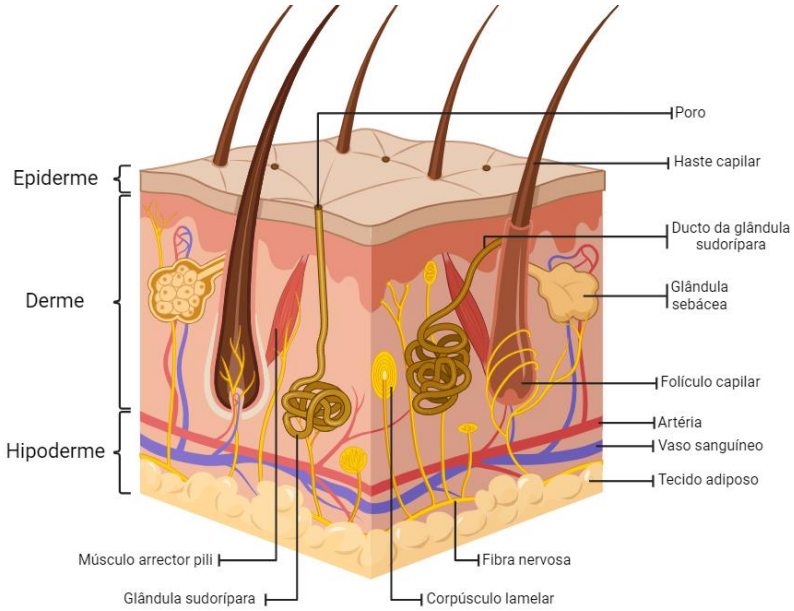

Figura 1. Esquema ilustrativo da derme e suas subcamadas. (Elaborado no Biorender).

Devido às suas peculiaridades, a pele pode ser acometida por inúmeras lesões, que podem comprometer de forma significativa a sua estrutura e resultar em irreparáveis perdas de suas funções inerentes. Dessa forma, as feridas advindas das lesões podem ser classificadas como agudas (cirúrgicas ou queimaduras) ou crônicas (condições fisiológicas) (Paladini; Pollini, 2019).

Considerado como um sério problema de saúde pública, as queimaduras são uma das maiores causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, acometendo de forma significativa os países subdesenvolvidos (Souto *et al.*, 2020). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) (2018), as queimaduras são responsáveis por ocasionar globalmente 180.000 mortes por ano. No Brasil, a Sociedade Brasileira de Queimaduras (SBQ) estima que ocorra aproximadamente um milhão de casos de acidentes por queimaduras no ano, sendo que desses, 40 mil casos acabam em hospitalização do paciente, com uma mortalidade de 2500 pacientes (Sena; Brandão, 2021; Daronch *et al*., 2023). Deste modo, as lesões ocasionadas por queimaduras podem ser decorrentes do contato direto da pele com altas temperaturas (fogo ou líquidos, sólidos ou gases quentes), radiação (raios X, luz ultravioleta entre outros), eletricidade, fricção ou produtos químicos (Abraham *et al.*, 2018). As queimaduras são classificadas de acordo com a profundidade do tecido cutâneo afetado, conforme ilustra a Figura 2.

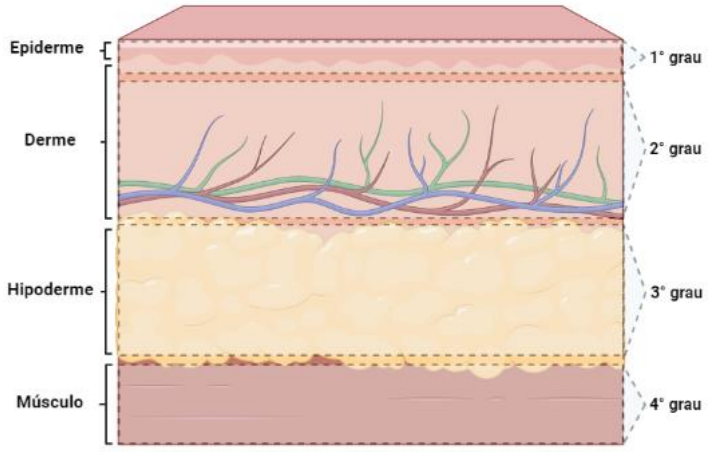

Figura 2. Anatomia e classificação da queimadura em relação à sua profundidade (Adaptado de Markiewicz-Gospodarek *et al.*, 2022, elaborado no Biorender).

As queimaduras de primeiro grau, conhecidas como eritemas, afetam exclusivamente a camada superficial da pele, a epiderme, sendo principalmente causadas por queimaduras solares. Em contrapartida, as queimaduras de segundo grau atingem tanto a epiderme quanto a derme, com variações entre queimaduras superficiais, que danificam a camada papilar da derme, e queimaduras mais profundas, que afetam a derme reticular. Nessas lesões, é comum observar a formação de cicatrizes durante o processo de recuperação do tecido lesionado. Exceto pelas queimaduras de quarto grau, as queimaduras de terceiro grau são consideradas as mais graves, pois provocam a destruição completa da epiderme, derme e do tecido subcutâneo (hipoderme). A lesão desses tecidos resulta na redução da sensação de dor devido à destruição dos vasos sanguíneos e nervos presentes nas camadas mais profundas da pele. Sendo assim,

essas lesões podem causar danos permanentes à integridade da pele e dos tecidos subjacentes, limitando significativamente a capacidade de recuperação e regeneração do tecido afetado, tornando necessários procedimentos cirúrgicos reconstrutivos, como enxertos de pele (Yucha; Tamamoto; Kaplan, 2019). Por outro lado, as queimaduras de quarto grau, embora menos frequentes, afetam extensivamente as camadas superficiais da pele, o tecido subcutâneo e as estruturas mais profundas, como os músculos, tendões, ligamentos e até mesmo os ossos. Esse grau de queimadura pode levar à necrose do tecido, o que leva a necessidade de intervenções cirúrgicas que muitas vezes são irreparáveis (Jahromi *et al.,* 2018; Martin; Falder, 2017; Markiewicz-Gospodarek *et al.,* 2022).

As feridas de queimaduras acabam afetando a vascularização do tecido e por isso a reparação do tecido nessas condições continua sendo um paradigma. O processo de reparação se inicia com a resposta inflamatória que é histologicamente marcada por neutrófilos e infiltrados de macrófagos. Após essa fase, segue a fase de proliferação, onde novos tecidos de granulação com formação de novos vasos sanguíneos e a superfície é re-epitelizada. Durante essa fase final de regeneração da pele, a matriz extracelular é composta e remodelada e o colágeno do tipo III é então substituído por colágeno tipo I. Essa transição altera significativamente a aparência e a espessura da nova pele, podendo inclusive levar à hipertrofia. É importante ressaltar que os principais tipos de cicatrização no indivíduo queimado são cordões fibrosos, bridas, e placas cicatriciais (Tiwari *et al*., 2012).

Segundo Lang *et al.* (2019), apenas 15% de pele corporal danificada já é o suficiente para ter um risco de morte ao paciente e com isso, essa condição mostra ser um desafio clínico para médicos e centros de queimaduras. Feridas mais graves são associadas a condições clínicas críticas ao paciente como choque hipovolêmico levando ainda a desregulações metabólicas e imunossupressão. No ponto de vista funcional, o processo de cicatrização pode levar à formação de escaras, deformidades de tecidos moles subcutâneos e fibrose, nos quais podem ocasionar perda de mobilidade e dores crônicas. (Spronk, *et al*., 2019).

As feridas causadas pelas queimaduras tornam-se um campo aberto para a entrada de bactérias, pois a pele é recoberta por uma microbiota bacteriana natural responsável por sua proteção, porém, são extremamente patogênicas quando invadem o organismo humano. Erol e colaboradores relataram em um estudo realizado em 2004 que a maioria das mortes relacionadas a queimaduras (54%) em unidades de queimados modernas ocorre por causa de choque séptico e disfunção orgânica, em vez de choque osmótico e hipovolemia. Infecção de corrente sanguínea seguida por sepse estão entre as complicações infecciosas mais comuns que ocorrem em pacientes queimados na unidade de terapia intensiva. Assim, o paciente que já

enfrenta condições fisiometabólicas adversas pela própria queimadura em si, tem que reagir a infecções em ambiente hospitalar que podem evoluir para infecções de peles e partes moles complicadas, infecções sistêmicas, sepse e até choque séptico, culminando à morte do indivíduo.

Nesse sentido, quanto antes houver a cicatrização da ferida pós queimadura, melhor será o prognóstico desse paciente, porém, diversos fatores atrapalham esse reparo cutâneo (Guo; DiPietro, 2010). A falta de vasos sanguíneos pela queimadura faz com que, localmente haja a falta de oxigenação que assim, afetam significativamente esse processo regenerativo. Oxigênio é fundamental para o metabolismo celular em qualquer etapa da cicatrização de feridas, porém no processo de queimaduras, vasos sanguíneos são rompidos e levam tempo para serem reestabelecidos no local levando à letargia do processo de cicatrização e à dificuldade de migração de células de defesa para essa região causando a perda de proteção física da pele.

No processo de cicatrização de feridas, ocorre a indução de migração de mais macrófagos, fibroblastos e queratinócitos para produção de citocinas e fatores de crescimento celular, crucial para revascularização (angiogênese) e proliferação celular, porém em casos das feridas por queimaduras, o tecido lesado é muitas vezes necrosado não permitindo que o oxigênio chegue a área da lesão causando a diminuição abrupta de oxigênio (hipóxia) lentificando ainda mais o processo de cicatrização e deixando a ferida exposta a agentes externos patogênicos. Quanto maior o tempo de exposição da ferida, maior a chance de bactérias formarem biofilmes e se instalarem de forma a dificultar sua retirada ou eliminação. Além do mais, o processo inflamatório causado por essas bactérias aumenta o processo inflamatório no local levando à elevação prolongada de citocinas pro-inflamatórias e metaloproteinases que degradam os fatores de crescimento celular deixando as feridas repletas de biofilmes de bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Streptococcus β-hemolíticos* (Guo; DiPietro, 2010). Diante deste cenário, a implementação ágil de abordagens terapêuticas eficazes é essencial para prevenir o surgimento e o agravamento dessas complicações.

2.2 Estratégias terapêuticas para tratar queimaduras

O processo de cicatrização de queimaduras é complexo e ocorre através de quatro estágios distintos: hemostasia (coagulação sanguínea), inflamação (estimula e migração celular), proliferação (reepitelização, angiogênese e formação de tecido de granulação) e remodelação (produção de colágeno e elastina) (Jahromi *et al.,* 2018). A duração desses

processos de cicatrização varia dependendo da profundidade da queimadura e do tecido acometido.

No entanto, o tratamento de queimaduras ainda continua sendo um desafio significativo na área médica. Curativos tradicionais, como o algodão e gaze, já não são mais considerados alternativas adequadas para o tratamento de queimaduras. Além de não contribuir para o reparo tecidual, tais curativos podem aderir à superfície da ferida, dificultando a sua remoção e assim, causar danos secundários após a remoção (Huangfu *et al.,* 2021). Segundo Ghomi *et al*. (2019), o curativo ideal deve oferecer proteção contra infecções causadas por organismos patogênicos, absorver os exsudatos da ferida mantendo-a hidratada e ser facilmente aplicável e removível. Além disso, os curativos devem conter substâncias antimicrobianas que previnem a formação de infecções, como também devem ser capazes de auxiliar e promover a cicatrização. Mais que tudo, os curativos devem ser seguros e não devem causar alergias ou outras reações adversas.

Nesse contexto, novas abordagens terapêuticas têm sido discutidas e desenvolvidas pela comunidade científica ao longo dos anos. Dessa forma, o tratamento para queimaduras varia de acordo com a gravidade e o tipo da lesão, desde medicamento tópicos e cuidados domiciliares para queimaduras leves até cirurgias e cuidados intensivos para queimaduras graves. Com o intuito de promover e acelerar o processo de reparo tecidual, alguns métodos convencionais são descritos na literatura para o gerenciamento das queimaduras. Entre os métodos convencionais para gerenciamento de queimaduras, destacam-se os cremes dérmicos (Kulyar *et al.,* 2022; Nimia *et al.,* 2019), hidrogéis (Shu *et al.,* 2021), membranas sintéticas e biológicas (Blome-Eberwein *et al.,* 2021; Eskandarlou *et al.,* 2016) e as matrizes de regeneração dérmica (Hicks *et al.,* 2019). Os enxertos de pele, por sua vez, são reservados para queimaduras graves de terceiro grau. O enxerto é invasivo e envolve a retirada de uma pequena porção de pele saudável de uma área sadia do corpo, a qual é enxertada sobre a área acometida. Tal procedimento ajuda a proteger a área lesionada, promovendo a cicatrização do tecido (Gacto-Sanchez, 2017).

No entanto, os custos associados ao tratamento de queimaduras podem ser significativos e variam dependendo do tipo de curativo utilizado, da extensão, gravidade e da região do corpo afetada. Além disso, o custo do tratamento não se limita apenas aos curativos, mas também a custos médicos, medicamentos, fisioterapias e acompanhamento a longo prazo, contribuindo para um ônus financeiro substancial (Anami *et al.,* 2017). De acordo com os levantamentos estatísticos de Carvalho e colaboradores (2019), o Sistema Único de Saúde (SUS), destina cerca de R$55 milhões por ano para o tratamento de queimaduras. Destes, estima-se que as queimaduras provoquem despesas de R$1200,00 e R$1500,00 por dia de internação. Estudos

dos gastos gerados por queimaduras no Brasil mostraram que o custo médio de queimados em unidades de tratamento intensivo (UTI) foi de aproximadamente US$39.668,05 (R$153.939,80) por paciente (Saavedra *et al.*, 2019).

De modo geral, o tratamento para queimaduras representa um desafio complexo e dispendioso, principalmente quando requerem procedimentos terapêuticos prolongados e trocas frequentes de curativo. A Tabela 1 apresenta exemplos de tratamentos para queimaduras disponíveis comercialmente, bem como sua composição, indicação e custo estimado, os quais foram compilados a partir de fontes de buscas específicos.

Tabela 1. Tratamentos disponíveis comercialmente para queimaduras.

Tratamento	Marca	Composição	Indicação	Custo Estimado (R$)
Creme dérmico	Dermazie	Sulfadiazina de prata	Pomada antibiótica tópica com efeito bacteriostática, para queimaduras de 2° e 3° grau.	40,00/30g
	Neo Química (Genérico)	Nitrofurazona	Pomada antibiótica com efeitos antimicrobianos, previne infecções em queimaduras 2° e 3° grau.	10,00/30g
	União Química (Genérico)	Hidrocortisona	Pomada de corticosteroide, atua no alívio da dor e inflamação de queimaduras leves.	13,00/20g
Hidrogel	Dersani	Ácido graxo, vitaminas A e E, propilenoglicol, entre outros	Possui ação cicatrizante e bactericida em queimaduras de 1° e 2° grau, com perda parcial ou total do tecido.	60,00/30g
	Casex Ally Gel	Alginato, entre outros	Propicia a cicatrização, promove o desbridamento autolítico e favorece a remoção de escaras de tecido necrótico em queimaduras de 2° grau superficial e profunda.	70,00/85g
Hidrocoloide	Casex Curactive	Gelatina, pectina e carboximetilcelulose sódica	Acelera a cicatrização em queimaduras de 1° e 2° grau.	169,00/10un (10 cm^2)
	Kangli Derm	Carboximetilcelulose Sódica, gelatina, pectina e uma fina camada de poliuretano	Favorece o processo de cicatrização, e auxilia no desbridamento autolítico de queimaduras de 2° grau.	99,00/2un (20 cm^2)
Filme transparente	3M Nexcare	Sem especificação	Permite a troca gasosa, bloqueia a entrada de água, germes e sujeira, ajudando na cicatrização de queimaduras.	26,00/4un (6x7x8 cm)
Curativo de Espuma	Allevyn Adhesive	Poliuretano hidrofílico	Possui estrutura trilaminada que impede a adesão a lesão, absorve os exsudatos e impede a entrada de água e bactérias. Mantém o ambiente apropriado para a cicatrização de queimaduras.	176,80/1un (22,5 cm^2)
	Silicare - VitalMedical	Espuma de poliuretano	Película externa atua como barreira antibacteriana e antiviral, reduzindo o risco de infecções em queimaduras.	308,15/5un (15 cm^2)
Membrana Dérmica	Membracel	Celulose	Age como substituo temporário da pele, auxilia no alívio da dor, acelera a cicatrização, permite troca gasosa e drenagem de exsudato.	37,45/1un (5x7,5cm)
	Monlycke Mepitel	Malha de Silicone	Indicado para queimaduras de 2° grau, minimiza a dor e pode ser mantido no local da ferida até 14 dias.	2.073,00/5un (20x30 cm)

Embora haja uma variedade de opções comerciais disponíveis para o tratamento de queimaduras, é importante destacar que a pesquisa biomédica continua a explorar novas abordagens terapêuticas para essa problemática. Isso inclui o desenvolvimento contínuo de

biomateriais inovadores com propriedades especificas para promover a cicatrização de queimaduras de forma eficaz. A utilização desses biomateriais promissores pode oferecer benefícios significativos aos pacientes, contribuindo para uma recuperação mais rápida e completa.

2.3 Biomateriais poliméricos para o tratamento de queimaduras

Por definição, biomateriais são substâncias projetadas, sozinha ou como parte de um sistema, para interagir com sistemas biológicos como células, tecidos e órgãos para fins terapêuticos ou de diagnóstico (Biomaterials, 2021; Ghasemi-Mobarakeh *et al.*, 2019; Williams, 2009). São constituídos por metais, cerâmicas, compósitos e polímeros que por sua vez podem ser subdivididos em sintéticos ou naturais (Festas; Ramos; Davim, 2020). No geral, os biomateriais devem ser biocompatíveis, atóxicos e interagir de forma segura e eficaz com os tecidos biológicos, evitando respostas imunológicas ou inflamatórias. Devem possuir propriedades mecânicas adequadas e serem estáveis quimicamente. Quando necessário, ser biodegradável sem causar danos aos tecidos circundantes e em casos específicos ser capaz de promover a liberação de compostos ativos com propriedades farmacológicas e antimicrobianas (Hudecki; Kiryczynski; Los, 2019; Yaqub; Chen, 2019).

O desenvolvimento de novos biomateriais é uma área em constante evolução, que tem por objetivo melhorar a qualidade de vida dos pacientes e promover avanços significativos na medicina. Nesse âmbito, os biomateriais poliméricos têm despertado grande interesse no mercado mundial, pois são capazes de mimetizar as propriedades dos tecidos biológicos, sendo amplamente utilizados na área biomédica na forma de implantes, dispositivos médicos, sistemas de liberação de fármacos, curativos, entre outros (Biswal; Badjena; Pradhan, 2020; Maitz, 2015). A sua versatilidade compreende uma de suas principais vantagens, pois podem ser formulados com diversas propriedades físicas, mecânicas e químicas, o que os torna adequados para diferentes aplicações. Além do mais, tendem a ser biocompatíveis, podem ser biodegradáveis, de fácil processabilidade e esterilizabilidade (Samadian *et al.*, 2020). São capazes de atuar de forma eficiente na entrega direcionada de compostos ativos, sintéticos e naturais, no local de ação, evitando os efeitos colaterais e aumentando a eficácia do tratamento (Torres-Martínez *et al.*, 2018).

Diante deste contexto, os biomateriais poliméricos têm se mostrado uma alternativa promissora para os cuidados com queimaduras, pois podem fornecer um ambiente favorável para a cicatrização das feridas, reduzindo a dor associada ao tratamento. Os curativos

poliméricos podem ser tanto de origem sintética, quanto natural. Os polímeros sintéticos (poliuretano (PU), polivinil pirrolidona (PVP), álcool polivinílico (PVA), entre outros), possuem propriedades mecânicas aprimoradas e são facilmente produzidos em escala industrial devido às suas propriedades físico-químicas estabelecidas. Entretanto, carecem de compostos bioativos que auxiliem no processo de reparo tecidual e cicatrização, enquanto os subprodutos gerados pela sua degradação podem acarretar resposta imune e inflamatória ao organismo (Boni *et al.*, 2018). Já os polímeros naturais ou os biopolímeros (quitosana, alginato, colágeno, ácido hialurônico, entre outros), são geralmente extraídos de fontes naturais, como microorganismos, plantas e animais (Abbasian *et al*., 2019). São amplamente utilizados como curativos na medicina regenerativa devido a sua biocompatibilidade, que favorece o processo de migração, adesão e proliferação celular, estimulando o processo de reparo tecidual. Podem ser biodegradáveis e atóxicos. Contudo, a inconsistência em sua composição e propriedades mecânicas relativamente baixas em comparação com os polímeros sintéticos são algumas de suas desvantagens (Abbasian *et al*., 2019; Souto *et al.*, 2020).

Portanto, diversos biomateriais poliméricos são amplamente estudados e empregados no tratamento de queimaduras, cada um com características especificas que contribuem para o processo de cicatrização. Entre eles, destacam-se os hidrogéis, os filmes poliméricos, espumas, membranas e hidrocolóides (Souto *et al.*, 2020; Yao *et al.*, 2021). Os hidrogéis, constituídos por uma rede polimérica rica em água, desempenham um papel fundamental ao manter a pele hidratada, promovendo simultaneamente a reepitelização e cicatrização tecidual (Shu *et al.*, 2021). Por outro lado, os filmes poliméricos transparentes, compostos por uma camada fina de polímero, atuam como uma barreira protetora, mantendo a ferida limpa e protegida (Kalaycioglu *et al.*, 2020). Os curativos de espuma, confeccionados a partir de polímero poroso, possuem a capacidade de absorver os exsudatos da ferida, reduzindo os riscos de infecção em queimaduras de segundo grau. Devido à sua porosidade, permitem a troca gasosa, podendo ser mantidos por vários dias sem a necessidade de trocas inerentes (Chaganti *et al*., 2019). As membranas, por sua vez, são utilizadas como barreira protetora no tratamento de queimaduras, podendo também ser porosas para permitir a troca gasosa e a manutenção de umidade (Graça *et al.*, 2021). Por fim, os hidrocolóides são compostos por géis poliméricos (gelatina, pectina, carboximetilcelulose sódica, entre outros) e uma camada adesiva impermeável às bactérias, são aplicados diretamente sobre o tecido lesionado. O seu emprego ajuda na manutenção da umidade na área infeccionada, fornecendo uma barreira contra agentes infecciosos (Niculescu; Grumezescu, 2022). Nota-se, que cada biomaterial polimérico possui suas próprias características e propriedades únicas, o que os tornam adequados para diferentes tipos de

queimaduras. Desse modo, alguns exemplos de estudos associados a tratamentos de queimaduras utilizando biomateriais poliméricos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Estudos de potenciais tratamentos para queimaduras utilizando biomateriais poliméricos.

Tratamento	Composição	Descrição das Propriedades Terapêuticas	Referência
Hidrogel	Dextran, ácido hialurônico e sanguinarina incorporado em microesferas de gelatina	Alta porosidade, com capacidade de intumescer; favoreceu a proliferação de fibroblastos; promoveu a liberação de sanguinarina; inibiu o crescimento de *S. aureus* e *E. coli;* foi capaz de agir na reepitelização da matriz extracelular.	Zhu *et al.,* 2018
	Gelatina e Alginato	Biocompatível com capacidade de absorver os exsudatos da ferida.	Stubbe *et al.,* 2019
	Fibroína de Seda	Fornece ambiente úmido, que é propicio para a cicatrização de feridas; aumenta a adesão e a migração celular.	Guan *et al.,* 2020
	Carboximetilquitosana /plantamajosídeo	Promoveu a cicatrização, acelerando a angiogênese e a deposição de colágeno, reduzindo a resposta inflamatória.	Yu *et al.,* 2022
Filme Polimérico	Alginato de sódio e PVA incorporados com *Aloe vera* e vitamina E	Resistência mecânica e flexibilidade adequado para curativo, com capacidade de liberação por mais de 12h dos biocompostos que podem auxiliar no processo de cicatrização.	Pereira *et al.,* 2014
	Quitosana, alginato de sódio e carbopol incorporados com Mupirocina	Acelerou a regeneração da camada epidérmica e favoreceu a angiogênese; também apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*.	Okur *et al.,* 2019
Espuma	Espuma de Silicone com prata	Eficaz no tratamento de queimaduras, demonstrou diminuição da dor e menor custo associado ao tratamento.	Silverstein *et al.,* 2011
	Poliuretano	Proporcionou alívio da dor e conforto; foi capaz de absorver até 100% da cobertura; mostrou permeabilidade ao gás e fácil remoção.	Smirnov *et al.,* 2013
Hidrocolóide	Poli(estireno-b-isopreno-b-estireno) (SIS), poliisopreno (PIB), resina de petróleo (C5) e carboximetilcelulole de sódio (CMC)	Investigou a origem da perda de adesão de curativos hidrocoloides e promoveu a concepção de um curativo com controle de umidade e autoadesivo sustentado.	Kong *et al.,* 2020
Membrana	Quitosana e fibroína de seda reticuladas com alginato dialdeído	Promoveu a adesão e a proliferação celular, sendo um candidato promissor para aplicação em cicatrização de queimaduras.	Gu *et al.,* 2013
	Celulose Bacteriana *Acetobacter sp.*	Induziu a aceleração da cicatrização de queimaduras de 2° grau, incluindo regeneração tecidual e angiogênese.	Kwak *et al.,* 2015
	Nanocompósito de celulose incorporado com curcumina	Biocompatível, com adesão e proliferação celular; promoveu a reepitelização e a vascularização no leito da ferida, melhorando significativamente a cicatrização; mostrou efeito antibacteriano.	Sajjad *et al.,* 2020
	Celulose vegetal de *pinus*	Apresentou eficácia no tratamento de queimaduras de 3° grau.	Takejima *et al.,* 2021
	Látex de borracha natural e Sulfadiazina de prata	Apresentou hemocompatibilidade e citocompatibilidade; foi capaz de inibir o crescimento de *Candida albicans* e *parapsilosis*; baixo custo.	Tanaka *et al.,* 2021

Esses estudos fornecem uma perspectiva valiosa sobre o potencial terapêutico desses biomateriais na regeneração de tecidos e na melhoria do processo de cicatrização de feridas advindas de queimaduras. Em uma revisão realizada por Tiwari *et al*. (2023), é revelado que, embora existam diversos estudos envolvendo biomateriais poliméricos, ainda não há nenhum curativo disponível comercialmente para cobertura de feridas (*wound dressing*) que possa ser

aplicado de maneira eficiente e eficaz, sem altos custos associados e com propriedades bioativas de interesse. Isso evidencia uma crescente necessidade de pesquisas adicionais nessa área, destacando a importância de desenvolver tais materiais para atender às demandas clínicas e promover uma cicatrização mais eficiente.

2.4 Poli(L-co-D,L-Ácido Láctico) (PLDLA)

O poli(L-co-D,L-ácido láctico) (PLDLA), é um poliéster alifático, biocompatível, biodegradável, bioabsorvível e com boas propriedades mecânicas, o qual possui uma grande aplicabilidade na formulação de biomateriais (Leal *et al.*, 2019; Motta; Duek, 2008). O mesmo é derivado do poli(ácido láctico) (PLA), um polímero semicristalino biodegradável obtido a partir de recursos de fontes renováveis, como o amido de milho e a cana de açúcar (Cheng *et al.*, 2019).

O PLA é um polímero quiral e possui dois enantiômeros, sendo eles o (L-ácido láctico) e (D,L-ácido láctico). A polimerização racêmica destes enantiômeros dão origem a distintos copolímeros, o poli(L-ácido láctico) (PLLA) e o próprio PLDLA, o qual a sua estrutura química é exibida na Figura 3. Estudos realizados por Motta e Duek (2007), demonstraram a síntese satisfatória do PLDLA por meio da reação de abertura de anel, utilizando como catalisador o octanoato de estanho. Ao contrário do PLLA, que é um polímero semicristalino, o PLDLA na proporção 70/30 é amorfo e exibe maior flexibilidade estrutural (Frone *et al.*, 2022). Além disso, os subprodutos resultantes da degradação do PLDLA não induzem respostas inflamatórias no organismo, ao contrário dos subprodutos cristalinos derivados do processo de degradação do PLLA (Leal *et al.*, 2019).

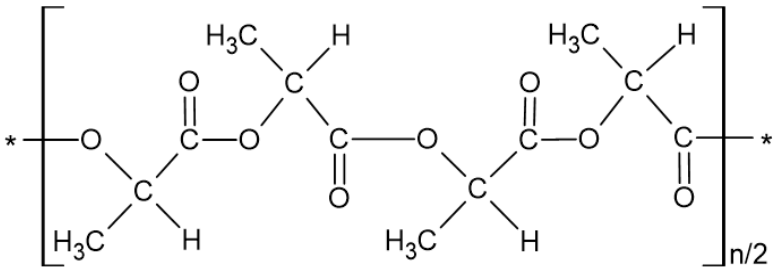

Figura 3. Estrutura química do copolímero PLDLA (elaborado no ChemSketch).

A utilização do copolímero PLDLA como biomaterial tem sido amplamente explorado na literatura cientifica. Más *et al.* (2016) destacam que o PLDLA demonstrou resultados promissores como suporte para procedimentos de substituição óssea, onde os arcabouços

lixiviados de PLDLA (70/30) se mostraram biocompatíveis e capazes de apoiar e estimular o crescimento e migração de células similares a osteoblastos. A associação de PLDLA com nanopartículas de titanato de bário (BNTPs), conforme evidenciado por Kemppi *et al*. (2021), fez com que o PLDLA resultasse em um material com estrutura porosa 3D, ideal para migração celular e promissor para futuras aplicações na engenharia tecidual devido à sua biocompatibilidade. Por sua vez, Surrao, Waldman e Amsden (2012) demostraram que a técnica de eletrofiação é capaz de produzir membranas com estrutura fibrosa de PLDLA, favorecendo a deposição da matriz extracelular (MEC) de fibroblastos semeados sobre sua superfície, proporcionando uma estrutura biomimética para a engenharia de tecidos ligamentares. Além disso, a caracterização e a avaliação *in vitro* de fibras eletrofiadas de PLDLA realizadas por Leal *et al.*, (2019) corroboram com os achados de Surrao *et al.* (2012), indicando que essa técnica possibilita a obtenção de fibras alinhadas de PLDLA. Essas fibras podem ser utilizadas na engenharia tecidual para dar suporte a regeneração de enxertos vasculares, regeneração nervosa e a produção de curativos para feridas.

Apesar de inúmeros estudos associando o uso de PLDLA na formulação de dispositivos médicos, há uma lacuna significativa de pesquisa relacionada à sua aplicação em curativos dérmicos. Considerado um polímero amorfo, o PLDLA (70/30) apresenta uma temperatura de transição vítrea (T_g) em aproximadamente 58 °C, conforme destacado por estudos conduzidos por Messias *et al.* (2014). Essa característica está diretamente associada à sua rigidez, o que dificulta a sua aplicação sobre o tecido lesionado. Nesse contexto, Motta e Duek (2014) aprimoraram a flexibilidade e a tenacidade do PLDLA ao sintetizá-lo com um elastômero alifático, o carbonato de trimetileno (TMC), resultando na obtenção de um terpolimero conhecido como PLDLA-TMC. Komatsu *et al.* (2019) por sua vez, demonstraram que o TMC incorporado no terpolimero composto por PLDLA-TMC, favoreceu sua aplicação em curativos dérmicos. Esta abordagem demonstrou ser uma estratégia promissora para superar as limitações iniciais do PLDLA e melhorar sua adequação como biomaterial em aplicações clínicas, como curativos para tratamento de queimaduras.

2.5 Látex de borracha natural (BN)

O látex de borracha natural (BN), consiste em um biopolímero elastomérico flexível, extraído da seringueira *Hevea brasiliensis*, que por sua vez é uma árvore nativa da bacia amazônica. A BN é formada por um sistema coloidal, composto por aproximadamente 50% de água, 30 a 45% de moléculas de poli(*cis*-1,4-isopreno), que são cobertas por 4 a 5% de outros

constituintes, como proteínas, lipídios e carboidratos, conforme ilustra a Figura 4 (Paiva *et al.*, 2022). Segundo levantamentos de Guerra *et al.* (2021), a as partículas de BN são compostas principalmente por proteínas Hev b1 e Hev b3, entretanto, a haveína, uma proteína solúvel em água, aniônica e com alto teor de enxofre, que pode desencadear reações alérgicas em pacientes susceptíveis. Com isso, técnicas de desproteinização associadas a centrifugação, aditivos químicos, lixiviação, cloração, enzimáticos, entre outros, vem sendo estudadas e empregadas para eliminação das proteínas (Suksaeree *et al*., 2023; Moolsin *et al.*, 2021).

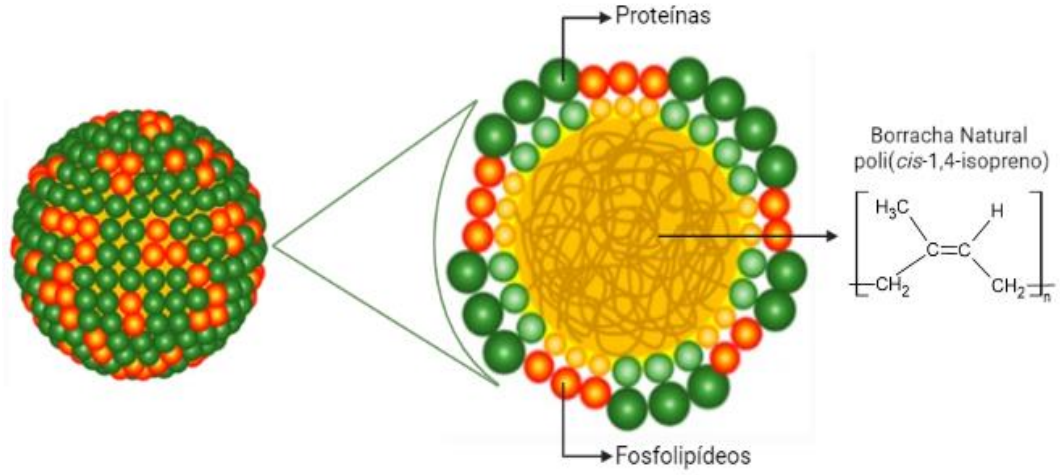

Figura 4. Sistema coloidal de partícula de BN e estrutura química do poli(*cis*-1,4-isopreno) (Adaptado de Floriano *et al.*, 2018).

Levantamentos realizados na base de dados *Web of Science* (2024) mostram que o número de publicações relacionadas à aplicação de BN no desenvolvimento de novos biomateriais para aplicações biomédicas vem crescendo expressivamente ao longo dos anos (Figura 5). As consultas foram realizadas por meio do uso de palavras-chave ("*natural rubber*", "*Hevea brasiliensis*", "*biomedical application", "biomaterial", "wound dressing"*), associadas com operadores de pesquisa (AND e OR) em período estimado de janeiro de 2010 até dezembro de 2023. Sua aplicação na área biomédica se deve à sua bioatividade, pois além de ser biocompatível, a BN é capaz de formar matriz extracelular, promover a angiogênese, osteogênese, atuando de forma eficiente na regeneração e cicatrização tecidual, sem causar rejeição ou formação de tecido fibroso (Guerra *et al.*, 2021; Paiva *et al.*, 2022). Também pode atuar de forma eficiente e sustentada na liberação de diferentes compostos ativos (Tanaka *et al.*, 2021; Zancanela *et al.*, 2019).

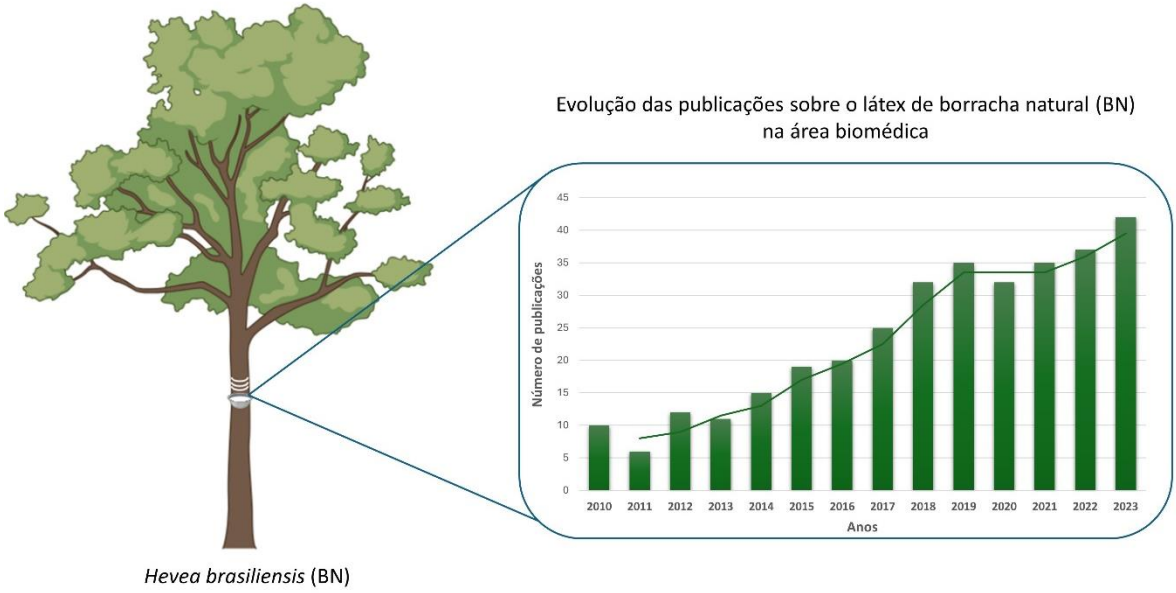

Figura 5. Evolução anual do número de publicações sobre BN para aplicações biomédicas de acordo com o *Web of Science*. (Ilustração elaborado no Biorender).

Dessa forma, estudos mostram que BN pode ser empregada no desenvolvimento de uma ampla gama de dispositivos médicos, tais como adesivo transdérmico carregado com cetoprofeno para tratamento de tendinite (Floriano *et al.*, 2018), membrana incorporada com colágeno para tratamento de defeitos ósseos da tíbia (Paiva *et al.*, 2022), membrana para atuar como barreira física e auxiliar no reparo de feridas de áreas doadoras de palato (Spin *et al.*, 2021), membrana revestida com fosfato de cálcio para aplicação em regeneração óssea guiada (Borges *et al.*, 2015), compósito com hidroxiapatita para aplicação óssea (Dick; Santos, 2017), *scaffolds* de PLA impressos em 3D e revestido com látex de BN para aplicação biomédica (Marcatto *et al.*, 2022), biocompósito para favorecer a proliferação e a diferenciação condrogênica de células tronco mesenquimais humanas (Kinoshita *et al.*, 2019), entre outros.

Por ser um material com inerentes propriedades bioativas, altamente flexível e macio, alguns estudos apontam o uso de BN, no desenvolvimento de curativos dérmicos, principalmente como uso terapêutico nos cuidados com queimaduras. Tanaka *et al.* (2021), desenvolveram um curativo acessível, no qual combinaram as propriedades cicatrizantes de BN com a atividade antifúngica de sulfadiazina de prata para o tratamento de queimaduras infectadas por *Candida spp.* A mistura entre BN e própolis resultou, de acordo com Silva *et al.* (2014), em uma membrana altamente flexível, translúcida, não adesiva e com efeitos inibitórios contra *C. albicans*, com potencial como curativo no tratamento de queimaduras. Visando a liberação sustentada e os efeitos antimicrobianos contra *C. albicans*, Zancanela *et al.* (2019), comparou a incorporação de diferentes tipos de própolis em membrana de BN. Enquanto

manteve a sua biocompatibilidade com células fibroblásticas, a adição de própolis não afetou as propriedades mecânicas de BN, tornando-a interessante para o desenvolvimento de curativos eficazes na cicatrização de feridas. Do mesmo modo, Krupp *et al.* (2019) avaliaram os efeitos da membrana de BN associada a extrato aquoso de própolis, na cicatrização de feridas de segundo grau, o qual acelerou o processo de cicatrização e reparo tecidual, sem a necessidade de trocas recorrentes.

Por ser um material versátil na obtenção de biomateriais, a BN pode ser processada por meio de diferentes técnicas. Andrade *et al.* (2023) apontam as estimativas das principais técnicas de processamento da BN para aplicações biomédicas, as quais envolvem a obtenção de membranas por *casting* (46%), eletrofiação (11%), spray e revestimento por imersão (9%), entre outros (34%). Essa variedade de técnicas destaca a adaptabilidade da BN na formulação de biomateriais com propriedades específicas para diversas aplicações biomédicas.

2.6 Processo de eletrofiação

A eletrofiação consiste em uma técnica multifacetada, simples, eficiente e de baixo custo, o que a torna uma opção atraente para a produção de micro e nanofibras porosas que podem ser utilizadas em uma ampla gama de aplicações, principalmente na área biomédica (Wu *et al.*, 2022). Por ser uma técnica versátil, a eletrofiação oferece diversas vantagens em relação às demais técnicas de processamento de polímeros (*casting*, fiação por sopro, automontagem, entre outros) (Soares *et al.*, 2018). Em termos de propriedades mecânicas, a eletrofiação permite o controle preciso da morfologia e diâmetro das fibras, além do mais, a técnica produz fibras altamente porosas com alta área superficial, o que é importante para a adesão e proliferação celular, como também, a liberação sustentada de fármacos. Ademais, a eletrofiação é considerada uma técnica de alta eficiência, pois é relativamente simples, de baixo custo e sua versatilidade permite o processamento de uma ampla variedade de polímeros, incluindo polímeros naturais e sintéticos (Chagas *et al.*, 2021). A possibilidade de obtenção de materiais biocompatíveis e biodegradáveis que possam ser utilizados em aplicações biomédicas, também é uma realidade que o processo de eletrofiação permite atingir (Ding *et al.*, 2019; Wilk; Benko, 2021).

O equipamento de eletrofiação convencional é comumente simples, conforme mostra a Figura 6. Basicamente é equipado por um sistema de alimentação que contém uma fieira (agulha) e seringa sobreposta a uma bomba de infusão, fonte de alta voltagem e um coletor plano ou rotativo (Doostmohammadi; Forootanfar; Ramakrishna, 2020). O sistema de

alimentação é responsável por impulsionar a bomba de infusão a qual está acoplada a seringa contendo a solução polimérica. A presença de um campo elétrico, gerado pela fonte de alta tensão conectado à ponta da fieira e ao coletor aterrado, faz com que ocorra uma diferença de potencial, criando um ambiente propício para a formação de uma gota instável em formato de cone (cone de Taylor). Essa tensão faz com que a solução polimérica eletricamente carregada, seja impulsionada do cone de Taylor em direção ao coletor com polaridade oposta. O solvente é então rapidamente volatilizado e as fibras são depositadas no coletor, formando o material de interesse (Angel *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2022).

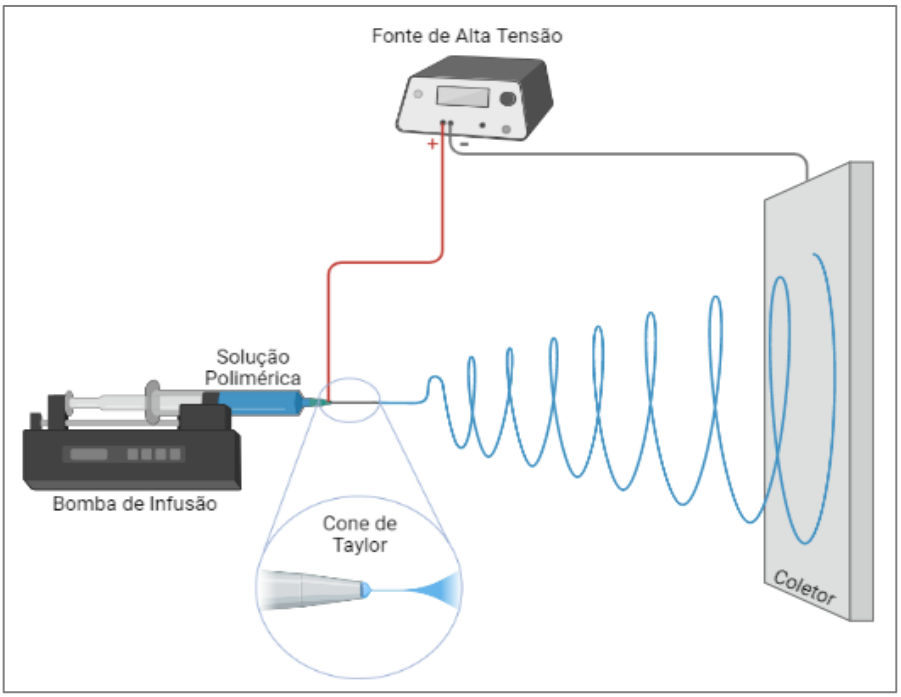

Figura 6. Ilustração esquemática do equipamento de eletrofiação (Elaborado no Biorender).

Embora a técnica de eletrofiação seja simples, alguns parâmetros operacionais devem ser considerados, pois podem afetar de forma significativa as fibras resultantes. Tais parâmetros são subdivididos em três formas distintas, sendo eles os parâmetros de solução, de processamento e ambiental. Os parâmetros de solução estão relacionados à viscosidade, concentração e massa molecular do polímero, condutividade e tensão superficial. Já os parâmetros de processamento envolvem a tensão aplicada, distância entre o bico e o coletor, taxa de alimentação/fluxo e tipo de coletor, enquanto os parâmetros ambientais envolvem a umidade e temperatura presente no ambiente. Tais parâmetros podem influenciar de forma significativa o diâmetro, a morfologia, e as propriedades mecânicas das nanofibras eletrofiadas. Devido a isso, o processo de eletrofiação geralmente é realizado em local fechado, climatizado e eletricamente isolado (Ding *et al.*, 2019; Partheniadis *et al.*, 2020).

Contudo, diferentes configurações de eletrofiação podem ser empregadas para produzir membranas com fibras morfologicamente aleatórias e com distintas propriedades. Montoya e colaboradores (2021) relatam em seus estudos, que além da eletrofiação convencional (responsável pela obtenção de *scaffolds* homogêneos), a eletrofiação sequencial e a co-eletrofiação permitem a obtenção de estruturas com configuração camada/camada sobreposta ou mista, formada por diferentes tipos de polímeros. Nestas situações específicas, as soluções poliméricas são eletrofiadas separadamente, no caso da co-eletrofiação, o processamento ocorre simultaneamente, conforme empregado neste estudo. Estas configurações permitem a obtenção de membranas com dois tipos diferentes de fibras e propriedades mecânicas únicas, resultando da somatória de cada polímero individual (Sensini *et al.*, 2021).

Devido à versatilidade e à capacidade de mimetizar a MEC, os dispositivos eletrofiados podem ser empregados em uma ampla gama de aplicações biomédicas, como na engenharia de tecidos ósseos (Al-Baadani *et al.*, 2021), de cartilagem (Yilmaz; Zeugolis, 2020), tendões e ligamentos (Sensini *et al.*, 2021), cardiovascular (Montoya *et al.*, 2021), administração de medicamentos (Bhaiya; Kanugo, 2023) e no desenvolvimento de curativos dérmicos (Wang *et al.*, 2020).

As membranas eletrofiadas têm potencial para serem utilizadas como curativos devido à sua capacidade de absorver os exsudatos, ao mesmo tempo em que mantém o ferimento hidratado, permitindo um eficiente troca gasosa entre a lesão e o ambiente (Gruppuso *et al.*, 2021). Além disso, as membranas fibrosas podem ser carregadas com uma variedade de fármacos por meio da mistura direta com o polímero, revestimento da superfície ou encapsulamento. Essa capacidade de carga permite uma liberação sustentada de compostos farmacológicos com propriedades antimicrobianas, antifúngicas e que auxiliam no processo de reparo tecidual (Doostmohammadi; Forootanfar; Ramakrishna, 2020; Chen *et al*., 2020).

Diversos estudos apontam a técnica de eletrofiação, tanto com polímeros sintéticos, naturais ou a mistura de ambos, para o desenvolvimento de curativos com uso terapêutico no tratamento de diferentes ferimentos dérmicos, incluindo queimaduras. Estudos consolidados também indicam o uso das nanofibras para entrega direcionada e sustentada de diversos fármacos (natural/sintético) para essa finalidade, conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Estudos sobre nanofibras eletrofiadas para aplicação no tratamento de lesões dérmicas.

Matriz Fibrosa	Tipo de Produção	Agente Ativo	Propriedades Resultantes	Referência
Quitosana/ Gelatina	Blenda e eletrofiação convencional	Extrato de Canela	Biocompatível, com atividade antibacteriana e capacidade de liberação sustentada para prevenir infecções.	Ahmadi *et al.,* 2021
PLA/BN	Eletrofiação de duas camadas	Curcumina	Preveniu a fotodegradação da curcumina e mostrou forte atividade antibacteriana contra *S. aureus*.	Chagas *et al.,* 2021
Policaprolactona/ Gelatina	Blenda e eletrofiação convencional	Óxido de cobre	Exibiu resistência mecânica, hidrofilicidade, liberação sustentada por 48h, atividade antibacteriana contra patógenos de ferida e apoiou o crescimento de células fibroblásticas, adequado para o tratamento de feridas	Karuppannan *et al.,* 2021
Colágeno Hidrolisado/ Quitosana	Eletrofiação coaxial	Óleo essencial de erva-cidreira e endro	Curativo biocompatível, com propriedades antimicrobianas.	Rapa *et al.,* 2021
Ácido Hialurônico/ Fibroína de Seda	Eletrofiação coaxial	Óxido de Zinco	Curativo para queimaduras, com ação antibacteriana contra *E. coli* e *S. aureus.*	Hadisi *et al.,* 2020
PLLA/Poli(etileno)/ Quitosana	Eletrofiação camada por camada	*Hypericum perfurantel L.*	Curativo com efeito inibitório contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, não citotóxico para células fibroblásticas humanas.	Mouro; Gomes; Gouveia, 2020
Poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA)	Eletrofiação convencional	Própolis	Curativo biodegradável para o tratamento de queimaduras.	Stojko *et al.,* 2020
BN Cloroacetato/PVA	Blenda e eletrofiação convencional	Caulim e amido de milho	Aumento da viabilidade celular, biocompatível e biodegradável.	Azarian; Boochathum; Kongsema, 2019
Fibroína de seda/ Poli(caprolactona)/ Ácido Hialurônico	Eletrofiada camada por camada assimetricamente	Timol	Biocompatível, com porosidade, molhabilidade e propriedades mecânicas adequadas para o processo de cicatrização.	Miguel *et al.,* 2019
Poli(álcool vinílico)/Lisina	Blenda e eletrofiação convencional	Ibuprofeno e Óleo de Lavanda	Efeito antibacteriano contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, com propriedades morfológicas, mecânicas e biológicas adequadas para melhorar a cicatrização de feridas.	Sequeira *et al.,* 2019
Gelatina/PLLA	Blenda e eletrofiação convencional	-	Excelente biocompatibilidade, permite a evaporação de água e drenagem de fluidos.	Gu *et al.,* 2009

2.6.1 Processo de co-eletrofiação

Apesar de sua versatilidade, o método tradicional de eletrofiação permite apenas a produção de membranas fibrosas homogêneas, cujas propriedades muitas vezes restringem sua aplicabilidade no campo biomédico (Xing *et al.*, 2023). No entanto, essa técnica pode ser aprimorada e adaptada em diversas configurações, permitindo a eletrofiação versátil de materiais múltiplos e distintos. Isso, por sua vez, amplia o potencial para o desenvolvimento de uma ampla gama de biomateriais com propriedades heterogêneas aprimoradas. Nesse contexto, a co-eletrofiação, também conhecida como eletrofiação biaxial emerge como uma técnica

derivada da eletrofiação tradicional (uniaxial), sendo inovadora e promissora para a produção de novos materiais (Montoya *et al.*, 2021; Yang *et al*., 2022).

A co-eletrofiação tem recebido crescente atenção nos últimos anos. A técnica consiste na deposição simultânea de duas soluções poliméricas distintas, como polímeros naturais e sintéticos, através de bicos adjacentes em um único coletor, seja ele composto por placa ou tambor rotativo. Esse método resulta na formação de fibras híbridas e distintas, com configuração em camadas ou entrelaçadas, altamente porosas e com propriedades morfológicas e mecânicas controladas (Montoya *et al.,* 2021). Além disso, a técnica resolve problemas relacionados à incompatibilidade de solventes, uma vez que cada solução polimérica é eletrofiada separadamente (Hivechi *et al.,* 2020; Yang *et al*., 2021). Contudo, as pesquisas envolvendo esse tipo de processo enfatizam a seleção adequada dos materiais empregados na obtenção da membrana fibrosa. O processo de co-eletrofiação é ilustrado na Figura 7.

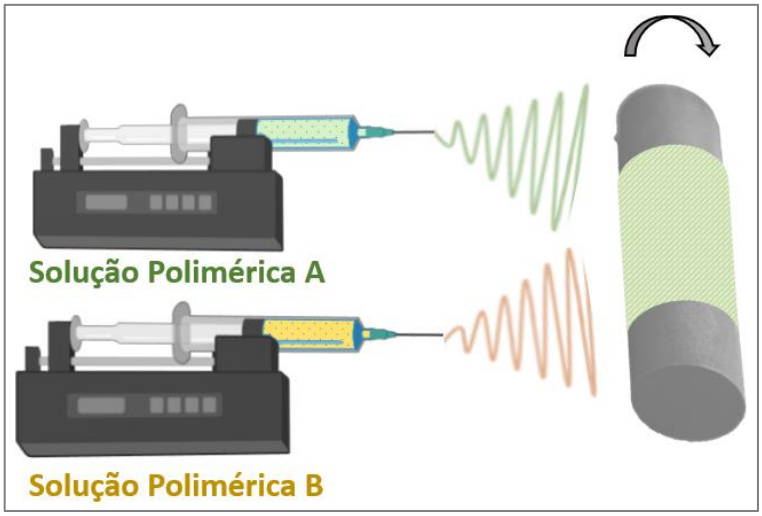

Figura 7. Técnica ilustrativa do processo de co-eletrofiação (Elaborado no Biorender).

As estruturas fibrosas obtidas pela técnica de co-eletrofiação podem ser utilizadas no desenvolvimento de novos biomateriais para diversas aplicações na área biomédica. Estruturas fibrosas co-eletrofiadas têm sido investigadas em diversas áreas, incluindo engenharia de tecidos (Voniatis *et al.*, 2020), enxertos vasculares (Montoya *et al.*, 2021), tecido ósseo (Luo *et al.*, 2021), tecidos biomiméticos (Illner *et al*., 2019), substitutos de pele (Zarekhalili *et al.*, 2017), curativos com liberação de compostos ativos (Shahverdi *et al*., 2022), curativos antimicrobianos (Mohseni *et al.*, 2016) e curativos para feridas em geral (Ranjbar-Mohammadi e*t al.*, 2022; Hivechi *et al.*, 2020). A Tabela 4 apresenta alguns estudos relevantes que utilizam a técnica de co-eletrofiação ou eletrofiação biaxial para a obtenção de estruturas fibrosas destinadas à aplicação como curativos no tratamento de lesões dérmicas.

Tabela 4. Estudos sobre nanofibras co-eletrofiadas para aplicação como curativos para tratamento de lesões dérmicas.

Matriz Fibrosa	Agente Ativo	Propriedades Resultantes	Referência
PVA-goma de semente de *Lepidium perfoliatum*/PCL	-	Material biocompatível, com melhora na hidrofilicidade e com atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.	Yekrang; Yousefi (2023)
PLA/poli(vinilpirrolidona)	Quercetina	As membranas apresentaram um sistema promissor de administração de medicamentos para o tratamento de infecções de feridas diabéticas.	Di Cristo *et al*., (2023)
Quitosana-PVA/ poli(ε-caprolactona)	$CeAlO_3$ e Cefalexina	Material biocompatível, com boa resistência à tração e capacidade de liberação de cefalexina. Exibiu propriedades antibacterianas contra *S. aureus* e *E. coli*.	Shahverdi *et al.* (2022)
PVA/PCL	Extrato de café e *Calendula officinalis*	Material biocompatível, com boa resistência mecânica e atividade antioxidante. Material com potencial para aplicação na cicatrização de feridas.	Doostan *et al.* (2022)
Colágeno/ Alginato	*Rhodotorula mucilaginosa*	Nanofibras biocompatíveis e atóxicas, com capacidade de crescimento e proliferação celular.	Ashraf *et al*. (2022)
Queratina-PVA/PCL	-	Alta hidrofilicidade com boa adesão célula-estrutura, além de exibir propriedades antibacterianas contra *E. coli* e *S. aureus*.	Ranjbar-Mohammadi *et al.* (2022)
PCL/PVA/colágeno	*Momordica charantia*	Avaliações *in vitro* mostraram que as nanofibras eram hemocompatíveis, citocompatíveis e evitavam a penetração bacteriana através do curativo. Estudos *in vivo* mostraram que a aplicação das nanofibras melhorou o processo de cicatrização e fechamento da ferida.	Salami *et al.* (2021)
PCL/gelatina (nanocristais de celulose)	-	Material biocompatível com boas propriedades mecânicas e capacidade de promover a cicatrização em feridas em camundongos.	Hivechi *et al*. (2020)
PVA/PVC	Fator derivado de células estromais	Material biocompatível e biodegradável, com resistência mecânica adequada para ser utilizada como curativo. Exibiu capacidade de absorção de exsudatos e liberação sustentada, com propriedade de proliferação e migração celular.	Augustine *et al.* (2020)

Segundo levantamentos de Yang *et al*., (2021), apesar dos estudos existentes, há uma lacuna significativa na literatura referente ao uso de membranas fibrosas produzidas pela técnica de co-eletrofiação especificamente para aplicação em hemostasia e cicatrização de feridas. Este campo de pesquisa ainda carece de uma investigação mais aprofundada, especialmente quando consideramos a incorporação de compostos bioativos que possam potencializar esses efeitos. Dada a relevância clínica e as potenciais aplicações terapêuticas desses materiais em casos de queimaduras e outros tipos de lesões cutâneas, é crucial explorar essa abordagem para desenvolver soluções mais eficazes e inovadoras para o tratamento de feridas.

2.7 Óleo de copaíba (OC)

O óleo de copaíba (OC) pertencente à família *Leguminosae*, subfamilia *Caesalpiniaceae,* é um produto natural obtido da resina produzida por várias espécies do gênero

Copaifera, árvore encontrada principalmente na região amazônica e em algumas áreas da América Latina. O OC é obtido a partir da resina coletada do tronco da árvore, geralmente por meio de incisões na casca da *Copaifera* (Becker *et al.*, 2020). Essas incisões permitem que a resina seja vertida e coletada em recipientes apropriados, o qual são submetidas a um processo de separação e purificação para a obtenção do óleo (Morelli *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2015).

O gênero *Copaifera* inclui setenta e duas espécies de árvores, das quais mais de vinte são registradas no território brasileiro. Algumas das principais espécies são *Copaifera officinallis L., C. reticulata Ducke, C. langsdorffii Desf., C. multijuga Hayne, C. cearensis Huber ex Ducke, C. confertiflora Bth. e C. guianensis* (Leandro *et al*., 2012; Tobouti *et al.*, 2017). O OC é conhecido pela sua atividade biológica, que lhe confere propriedades medicinais que se destacam pelos seus efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, antibacterianos, antifúngicos, cicatrizantes, entre outros (Debone *et al.*, 2019; Norcino *et al.*, 2020). Entretanto, as suas atividades biológicas, como os efeitos antimicrobianos, podem variar conforme a espécie e região de origem, conforme mostra a Figura 8.

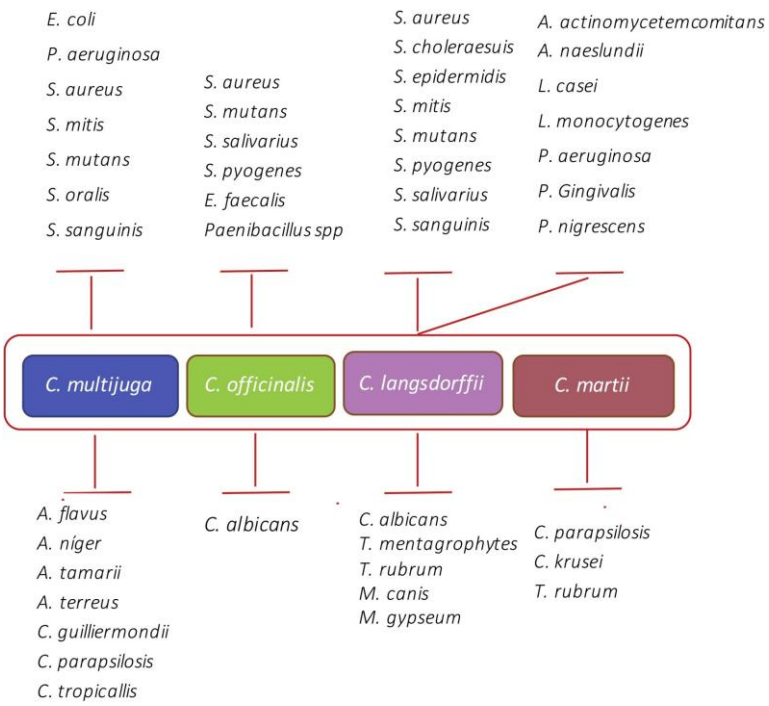

Figura 8. Efeitos antimicrobianos de diferentes espécies de *Copaifera* (Tobouti *et al*., 2017).

De acordo com a literatura, o OC apresenta propriedades terapêuticas atribuídas principalmente aos seus constituintes químicos, sendo os sesquiterpenos e diterpenos voláteis os principais responsáveis por tais efeitos. De acordo com Tobouti *et al.* (2017), aproximadamente 80% da composição do OC é composta por sesquiterpenos, destacando-se o

β-cariofileno, α-humuleno e α-copaeno, conforme ilustra a Figura 9. Além disso, cerca de 20% da composição do OC está relacionada à presença de diterpenos, como ácido copálico. A presença desses constituintes ativos contribui para a eficácia do OC no processo de regeneração tecidual e alívio dos sintomas associados a lesões cutâneas.

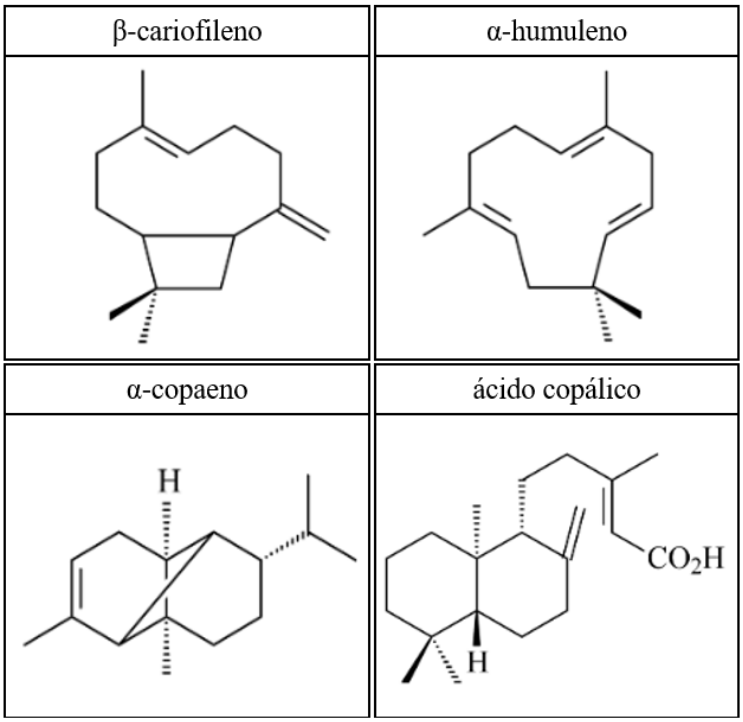

Figura 9. Estrutura química dos principais sesquiterpenos e diterpenos presente no OC (Adaptado de Leandro *et al.*, 2012).

A aplicação do OC no tratamento de lesões dérmicas tem despertado interesse em virtude de suas propriedades medicinais. Em particular, as suas propriedades antimicrobianas têm sido destacadas, contribuindo para a inibição do crescimento de bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa*, que são prevalentes na pele e representam uma ameaça para a saúde pública devido às infecções e à formação de biofilme. Estudos conduzidos por Pinto *et al.* (2023) demonstraram resultados promissores ao desenvolver nanocápsulas carregadas com OC, incorporadas em filmes de quitosana para o tratamento de doenças de pele associadas à infecção bacteriana. Além disso, pesquisas realizadas por Dias *et al.* (2021) revelaram que o tratamento com 10% de OC favorece o processo de cicatrização de feridas na pele. Debone *et al.* (2019), desenvolveram um estudo no qual filmes de quitosana foram formulados contendo 1% (m/m) de OC. Os resultados demonstraram que esses filmes apresentaram propriedades adequadas para o manuseio de fluidos, o que os torna promissores para aplicação como curativos, principalmente para casos de queimaduras. Por outro lado, estudos conduzidos por Becker *et*

al. (2020) indicam que a formulação tópica contendo 3% de OC é eficaz no alívio da dor inflamatória associada a queimaduras solares. Essas investigações sugerem que o OC pode desempenhar um efeito benéfico no tratamento e cicatrização de queimaduras devido às suas propriedades intrínsecas.

3 ANÁLISE EXPERIMENTAL

Este capítulo aborda os procedimentos experimentais utilizados neste trabalho, incluindo os materiais, o planejamento experimental, os métodos empregados e o conjunto de caracterizações dos experimentos realizados que levaram à escolha da composição do material eletrofiado.

3.1 Planejamento experimental

A Figura 10 apresenta o fluxograma do desenvolvimento do projeto. Assim, após a obtenção dos materiais utilizados neste estudo, o PLDLA e a BN purificada foram submetidos a duas fases de processamento distintas. A primeira fase, denominada **Etapa 1**, envolveu a eletrofiação dos materiais individuais, bem como a co-eletrofiação do PLDLA com diferentes concentrações (1,5%, 2,0% e 2,5%) de BN (PLDLA + BN). Esta etapa desempenhou um papel crucial, uma vez que, por meio das análises realizadas, foi possível determinar a proporção ideal de PLDLA e BN eletrofiada para ser utilizada na próxima etapa do projeto. Na segunda fase, denominada **Etapa 2**, foram investigados os efeitos da incorporação direta de OC no material eletrofiado (PLDLA/BN+CO) obtido na Etapa 1.

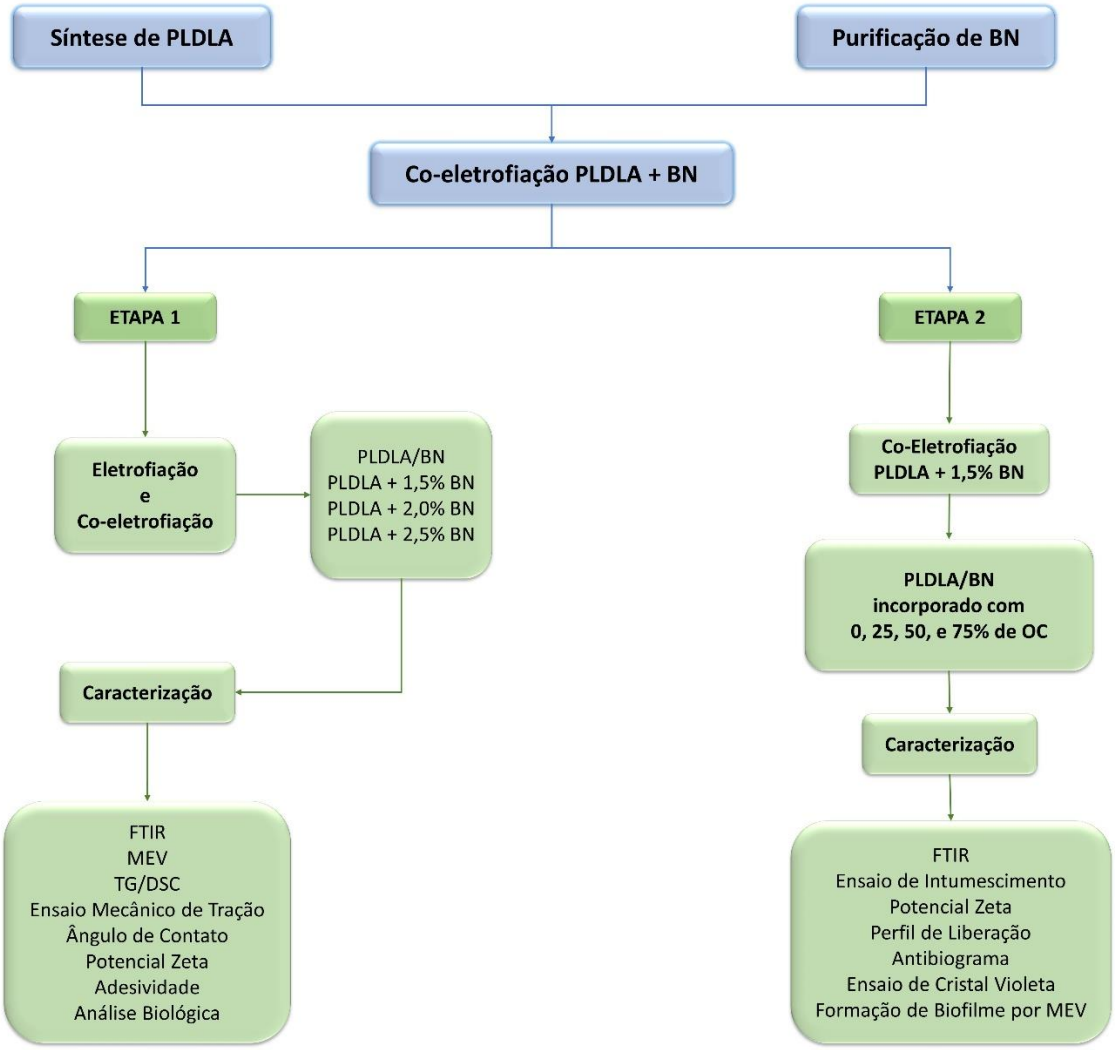

Figura 10. Fluxograma representativo das etapas do projeto.

3.2 Métodos

3.2.1 Síntese de PLDLA 70/30

O PLDLA foi sintetizado através da metodologia descrita na literatura por Motta e Duek (2007), na qual se empregou a copolimerização por abertura de anel dos monômeros L-ácido lático e D,L-ácido láctico na proporção 70/30, respectivamente. A relação entre monômero/catalisador empregado neste trabalho foi de aproximadamente 5000:1, para a formação de PLDLA de alta massa molar (Mw = 383.000 g/mol). Dessa forma, foram adicionados dentro de uma ampola de vidro, as massas pré-determinadas dos monômeros L-ácido láctico (114,13 g/mol) e D,L-ácido láctico (144,13 g/mol) (140 e 60 g, respectivamente) obtidos da Corbion Purac, juntamente com 62 μL do catalisador [$Sn(Oct)_2$] (95%) adquirido pela Sigma Aldrich. Posteriormente, a ampola foi selada sob vácuo e imersa em banho de óleo

a 130°C e submetida à agitação constante por 72 horas. Em seguida, o sistema foi resfriado e o PLDLA solubilizado em clorofórmio e precipitado em metanol, ambos solventes obtidos pela Synth (Brasil). O material resultante do processo de precipitação foi seco em um dessecador e em seguida em estufa a vácuo, a uma temperatura de 45°C por aproximadamente 8 horas.

3.2.2 Purificação da borracha natural

Inicialmente, a solução de BN, fornecida pela Fábrica de Artefatos de Látex São Roque Ltda/Brasil, foi neutralizada para um pH entre 7,0 e 7,8 por meio da adição de HCl 0,5 mol/L (Synth), de acordo com o procedimento descrito por Quevedo *et al.* (2023), uma vez que a BN é fornecida em solução de hidróxido de amônia com pH em torno de 10 a 11. Em seguida, a BN foi purificada através do processo de coagulação, no qual foi primeiramente solubilizado em clorofórmio e em seguida precipitado em metanol (1:2), ambos obtidos pela Synth (Brasil). Após a precipitação, o material obtido foi submetido à secagem em temperatura ambiente. Tal processo foi repetido, para garantir a total desproteinização e purificação do material.

3.2.3 Preparo das membranas por co-eletrofiação

Para a obtenção das membranas co-eletrofiadas foi utilizado, conforme a Figura 11, um sistema de equipamento da marca DBM Eletrotech, modelo EF 2B RT 0219. O equipamento é composto basicamente por duas bombas de infusão, uma fonte de alimentação de alta tensão da marca INERGIAE modelo API 50430 A com voltagem de entrada de 220 V e saída de 0-30 kV, corrente de 13 mA, potência de 400 W e um coletor rotativo.

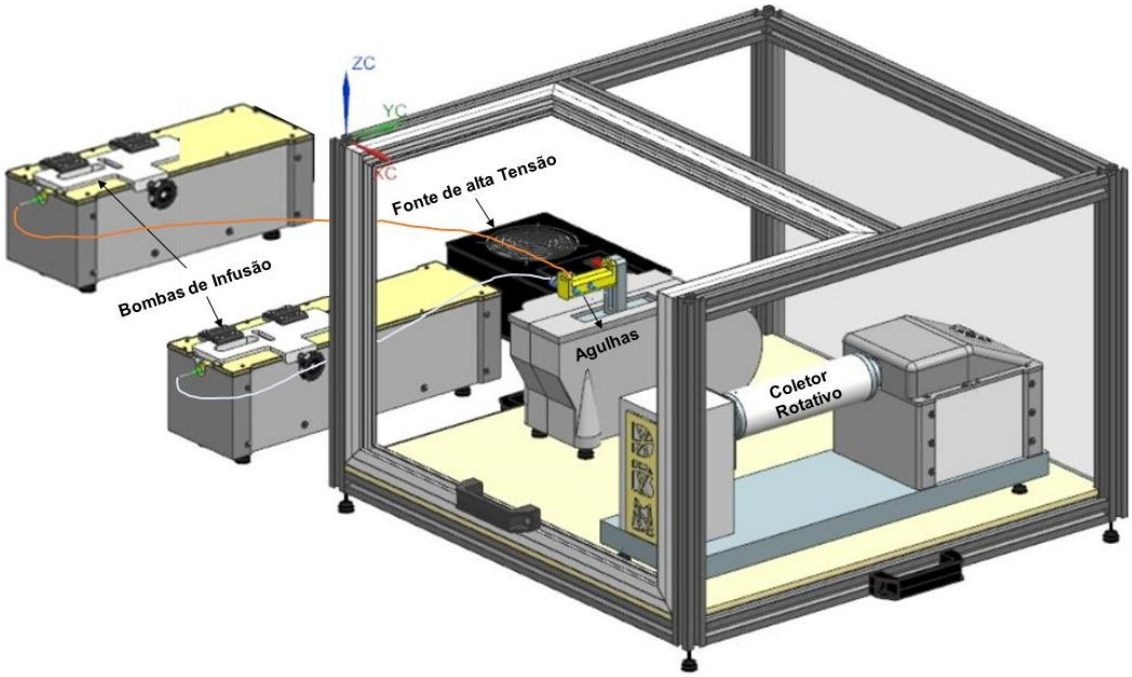

Figura 11. Sistema de eletrofiação utilizado para a produção das membranas co-eletrofiadas.

Primeiramente, foram realizados testes preliminares para determinar os parâmetros adequados de co-eletrofiação para a obtenção das membranas. Desta forma, preparou-se separadamente soluções contendo 10% de PLDLA e 1,5% 2,0 % e 2,5% de BN purificada, em 30 mL de clorofórmio, respectivamente. As soluções foram deixadas sob agitação constante por 24 horas, para completa solubilização e homogeneização. Em seguida, as soluções foram colocadas separadamente em seringas de 10 mL e acopladas em bombas de infusão que tinham por função, movimentar os êmbolos das seringas. As seringas foram conectadas, por meio de uma mangueira de silicone N 200 (3,0 x 5,0 mm) com aproximadamente 15 cm de comprimento da marca Perfitécnica, a uma agulha metálica da marca BD de 0,7 mm de diâmetro e 25 mm de comprimento. A mangueira foi conectada a agulha através de um Manifold. As soluções poliméricas foram então submetidas ao processo de eletrofiação simultaneamente (co-eletrofiação) sob parâmetros fixos de tensão elétrica de 15,31 kV e vazão de 0,1 mL/minuto. As fibras co-eletrofiadas foram depositadas sobre um coletor rotativo, composto por um cilindro giratório de alumínio (60 x 150 mm) acionado por um motor elétrico, com velocidade de 99 rpm. A distância das agulhas até o coletor foi de 13 cm. Dessa forma, a co-eletrofiação de ambas as soluções ocorreu simultaneamente através de movimentos de translação das agulhas. Ao finalizar o volume da primeira solução em cada seringa, as mesmas foram então preenchidas novamente com as distintas soluções e trocadas de posição na bomba de infusão e

assim, submetidas novamente ao processo de co-eletrofiação, configurando uma nova deposição das fibras na membrana fibrosa.

A sala no qual foi submetido o processo de co-eletrofiação teve a umidade controlada em 60% e temperatura de 22 °C (±2°C). O processo foi repetido, para a obtenção das demais membranas contendo PLDLA com diferentes concentrações de BN purificada. Foi preparado também uma membrana contendo apenas PLDLA sem a presença de BN purificada, para que a mesma pudesse ser comparada com as demais membranas co-eletrofiadas após as devidas análise propostas neste trabalho. Todas as membranas co-eletrofiadas de PLDLA/BN obtidas apresentaram características macroscópicas semelhantes e dimensões aproximadas, conforme ilustrado na Figura 12.

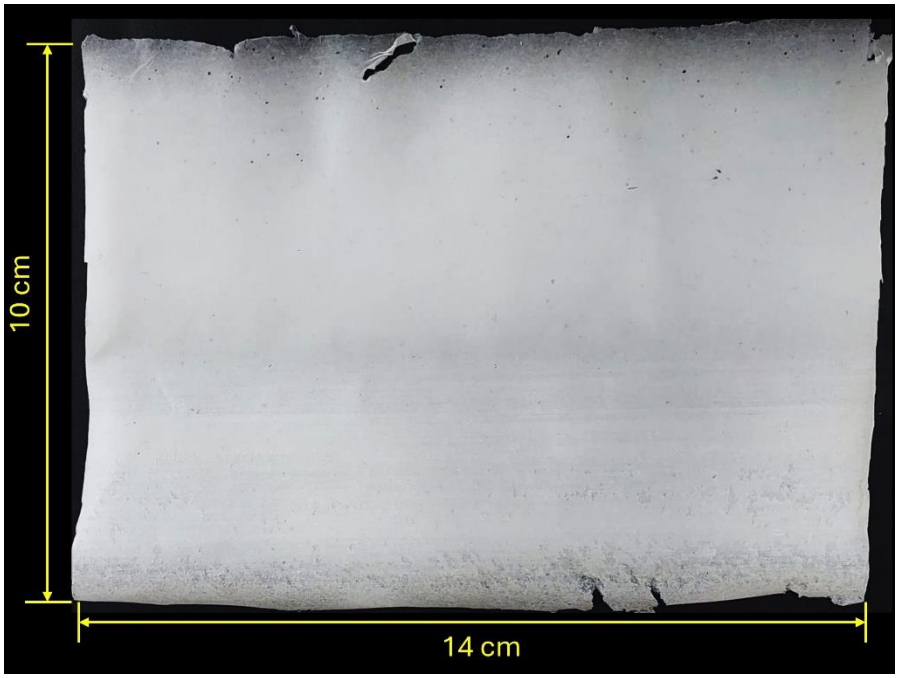

Figura 12. Característica macroscópica da membrana co-eletrofiada (PLDLA/BN).

3.2.4 Incorporação do óleo de copaíba

Inicialmente, foram preparadas soluções contendo três concentrações de OC (25%, 50% e 75%). As soluções de OC foram preparadas por meio da mistura de álcool etílico (70%) e Tween 20, na proporção de 1 mL para 100 µL, respectivamente. As diferentes concentrações de OC foram então adicionadas em toda a superfície da membrana fibrosa de PLDLA co-eletrofiada com 1,5% de BN, conforme ilustrado na Figura 13. Em seguida, as membranas fibrosas foram deixadas secar à temperatura ambiente por 48 horas e posteriormente submetidas às análises propostas nos capítulos subsequentes.

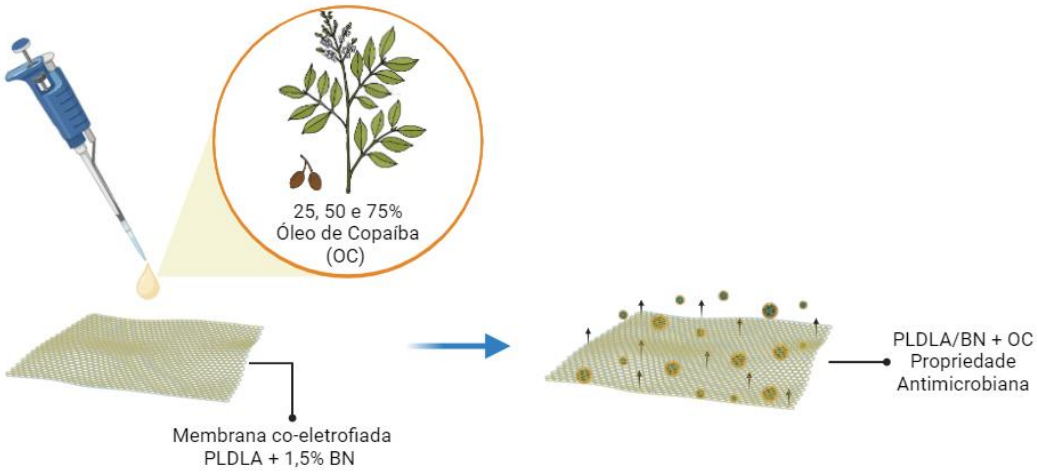

Figura 13. Esquema ilustrativo da incorporação de diferentes concentrações (25%, 50% e 75%) de óleo de copaíba (OC) na membrana co-eletrofiada (PLDLA + 1,5% BN) (Elaborado no Biorender).

3.3 Caracterização

3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A estrutura morfológica das amostras foi avaliada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) em equipamento JEOL, JSM-6010LA com parâmetro de tensão em 3 kV. As amostras foram previamente revestidas com ouro em sputter (Denton Vacuum). Os diâmetros das fibras foram medidos usando o software Image J. Os diâmetros de aproximadamente 50 fibras foram medidos em diferentes amostras.

3.3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise foi realizada em um espectrofotômetro de modelo Spectrum 65 (Perkin Elmer), em módulo de reflectância total atenuada (ATR), com número de onda na faixa de 4000 a 600 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans.

3.3.3 Termogravimetria (TG)

Para obtenção das análises termogravimétricas, utilizou-se o equipamento Discovery TGA 55 da marca TA Instruments com intervalo de temperatura de 25 a 500°C, sob atmosfera dinâmica de gás nitrogênio com fluxo de 40 mL/min, com taxa de aquecimento de 10°C/min. Foram utilizados aproximadamente 8 mg de cada amostra que foram depositadas em cadinho de platina para posterior análise.

3.3.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de DSC foi realizada em equipamento Discovery DSC 25 da 47 marca TA Instruments, sob atmosfera dinâmica de gás nitrogênio com vazão de 250 mL/min, com taxa de aquecimento de 10°C/min. Para a análise, foi adotado uma massa padrão de aproximadamente 6,0 mg para cada amostra, que foram depositadas em panela de alumínio e submetidas a um aquecimento de 25°C até 150°C, seguida por uma isoterma de 1 minuto, com posterior resfriamento até -80°C, com uma taxa de resfriamento de 10°C/min., isoterma de 1 minuto e novamente submetida a aquecimento até 300°C com taxa de aquecimento de 10°C/min.

3.3.5 Ensaio mecânico de tração

As propriedades mecânicas das membranas co-eletrofiadas foram analisadas através do ensaio de tração, o qual foi possível verificar a influência das diferentes concentrações de BN purificada na membrana eletrofiada de PLDLA. O ensaio foi realizado em triplicata, através da utilização da norma ASTM D882, no qual amostras retangulares (comprimento 55 mm, largura de 5 mm e espessura média de 0,15 mm) foram testados em um equipamento de ensaio mecânico Intron EMIC 23-30 com célula de carga de 500 N, distância entre garras de 20 mm e taxa de deslocamento de 5 mm/min até a falha de ruptura. O ensaio foi realizado em temperatura ambiente (25°C), conforme estabelecido pela norma.

3.3.6 Ângulo de contato

A hidrofilicidade/hidrofobicidade das amostras co-eletrofiadas foram medidas através dos ângulos de contato. Utilizando um goniômetro Rammé-Hart 100-00 e o software DROPimage Standard, cerca de 10 µL de água deionizada (líquido polar) foi cuidadosamente depositado na superfície do material. Uma série de imagens das gotículas foram tiradas automaticamente. As medições foram realizadas em triplicata, e o ângulo de contato foi determinado a partir da média de dez valores obtidos das imagens de cada análise.

3.3.7 Ensaio de intumescimento

As amostras foram cortadas em pequenos pedaços de aproximadamente 2 cm^2, pesadas e imersas em 10 mL de solução tampão de fosfato-salino (PBS) a 0,01 M e mantidas em banho termostático a uma temperatura de 37°C (±1°C). O ensaio foi realizado em triplicata. As

amostras foram retiradas em intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, posteriormente foram pesadas de hora em hora até o tempo de 4 horas e depois a cada 24 h. Antes da pesagem, as amostras foram suavemente secas com papel filtro para remover o excesso de líquido na superfície. A porcentagem de Intumescimento (%) de cada amostra foi calculada usando a Equação 1:

$$Intumescimento\ (\%) = \left(\frac{W2 - W1}{W1}\right)\ x\ 100 \qquad (1)$$

Onde W_1 e W_2 são as massas das amostras antes e depois da imersão em PBS, respectivamente.

3.3.8 Potencial zeta

As medições do potencial zeta foram realizadas em um analisador eletrocinético (SurPASS, Anton Paar). O potencial zeta de superfície foi determinado em função do pH em uma solução eletrolítica de KCl 0,001 M variando o pH da solução por adição de HCl 0,05 M ou NaOH 0,05 M através da unidade de titulação automática do instrumento. As medições foram realizadas usando um porta amostra de superfície plana com gap ajustável. Um par de cada amostra com tamanho de 20 mm × 10 mm foi montado no porta amostra usando fita adesiva dupla-face. A distância entre as superfícies da amostra foi ajustada para 100 μm (±10 μm). Antes das medições, as amostras foram equilibradas em pH neutro com várias etapas de enxague e, em seguida, o pH foi ajustado para 3, onde foi realizada uma varredura de pH com variação de 0,5 por ciclo até atingir o pH 9. O pH e a condutividade do eletrólito foi monitorado por meio de sondas de pH e condutividade, e todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente.

3.3.9 Propriedades mucoadesivas

As propriedades mucoadesivas foram avaliadas utilizando um analisador de textura Stable Micro Systems (Modelo TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Reino Unido, Extralab, Brasil) no modo de análise de perfil de textura (TPA). Os resultados foram registrados pelo software Exponent Texture Analysis. Discos de mucina foram preparados para compressão (Lemaq, Mini Express LM-D8, Diadema, Brasil) utilizando punções planas, matriz cilíndrica com diâmetro de 10 mm e carga de compressão de 8 toneladas. Os discos de mucina tinham diâmetro de 10 mm e espessura de 0,2 mm e foram previamente hidratados e fixados na

extremidade inferior da sonda analítica. As amostras foram transferidas para um béquer de vidro e mantidas a 36°C (±1 °C).

O disco de mucina fixado na sonda foi comprimido na superfície da amostra, no sentido apical→basal. O tempo de contato entre o disco de mucina e a amostra foi de 180 s, estipulado como o tempo de contato íntimo do disco de mucina com a amostra. A sonda foi removida da superfície da amostra com uma velocidade constante de 0,5 $mm.s^{-1}$. A força necessária para separar o disco de mucina da superfície de cada amostra foi determinada a partir da razão tempo (s) × força (g). As análises foram realizadas em triplicata.

3.3.10 Ensaio de liberação do óleo de copaíba (UV-Vís)

Para avaliar e quantificar o perfil de liberação *in vitro*, amostras de 1 cm^2 de membranas eletrofiadas incorporadas diretamente com 25%, 50% e 75% de óleo de copaíba (OC) foram imersas em 6 mL de solução de álcool etílico (70%) e Tween 20, seguida de incubação a 37°C (±1°C). Alíquotas (3 mL) foram coletadas e substituídas pelo mesmo volume em um intervalo de tempo de 0 a 376 horas. A liberação do OC foi realizada em espectrofotômetro UV (Fento Cirrus 80) com comprimento de onda de 264 nm. A quantidade de OC liberada foi calculada a partir de uma curva padrão contendo determinadas concentrações de OC.

A cinética de liberação de OC foi avaliada por meio dos modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Primeira Ordem e Ordem Zero. O modelo matemático de Korsmeyer-Peppas foi aplicado conforme a Equação 2 (Scaffaro *et al.,* 2017).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \qquad (2)$$

Onde M_t = quantidade de OC liberados em um tempo arbitrário t; M_∞= quantidade de OC adicionado inicialmente à amostra co-eletrofiada; k = é a constante de taxa de liberação, e n indica o expoente de liberação, sugerindo a natureza do mecanismo de liberação.

O modelo matemático de Higuchi é apresentado pela Equação 3 (López-Muñoz *et al.*, 2022):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{0,5} \qquad (3)$$

Onde k representa a constante de dissolução no modelo de Higuchi. M_t é a quantidade de OC liberada em um tempo arbitrário (t) de liberação. M_∞ é a quantidade inicial de OC adicionada ao material co-eletrofiado.

O modelo matemático de Ordem Zero é apresentado na Equação 4 (Shen *et al*., 2020).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_0 t \qquad (4)$$

Onde k_0 é a constante de liberação no modelo de Ordem Zero. M_t é a quantidade de OC liberada em um tempo (t) de liberação em equilíbrio. M_∞ é a quantidade inicial de OC adicionada ao material co-eletrofiado.

O modelo matemático de Primeira Ordem é apresentado na Equação 5 (Shen *et al*., 2020).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-k1t} \qquad (5)$$

Onde k_1 representa a constante de liberação do modelo de primeira ordem. M_t e M_∞ representam a quantidade de OC liberado em um tempo (t) de equilíbrio e a quantidade inicial de OC adicionado ao material co-eletrofiado, respectivamente.

3.3.11 Ensaio microbiológico

3.3.11.1 Preparação da bactéria

As cepas padrão de *S. aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 1122) foram utilizadas como referência para o ensaio de antibiograma e para a formação de biofilme. As cepas foram mantidas e cultivadas conforme descrito por Malhotra *et al*. (2019). O ensaio de biofilme foi analisado por meio de MEV e a análise de cristal violeta foi adaptado de Lencova *et al.* (2021).

3.3.11.2 Antibiograma

Para o ensaio de antibiograma, a membrana composta por PLDLA e BN co-eletrofiada, foi cortada em dimensão de 5 mm de diâmetro. Posteriormente, foram adicionados 15 µL de diferentes concentrações (25%, 50% e 75%) de OC, sobre a membrana cortada. Foram utilizados como controle negativo a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada e a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição da solução de álcool etílico (70%) com Tween 20, que foi utilizado como meio para a diluição do OC. A Doxiciclina (DOX) foi utilizada como controle antibiótico (membrana PLDLA/BN com doxiciclina). As amostras foram secas à

temperatura ambiente por 48 horas e esterilizadas em luz ultravioleta germicida. Todas as amostras foram colocadas em duplicata em uma placa onde foram semeadas as bactérias *S. aureus* e *E. coli.* As amostras permaneceram em cultura por 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C. Após o tempo de cultivo, foram feitas imagens macroscópicas dos halos de inibição. O ensaio de antibiograma para cada grupo de amostras foi realizado em triplicata.

3.3.11.3 Formação de biofilme analisada por MEV

As amostras foram cortadas com $1cm^2$ e processadas conforme descrito no item "3.4.11.2 Antibiograma". Para controle negativo foi utilizada a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada sem a adição de OC. As bactérias *S. aureus* e *E. coli* foram semeadas em todas as amostras contendo 3 mL de meio Brain Heart Infusion (BHI) (Sigma©) na concentração de $1,5x10^3$ UFC/mL e cultivadas por 24 horas em estufa a 37 °C. Após o tempo estipulado, as amostras foram lavadas com PBS estéril (Sigma©) e fixadas em solução de paraformaldeído (PFA) (Sigma©) 4% (p/v) por 2 horas. Ao final desse tempo, as amostras foram retiradas e lavadas 3 vezes com PBS estéril. Em seguida, as amostras foram submetidas a um banho de etanol nas porcentagens 30, 50, 70, 90 e 100% (duas vezes em etanol 100%) (Labsynth©). Para cada porcentagem, as amostras permaneceram no banho por 30 minutos. Após esse processamento, as amostras foram colocadas em solução de hexametildissilazano (HMSD) (Sigma©) e álcool (100%) na proporção de 1:1 por 10 minutos. Após esse tempo, as amostras foram colocadas na solução de HMSD puro, permanecendo por 10 minutos e secas em temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram cobertas por uma fina camada de paládio/ouro (30 mA, 60 s) e analisadas por microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6010LA). As imagens foram geradas pelo próprio software do equipamento.

3.3.11.4 Formação de biofilme por ensaio de cristal violeta

Para a realização do ensaio do cristal violeta, as amostras foram submetidas à formação de biofilme na presença da bactéria *S. aureus*. As amostras foram preparadas conforme descrito no item "3.4.11.3 Formação de Biofilme Analisada por MEV" até 24 horas de cultivo. Após esse período, as amostras foram transferidas para uma nova placa e lavadas 5 vezes com água destilada estéril. A secagem em temperatura ambiente foi feita por 45 minutos e após isso, as amostras foram coradas com solução aquosa de cristal violeta 0,1% (Exodus Scientific) e deixadas agir por 45 minutos. As amostras foram novamente lavadas com água destilada estéril

e incubadas com 200 µL de etanol 96% (v/v) por 15 minutos em temperatura ambiente. Após o período estipulado, o álcool foi ressuspenso e transferido 100 µL para uma placa de 96 poços para leitura da absorbância no comprimento de onda de 595 nm em leitor de microplacas. A cultura bacteriana foi feita diretamente na membrana de PLDLA/BN eletrofiada sem a adição do OC (amostra controle, 0% OC). Os valores de absorbância foram transformados em valores percentuais através da Equação 6:

$$Crescimento\ de\ Biofilme\ \ (\%)\ =\ (\frac{Biofilme\ com\ OC}{Biofilme\ sem\ OC})\ x\ 100\% \qquad (6)$$

As amostras (triplicata) foram comparadas entre os grupos pela ANOVA one-way com teste post-hoc de comparações múltiplas de Tukey.

3.3.12 Ensaio de viabilidade e proliferação celular

O ensaio foi conduzido seguindo as normas internacionais de citotoxicidade e interação célula-biomaterial (ASTM F813-20; ISO 10993-5 (E); ISO 10993-12 (E)). A cultura de células Vero (células epiteliais renais extraídas do macaco verde africano) foi adquirida comercialmente (Banco de Células do Rio de Janeiro - código 0245, Rio de Janeiro, Brasil) e mantidos em frascos de cultura de 75 cm² até a confluência. Após confluência/alta densidade nos frascos, as células foram transferidas para placas de cultura celular de 96 poços a uma concentração de $1x10^6$ células/mL, utilizando 200 µL de suspensão celular. As culturas foram então incubadas num ambiente a 37°C e 5% de CO_2 durante 24 e 72 horas.

O ensaio de redução do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) foi realizado após períodos de tempo pré-estabelecidos. O meio de cultura celular foi removido e as células foram incubadas a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO_2 e 95% de ar com 150 µL de MTT a uma concentração de 1 mg/mL em meio de cultura fresco. Após 1h30 de incubação, o meio de cultura foi removido e os cristais de formazan formados foram dissolvidos em solução de dimetilsulfóxido (DMSO). A quantidade de formazan presente foi então medida a uma absorbância de 550 nm utilizando um leitor de placas (Elx-800, Biotek©). Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o software GraphPad (Prism 10.0.2, EUA). As comparações estatísticas entre diferentes momentos foram feitas utilizando ANOVA com pós-teste de Tukey. Foi utilizado intervalo de confiança de 95 % e considerado nível de significância de $p < 0,05$ (*).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este capítulo está subdivido em dois subcapítulos atribuídos às distintas etapas deste projeto, envolvendo os resultados e a discussão obtidos em todos os experimentos realizados. Os resultados obtidos através da ***Etapa 1****, define a melhor formulação dos materiais co-eletrofiados, as quais conduziram à escolha de PLDLA+1,5% BN. A* ***Etapa 2,*** *por sua vez, apresenta os resultados referentes à incorporação de diferentes concentrações de OC (25%, 50% e 75%) sobre a manta co-eletrofiada PLDLA+ 1,5 % BN definida na Etapa 1. Para a Etapa 2, a membrana composta por PLDLA + 1,5% BN será denominada (PLDLA/BN). Os ensaios avaliaram o comportamento e os efeitos bacteriostático e antibacteriano do OC em contato com a membrana co-eletrofiada. Sendo assim, os resultados obtidos na Etapa 1 foram publicados na revista "Journal of Applied Polymer Science" (Apêndice A) enquanto os resultados apresentados na Etapa 2 foram publicados na revista "Antibiotics" (Apêndice B).*

4.1 ETAPA 1

4.1.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho do látex de borracha natural sem purificação (LBN) e após o processo de purificação (BN) pela técnica de re-precipitação são exibidos na Figura 14.

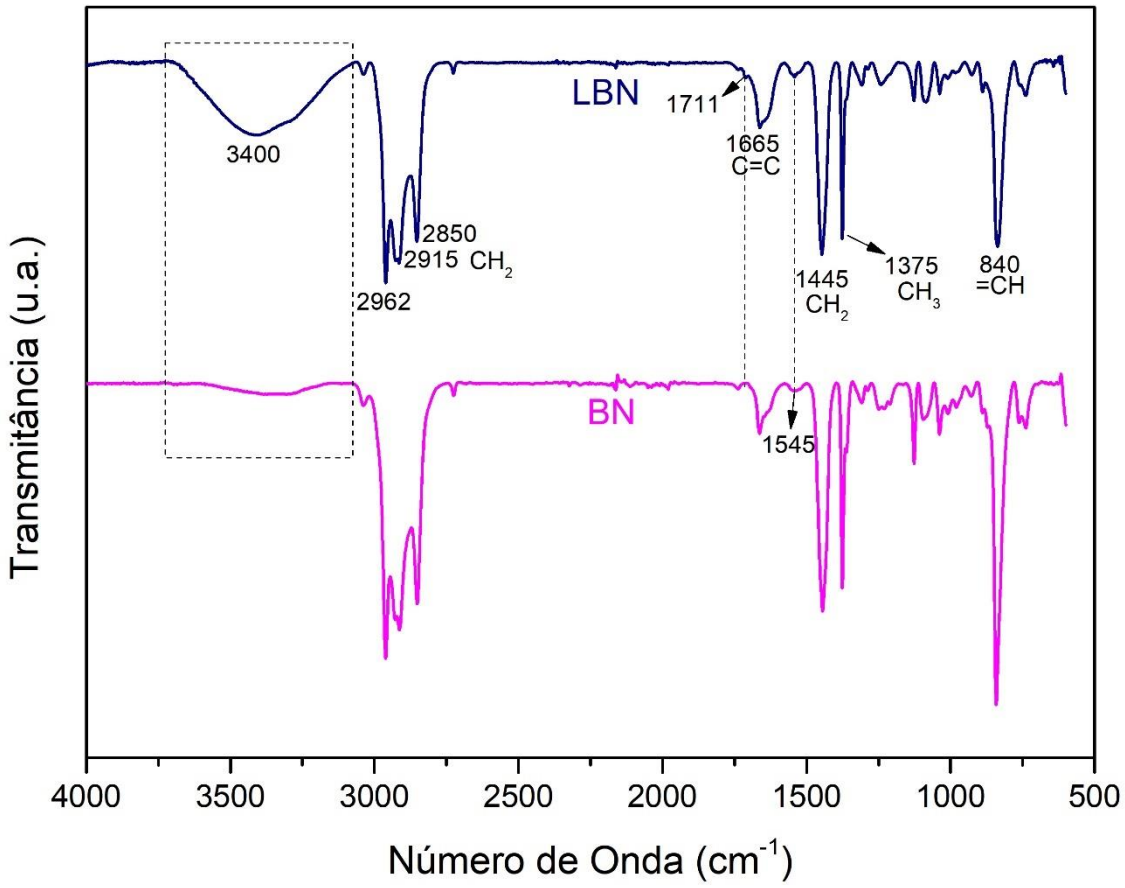

Figura 14. Espectros de FTIR de látex de borracha natural sem purificar (LBN) e látex de borracha natural após o processo de purificação (BN).

O espectro de FTIR do látex de borracha natural sem purificar (LBN) exibiu as principais bandas características do poli(*cis*-1,4-isopreno) em 2962, 2915 e 2850 cm^{-1} atribuídos a estiramento assimétrico e simétrico -CH_3 e -CH_2, 1665 cm^{-1} à estiramento C=C, 1445 e 1375 cm^{-1} a deformação -CH_2 e -CH_3 e em 840 cm^{-1} associado a vibração de flexão fora do plano =CH de *cis*-1,4 respectivamente (Quevedo *et al*., 2023; Andrade *et al.*, 2022; Barros *et al.*, 2021; Guerra *et al.*, 2018). Além das principais bandas associados à estrutura isoprênica, o espectro de LBN também exibiu o aparecimento de bandas associadas a presença de proteínas e lipídios. Assim, a banda larga observada em 3400 cm^{-1} e a de pequena intensidade em 1545 cm^{-1}, foram atribuídas a estiramento N-H de amina e amida secundária presente nas proteínas (Cifriadi; Chalid; Puspitasari, 2017; Mekonnen *et al.*, 2019; Pongsathit; Pattamaprom, 2018; Tahir; Misran, 2019). Enquanto a banda em 1711 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento carbonil C=O do grupo carboxila COO^- de ácidos graxos (Rolere *et al*., 2015). Em comparação ao LBN, o espectro do látex de borracha purificado (BN) também exibiu as principais bandas características do poli(*cis*-1,4-isopopreno). Porém foi observado uma diminuição significativa da intensidade, bem como o desaparecimento das bandas atribuídas à presença de proteínas

(3400 e 1545 cm^{-1}) e lipídeos (1711 cm^{-1}) presentes na estrutura coloidal do elastômero. Dessa forma, a ausência de tais grupos químicos, mostra que o processo de purificação foi efetivo para a desproteinização de BN.

Os espectros de infravermelho de PLDLA, látex de borracha natural purificado (BN) e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações (1,5%, 2,0% e 2,5%) de BN, são apresentados na Figura 15.

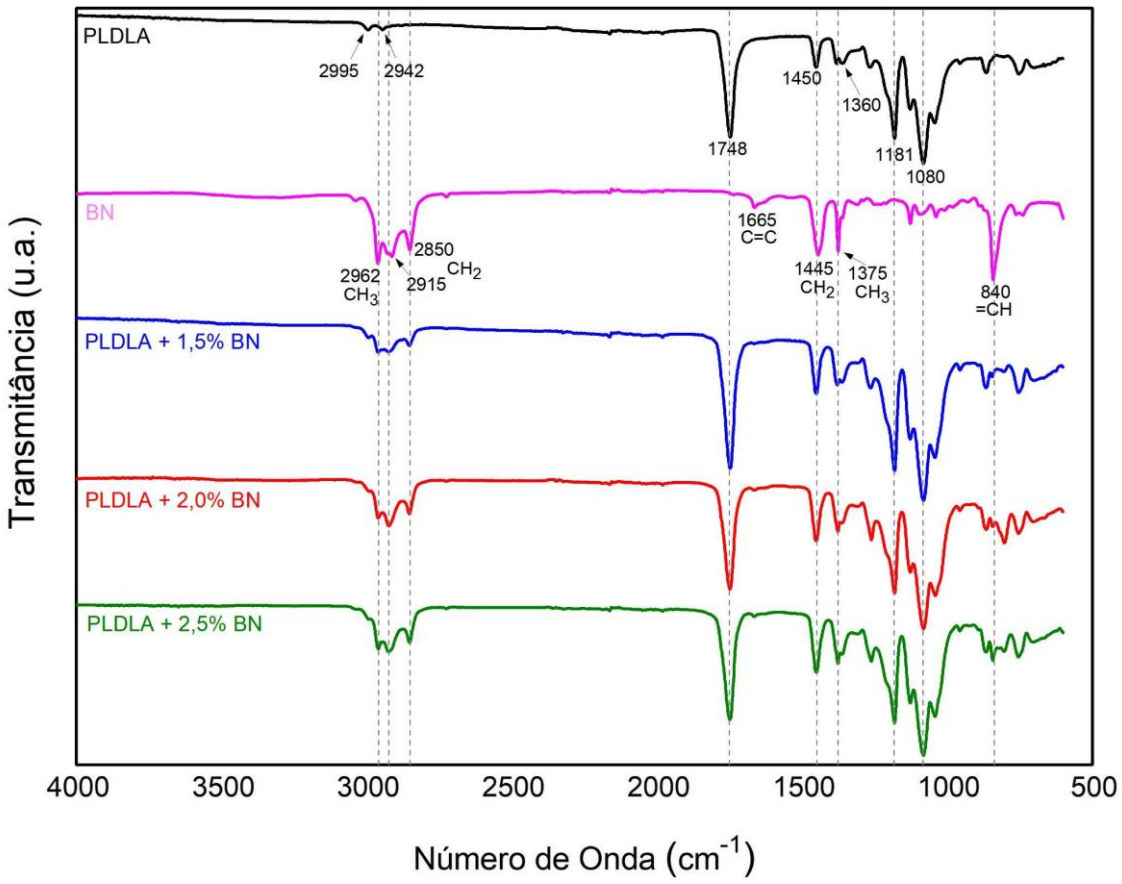

Figura 15. Espectro de FTIR de PLDLA eletrofiado, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%).

O espectro de PLDLA apresentou bandas em 2995 e 2942 cm^{-1} atribuídas à deformação axial simétrica CH_2 e assimétrica CH_3, 1748 cm^{-1} à deformação axial do grupo carbonila C=O de poliésteres. Em 1450 e 1360 cm^{-1} observou-se bandas referentes à deformação angular dos hidrocarbonetos presentes no grupo CH_3, enquanto em 1181 cm^{-1} foram associadas à estiramento axial e simétrico C-C e 1080 cm^{-1} a grupos =C-O presente no polilactídeo (Leal *et al.*, 2019). Conforme relatado anteriormente (Figura 14), o espectro de BN exibiu as principais bandas características de poli(*cis*-1,4-isopreno) sem o aparecimento de novas bandas associadas à presença de proteínas e lipídios.

Concomitantemente, não foram observados a formação de novas bandas nos espectros de PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN. Nota-se que houve apenas uma somatória das principais bandas características de ambos os polímeros, evidenciando assim a presença de BN nas membranas eletrofiadas. Resultado semelhante foi observado por Andrade *et al.* (2022), em seu estudo referente à eletrofiação de BN e PVP, no qual apenas as principais bandas característica de BN e PVP foram observadas no espectro de FTIR, indicando apenas uma mistura física entre ambos, corroborando com os resultados obtidos para as amostras co-eletrofiadas (PLDLA + BN).

4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV das fibras de PLDLA e do mesmo co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%), são apresentados na Figura 16 com ampliação de 1000 e 1500x, assim como os respectivos gráficos da frequência de diâmetros das fibras para cada amostra.

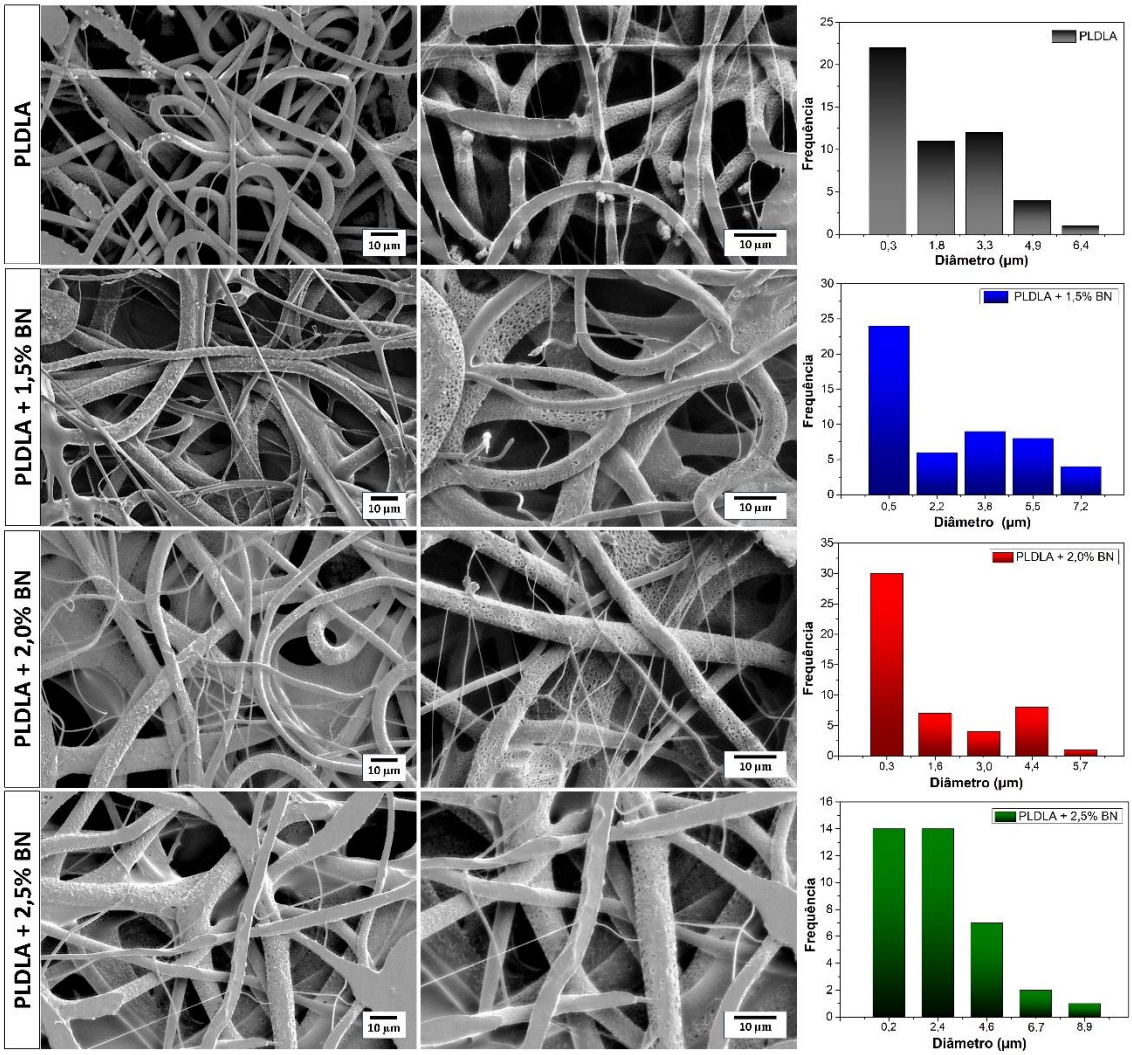

Figura 16. Micrografias (MEV) em dois níveis de ampliação (1000 e 1500x) para as fibras eletrofiadas de PLDLA e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%), com histogramas da variação do diâmetro. Barra: 10 µm.

Verifica-se que a amostra de PLDLA apresentou uma variação do diâmetro de fibra, com predominância de 0,3 µm à 4,9 µm. Concomitantemente, as amostras de PLDLA co-eletrofiadas com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN apresentaram a maior frequência de distribuição do diâmetro das fibras em torno de 0,5 µm, 0,3 µm e 0,2 µm, respectivamente. Os valores de diâmetro da fibra obtidos corroboram com os resultados apresentados por Costa, Mattoso e Ferreira (2013), que demonstraram que a eletrofiação de BN com policaprolactona (PCL) resultou em um diâmetro de fibra em torno de 0,21 µm. Entretanto, a amostra contendo a maior concentração de BN (PLDLA + 2,5% BN), também exibiu uma maior frequência de distribuição dos diâmetros das fibras em 2,4 µm. Estudos de Panichpakdee *et al.* (2019) indicam que o aumento gradual de BN em solução de PVA, faz com que ocorra um aumento no diâmetro das fibras eletrofiadas. Segundo os autores, esse aumento pode estar associado à diferença de

polímeros e solventes utilizados no processo de eletrofiação, bem como à viscosidade, condutividade e tensão superficial da solução.

Todas as amostras analisadas apresentaram uma morfologia com predominância de poros na superfície da fibra, sem presença de defeitos associados à formação de *beads*. A porosidade das fibras pode estar relacionada à taxa de evaporação do solvente ou à presença de umidade durante o processamento da membrana (Carazzai *et al.,* 2021). A existência de poros proporciona uma área superficial maior às fibras, o que é interessante para aplicações biomédicas que envolvem o contexto biológico, pois sua presença pode auxiliar na adesão, migração e proliferação celular (Muniyandi *et al.*, 2020; Santos *et al.,* 2020). A porosidade observada nas fibras co-eletrofiadas também permite uma troca eficiente de oxigênio e nutrientes entre o local lesionado e o ambiente externo (Cosme *et al*., 2016). Além disso, a orientação aleatória das fibras proporciona um ambiente propício para o reparo de tecidos dispostos de forma desorganizada, conforme aponta Andrade *et al.* (2022) em seus estudos envolvendo a eletrofiação de BN e PVP. A orientação aleatória das fibras favorece a sua aplicação no processo de reparo ósseo, de cartilagem e pele, contribuindo com o objetivo do presente estudo.

4.1.3 Termogravimetria (TG)

As amostras de PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN foram submetidas à análise de Termogravimetria (TG), com a finalidade de avaliar a estabilidade térmica das membranas co-eletrofiadas. Deste modo, a Figura 17 A e B exibem as curvas de TG e de sua derivada DTG.

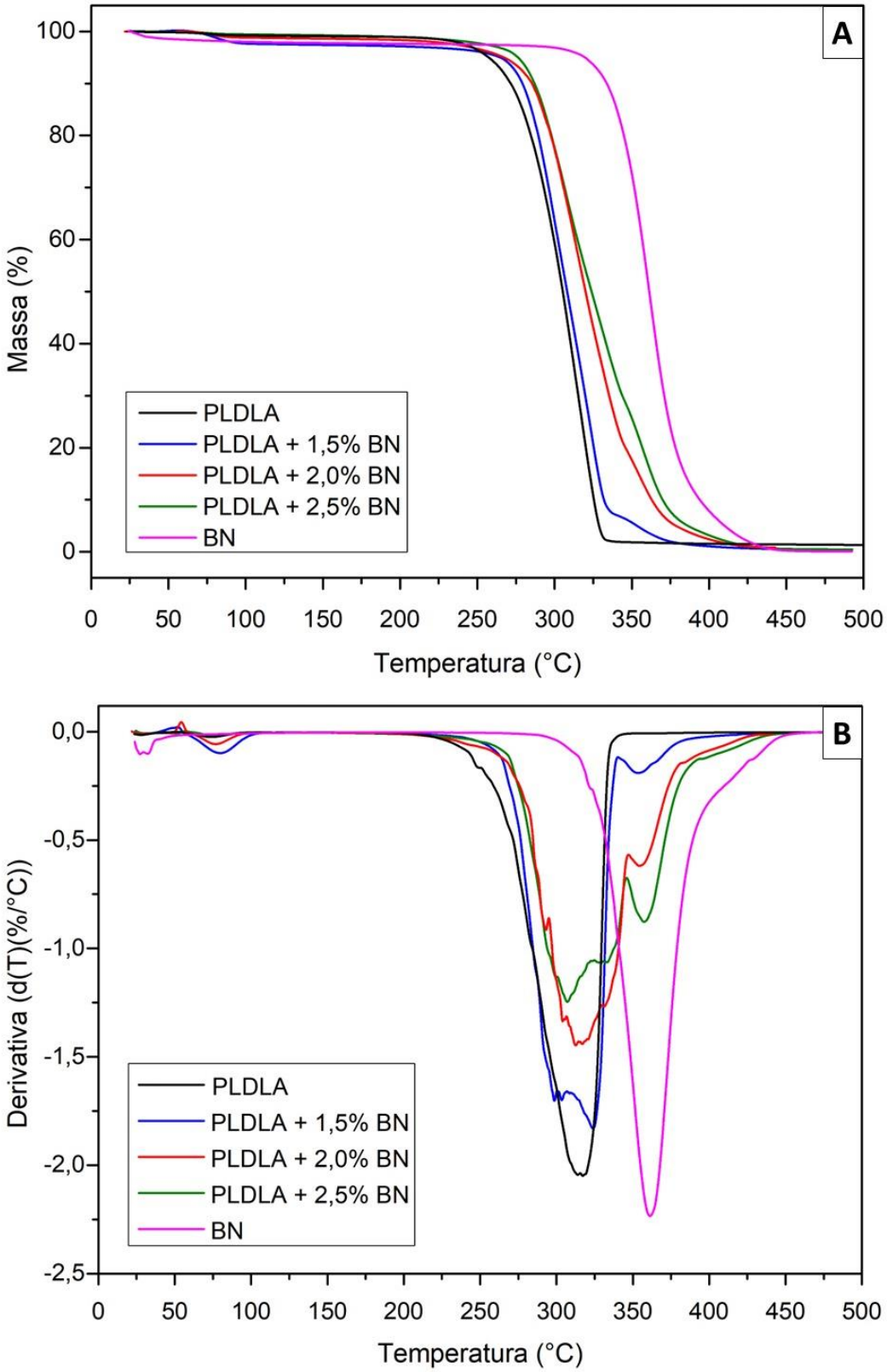

Figura 17. Curva de **(A)** TG e **(B)** DTG do PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5% 2,0% e 2,5%).

Ambos os polímeros eletrofiados separadamente sofreram decomposição térmica em uma única etapa. Verificou-se que o PLDLA apresentou temperatura de início (T_{onset}) e término (T_{endset}) de perda de massa em 266°C e 329°C, respectivamente. Enquanto a sua temperatura máxima de decomposição (T_{max}) ocorreu em 315°C, o qual foi atribuído à degradação do material (Leal *et al.*, 2019). Semelhante aos resultados obtidos por Costa, Mattoso e Ferreira (2013), a BN apresentou sua decomposição térmica entre 336°C e 384°C, com T_{max} em 361°C. Sendo assim, BN apresentou ser mais estável termicamente do que o PLDLA. Os resultados obtidos da degradação térmica de ambos os constituintes co-eletrofiados estão melhor representados na Tabela 5.

Tabela 5. Propriedades térmicas determinadas por TG e DTG das amostras de PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%).

Amostra	Eventos	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	T_{max} (°C)	Perda de Massa (%)
PLDLA	1	266	329	315	98
PLDLA + 1,5% BN	1	64	91	79	2
	2	279	300	298	33
		302	329	324	41
	3	331	369	353	9
PLDLA + 2,0% BN	1	72	89	76	1
	2	282	302	293	22
		308	329	313	39
	3	339	371	355	20
PLDLA + 2,5% BN	1	73	87	76	1
	2	282	308	305	29
		312	335	332	24
	3	336	372	357	34
BN	1	336	384	361	100

As amostras compostas por PLDLA co-eletrofiada com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%), exibiram três eventos principais de perda de massa. O primeiro evento, T_{max} em aproximadamente 79°C, foi associado à evaporação de moléculas de água presentes nas amostras. Em contrapartida, o segundo estágio acentuado de perda de massa apresentado pela TG (Figura 17A) ocorreu entre 279°C e 335°C e foi atribuído à decomposição térmica do PLDLA. Porém, a DTG (Figura 17B) exibiu três estágios consecutivos de decomposição dentro desta faixa de temperatura para as membranas co-eletrofiadas por PLDLA com 1,5% e 2,5% de BN e quatro estágios para a membrana contendo 2,0% de BN. Destas, as T_{max} foram mais nítidas em 298°C e 324°C para a membrana co-eletrofiada contendo 1,5% de BN, 293°C e 313°C para a membrana com 2,0% de BN e 305°C e 332°C para 2,5% de BN. Assim, a cinética de degradação pode ter sido influenciada pela geometria e tamanho do dispositivo, composição química, solubilidade e difusão dos monômeros, como também pela polaridade dos constituintes presentes no material (Duarte; Duek; Motta, 2014).

O aparecimento de um terceiro evento de perda de massa entre aproximadamente 330°C e 372°C, evidenciou a decomposição térmica de BN presente na membrana co-eletrofiada. O resultado obtido indica que as propriedades térmicas dos polímeros individuais permaneceram inalteradas após o processo de co-eletrofiação. Entretanto, verificou-se que o evento atribuído a decomposição do PLDLA apresentou um ligeiro deslocamento da T_{onset} para temperaturas mais elevadas após a co-eletrofiação com BN. Enquanto o evento atribuído a T_{max} de BN foi deslocado ligeiramente para temperaturas menores. Conforme aponta Costa; Mattoso e Ferreira (2013), tal comportamento indica uma fraca interação entre ambos os polímeros co-eletrofiados.

4.1.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

O comportamento térmico das membranas também foi analisado por DSC, que permitiu investigar a miscibilidade dos polímeros co-eletrofiados. Deste modo, a Figura 18 apresenta a segunda taxa de aquecimento das amostras de PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN.

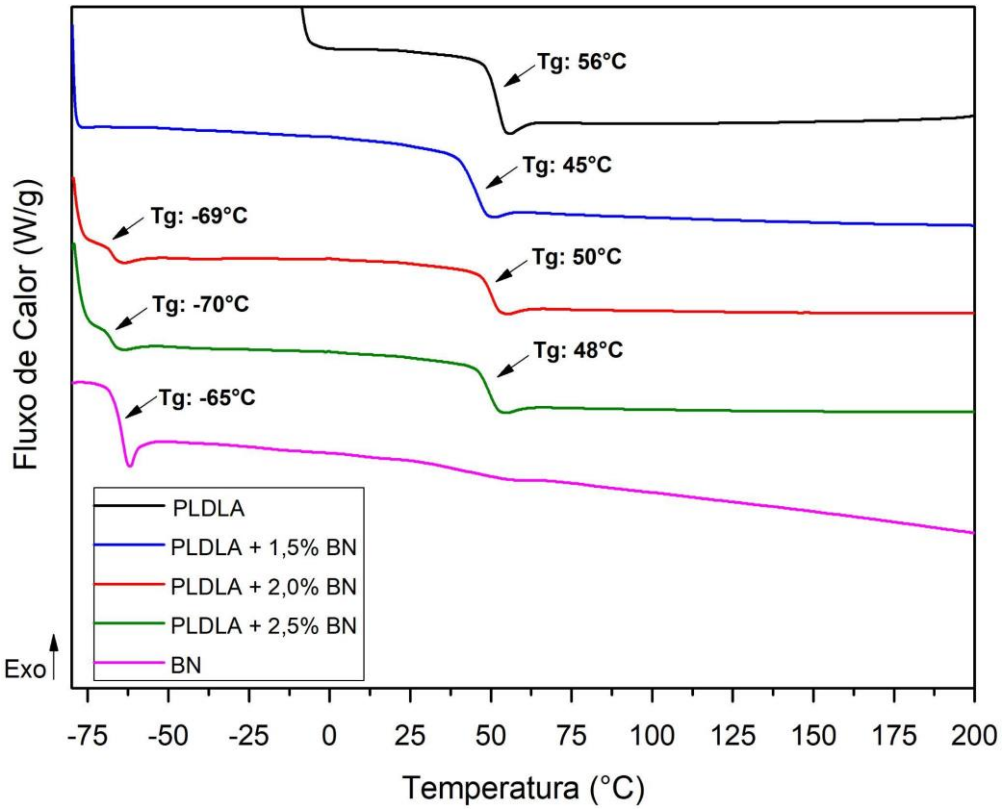

Figura 18. DSC das amostras de PLDLA, BN e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%).

As curvas obtidas através da análise de DSC mostraram que os polímeros individuais apresentaram apenas temperatura de transição vítrea (T_g), que os define como polímeros completamente amorfos. Sendo assim, o PLDLA apresentou T_g em 56°C, valor próximo ao descrito por Motta e Duek (2007) (58°C), enquanto BN apresentou T_g em -65°C, corroborando com o resultado de Guerra *et al.* (2018). Observou-se também uma aparente transição endotérmica ao final da T_g de BN, o que de acordo com Canevarolo Jr. (2017) se deve a uma maior relaxação e flexibilidade da cadeia elastomérica.

Concomitantemente, a amostra referente a PLDLA + 1,5% BN, apresentou uma única T_g em 45°C, indicando uma possível interação e miscibilidade entre as cadeias poliméricas eletrofiadas nessa proporção. De acordo com Guerra *et al.* (2018), a interação completa entre as cadeias poliméricas resulta em um único deslocamento de T_g, o que corrobora com o resultado obtido. Por outro lado, as membranas compostas por PLDLA co-eletrofiada com 2,0% e 2,5% de BN apresentaram dois valores distintos de T_g, que se originam dos dois polímeros presentes na membrana eletrofiada. Deste modo, as referidas amostras tiveram um deslocamento discreto da T_g para temperaturas encontradas para os polímeros individuais, indicando que os materiais são parcialmente miscíveis, corroborando com os resultados obtidos na análise térmica de TG (Guerra *et al.*, 2018; Marques *et al.*, 2016; Nara; Oyama, 2014).

4.1.5 Ensaio mecânico de tração

O ensaio mecânico de resistência à tração foi realizado no intuito de avaliar as mudanças no comportamento mecânico das membranas de PLDLA após serem submetidas à co-eletrofiação com diferentes concentrações de látex de borracha natural purificado (BN) (1,5%, 2,0% e 2,5%). A Figura 19 apresenta as curvas típicas de tensão *versus* deformação das membranas eletrofiadas.

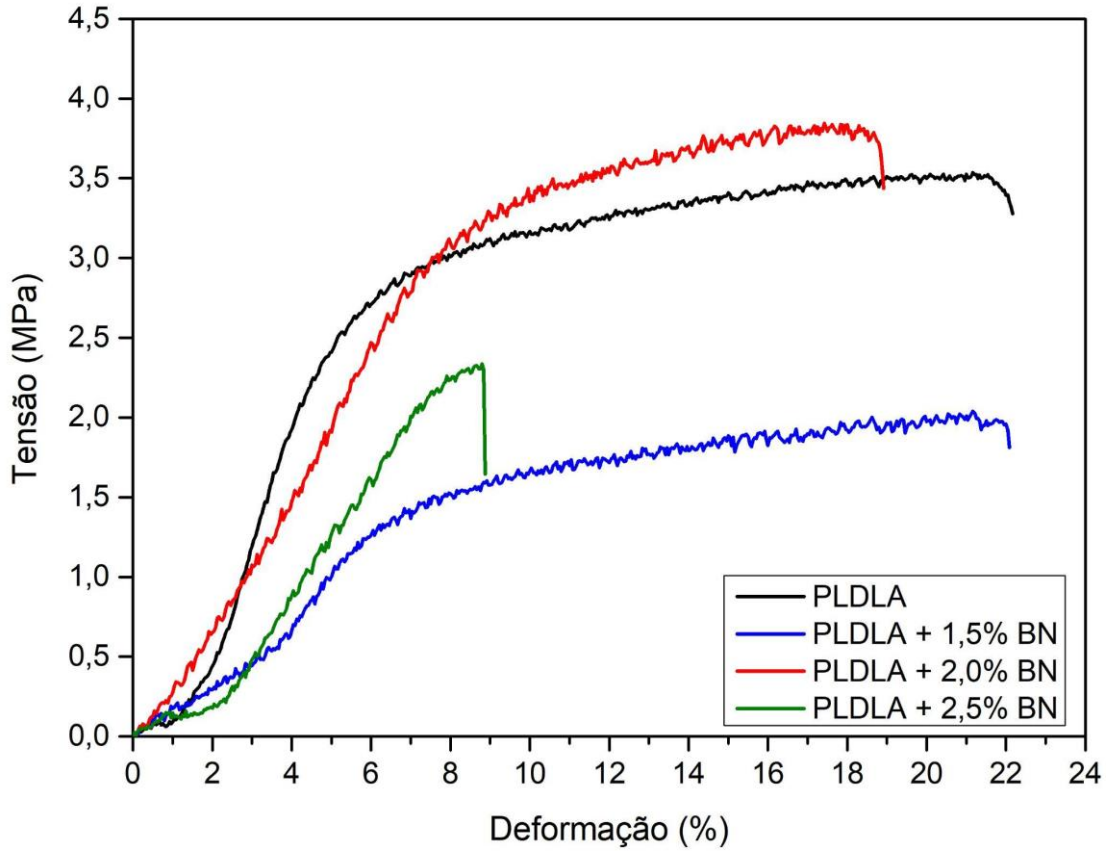

Figura 19. Gráfico dos valores médios de Tensão *versus* Deformação da membrana eletrofiada de PLDLA e do mesmo co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%).

Conforme observado na Figura 19, a membrana eletrofiada apenas por PLDLA apresentou comportamento de material dúctil, pois teve a capacidade de alongar plasticamente sob a tensão de tração. Assim, a amostra de PLDLA eletrofiada exibiu uma tensão de tração de aproximadamente 3,6 MPa, com deformação de 22%. No entanto, o estudo realizado por Duarte, Motta e Duek (2014), as membranas de PLDLA confeccionadas através do método *casting* apresentaram, no ensaio de tração, comportamento divergente ao encontrado neste estudo, pois além de apresentar alto Módulo de Young (1564 ±141 MPa), a membrana também apresentou características típicas de polímero *vítreo* e frágil. Estudos apontam que tanto a morfologia quanto a porosidade podem influenciar diretamente nas propriedades mecânicas de materiais eletrofiados, o que pode explicar o caráter dúctil e com baixo Módulo de Young observado (84,4 MPa) para o PLDLA eletrofiado em comparação com outros métodos de obtenção de membranas (Zhang *et al.*, 2022). Entretanto, a membrana composta apenas por BN eletrofiado não pode ser testada, pois ficou aderida ao material no qual foi depositada durante o processo de eletrofiação, o que dificultou a sua remoção e posterior análise. As amostras

também tiveram o seu módulo de Young, tensão de escoamento e na ruptura analisados, conforme apresenta a Tabela 6.

Tabela 6. Valores médios (quintuplicata) e respectivos desvios-padrão do módulo de Young, tensão no escoamento e tensão na ruptura para a membrana de PLDLA eletrofiada e de PLDLA co-eletrofiada com diferentes concentrações de látex de borracha natural purificado (BN) (1,5%, 2,0% e 2,5%).

Amostra	Módulo de Young (MPa)	Tensão de Escoamento (MPa)	Tensão na Ruptura (MPa)
PLDLA	84,4 ± 8,8	3,7± 0,1	3,6 ± 0,1
PLDLA + 1,5% BN	36,8 ± 4,4	2,1 ± 0,09	1,9 ± 0,1
PLDLA + 2,0% BN	75,8 ± 13,9	3,9 ± 0,4	3,7 ± 0,4
PLDLA + 2,5% BN	57,4 ± 8,3	2,4 ± 0,09	2,4 ± 0,09

Conforme observado no gráfico de tensão *versus* deformação (Figura 19) e na Tabela 6, a co-eletrofiação de PLDLA+2,0% BN resultou em um comportamento mecânico similar à amostra eletrofiada apenas por PLDLA. Deste modo, PLDLA+2,0% BN exibiu uma tensão de tração de 3,7 MPa com uma capacidade de deformação de 18%. Em contrapartida, a co-eletrofiação de PLDLA com 1,5% e 2,5% de BN resultou em uma redução na tensão de tração, para 2,1 e 2,4 MPa, respectivamente, em comparação com a amostra eletrofiada composta apenas por PLDLA (3,7 MPa). Contudo, a amostra de PLDLA + 1,5% BN exibiu uma capacidade de deformação 22%, valor similar ao exibido para o PLDLA. Enquanto a amostra composta por PLDLA + 2,5% BN apresentou uma deformação limitada, de apenas 9%. O comportamento observado para PLDLA + 2,5% BN é associado a material frágil, uma vez que apresentou uma capacidade de deformação reduzida (9%) sob baixa tensão de tração (2,4 MPa). Devido a isso, a amostra foi submetida novamente ao ensaio mecânico de tração. No entanto, os resultados obtidos demonstraram o mesmo comportamento de fragilidade para a amostra. Tal fato pode estar atrelado à não homogeneidade das fibras presentes na membrana eletrofiada, o que pode contribuir para a fragilidade do material. Segundo Bijarimi, Ahmad e Rasid (2014), o aumento da concentração de BN na membrana co-eletrofiada pode gerar separação de fases na interface entre o PLDLA e BN, resultando em uma baixa resistência à tração e alongamento na ruptura.

Os resultados obtidos para a Tensão no Escoamento e Tensão na Ruptura foram consistentes para todas as amostras analisadas devido à ausência de um ponto de escoamento bem definido na curva de tensão *versus* deformação dos materiais. Isso resultou na proximidade entre a tensão de escoamento, no ponto máximo da curva, e a tensão na ruptura, onde o material se rompeu. Deste modo, as amostras compostas por PLDLA, e PLDLA co-eletrofiado com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN exibiram valores médios de Módulo de Young de 84,4 MPa, 36,8

MPa, 75,8 MPa e 57,4 MPa, respectivamente. Embora as amostras co-eletrofiadas tenham apresentado valores superiores ao PLDLA + 1,5% BN, a presença de 1,5% de BN resultou em um baixo Módulo de Young. O baixo módulo de Young, observado para PLDLA + 1,5% BN indicou que o material pode ser facilmente deformado elasticamente sob baixa tensão. Segundo Carazzai *et al.* (2021), os resultados obtidos sugerem uma miscibilidade entre os componentes presentes na membrana co-eletrofiada por PLDLA + 1,5% de BN, o que corrobora diretamente com os resultados obtidos por DSC (Figura 18). Rafieian, Mahdavi e Masouimi (2019) apontam que um curativo ideal não requer alta rigidez ou resistência, mas deve apresentar características de suavidade, flexibilidade e facilidade de manipulação para cobrir a área lesionada. Além disso, o baixo valor do módulo encontrado no ensaio mecânico para a amostra composta por PLDLA +1,5% BN, sugerem sua aplicação em tecidos moles como pele, cartilagem do joelho e músculo do ombro (Carazzai *et al*., 2021).

4.1.6 Ângulo de contato

A medição do ângulo de contato foi realizada para avaliar o comportamento de molhabilidade das membranas de PLDLA após a co-eletrofiação com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%), conforme mostra a Figura 20. Segundo a literatura, ângulos de contato abaixo de 90° ($\Theta < 90°$) são associados a um maior grau de hidrofilicidade, enquanto ângulos maiores ($\Theta > 90°$), são atribuídos a superfícies hidrofóbicas. Porém, superfícies extremamente hidrofóbicas geram ângulos de contato superiores a 150° devido a repulsão gerada (Egri, 2019; Sadeghianmaryan *et al.*, 2020).

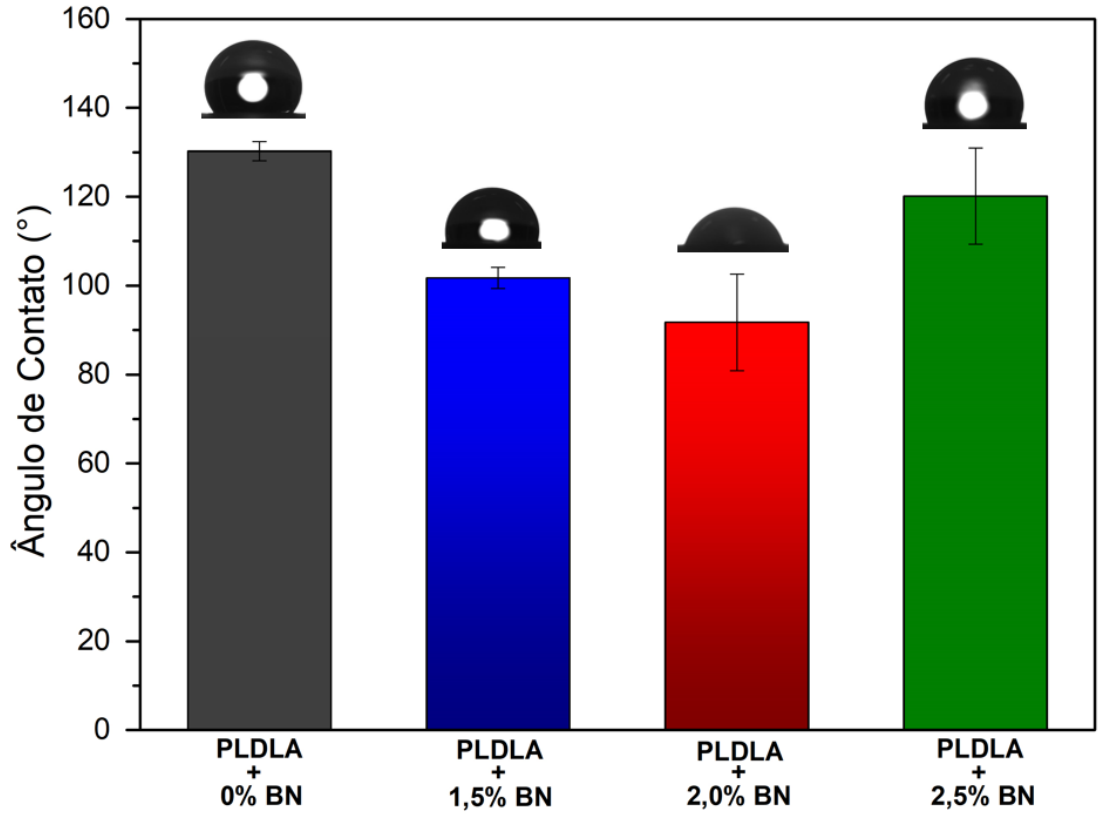

Figura 20. Ângulos de contato com a água para a membrana eletrofiada de PLDLA e da mesma co-eletrofiada com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%). Significância entre os dados é expressa por *(P<0,05).

Com base nos valores obtidos na Figura 20, a amostra composta apenas por PLDLA eletrofiada apresentou uma medição de ângulo de contato com a água de 130° (±2,2°), confirmando o seu caráter hidrofóbico. Ao contrário do observado, estudos de Padjasek *et al.*, (2023) e Zych *et al.* (2021), indicam que amostras de filmes de PLDLA apresentam ângulo de contato de aproximadamente 70,9° ±2,1° e 75,5° ±3,6°, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados por Wimpenny, Ashammakhi e Yang (2012), nos quais filme de PLDLA apresentou uma diminuição do caráter hidrofóbico em comparação ao material eletrofiado. Assim, Andrade *et al.* (2022) mostraram que as membranas eletrofiadas de BN/PVP apresentam maior ângulo de contato em relação às membranas produzidas via *casting*. A presença de um grande número de poros na superfície estrutural da fibra de PLDLA eletrofiado pode influenciar de forma significativa o ângulo de contato, tornando-a hidrofóbica (Carazzai *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2022). Shirvan *et al.* (2022) e Zhang *et al.* (2022), destacam que as fibras desorganizadas e porosas obtidas pelo método de eletrofiação, possibilitam o aprisionamento de ar nos espaços vazios entre as fibras. Esse fenômeno resulta em tensão

superficial, impedindo que as gotículas de água penetrem na estrutura, aumentando assim, o comportamento hidrofóbico do material.

No entanto, a co-eletrofiação de PLDLA com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN causou uma diminuição nos valores de ângulos de contato para 101° ±2,4°; 91° ±10,9° e 120° ±10,8°, respectivamente. Em comparação com a amostra de PLDLA eletrofiada, os resultados obtidos mostram que a adição de BN diminuiu a natureza hidrofóbica da superfície da membrana co-eletrofiada (PLDLA/BN). Morise *et al.* (2019) demonstraram que a membrana de BN (obtida via *casting*) apresenta um ângulo de contato de aproximadamente 66,2° ±2,5°, o que pode explicar a diminuição do ângulo de contato para a membrana de PLDLA após a co-eletrofiação com diferentes proporções de BN. Por outro lado, quando comparado aos resultados obtidos para as demais amostras co-eletrofiadas, as amostras contendo maior concentração de BN (PLDLA + 2,5% BN) apresentou maior ângulo de contato (120°). Este fenômeno pode ser atribuído ao diâmetro médio das fibras. Conforme evidenciado por MEV (Figura 16), a amostra co-eletrofiada por PLDLA + 2,5% BN além de apresentar uma distribuição média do diâmetro da fibra em torno de 0,2 e 2,4 µm, valor superior ao observado para as demais amostras. Edikreshnha *et al.* (2019) demonstraram que a molhabilidade das fibras tem correlação direta com o diâmetro médio das fibras. Especificamente diâmetros maiores tendem a resultar numa redução da área superficial entre as fibras. Isto, por sua vez, leva a uma menor interação com a gota e, consequentemente, a uma maior tendência à hidrofobicidade. Esses achados corroboram com os resultados obtidos para a amostra composta por PLDLA + 2,5% BN, indicando influência significativa do diâmetro da fibra na molhabilidade e hidrofobicidade do material. Com exceção da amostra co-eletrofiada com PLDLA + 2,5% BN, as amostras contendo 1,5% e 2,0% BN exibiram valores moderados de hidrofobicidade. De acordo, com pesquisas de Yang *et al.,* (2022), a interação de superfícies fibrosas hidrofóbicas/superhidrofóbicas em contato com o sangue pode promover a formação de fibrina. Essas características auxiliam no controle do sangramento excessivo, além de prevenir a fixação bacteriana. No contexto de superfícies altamente hidrofílicas e hidrofóbicas, a hidrofilicidade moderada exerce uma influência significativa na proliferação e adesão celular. Além de desempenhar um papel na proteção e hidratação da área da ferida, evitando assim a contaminação bacteriana da ferida (Chagas et al., 2021; Duarte; Duek; Motta, 2014). Quando utilizada em sistemas de administração de medicamento, a hidrofilicidade moderada pode facilitar a liberação sustentada e prolongada do medicamento (Nejati *et al.,* 2020). Essas propriedades indicam seu potencial promissor em aplicações biomédicas.

4.1.7 Potencial zeta

O potencial zeta (ζ) em função do pH, foi medido para as amostras de PLDLA eletrofiada e PLDLA co-eletrofiado com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN, conforme mostra a Figura 21. O ensaio teve por intuito avaliar se houve alguma alteração das cargas superficiais das membranas de PLDLA após a co-eletrofiação com as diferentes concentrações de BN.

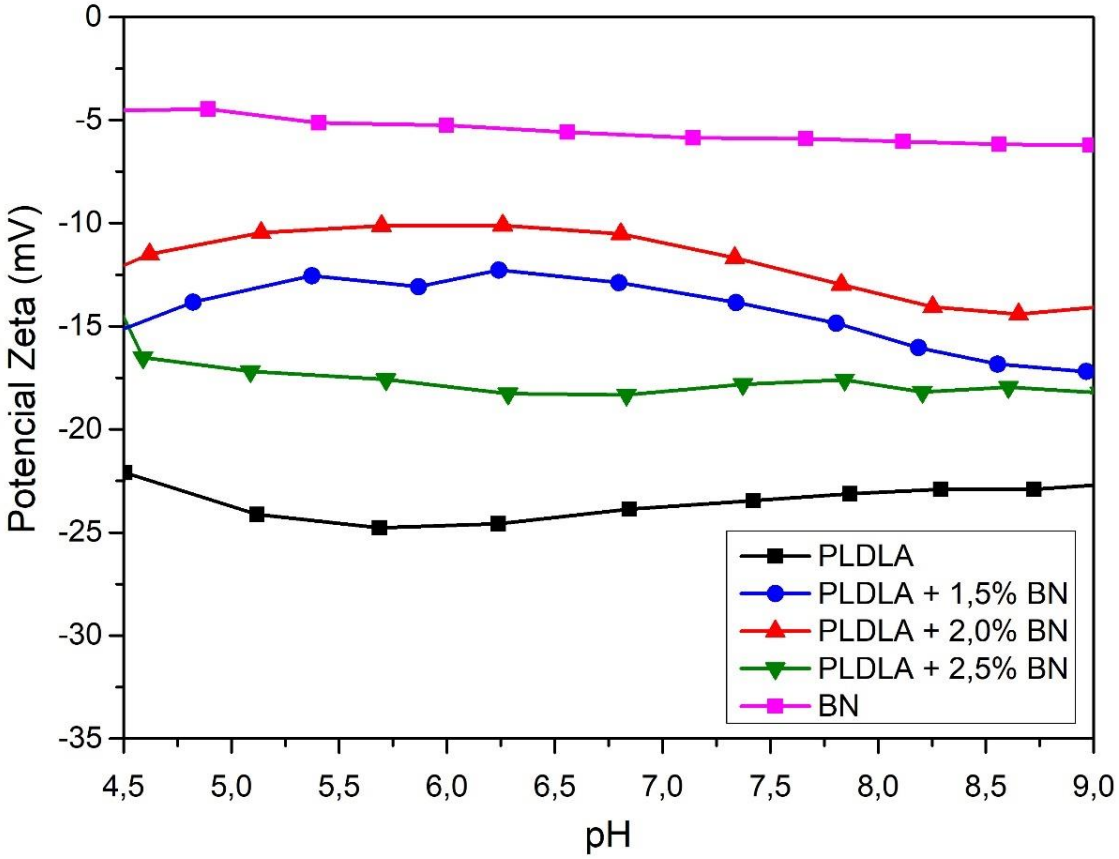

Figura 21. Potencial Zeta (ζ) em função da variação do pH para a amostra de PLDLA e PLDLA co-eletrofiado com diferentes concentrações de BN (1,5%, 2,0% e 2,5%).

Toda as amostras analisadas apresentaram potencial ζ negativo em toda a faixa de pH analisada (4,5 a 9,0). A amostra de PLDLA eletrofiada apresentou valores negativos de potencial ζ, atribuíveis à presença de cargas negativas na superfície da membrana eletrofiada. Mainardes; Khalil e Gremião (2010) destacam que o poli(ácido láctico) (PLA), possui potencial ζ negativo devido aos grupos carboxílicos presentes na cadeia e na superfície de sua estrutura química.

Conforme observado (Figura 21), a membrana composta por BN exibiu uma carga superficial de aproximadamente -4,5 mV em toda a faixa de pH analisada. Estudos indicam que os valores do potencial ζ da BN são sempre negativos devido às cargas negativas dos grupos

carboxílicos presentes nas proteínas e fosfolipídeos que circundam seu sistema coloidal (Ariyawiriyanan *et al*., 2013). Estudos conduzidos por Asami *et al*. (2023) apontam que o látex de borracha natural sem o processo de purificação (LBN) apresenta um comportamento de potencial ζ dependente do pH. Deste modo, os resultados obtidos pelos autores mostram que em um pH 4, LBN apresenta um potencial ζ de aproximadamente -12 mV, enquanto em pH 9, o valor obtido foi de -28 mV. Contudo, o processo de desproteinização da BN reduz as cargas negativas, aumentando assim o potencial ζ para valores superiores, como -5 mV em pH 4 e -13 mV em pH 9 (Asami *et al.*, 2023).

As amostras compostas por PLDLA co-eletrofiado com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN também exibiram cargas superficiais negativas em toda a faixa de pH analisada. Porém, quando comparado ao resultado obtido para a membrana de PLDLA eletrofiada (-22 mV), as amostras de PLDLA co-eletrofiadas com 1,5%, 2,0% e 2,5% de BN apresentaram aumento dos valores do potencial ζ para -12 mV, -10 mV e -18 mV, respectivamente. O aumento aproximado nos valores do potencial ζ, em comparação com o PLDLA, ressalta claramente a presença de BN desproteinizada na membrana de PLDLA co-eletrofiada. Portanto, a presença de BN, independente da concentração, pode aumentar a carga superficial das membranas co-eletrofiadas. Porém, o PLDLA co-eletrofiado com 2,5% BN apresentou comportamento diferente das demais amostras, corroborando os resultados obtidos no ensaio de tração mecânica. Esta discrepância de comportamento pode estar associada à heterogeneidade das fibras co-eletrofiadas. Asami *et al*. (2023) mostram que valores negativos do potencial ζ podem promover a adsorção e fixação da matriz extracelular. Isso torna o material em estudo atrativo para a aplicação proposta, pois, mesmo com o aumento da carga superficial, valores negativos de potencial ζ foram mantidos em toda a faixa de pH analisada (Ge *et al.*, 2011).

4.1.8 Propriedades mucoadesivas

Com base nos resultados das análises anteriores, foram avaliadas as propriedades mucoadesivas da amostra co-eletrofiada com PLDLA + 1,5% BN e da amostra eletrofiada apenas com PLDLA. Os resultados estão ilustrados na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados das propriedades mucoadesivas.

Amostras	Força de Adesão (N)	Trabalho de Adesão (N.mm^{-1})
PLDLA	0,64 ± 0,09	0,05 ± 0,13
PLDLA + 1,5% BN	0,59 ± 0,07	0,50 ± 0,05

É possível observar na Tabela 7 que a co-eletrofiação de 1,5% de BN com PLDLA diminuiu o valor da força de mucoadesão quando comparado ao PLDLA. A mucoadesão é descrita como a interação entre a superfície da mucosa e um polímero de origem sintética ou natural. Algumas teorias foram propostas para descrever os mecanismos de mucoadesão. Dentre elas é possível destacar: (a) A teoria da adsorção afirma que as ligações são criadas no contato inicial entre o polímero e o muco e estas podem ser do tipo covalente e não covalente. Embora estas ligações sejam individualmente fracas, a quantidade de interação pode produzir uma força adesiva intensa; (b) A teoria do inchamento é aplicada principalmente a líquidos ou sistemas mucoadesivos de baixa viscosidade, onde a tensão interfacial é utilizada para prever o relaxamento das cadeias e o espalhamento do polímero com a consequente mucoadesão; (c) A teoria da difusão ocorre pela interpenetração e entrelaçamento entre as glicoproteínas do muco e as cadeias poliméricas mucoadesivas, a fim de criar uma ligação adesiva temporária; (d) A teoria eletrônica baseia-se na diferença das estruturas eletrônicas entre a mucosa e o polímero mucoadesivo. A interação entre essas estruturas ocorre devido à transferência de elétrons, promovendo a formação de bicamadas de cargas elétricas na interface entre o polímero e a mucosa; (e) A teoria da fratura é amplamente utilizada em estudos mucoadesivos utilizando propriedades mecânicas. Esta teoria analisa a força necessária para separar duas superfícies após a adesão (Alves *et al*., 2018). Portanto, neste estudo, o mecanismo que melhor se adapta para explicar a interação entre os materiais eletrofiados e o disco de mucina é a teoria da difusão. De acordo com as micrografias obtidas por MEV (Figura 16) foi possível observar que após a co-eletrofiação de 1,5% de BN com PLDLA, houve um aumento na frequência do diâmetro da fibra na amostra PLDLA + 1,5% BN (0,5 µm) em relação a amostra de PLDLA (0,3 µm). Esse aumento pode ter contribuído para a redução dos espaços livres entre as fibras, resultando na diminuição da interpenetração e entrelaçamento entre as glicoproteínas do muco e as cadeias poliméricas, criando assim uma ligação adesiva temporária. Portanto, a força de adesão é menor para a amostra de PLDLA + 1,5% BN em comparação com a amostra PLDLA. A redução na força de adesão observada é vantajosa para aplicações de curativos dérmicos, pois permite que o material seja facilmente removido e com menos desconforto para o paciente, principalmente quando aplicado em áreas mais sensíveis da pele.

4.1.9 Ensaio de viabilidade e proliferação celular

As análises obtidas no ensaio de viabilidade celular MTT do grupo PLDLA +1,5% BN foram observadas no gráfico da Figura 22, nos períodos de 24 e 72 horas.

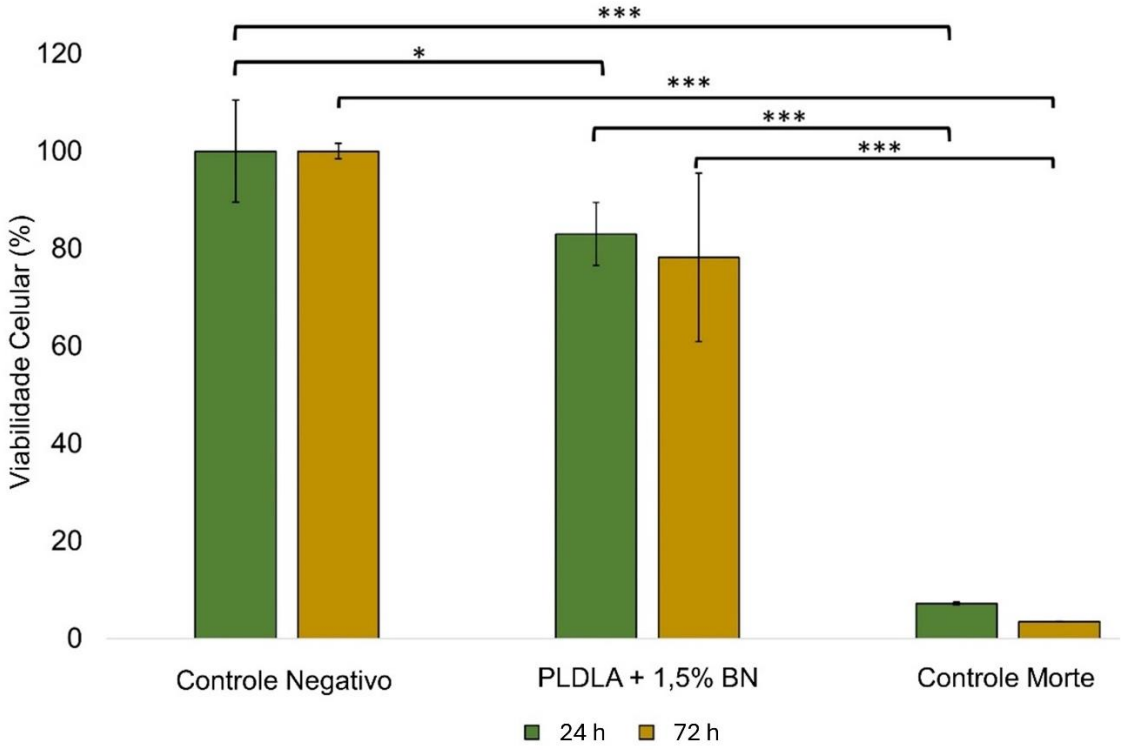

Figura 22. Gráfico de viabilidade celular do grupo PLDLA+1,5% BN. O controle negativo consiste em células semeadas diretamente na placa e o controle de morte no qual as células foram submetidas à morte. O nível de significância entre os grupos é expresso como *p<0,05 e ***p<0,001 em 24 e 72 horas.

Com base nos resultados obtidos durante um período de 1 dia, foi observada uma elevada percentagem de viabilidade celular no grupo PLDLA + 1,5% BN de aproximadamente 83%. Esse percentual foi estatisticamente menor (*p<0,05) quando comparado ao controle negativo, que alcançou 100% de viabilidade. Porém, quando comparado ao controle de morte, aproximadamente 7%, o nível de significância aumentou consideravelmente (***p<0,001), indicando que o material PLDLA + 1,5% BN não induziu morte celular, ou seja, a presença do material não gerou citotoxicidade, mas sim uma proliferação celular próxima ao controle negativo. Durante um período de 3 dias, também foi observada viabilidade celular no grupo PLDLA + 1,5% BN, com um valor de 79%, estatisticamente superior (***p<0,001) ao controle morte para o mesmo período (aproximadamente 4%). Isto demonstra que o material durante 3 dias não induziu a morte celular e pode, portanto, ser considerado não citotóxico.

Estudos confirmam que o PLDLA é um material que não apresenta toxicidade tanto *in vitro* (Yla-Outinen *et al.*, 2010) quanto *in vivo* (Más *et al.*, 2016). A BN, por sua vez, também apresenta características promissoras para aplicações biomédicas, como proliferação celular e adesão em membranas de borracha natural derivadas do látex de BN (Asami *et al.*, 2023), e biocompatibilidade em testes com culturas de fibroblastos (Barros *et al*., 2018).

4.2 ETAPA 2

4.2.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR de OC, membrana de PLDLA+ 1,5 % BN (PLDLA/BN) co-eletrofiada (Obtido na Etapa 1), e da mesma incorporada com 25%, 50% e 75% de OC são apresentados na Figura 23.

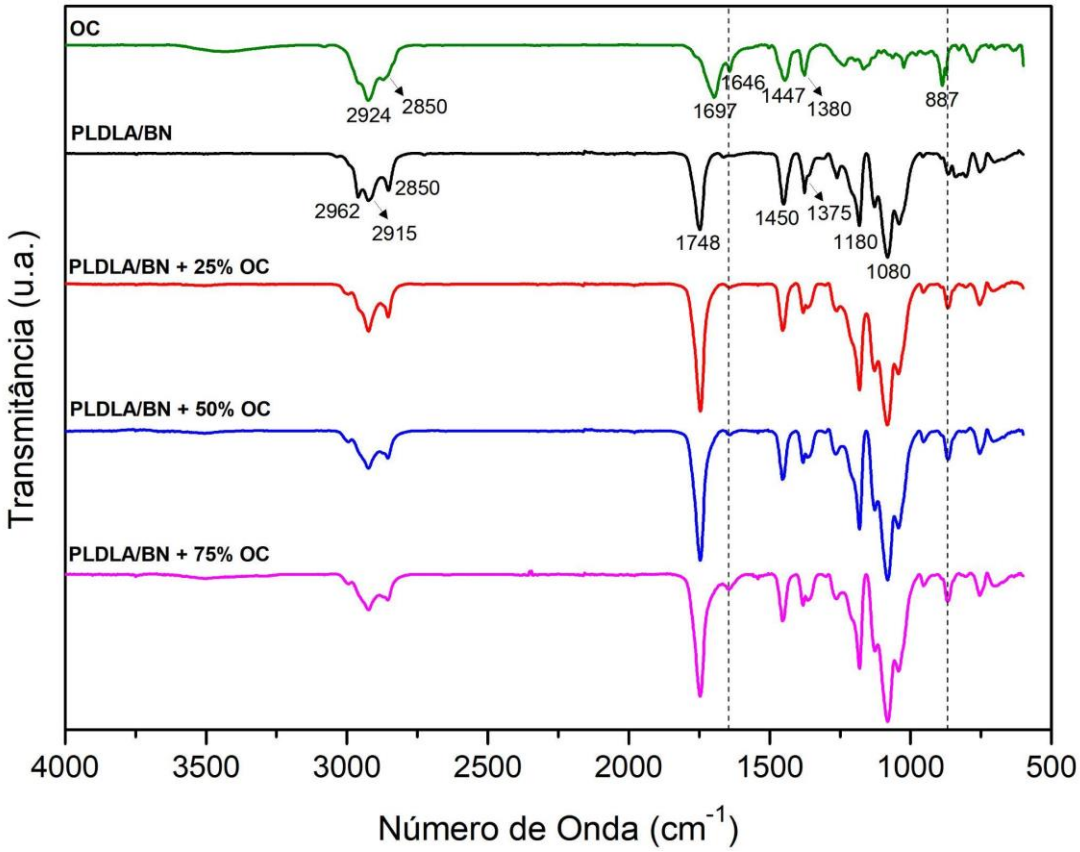

Figura 23. Espectros de FTIR de OC, membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN e PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC.

Conforme observado na Figura 23, o espectro de infravermelho de OC apresentou duas bandas intensas em 2924 e 2850 cm^{-1}, atribuídas a estiramento simétrico das ligações -CH em alcanos e aldeídos, respectivamente. As bandas presentes em 1667 e 1646 cm^{-1} foram

associadas a estiramento de grupos carbonila. Enquanto as bandas encontradas em 1447, 1380 e 887 cm^{-1} indicam as vibrações de flexão alifática CH_2, deformação angular de CH_3 e flexão C=C de (β-cariofileno) presente na estrutura do OC (Norcino *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2023).

Conforme mencionado e discutido na análise de FTIR (Figura 15) da Etapa 1, o espectro de infravermelho de PLDLA/BN apresentou a somatória das principais bandas de ambos os polímeros individuais (PLDLA e BN). Sendo assim, o espectro exibiu banda característica de poliéster em 1748 cm^{-1}, associada à deformação axial do grupo carbonila C=O do PLDLA. A banda presente em 1450 cm^{-1} foi atribuída à deformação angular das ligações C-H do grupo CH_3. Enquanto as bandas polilactídicas correspondentes ao estiramento =C-O e C-C, foram observadas em 1080 e 1181 cm^{-1}, respectivamente (Leal *et al.*, 2019). A presença de BN ao material co-eletrofiado com PLDLA, foi confirmada pelo aparecimento do alongamento assimétrico do grupo CH_3 nas bandas encontradas em 2915 e 2850 cm^{-1}. Do mesmo modo, a banda presente em 1375 cm^{-1} também foi associada à deformação -CH_3 de BN (Guerra *et al.*, 2018).

O espectro de PLDLA/BN incorporado com diferentes concentrações de OC (25%, 50% e 75%) apresentou o aparecimento de novas bandas de fraca intensidade em 1646 e 887 cm^{-1} associada à presença de OC na membrana (PLDLA/BN). Por outro lado, não foram identificadas o aparecimento de novas bandas além das principais associadas a presença de PLDLA/BN e OC. Esse resultado indica que a presença de OC na membrana co-eletrofiada (PLDLA/BN) não causou alterações químicas estruturais ou interações entre ambos. Como também, não foram observadas mudanças envolvendo deslocamento de bandas no espectro de FTIR de PLDLA/BN após a incorporação de OC, o que indica que não houve interação entre os polímeros co-eletrofiados e as moléculas de OC (Komatsu *et al*., 2017).

4.2.2 Ensaio de intumescimento

A variação da porcentagem de intumescimento em relação ao tempo (horas) de imersão em solução de PBS a 37°C, das amostras de PLDLA/BN co-eletrofiada e da mesma incorporada com diferentes concentrações de OC, é apresentada na Figura 24.

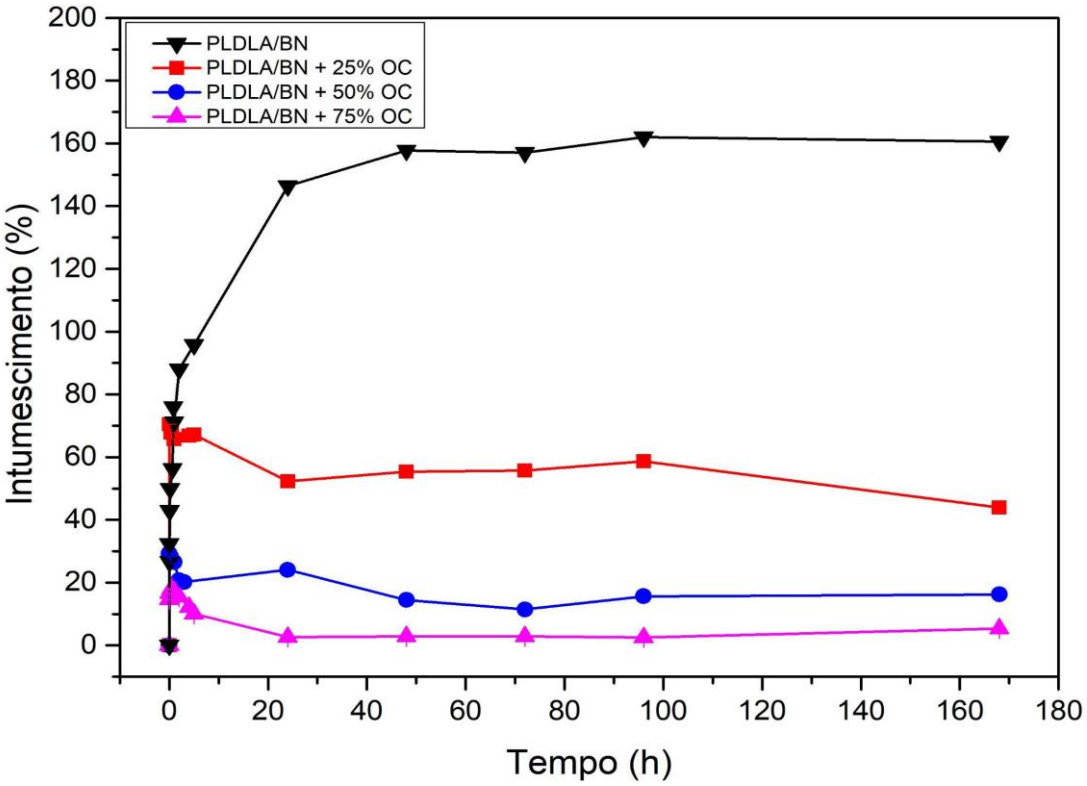

Figura 24. Porcentagem de intumescimento de membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN e PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC.

A princípio, observou-se que a amostra composta apenas por PLDLA/BN co-eletrofiada apresentou maior capacidade de intumescimento em relação a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada incorporada com 25%, 50% e 75% de OC. Deste modo, a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada livre de OC atingiu um patamar de intumescimento máximo em torno de 158% após 48 horas, mantendo-se estável até o final do ensaio (162 horas). A capacidade de absorção da membrana co-eletrofiada pode estar associada à sua morfologia porosa, que permite que a solução adentre aos interstícios do material imerso em PBS e entumeça, uma vez que os polímeros apresentam natureza hidrofóbica e não detenham de capacidade relevante para intumescer (Barros *et al*., 2021; Hoveizi *et al.*, 2014; Shirvan *et al.*, 2022).

Notou-se também, que o aumento gradual da concentração de OC na membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada, faz com que ocorra uma diminuição na capacidade de intumescimento da membrana. As amostras de PLDLA/BN co-eletrofiada e incorporada com 25%, 50% e 75% de OC exibiram 70%, 30% e 17% de capacidade máxima de intumescimento antes de 1h de ensaio, respectivamente. A diminuição da porcentagem de intumescimento com o aumento gradual da concentração de OC pode ser atribuída às propriedades hidrofóbicas do óleo. A presença de OC impede que as moléculas hidrofílicas de PBS penetrem na membrana e atuem no intumescimento da mesma (Ardekani *et al.*, 2019). Após atingir o máximo de intumescimento, as membranas co-eletrofiadas incorporadas com OC apresentaram uma

pequena redução no percentual de intumescimento, o que pode ser atribuído à liberação de OC ao meio (PBS), mantendo o intumescimento constante até o final do ensaio.

A condição observada com a adição do OC é desejável quando direcionada ao tratamento de feridas, pois curativos com propriedades altamente hidrofílicas podem gerar um colabamento tecidual com o material e consequentemente levar a uma forte adesão ao exsudato na região lesada. Dessa forma, as características atribuídas ao OC, podem atuar como uma barreira física, e impedir o crescimento bacteriano no curativo, promovendo uma restrição na interação com o tecido lesionado, para que este possa sofrer outras intervenções posteriormente ao longo do processo de recuperação (Egri, 2019).

4.2.3 Potencial zeta

A influência da incorporação de diferentes concentrações de OC (25%, 50% e 75%) nas propriedades de carga de superfície da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada, foi analisada através do potencial zeta (ζ) em função da mudança de pH, conforme mostra a Figura 25.

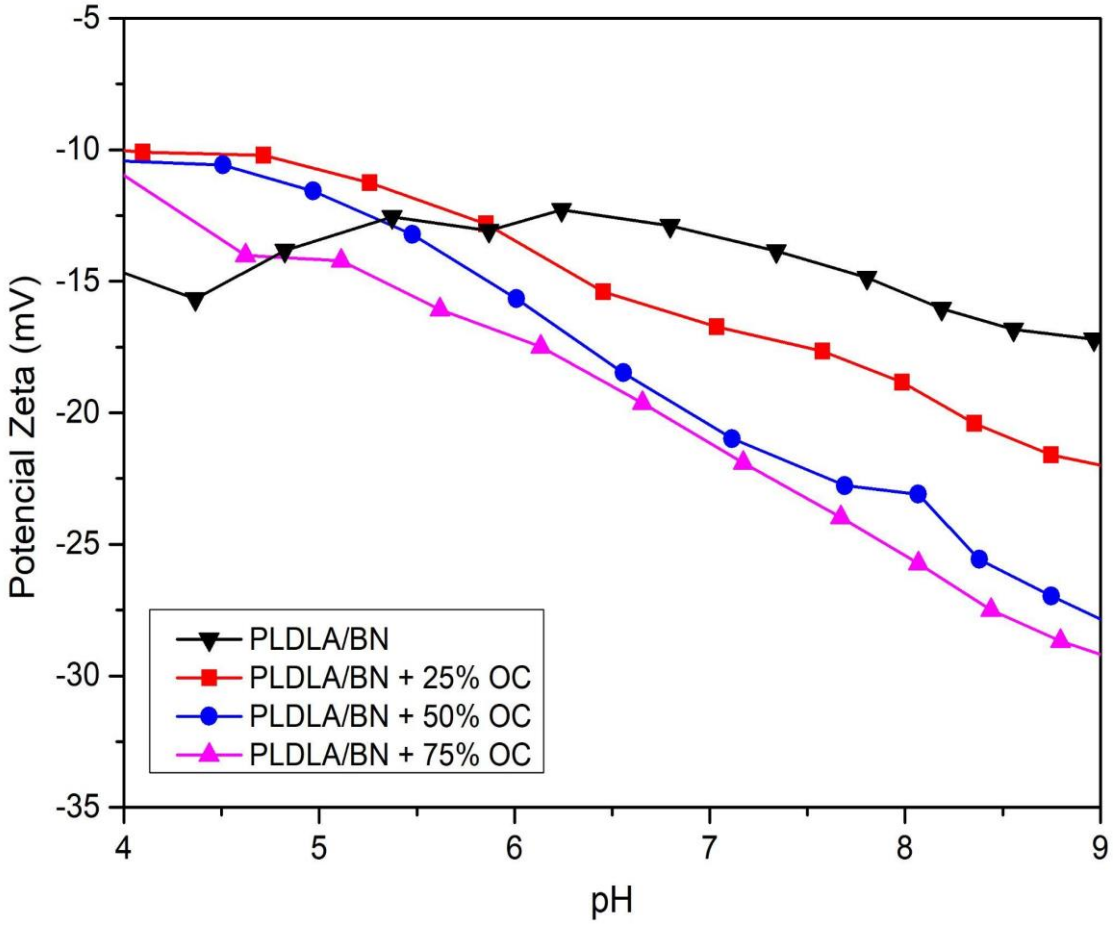

Figura 25. Potencial Zeta (ζ) em função da variação de pH da membrana de PLDLA/BN PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC.

Observou-se que as amostras analisadas apresentaram potenciais ζ negativos em toda a faixas de pH (4 a 9). Conforme descrito na Etapa 1 deste estudo, a membrana composta por PLDLA/BN co-eletrofiada isenta de OC, apresentou um valor aproximado de -15 mV de carga superficial em todas as faixas de pH analisadas. Tal fato se deve aos grupos químicos presentes tanto nos polímeros que compõe a membrana co-eletrofiada, como o ácido carboxílico presente no poliláctideo (PLDLA), quanto nas proteínas e fosfolipídios remanescentes do processo de purificação, que ainda envolvem o sistema coloidal de BN (Ariyawiriyanan et al., 2013; Mainardes; Khalil; Gremião, 2010).

Por outro lado, a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com diferentes concentrações de OC apresentou um comportamento dependente do pH. Assim, após a incorporação de diferentes concentrações de OC na membrana de PLDLA/BN (membranas PLDLA/BN + OC), observou-se que houve um leve aumento no valor do potencial ζ da superfície para aproximadamente -10 mV em valores de pH abaixo de 5,5 (pH<5,5) quando comparado à membrana PLDLA/BN. Após o aumento do pH (pH > 5,5) houve uma diminuição gradual do valor da carga de superfície para todas as membranas analisadas contendo OC. De um modo geral, as membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas e incorporadas com 25%, 50% e 75% de OC apresentaram ao final do experimento (pH = 9) potencial ζ de -22, -27 e -29 mV, respectivamente. Portanto, o aumento da carga negativa na superfície da membrana após a adição de OC pode estar relacionado à presença de grupos ionizáveis na superfície do polímero, como o ácido resinoso que está presente na composição do OC (Norcino *et al.*, 2020). O estudo das cargas de superfície de um material é essencial para entender o mecanismo de interação dos mesmos com os tecidos, pois as cargas estão atreladas diretamente a adesão, proliferação e diferenciação celular (Cai *et al.*, 2006; Kaniuk *et al.*, 2021). Assim como também, compreender de uma melhor forma, os seus efeitos antimicrobianos (Maillard *et al.*, 2021). Sendo assim, espera-se que as cargas negativas presentes na superfície de membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas com adição de diferentes teores de OC, possam facilmente interagir com os peptidoglicanos (carregados positivamente) que interferem na membrana externa de bactérias gram-positivas. Portanto, a interação entre as cargas presentes na membrana co-eletrofiada (carregada negativamente) e a bactéria (carregada positivamente) podem causar a destruição da membrana celular que leva à morte celular e provavelmente a inibição de microrganismo patogênicos, como a *S. aureus* (Zhao *et al.*, 2014).

4.2.4 Ensaio de liberação do óleo de copaíba (UV-Vís)

O perfil de liberação de OC incorporado diretamente, em diferentes concentrações (25%, 50% e 75%), na membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada é mostrado na Figura 26. Notou-se que todas as concentrações de OC testadas, exibiram um comportamento similar de liberação, obedecendo a uma função bi exponencial, com um perfil de liberação mais rápido (*burst release*) nas primeiras horas e outro mais lento, nas horas advindas.

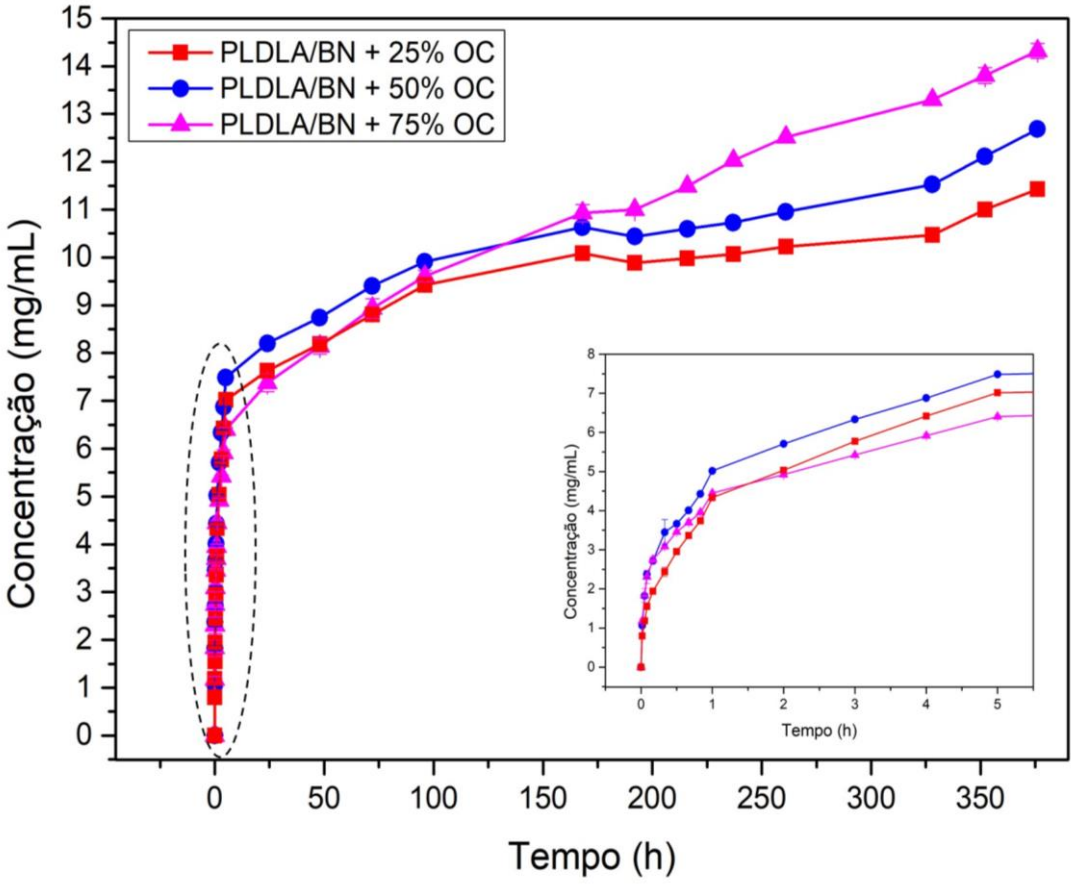

Figura 26. Perfil de liberação de OC da membrana co-eletrofiada por PLDLA/BN PLDLA/BN (co-eletrofiada) incorporada diretamente com 25%, 50% e 75% de OC.

Inicialmente, todas as amostras exibiram uma região de *burst release* (Figura 26) seguido por um perfil de liberação sustentado até 180 horas de análise. A membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada e incorporada com 25%, 50% e 75% de OC foi capaz de liberar na primeira hora de análise aproximadamente 4,0; 5,0 e 4,5 $mg.ml^{-1}$ de OC, respectivamente. Tal comportamento de liberação está associado às moléculas de OC adsorvidas fisicamente na superfície do material, que são facilmente liberadas no meio em que a análise é realizada (Ardekani-Zadeh; Hosseini, 2019). Entretanto, mesmo com o aumento gradual de OC à membrana co-eletrofiada, observou-se que não houve aumento progressivo na quantidade de

OC liberado no tempo inicial da análise, pois a membrana incorporada com 50% de OC teve uma concentração de OC liberada maior em relação a membrana com 75% de OC.

Após 180 horas de análise, foi possível notar que houve um aumento gradativo na quantidade de OC liberada. Neste caso, a membrana co-eletrofiada com 75% de OC mostrou um aumento significativo na quantidade de OC liberada em comparação às outras membranas incorporadas com menor concentração de OC. A diferença na cinética de liberação pode estar associada à estrutura morfológica inerente às fibras emaranhadas e porosas presentes na membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada. Assim, a estrutura morfológica torna-se responsável por manter o perfil de liberação por mais tempo, independente da concentração de OC presente na mesma. De acordo com Edikresnha *et al.* (2019), a estrutura das fibras, as propriedades, a concentração da substância incorporada, a capacidade de intumescimento e a solubilidade do carreador podem interferir no perfil de liberação do composto. Associado a isso, os autores descrevem que a alta taxa de liberação pode estar relacionada a fibras de maiores diâmetros, enquanto fibras com menores diâmetros tendem a ter estruturas mais densas, que dificulta a penetração do meio, no material analisado.

Perfil similar de liberação foi verificado por Phan *et al.* (2021) em seu estudo relacionado à adsorção de óleo essencial de laranja e nanopartículas de prata em superfícies de nanofibras de celulose. Observou-se que a superfície de celulose revestida com óleo essencial de laranja, permitiu uma liberação lenta e sustentada de nanopartículas de prata. Já os resultados obtidos por Alves *et al.* (2019), mostraram que a adsorção física de dexametasona e betametasona na superfície de membranas de PLA eletrofiadas, exibiram o mesmo perfil de liberação dos fármacos incorporados diretamente em solução de PLA e posteriormente eletrofiados.

Para entender o mecanismo associado à liberação de diferentes concentrações de OC na membrana PLDLA/BN co-eletrofiada, os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Ordem Zero e Primeira Ordem conforme apresenta na Tabela 8. No entanto, embora seja comum ajustar os dados de liberação coletados durante o ensaio, aos modelos matemáticos em todo o intervalo de tempo, não foi possível obter um coeficiente de correlação (R^2) satisfatório. Scaffaro *et al*., (2017) apontam que os modelos matemáticos usados para descrever a liberação do fármaco têm limitações na previsão do efeito "*burst release*". Deste modo, os dados de liberação foram ajustados aos modelos matemáticos e divididos em dois intervalos de tempo correspondentes às duas fases de liberação, conforme apontam os estudos de Scaffaro *et al.* (2017), que aplicou o modelo da lei das potências de Korsmeyer-Peppas e López-Muñoz *et al.* (2022), de Higuchi.

Tabela 8. Valores de modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Ordem Zero e Primeira Ordem aplicados aos perfis de liberação de óleo de copaíba (OC).

Modelos	Ajuste	Parâmetros	25% OC	50% OC	75% OC
Korsmeyer-Peppas	1	R^2	0,99	0,98	0,98
		n	0,38	0,32	0,27
		k	0,28	0,17	083
	2	R^2	0,96	0,98	0,98
		n	0,12	0,12	0,23
		k	0,37	0,20	0,68
Higuchi	1	R^2	0,97	0,93	0,91
		k	0,22	0,11	0,49
	2	R^2	0,91	0,96	0,99
		k	0,01	0,01	0,09
Ordem Zero	1	R^2	0,82	0,75	0,71
		k_0	1,59	0,26	0,19
	2	R^2	0,82	0,93	0,98
		k_0	0,01	0,002	0,003
Primeira Ordem	1	R^2	0,62	0,57	0,58
		k	0,33	0,27	0,23
	2	R^2	0,78	0,92	0,95
		k	0,001	0,001	0,001

Fonte: Autoria Própria.

Conforme observado nos resultados apresentados na Tabela 8, os modelos matemáticos de Ordem Zero e Primeira Ordem não exibiram valores de R^2 satisfatórios para ambos os intervalos de tempo associados as distintas fases de liberação. Por sua vez, os modelos cinéticos de Korsmeyer-Peppas e Higuchi, apresentaram o melhor ajuste. Assim, ambos foram comparados e apresentados na Figura 27A e B, respectivamente.

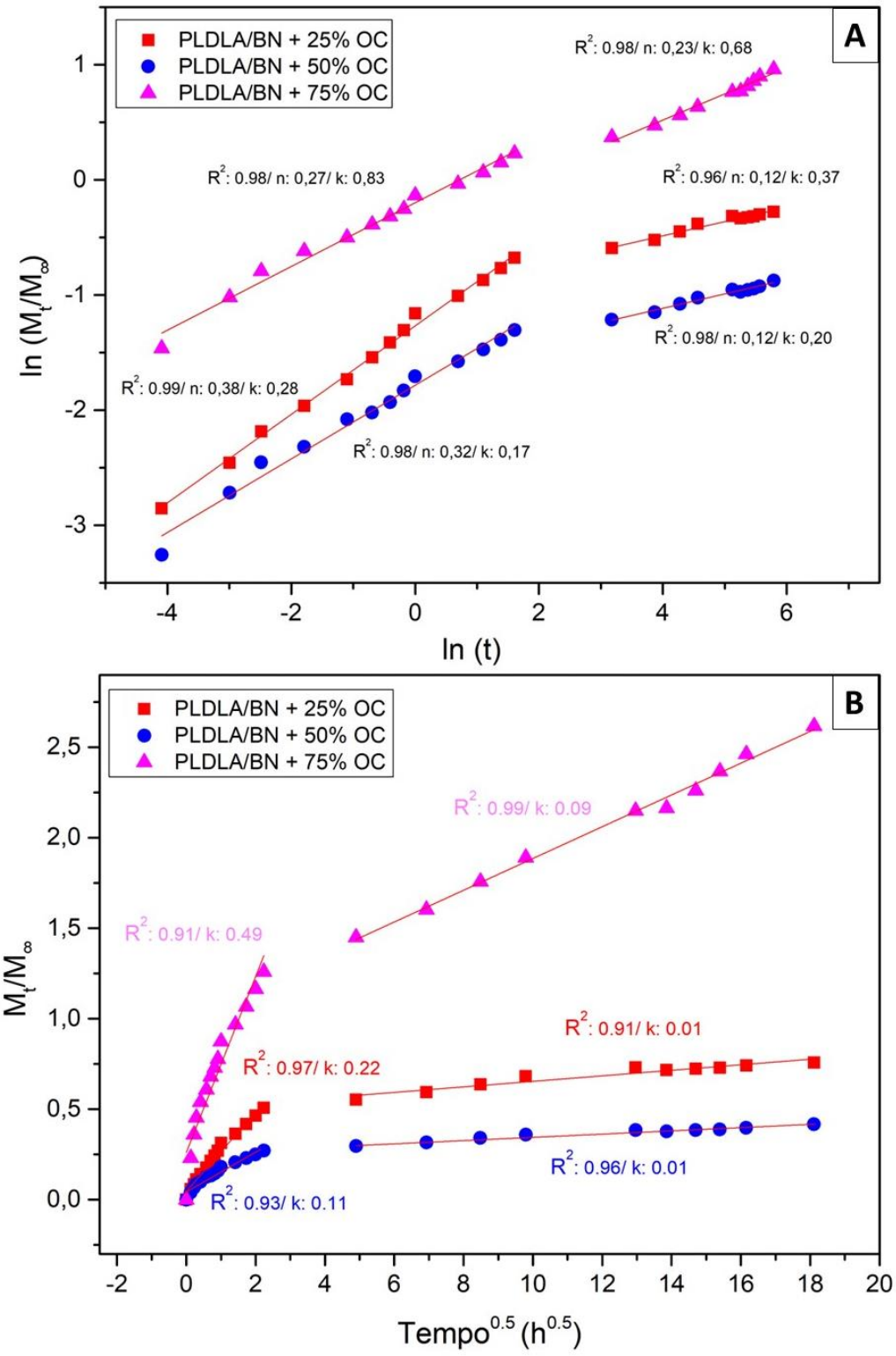

Figura 27. Modelo matemático do perfil de liberação de OC, plotado por dois métodos **(A)** Lei das Potências de Korsmeyer-Peppas e **(B)** Higuchi.

De acordo com a comparação de ambos os modelos, observou-se que a modelagem separada dos dois intervalos de tempo ajustou-se de forma efetiva ao modelo de lei de potência de Korsmeyer-Peppas em comparação ao modelo de Higuchi, uma vez que o valor de R^2 em

todos os intervalos analisados foi superior a 0,95 (Bulbul *et al.,* 2020). A lei das Potências fornece o expoente (n) que descreve o mecanismo de liberação. Valores de $n \leq 0,5$ indicam que a liberação ocorreu por difusão Fickiana, enquanto $0,5 < n < 1$ indica transporte anômalo (não Fickiano), e $n = 1$ representa liberação por inchaço. Por sua vez, o parâmetro k representa a constante cinética do sistema de liberação, sendo que valores maiores indicam liberação mais rápida (Scaffaro; Lopresti, 2018). Neste caso, todas as amostras apresentaram o expoente de liberação (n) com valor menor que 0,5 ($n < 0,5$), o que indica que a liberação de OC ocorreu por meio de um mecanismo típico de difusão Fickiana. De acordo com Wang *et al*. (2017), o resultado obtido para n indica que a liberação pode ser atribuída a difusão ou permeação do OC pelas fibras do material co-eletrofiado, podendo também ocorrer, por meio da difusão dos poros quando em contato com o meio de liberação.

De um modo geral, os resultados obtidos por meio do perfil de liberação mostram que o OC pode se difundir de forma lenta e duradoura, permitindo que as suas propriedades antimicrobianas sejam proteladas por um longo período (Ardekani-Zadeh; Hosseini, 2019).

4.2.5 Antibiograma

A atividade antimicrobiana, após 8 e 24 horas de cultura, da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada e incorporada com 25%, 50% e 75% de OC contra *S. aureus*, é apresentada na Figura 28.

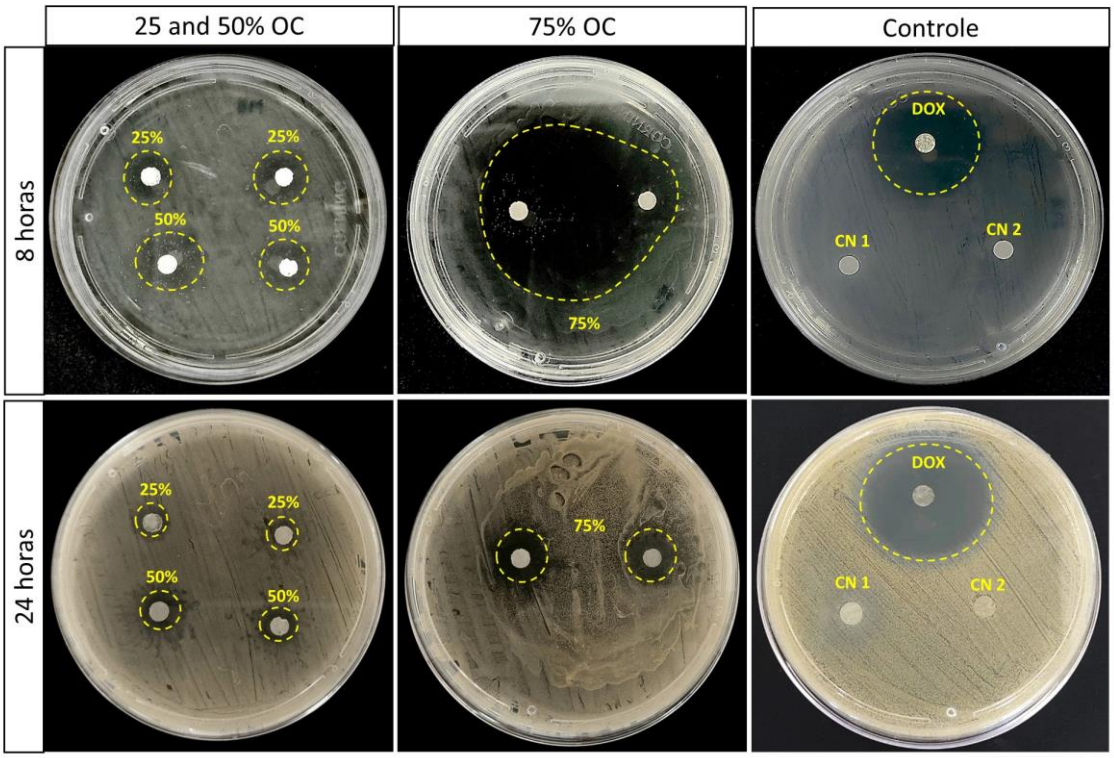

Figura 28. Atividade antimicrobiana de OC contra *S. aureus* obtida pelo teste de difusão em ágar após 8 e 24 horas de cultura. Doxiciclina (DOX) foi utilizada como controle antibiótico comercial, solução de etanol e Tween 20 foi utilizado como controle negativo (CN1), assim como o disco da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiado livre de OC (CN 2).

As amostras controle, representadas pela solução de álcool etílico (70%)/Tween 20 (CN1) e disco da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiado (CN2) não apresentaram efeito inibitório contra *S. aureus*, exceto o controle comercial contendo o antibiótico doxiciclina (DOX). Por outro lado, as membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas e incorporadas com 25 e 50% de OC exibiram efeitos bacteriostáticos e inibitórios em 8 e 24 horas de cultivo, respectivamente. A zona de inibição exibiu uma diminuição marcante de 8 para 24 horas. Neste caso, as membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas com adição de 25% e 50% de OC apresentaram zonas de inibição que diminuíram de 15 para 6 mm e de 18 para 8 mm, respectivamente. O padrão difuso da zona de inibição observado após 24 horas indicou que as propriedades bacteriológicas de OC foram limitadas e o *S. aureus* passou a apresentar um crescimento tardio na área anteriormente relacionada à zona de inibição. Conforme apontado por Norcino *et al.* 2020, o comportamento bacteriostático de OC pode contribuir para a manutenção do crescimento bacteriano em fase estacionária, mesmo em baixas concentrações. Entretanto, observou-se que a adição de 75% de OC a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiado, após 8 horas de ensaio, foi capaz de eliminar o crescimento bacteriano, evidenciado por uma zona de inibição em quase toda a área da placa. Porém, após 24 horas, a zona de inibição foi

equivalente às concentrações de 25% e 50%. As diferenças na formação do halo de 8 a 24 horas revelam uma perda média de 60% de área de inibição, que levou a uma zona de inibição de 38 mm para 13 mm. Por outro lado, a incorporação de OC à membrana PLDLA/BN não foi capaz de inibir *E. coli* em todas as concentrações testadas.

Através de uma análise comparativa do ensaio microbiológico (Figura 28), observou-se que todas as membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas incorporadas com OC, no período de 8 e 24 horas, apresentaram uma diminuição relativa da atividade antimicrobiana. Segundo Tobouti *et al.*, (2017), as diferentes espécies de *Copaifera* existentes, podem diferir tanto na composição química quanto na efetividade contra os microrganismos. A diminuição da atividade antimicrobiana também pode estar atrelada a rápida ação antibacteriana de extratos vegetais. Santos *et al.* (2008) relatam em seus estudos que o OC, analisado em 3 horas de cultivo, obteve uma efetiva e rápida atividade bactericida contra bactérias gram positivas, seguido de um efeito bacteriostático em até 9 horas de cultura. Os resultados obtidos neste estudo, também corroboram com os achados de Santos *et al.* (2008), uma vez que as membranas co-eletrofiadas com a adição de diferentes concentrações de OC, também apresentaram efeitos bacteriostáticos contra *S. aureus.* O efeito bacteriostático pode ser atribuído ao ácido copálico presente no OC, conforme aponta Pieri *et al*. (2012).

A maior concentração (75%) de OC presente na membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada, também exibiu a formação de uma zona de inibição contra *S. aureus*, após 24 horas de cultura. A atividade antimicrobiana observada, também pode ser associada aos ácidos teicóico e lipoteicóico presentes nas paredes celulares de bactérias gram-positivas. Conforme descrito por Rodrigues *et al.* (2020), tais substâncias são responsáveis por permitir a difusão de compostos hidrofóbicos, como o OC nas células bacterianas, contribuindo para o efeito antimicrobiano e formação de zonas de inibição. Enquanto a resistência contra *E. coli* pode ser atribuída à membrana externa lipopolissacarídica presente nas bactérias gram-negativas, que dificulta a permeabilidade do OC na camada polissacarídica, gerando uma barreira protetora resistente ao óleo vegetal. Corroborando com os resultados obtidos, Rodrigues *et al.* (2020) também avaliaram a atividade antimicrobiana de OC incorporado diretamente em filmes de amido de mangarito e obtiveram uma zona de inibição de 9,75 mm contra *S. aureus*, o qual foi considerado efetivo. Entretanto, outros estudos mostraram que não há um consenso claro relacionado aos níveis aceitáveis de substâncias vegetais na inibição do crescimento bacteriano em comparação com os antibióticos convencionais (Masson *et al.*, 2013). Os resultados obtidos

e discutidos nesta seção, corroboram com os resultados de potencial zeta em relação a atividade bacteriostática e inibitória obtida.

4.2.6 Formação de biofilme analisada por MEV

Imagens de MEV da membrana de PDLA/BN co-eletrofiada sem a incorporação de OC e com 25%, 50% e 75% de OC, após 24 horas de incubação com *S. aureus* são apresentadas na Figura 29.

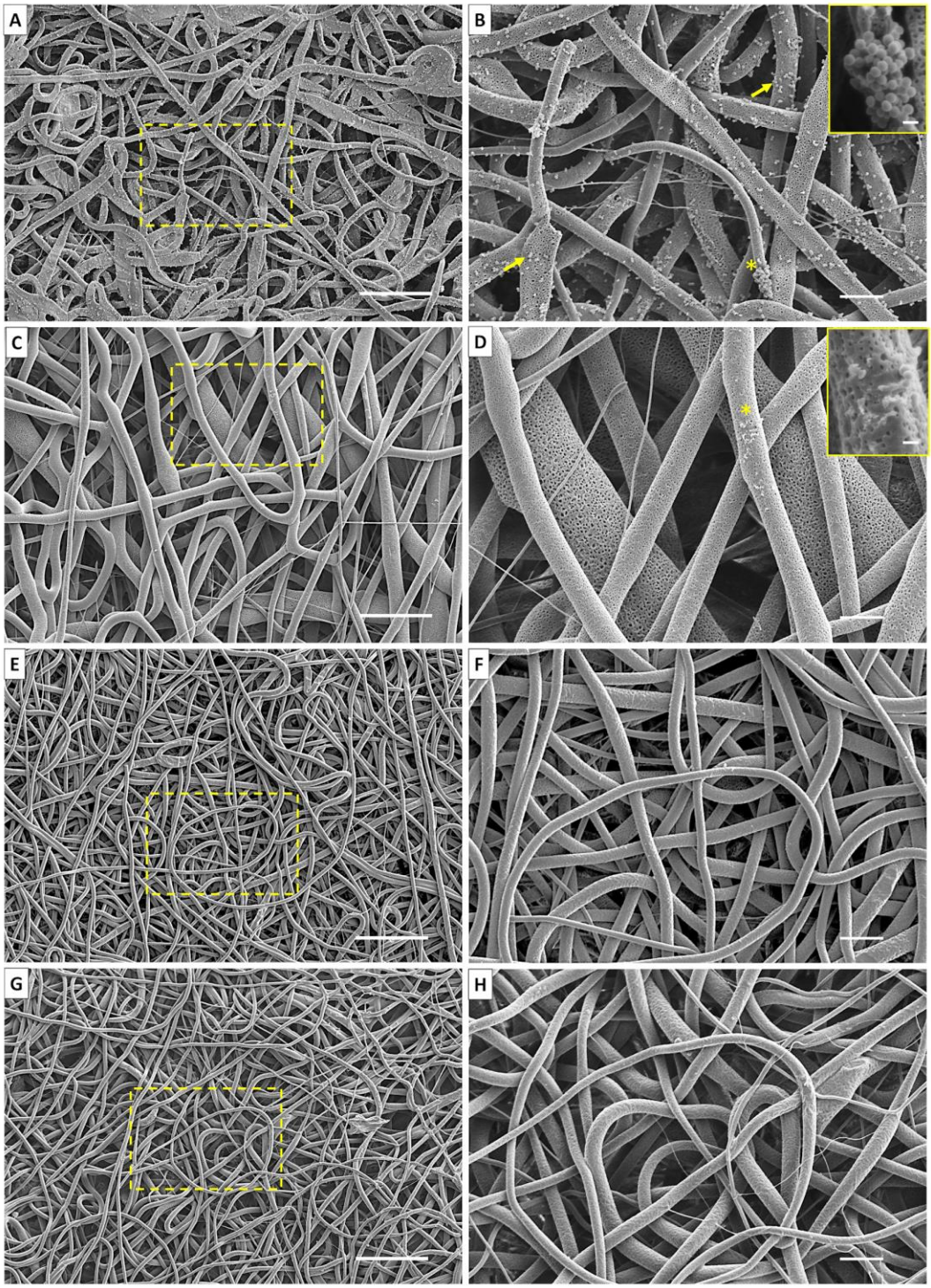

Figura 29. Micrografias obtidas por MEV de membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas expostas a *S. aureus* durante 24h de incubação. **(A)** Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada livre de OC (400x); **(B)** Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada livre de OC (x1200) (com bactérias (indicadas por setas) e colônia (*) indicada na região ampliada (10000x)); **(C)** Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 25% de OC (400x); **(D)** Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 25% de OC (com vestígio de bactérias (*) indicadas na região ampliada (10000x)); **(E)** e **(F)** Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 50% de OC (400 e 1200x); **(G)** e **(H)** Membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 75% de OC (400 e 1200x). Barras: 50, 10 e 1 µm.

A formação de biofilme bacteriano foi observada em toda a superfície da membrana de PLDLA/BN co-eletrofiado sem a presença de OC (Figura 29A e B). A presença de bactérias dispersas ou aglomeradas indica a formação de colônias ao longo das fibras. A *S. aureus* apresentou morfologia esférica típica do coco bacilo, com diâmetro variando de 0,37 a 0,46 µm (±0,072), corroborando com os resultados descritos por Medveďová e Valík (2012). Por outro lado, a incorporação mínima de OC (25%) na membrana co-eletrofiada, acarretou uma diminuição drástica no número de bactérias que poderiam ser aderidas ao longo das fibras (Figura 29C e D). A incorporação de 25% de OC foi capaz de causar danos à parede celular de *S. aureus*, evidenciados por fragmentos bacterianos irregulares amorfos de sua morfologia típica. Entretanto, a incorporação de OC em concentrações maiores (50% e 75%) apresentou efeitos de prevenção da formação de biofilme, pois não foi observada a presença de células bacterianas ao longo das fibras (Figura 29E e H).

Os efeitos bacteriostáticos do OC nas amostras foram claramente identificados por MEV, pois não foram identificados a formação e a presença de colônias bacterianas. O aspecto de eletrofiação observado pela morfologia das fibras mostrou um padrão rico em reentrâncias porosas, aleatoriamente orientadas e interconectadas, o qual permite a troca de moléculas e íons. Tais características geram um microambiente favorável e privilegiado para a colonização de microrganismos patogênicos (Pompa-Monroy *et al.*, 2020). Assim, a incorporação de OC no material co-eletrofiado, criou uma característica importante que pode impedir a formação de nichos microbiológicos durante o período testado.

A prevenção precoce da propagação de potenciais patógenos é uma questão de suma importância nas abordagens clínicas. O uso de curativos bacteriostáticos que possam ser aplicados em áreas lesionadas que geralmente são submetidas à exposição a superfícies contaminadas, como mãos e pés, é um recurso desejável para evitar o crescimento e a colonização de bactérias gram-positivas, que podem levar a uma infecção tardia de um tecido em processo de cicatrização.

4.2.7 Ensaio de cristal violeta

A técnica Cristal Violeta é descrita na literatura para quantificar a formação de biofilme bacteriano, conforme já observado por Shukla e Rao (2017) e apresentado na Figura 30. Após 24 horas de cultura de *S. aureus* em membrana PLDLA/BN co-eletrofiada, observou-se turbidez no grupo controle (membrana PLDLA/BN co-eletrofiada sem óleo) e grupo contendo 25% de OC. O grupo contendo 50 e 75% de OC apresentou visivelmente uma cultura mais translúcida

(Figura 30), que está relacionado diretamente a uma menor quantidade de bactérias, devido à liberação de concentrações de óleo no meio de cultura bacteriana.

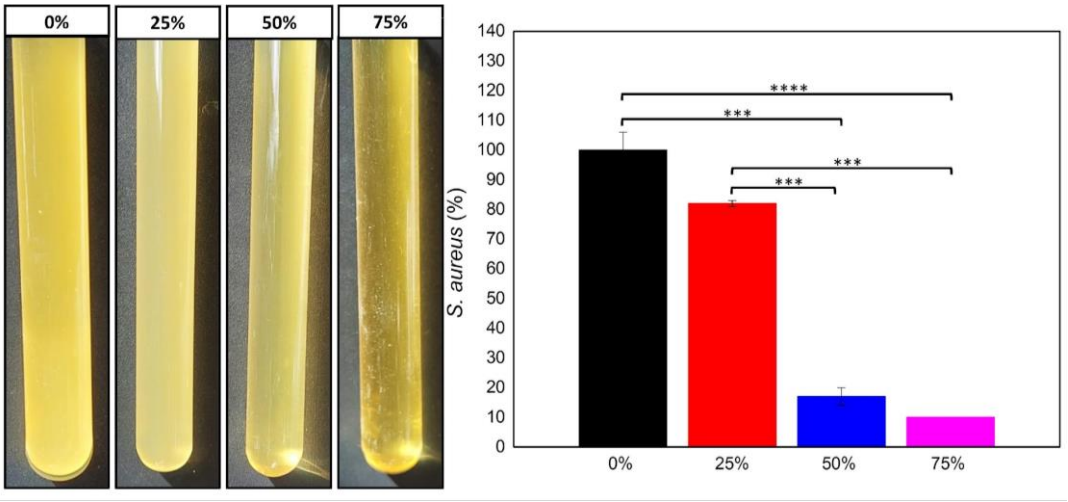

Figura 30. Imagem representativa da turbidez do cultivo de *S. aureus* em membrana co-eletrofiada de PLDLA/BN sem adição de OC (0%) e com a adição de 25, 50 e 75% de OC. Gráfico da análise da coloração com Cristal Violeta, com porcentagem de bactérias presentes na formação de biofilmes nas membranas co-eletrofiadas (PLDLA/BN) e as respectivas concentrações de OC, onde *** é p>0,0001 e **** é p<0,0001.

Os resultados observados no gráfico obtido pela coloração com Cristal Violeta, indicaram que as concentrações de 50% e 75% de OC incorporadas a membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada, inibiram o crescimento bacteriano com uma taxa de permanência viva de 17% e 10%, respectivamente. Enquanto a adição de 25% de OC na membrana co-eletrofiada apresentou uma alta taxa de crescimento bacteriano de biofilme de 82%. Em comparação com as membranas PLDLA/BN co-eletrofiadas sem a incorporação de OC, a alta taxa (82%) detectada na amostra contendo 25% de OC foi considerada uma taxa de crescimento de 100% conforme quantificado pelo ensaio de cristal violeta. Apesar das diferenças marcantes entre as amostras sem a incorporação de óleo (0%), 50% e 75% de OC obtidas neste ensaio, as bactérias remanescentes não foram capazes de colonizar a superfície das membranas de PLDLA/BN co-eletrofiadas conforme observado por MEV. A membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada com adição de 25% de OC também apresentou essa diferença quando comparada com as maiores porcentagens de OC. Isso mostra que a presença de OC em concentrações mais altas, especialmente com 75%, resultou em menor formação de biofilme na membrana de PLDLA/BN co-eletrofiada, assim como nos resultados obtidos pelo antibiograma e pelas micrografias de MEV.

Deste modo, o ensaio de Cristal Violeta demonstrou que a presença e a liberação de OC na membrana co-eletrofiada foi eficiente na inibição de bactérias cultivadas em caldo BHI, após

24 horas, de acordo com a Escala Nefelométrica de MC Farland. De acordo com estudos de Zapata e Arcos (2015), a turbidez da cultura bacteriana está associada à concentração de bactérias presentes no meio, com base na escala de McFarland, uma vez que a turbidez do meio é alterada com a presença de bactérias. Este fato expressa a eficácia tanto na liberação quanto na capacidade bactericida do OC no meio de cultura. Segundo Guimarães *et al*. (2016), o OC tem capacidade bactericida para a espécie *S. aureus*, na concentração de aproximadamente 0,3125 mg/mL, impedindo a atividade de crescimento.

Comparando todos os resultados microbiológicos, observou-se uma dose dependente da inibição da formação de biofilme, evidenciada nos resultados obtidos através do Cristal Violeta quando comparado ao MEV e ao antibiograma. Por outro lado, a correlação direta do perfil de liberação, com maior ou menor inibição bacteriana, não pôde ser realizada com uma comparação confiável devido à distribuição de liberação relativamente igual ao longo do tempo analisado. Portanto, os resultados comprovam que a membrana co-eletrofiada permite a difusão do OC, favorecendo a inibição da atividade bacteriana.

5 CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que a técnica de co-eletrofiação de PLDLA com diferentes concentrações de BN produziu membranas fibrosas com propriedades adequadas para aplicações em curativos dérmicos. A análise multifacetada revelou a presença de BN nas membranas e indicou uma melhoria na estabilidade térmica e na compatibilidade dos componentes, especialmente na amostra de PLDLA + 1,5% BN, que apresentou baixa citotoxicidade, boa biocompatibilidade, elasticidade e moderada hidrofobicidade, características essenciais para curativos flexíveis e adaptáveis. Foi observado um efeito antimicrobiano significativo das membranas co-eletrofiadas (PLDLA/BN) com 75% de OC contra *S. aureus*, demonstrando a capacidade dessas membranas de prevenir a formação de biofilme, tornando-as promissoras para a profilaxia terapêutica e prevenção de infecções bacterianas. Essas descobertas indicam que as membranas co-eletrofiadas de PLDLA/BN/OC possuem um grande potencial para atuar no tratamento de feridas ocasionadas por queimaduras, uma vez que se mostraram promissoras na prevenção de infecções, consolidando seu potencial como curativo avançado.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para dar continuidade a este trabalho propomos:

1. A realização de teste de biocompatibilidade *in vitro* das membranas eletrofiadas por PLDLA + 1,5% BN incorporada com 25%, 50% e 75% de OC;
2. Ensaio de cicatrização de feridas *in vitro* da membrana de PLDLA + 1,5% BN e da mesma incorporada com 25%, 50% e 75% de OC.
3. Ensaio *in vivo* em modelos de queimaduras de segundo grau realizados em camundongos, para investigação do reparo tecidual, bem como o tempo de cicatrização baseadas na resposta biológica do organismo após o tratamento com a membrana co-eletrofiada por PLDLA + 1,5% BN e da mesma incorporada com OC.

Destacamos que os experimentos sugeridos no item 3 requer envolvimento da aprovação do comitê de ética da instituição para a realização dos ensaios em animais.

REFERÊNCIAS

ABBASIAN, M. *et al.* Scaffolding polymeric biomaterials: Are naturally occurring biological macromolecules more appropriate for tissue engineering. **International journal of biological macromolecules**, v. 134, p. 673-694, 2019.

ABDO, J. M.; SOPKO, N. A.; MILNER, S. M. The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. **Wound Medicine**, v. 28, p. 100179, 2020.

ABRAHAM, J. P. *et al*. Skin burns. **Theory and Applications of Heat Transfer in Humans**, v. 2, p. 723-739, 2018.

AHMADI, S. *et al*. Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity. **International journal of biological macromolecules**, v. 173, p. 580-590, 2021.

AL-BAADANI, M. A. *et al*. Co-electrospinning polycaprolactone/gelatin membrane as a tunable drug delivery system for bone tissue regeneration. **Materials & Design**, v. 209, p. 109962, 2021.

ALVES, P. E. *et al*. Controlled delivery of dexamethasone and betamethasone from PLA electrospun fibers: A comparative study. **European Polymer Journal**, v. 117, p. 1-9, 2019.

ALVES, T. *et al*. Formulation and evaluation of thermoresponsive polymeric blend as a vaginal controlled delivery system. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 86, p. 536-552, 2018.

ANAMI, E. HT *et al*. Treatment costs of burn victims in a university hospital. **Burns**, v. 43, n. 2, p. 350-356, 2017.

ANDRADE, K. L. *et al*. Latex and natural rubber: processing techniques for biomedical applications. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, p. 1-15, 2023.

ANDRADE, K. L. *et al.* Wettability tuning of natural rubber/polyvinylpyrrolidone electrospun nonwoven mats. **Surfaces and Interfaces**, v. 32, p. 102129, 2022.

ANGEL, N. *et al*. Recent advances in electrospinning of nanofibers from bio-based carbohydrate polymers and their applications. **Trends in Food Science & Technology**, 2022.

ARDEKANI, N. T. *et al*. Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with Zataria multiflora essential oil as potential wound dressing. **International journal of biological macromolecules**, v. 125, p. 743-750, 2019.

ARDEKANI-ZADEH, A. H.; HOSSEINI, S. F. Electrospun essential oil-doped chitosan/poly (ε-caprolactone) hybrid nanofibrous mats for antimicrobial food biopackaging exploits. **Carbohydr. Polym.**, 223, 115108, 2019.

ARIYAWIRIYANAN, W. *et al*. The mechanical properties of vulcanized deproteinized natural rubber. **Energy Procedia**, v. 34, p. 728-733, 2013.

ASAMI, J. *et al.* The impact of non-deproteinization on physicochemical and biological properties of natural rubber latex for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, p. 126782, 2023.

ASHRAF, S. S. *et al*. Fabrication and characterization of biaxially electrospun collagen/alginate nanofibers, improved with Rhodotorula mucilaginosa sp. GUMS16 produced exopolysaccharides for wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 196, p. 194-203, 2022.

ASTM D882: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, ASTM Stand., 12 P. (2012).

ASTM F813-20., Standard practice for direct contact cell culture evaluation of materials for medical devices, Ann. B. ASTM Stand. 07(Reapproved 2012):5-8 (2011).

AUGUSTINE, R. *et al*. Stromal cell-derived factor loaded co-electrospun hydrophilic/hydrophobic bicomponent membranes for wound protection and healing. **RSC advances**, v. 11, n. 1, p. 572-583, 2021.

AZARIAN, M. H.; BOOCHATHUM, P.; KONGSEMA, M. Biocompatibility and biodegradability of filler encapsulated chloroacetated natural rubber/polyvinyl alcohol nanofiber for wound dressing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 103, p. 109829, 2019.

BARROS, N. R. *et al*. Highly absorptive dressing composed of natural latex loaded with alginate for exudate control and healing of diabetic wounds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 119, p. 111589, 2021.

BARROS, N. R. *et al.* Natural latex-glycerol dressing to reduce nipple pain and healing the skin in breastfeeding women. **Skin Research and Technology**, v. 25, n. 4, p. 461-468, 2018.

BECKER, G. *et al*. Copaiba oleoresin has topical antinociceptive activity in a UVB radiation-induced skin-burn model in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 250, p. 112476, 2020.

BHAIYA, S.; KANUGO, A. Recent Advances of Electrospun Polymeric Nanofibers in Drug Delivery System. **target**, v. 2, p. 3, 2023.

BIJARIMI, M.; AHMAD, S.; RASID, R. Mechanical, thermal and morphological properties of poly (lactic acid)/epoxidized natural rubber blends. **Journal of Elastomers & Plastics**, v. 46, n. 4, p. 338-354, 2014.

BIOMATERIALS, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/biomaterials>. Acesso em: 12 de maio de 2023.

BISWAL, T.; BADJENA, S. K.; PRADHAN, D. Sustainable biomaterials and their applications: A short review. **Materials Today: Proceedings**, v. 30, p. 274-282, 2020.

BLOME-EBERWEIN, S. A. *et al.* A bio-degradable synthetic membrane to treat superficial and deep second degree burn wounds in adults and children–4 year experience. **Burns**, v. 47, n. 4, p. 838-846, 2021.

BONI, R. *et al*. Current and novel polymeric biomaterials for neural tissue engineering. **Journal of biomedical science**, v. 25, n. 1, p. 1-21, 2018.

BORGES, F. A. *et al.* Natural rubber latex coated with calcium phosphate for biomedical application. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 26, n. 17, p. 1256-1268, 2015.

BRASSOLATTI, P. *et al*. Photobiomodulation and bacterial cellulose membrane in the treatment of third-degree burns in rats. **Journal of tissue viability**, v. 27, n. 4, p. 249-256, 2018.

BROWN, T. M.; KRISHNAMURTHY, K. Histology, dermis. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2021. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/

BULBUL, Y. E. *et al*. Development of PCL/PEO electrospun fibrous membranes blended with silane-modified halloysite nanotube as a curcumin release system. **Applied Clay Science**, v. 186, p. 105430, 2020.

CAI, K. *et al*. Surface functionalized titanium thin films: zeta-potential, protein adsorption and cell proliferation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 50, n. 1, p. 1-8, 2006.

CANEVAROLO JR., S. V. Técnicas de Caracterização de Polímeros. São Paulo: Artiliber, 2017.

CARAZZAI, R. *et al*. Electrospun natural rubber latex biocomposite for *scaffolds* in tissue engineering. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 36, n. 5, p. 351-364, 2021.

CARVALHO, B. D. P. *et al.* Perfil epidemiológico de pacientes vítimas de queimadura atendidos em um hospital público de urgência do estado de Goiás. **Rev Bras Queimaduras**, v. 18, n. 3, p. 167-72, 2019.

CHAGANTI, P. *et al*. A systematic review of foam dressings for partial thickness burns. **The American Journal of Emergency Medicine**, v. 37, n. 6, p. 1184-1190, 2019.

CHAGAS, P. AM *et al.* Bilayered electrospun membranes composed of poly (lactic-acid)/natural rubber: A strategy against curcumin photodegradation for wound dressing application. **Reactive and Functional Polymers**, v. 163, p. 104889, 2021.

CHEN, Y. *et al*. Electrospun thymol-loaded porous cellulose acetate fibers with potential biomedical applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 109, p. 110536, 2020.

CHENG, Lu et al. Stereocomplex-affected crystallization behaviour of PDLA in PDLA/PLDLA blends. **CrystEngComm**, v. 21, n. 2, p. 329-338, 2019.

CIFRIADI, A.; CHALID, M.; PUSPITASARI, S. Effect of urea deproteinization on catalytic hydrogenation of natural rubber latex. **In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.** IOP Publishing, 2017.

COSME, J. GL *et al*. Development of biobased poly (lactic acid)/epoxidized natural rubber blends processed by electrospinning: Morphological, structural and thermal properties. **Materials Sciences and Applications**, v. 7, n. 4, p. 210-219, 2016.

COSTA, L. M. M.; MATTOSO, L. H. C.; FERREIRA, M. Electrospinning of PCL/natural rubber blends. **Journal of materials science**, v. 48, n. 24, p. 8501-8508, 2013.

DARONCH, Oona Tomiê *et al*. Análise de pacientes idosos internados por queimaduras no Brasil. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 38, n. 4, p. e0762, 2023.

DEBONE, H. S. *et al.* Chitosan/Copaiba oleoresin films for would dressing application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 555, p. 146-152, 2019.

DI CRISTO, F. *et al.* Polylactic acid/poly (vinylpyrrolidone) co-electrospun fibrous membrane as a tunable quercetin delivery platform for diabetic wounds. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 3, p. 805, 2023.

DIAS, F. G. G. *et al.* Topical formulations containing Copaifera duckei Dwyer oleoresin improve cutaneous wound healing. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 11, n. 2, p. 120, 2021.

DICK, T. A.; SANTOS, L. A dos. *In situ* synthesis and characterization of hydroxyapatite/natural rubber composites for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 874-882, 2017.

DING, J. *et al*. Electrospun polymer biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 90, p. 1-34, 2019.

DOOSTAN, M. *et al.* Co-electrospun poly (vinyl alcohol)/poly (ε-caprolactone) nanofiber scaffolds containing coffee and *Calendula officinalis* extracts for wound healing applications. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 37, n. 6, p. 437-452, 2022.

DOOSTMOHAMMADI, M.; FOROOTANFAR, H.; RAMAKRISHNA, S. Regenerative medicine and drug delivery: Progress via electrospun biomaterials. **Materials Science and Engineering: C**, v. 109, p. 110521, 2020.

DUARTE, M. A. T.; DUEK, E. A. de R.; MOTTA, A. C. *In vitro* degradation of poly(L-co-D, L lactic acid) containing PCL-T. **Polímeros**, v. 24, p. 1-8, 2014.

EDIKRESNHA, Dhewa *et al*. Polyvinylpyrrolidone/cellulose acetate electrospun composite nanofibres loaded by glycerine and garlic extract with *in vitro* antibacterial activity and release behaviour test. **RSC advances**, v. 9, n. 45, p. 26351-26363, 2019.

EĞRI, Özlem; ERDEMIR, Name. Production of Hypericum perforatum oil-loaded membranes for wound dressing material and *in vitro* tests. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 47, n. 1, p. 1404-1415, 2019.

EROL, S., U. ALTOPARLAK, M. N. AKCAY, F. CELEBI, AND M. PARLAK. 2004. Changes of microbial flora and wound colonization in burned patients. **Burns**, v.30, p.357-361, 2004.

ESKANDARLOU, M. *et al.* The healing effect of amniotic membrane in burn patients. **World journal of plastic surgery**, v. 5, n. 1, p. 39, 2016.

FESTAS, A. J.; RAMOS, A.; DAVIM, J. P. Medical devices biomaterials–A review. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications**, v. 234, n. 1, p. 218-228, 2020.

FLORIANO, J. F. *et al*. Ketoprofen loaded in natural rubber latex transdermal patch for tendinitis treatment. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, p. 2281-2289, 2018.

FRONE, A. N. *et al*. Bio-Based Poly (lactic acid)/Poly (butylene sebacate) Blends with Improved Toughness. **Polymers**, v. 14, n. 19, p. 3998, 2022.

GACTO-SANCHEZ, P. Surgical treatment and management of the severely burn patient: Review and update. **Medicina Intensiva (English Edition)**, v. 41, n. 6, p. 356-364, 2017.

GARCIA, C. S. C. *et al*. Natural rubber films incorporated with red propolis and silver nanoparticles aimed for occlusive dressing application. **Materials Research**, v. 24, 2021.

GE, X. *et al*. Integrity and zeta potential of fluoridated hydroxyapatite nanothick coatings for biomedical applications. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 4, n. 7, p. 1046-1056, 2011.

GHASEMI-MOBARAKEH, L. *et al.* Key terminology in biomaterials and biocompatibility. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 10, p. 45-50, 2019.

GHOMI, E. R. *et al.* Wound dressings: Current advances and future directions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 27, p. 47738, 2019.

GRAÇA, M. FP *et al.* Electrospun asymmetric membranes as promising wound dressings: A review. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 183, 2021.

GRUPPUSO, M. *et al.* Polymeric wound dressings, an insight into polysaccharide-based electrospun membranes. **Applied Materials Today**, v. 24, p. 101148, 2021.

GSIB, O. *et al.* FibriDerm: Interpenetrated fibrin scaffolds for the construction of human skin equivalents for full thickness burns. **Irbm**, v. 39, n. 2, p. 103-108, 2018.

GU, Shu-Ying *et al.* Electrospinning of gelatin and gelatin/poly (l-lactide) blend and its characteristics for wound dressing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 6, p. 1822-1828, 2009.

GU, Z. *et al.* Preparation of chitosan/silk fibroin blending membrane fixed with alginate dialdehyde for wound dressing. **International journal of biological macromolecules**, v. 58, p. 121-126, 2013.

GUAN, Y. *et al*. Silk fibroin hydrogel promote burn wound healing through regulating TLN1 expression and affecting cell adhesion and migration. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, p. 1-11, 2020.

GUERRA, N. B. *et al.* Biomedical applications of natural rubber latex from the rubber tree *Hevea brasiliensis*. **Materials Science and Engineering: C**, v. 126, p. 112126, 2021.

GUERRA, N. B. *et al.* Chemical and *in vitro* characterization of epoxidized natural rubber blends for biomedical applications. **Journal of Polymer Research**, v. 25, n. 8, p. 1-9, 2018.

GUIMARÃES, A. L. *et al*. Antimicrobial Activity of Copaiba (*Copaifera officinalis*) and Pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) Oils against *Staphylococcus Aureus*: Importance in Compounding for Wound Care. **International journal of pharmaceutical compounding**, v. 20, n. 1, p. 58-62, 2016.

GUO S, DIPIETRO L.A. Factors affecting wound healing. **J Dent.Res**, v.89(3), p.219–229, 2010.

HADISI, Z. *et al.* Hyaluronic acid (HA)-based silk fibroin/zinc oxide core–shell electrospun dressing for burn wound management. **Macromolecular bioscience**, v. 20, n. 4, p. 1900328, 2020.

HICKS, K. E. *et al.* Dermal regenerative matrix use in burn patients: A systematic review. **Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery**, v. 72, n. 11, p. 1741-1751, 2019.

HIVECHI, A. *et al*. *In vitro* and *in vivo* studies of biaxially electrospun poly (caprolactone)/gelatin nanofibers, reinforced with cellulose nanocrystals, for wound healing applications. Cellulose, v. 27, p. 5179-5196, 2020.

HOVEIZI, E. *et al.* Functionalisation and surface modification of electrospun polylactic acid scaffold for tissue engineering. **Cell biology international**, v. 38, n. 1, p. 41-49, 2014.

HUANGFU, Y. *et al.* Skin-adaptable, long-lasting moisture, and temperature-tolerant hydrogel dressings for accelerating burn wound healing without secondary damage. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 50, p. 59695-59707, 2021.

HUDECKI, A.; KIRYCZYŃSKI, G.; ŁOS, M. J. Biomaterials, definition, overview. In: Stem cells and biomaterials for regenerative medicine. **Academic Press**, p. 85-98, 2019.

ILLNER, S. *et al.* Tissue biomimicry using cross-linked electrospun nonwoven fibre composites. **Current Directions in Biomedical Engineering**, v. 5, n. 1, p. 119-122, 2019.

ISO 10993-12 (E): Biological evaluation of medical devices. Part 12: Sample preparation and reference materials, (2012).

ISO 10993-5 (E): Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: *in vitro* methods, (2009).

JAHROMI, M. A. M. *et al*. Nanomedicine and advanced technologies for burns: Preventing infection and facilitating wound healing. **Advanced drug delivery reviews**, v. 123, p. 33-64, 2018.

KALAYCIOĞLU, Z. *et al.* Antibacterial nano cerium oxide/chitosan/cellulose acetate composite films as potential wound dressing. **European Polymer Journal**, v. 133, p. 109777, 2020.

KANIUK, Ł. *et al*. Time-dependent effects on physicochemical and surface properties of PHBV fibers and films in relation to their interactions with fibroblasts. **Applied Surface Science**, v. 545, p. 148983, 2021.

KARUPPANNAN, S. K. *et al.* Copper oxide nanoparticles infused electrospun polycaprolactone/gelatin scaffold as an antibacterial wound dressing. **Materials Letters**, v. 294, p. 129787, 2021.

KEMPPI, H. *et al*. Design and development of poly-L/D-lactide copolymer and barium titanate nanoparticle 3D composite scaffolds using breath figure method for tissue engineering applications. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 199, p. 111530, 2021.

KINOSHITA, M. *et al.* Biocomposites composed of natural rubber latex and cartilage tissue derived from human mesenchymal stem cells. **Materials Today Chemistry**, v. 12, p. 315-323, 2019.

KOMATSU, D. *et al.* Alternative Cutaneous Substitutes Based on Poly (l-co-d, l-lactic acid-co-trimethylene carbonate) with Schinus terebinthifolius Raddi Extract Designed for Skin Healing. **Acs Omega**, v. 4, n. 19, p. 18317-18326, 2019.

KOMATSU, D. *et al.* Development of a membrane of poly (L-co-D, L lactic acid-co-trimethylene carbonate) with aloe vera: an alternative biomaterial designed to improve skin healing. **Journal of biomaterials applications**, v. 32, n. 3, p. 311-320, 2017.

KONG, D. *et al.* Adhesion loss mechanism based on carboxymethyl cellulose-filled hydrocolloid dressings in physiological wounds environment. **Carbohydrate polymers**, v. 235, p. 115953, 2020.

KRUPP, T. *et al*. Natural rubber-propolis membrane improves wound healing in second-degree burning model. **International journal of biological macromolecules**, v. 131, p. 980-988, 2019.

KULYAR, M. Fakhar-e-Alam *et al*. Enhanced healing activity of manuka honey and nitrofurazone composite in full-thickness burn wounds in the rabbit model. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 422, 2022.

KWAK, M. H. *et al*. Bacterial cellulose membrane produced by Acetobacter sp. A10 for burn wound dressing applications. **Carbohydrate polymers**, v. 122, p. 387-398, 2015.

LANG, T.C.; ZHAO, R.; KIM, A.; WIJEWARDENA, A.; VANDERVORD, J.; XUE, M.; JACKSON, C.J. A Critical Update of the Assessment and Acute Management of Patients with Severe Burns. **Adv. Wound Care**,v. 8, p.607–633, 2019.

LEAL, C. V. *et al.* Characterization and *in vitro* evaluation of electrospun aligned-fiber membranes of poly (l-co-d, l-lactic acid). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 24, p. 47657, 2019.

LEANDRO, L. M. *et al.* Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera spp.*) oleoresins. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3866-3889, 2012.

LENCOVA, S. *et al*. Bacterial Biofilms on Polyamide Nanofibers: Factors Influencing Biofilm Formation and Evaluation. **Appl. Mater. Interfaces**, v. 13, p. 2277-2288, 2021.

LIANG, Y. *et al.* Antibacterial biomaterials for skin wound dressing. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2022.

LÓPEZ-MUÑOZ, R. *et al*. Preparation and release behavior of poly(methyl methacrylate-co-methacrylic acid)-based electrospun nanofibrous mats loaded with doxorubicin. **Polymer Bulletin**, p. 1-20, 2022.

LUO, J. *et al.* Co-electrospun nano-/microfibrous composite scaffolds with structural and chemical gradients for bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 119, p. 111622, 2021.

MAILLARD, A. PV F. *et al*. Zeta potential beyond materials science: Applications to bacterial systems and to the development of novel antimicrobials. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1863, n. 6, p. 183597, 2021.

MAINARDES, R. M.; KHALIL, N. M.; GREMIÃO, M. P. D. Intranasal delivery of zidovudine by PLA and PLA–PEG blend nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 395, n. 1-2, p. 266-271, 2010.

MAITZ, M. F. Applications of synthetic polymers in clinical medicine. **Biosurface and Biotribology**, v. 1, n. 3, p. 161-176, 2015.

MALHOTRA, R. *et al.* A Comparison of Bacterial Adhesion and Biofilm Formation on Commonly Used Orthopaedic Metal Implant Meterials: An *In vitro* Study. **Indian J Ortho**, v. 53, p. 148-153, 2019.

MANI, M. P. *et al*. Sustainable electrospun materials with enhanced blood compatibility for wound healing applications–a mini review. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, p. 100457, 2023.

MARCATTO, V. A. *et al*. 3D printed-polylactic acid scaffolds coated with natural rubber latex for biomedical application. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 139, n. 9, p. 51728, 2022.

MARKIEWICZ-GOSPODAREK, A. *et al.* Burn wound healing: clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: the current state of knowledge for clinical practice. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 3, p. 1338, 2022.

MARQUES, D. R. *et al*. *In vitro* evaluation of poly(lactic-co-glycolic acid)/polyisoprene fibers for soft tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 105, n. 8, p. 2581-2591, 2016.

MARTIN, N. A.; FALDER, S. A review of the evidence for threshold of burn injury. **Burns**, v. 43, n. 8, p. 1624-1639, 2017.

MÁS, B. A. *et al*. Biological evaluation of PLDLA polymer synthesized as construct on bone tissue engineering application. *Materials Research*, v. 19, p. 300-307, 2016.

MASSON, D. S. *et al*. Antimicrobial activity of copaíba (*Copaifera langsdorffii*) oleoresin on bacteria of clinical significance in cutaneous wounds. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, p. 664-669, 2013.

MEDVEĎOVÁ, A.; VALÍK. *Staphylococcus aureus*: Characterisation and quantitative growth description in milk and artisanal raw milk cheese production. **Structure and function of food engineering**, p. 71-102, 2012.

MEKONNEN, T. H. *et al*. Investigation of the co-coagulation of natural rubber latex and cellulose nanocrystals aqueous dispersion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 583, 2019.

MESSIAS, A. D. *et al*. Synthesis, Characterization, and Osteoblastic Cell Culture of Poly (L-co-D, L-lactide-co-trimethylene carbonate) Scaffolds. **International Journal of Biomaterials**, v. 2014, 2014.

MIGUEL, S. P. *et al*. Production and characterization of electrospun silk fibroin based asymmetric membranes for wound dressing applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 121, p. 524-535, 2019.

MOHSENI, M. *et al.* Antimicrobial wound dressing containing silver sulfadiazine with high biocompatibility: *in vitro* study. **Artificial organs**, v. 40, n. 8, p. 765-773, 2016.

MONTOYA, Y. *et al.* Effect of sequential electrospinning and co-electrospinning on morphological and fluid mechanical wall properties of polycaprolactone and bovine gelatin scaffolds, for potential use in small diameter vascular grafts. **Biomaterials Research**, v. 25, p. 1-17, 2021.

MOOLSIN, Supat *et al.* Deproteinized natural rubber film reinforced with silane-modified silica nanoparticles. **Journal of Elastomers & Plastics**, v. 53, n. 1, p. 31-47, 2021.

MOONPRASITH, N. *et al*. Deproteinization of nonammonia and ammonia natural rubber latices by ethylenediaminetetraacetic acid. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2017, 2017.

MORELLI, C. L. *et al.* Natural copaiba oil as antibacterial agent for bio-based active packaging. **Industrial crops and products**, v. 70, p. 134-141, 2015.

MORISE, B. T. *et al*. Scopolamine loaded in natural rubber latex as a future transdermal patch for sialorrhea treatment. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 68, n. 13, p. 788-795, 2019.

MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. Estudo inicial da degradação "*in vitro*" de poli (L-co-DL ácido lático) sintetizado em laboratório. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 13, p. 429-438, 2008.

MOTTA, A. C.; DUEK, E. A.R. Synthesis and characterization of a novel terpolymer based on L-lactide, D, L-lactide and trimethylene carbonate. Materials Research, v. 17, p. 619-626, 2014.

MOTTA, Adriana C.; DUEK, Eliana AR. Síntese e caracterização do copolímero poli (L-co-D, L Ácido Láctico). **Polímeros**, v. 17, p. 123-129, 2007.

MOURO, C.; GOMES, A. P.; GOUVEIA, I. C. Double-layer PLLA/PEO_Chitosan nanofibrous mats containing Hypericum perforatum L. as an effective approach for wound treatment. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 32, n. 4, p. 1493-1506, 2021.

MUNIYANDI, P. *et al*. ECM mimetic electrospun porous poly(l-lactic acid)(PLLA) *scaffolds* as potential substrates for cardiac tissue engineering. **Polymers**, v. 12, n. 2, p. 451, 2020.

NARA, Saori; OYAMA, Hideko T. Effects of partial miscibility on the structure and properties of novel high performance blends composed of poly (p-phenylene sulfide) and poly (phenylsulfone). **Polymer Journal**, v. 46, n. 9, p. 568-575, 2014.

NEJATI, S. *et al.* Development of an oxygen-releasing electroconductive in-situ crosslinkable hydrogel based on oxidized pectin and grafted gelatin for tissue engineering applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, p. 111347, 2020.

NICULESCU, A-G; GRUMEZESCU, A. M. An up-to-date review of biomaterials application in wound management. **Polymers**, v. 14, n. 3, p. 421, 2022.

NIMIA, H. H. *et al.* Comparative study of Silver Sulfadiazine with other materials for healing and infection prevention in burns: A systematic review and meta-analysis. **Burns**, v. 45, n. 2, p. 282-292, 2019.

NORCINO, L. B. *et al.* Pectin films loaded with copaiba oil nanoemulsions for potential use as bio-based active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 106, p. 105862, 2020.

OKUR, N. Ü. *et al.* An alternative approach to wound healing field; new composite films from natural polymers for mupirocin dermal delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 5, p. 738-752, 2019.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Burns (2018, 6 de março). Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns. Acesso em: 12 de abril de 2023.

OUYANG, Qian-Qian *et al.* Chitosan hydrogel in combination with marine peptides from tilapia for burns healing. International journal of biological macromolecules, v. 112, p. 1191-1198, 2018.

PADJASEK, M. *et al*. PLDLA/TPU Matrix Enriched with Cyclosporine A as a Therapeutic Platform for Immune-Mediated Keratitis (IMMK) in Horses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5735, 2023.

PAIVA, M. B. de *et al*. Latex–collagen membrane: an alternative treatment for tibial bone defects. **Journal of Materials Science**, p. 1-23, 2022.

PALADINI, F.; POLLINI, M. Antimicrobial silver nanoparticles for wound healing application: progress and future trends. **Materials**, v. 12, n. 16, p. 2540, 2019.

PANICHPAKDEE, J. *et al*. Electrospinning of natural rubber latex-blended polyvinyl alcohol. **Materials Today: Proceedings**, v. 17, p. 2020-2027, 2019.

PARANHOS, S. B. *et al*. Chitosan Membrane Containing Copaiba Oil (*Copaifera spp.*) for Skin Wound Treatment. **Polymers**, v. 14, n. 1, p. 35, 2022.

PARTHENIADIS, I. *et al.* A mini-review: Needleless electrospinning of nanofibers for pharmaceutical and biomedical applications. **Processes**, v. 8, n. 6, p. 673, 2020.

PEREIRA, G. G. *et al.* Polymeric films loaded with vitamin E and Aloe vera for topical application in the treatment of burn wounds. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

PHAN, Duy-Nam *et al.* Investigation of mechanical, chemical, and antibacterial properties of electrospun cellulose-based scaffolds containing orange essential oil and silver nanoparticles. **Polymers**, v. 14, n. 1, p. 85, 2021.

PIERI, F. A. *et al.* Bacteriostatic effect of copaiba oil (*Copaifera officinalis*) against Streptococcus mutans. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, p. 36-38, 2012.

PINTO, E. P. *et al*. Copaiba essential oil loaded-nanocapsules film as a potential candidate for treating skin disorders: preparation, characterization, and antibacterial properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 633, p. 122608, 2023.

POMPA-MONROY, D. A. *et al*. Bacterial biofilm formation using pcl/curcumin electrospun fibers and its potential use for biotechnological applications. **Materials**, v. 13, n. 23, p. 5556, 2020.

PONGSATHIT, S.; PATTAMAPROM, C. Irradiation grafting of natural rubber latex with maleic anhydride and its compatibilization of poly (lactic acid)/natural rubber blends. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 144, p. 13-20, 2018.

QUEVEDO, B. V. *et al.* Synthesis of epoxidized natural rubber grafted with hyaluronic acid for the development of biomaterials. International Journal of Biological Macromolecules, v. 244, p. 125359, 2023.

RAFIEIAN, S.; MAHDAVI, H.; MASOUMI, M. E. Improved mechanical, physical and biological properties of chitosan films using Aloe vera and electrospun PVA nanofibers for wound dressing applications. **Journal of Industrial Textiles**, v. 50, n. 9, p. 1456-1474, 2021.

RAHMATI, M. *et al*. Electrospinning for tissue engineering applications. **Progress in Materials Science**, v. 117, p. 100721, 2021.

RANJBAR-MOHAMMADI, M. *et al*. Designing hybrid nanofibers based on keratin-poly (vinyl alcohol) and poly (Ɛ-caprolactone) for application as wound dressing. Journal of Industrial Textiles, v. 51, n. 1, p. 1729S-1949S, 2022.

RÂPĂ, M. *et al.* Bioactive collagen hydrolysate-chitosan/essential oil electrospun nanofibers designed for medical wound dressings. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, p. 1939, 2021.

RODRIGUES, G. de M. *et al*. Antimicrobial activity and gc-ms profile of copaiba oil for incorporation into xanthosoma mafaffa schott starch-based films. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 2883, 2020.

RODRIGUES, V. M. *et al*. Copaiba Oil-Loaded Polymeric Nanocapsules: Production and *In Vitro* Biosafety Evaluation on Lung Cells as a Pre-Formulation Step to Produce Phytotherapeutic Medicine. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 161, 2023.

ROLERE, S. *et al*. Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. **Polymer Testing**, v. 43, p. 83-93, 2015.

SAAVEDRA, P. AE *et al.* Burns in the Brazilian Unified Health System: a review of hospitalization from 2008 to 2017. **International journal of burns and trauma**, v. 9, n. 5, p. 88, 2019.

SADEGHIANMARYAN, A. *et al*. Electrospinning of scaffolds from the polycaprolactone/polyurethane composite with graphene oxide for skin tissue engineering. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 191, p. 567-578, 2020.

SAJJAD, W. *et al.* Fabrication of bacterial cellulose-curcumin nanocomposite as a novel dressing for partial thickness skin burn. Frontiers in bioengineering and biotechnology, v. 8, p. 553037, 2020.

SALAMI, M. S. *et al*. Co-electrospun nanofibrous mats loaded with bitter gourd (Momordica charantia) extract as the wound dressing materials: *in vitro* and *in vivo* study. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 21, p. 1-12, 2021.

SAMADIAN, H. et al. Natural polymers-based light-induced hydrogels: Promising biomaterials for biomedical applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 420, 2020.

SANTIAGO, K. B. *et al.* Immunomodulatory action of *Copaifera spp* oleoresins on cytokine production by human monocytes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 70, p. 12-18, 2015.

SANTOS, A. L. dos *et al*. Preparation of porous poly(lactic acid) fibers by medium field electrospinning for tissue engineering applications. **Materials Research**, v. 23, 2020.

SANTOS, A. O. dos et al. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the Copaifera genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 277-281, 2008.

SCAFFARO, R. *et al.* PLA graphene nanoplatelets nanocomposites: Physical properties and release kinetics of an antimicrobial agent. **Composites Part B: Engineering**, v. 109, p. 138-146, 2017.

SCAFFARO, R.; LOPRESTI, F. Processing, structure, property relationships and release kinetics of electrospun PLA/Carvacrol membranes. **European Polymer Journal**, v. 100, p. 165-171, 2018.

SENA, C. N.; BRANDÃO, M. L. Curativos em queimaduras: Revisão da prática brasileira. **Rev Bras Queimaduras**, v. 20, n. 1, p. 53-9, 2021.

SENSINI, A. *et al.* Tissue engineering for the insertions of tendons and ligaments: an overview of electrospun biomaterials and structures. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 645544, 2021.

SEQUEIRA, R. S. *et al.* Development of a poly (vinyl alcohol)/lysine electrospun membrane-based drug delivery system for improved skin regeneration. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 570, p. 118640, 2019.

SHAHVERDI, F. *et al*. Biaxial electrospun nanofibers based on chitosan-poly (vinyl alcohol) and poly (Ɛ-caprolactone) modified with $CeAlO_3$ nanoparticles as potential wound dressing materials. International Journal of Biological Macromolecules, v. 221, p. 736-750, 2022.

SHEN, Y. *et al*. Synthesis and characterization of double-network hydrogels based on sodium alginate and halloysite for slow release fertilizers. **International journal of biological macromolecules,** v. 164, p. 557-565, 2020.

SHIRVAN, A. R. *et al*. A comparison between solvent casting and electrospinning methods for the fabrication of neem extract-containing buccal films. **Journal of Industrial Textiles**, v. 51, n. 1_suppl, p. 311S-335S, 2022.

SHPICHKA, A. *et al*. Skin tissue regeneration for burn injury. **Stem cell research & therapy**, v. 10, p. 1-16, 2019.

SHU, W. *et al*. Functional hydrogel dressings for treatment of burn wounds. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 788461, 2021.

SHUKLA, S. K.; RAO, T. S. An improved crystal violet assay for biofilm quantification in 96-well microtitre plate. **Biorxiv**, p. 100214, 2017.

SILVA, A. J. *et al.* Membranes from latex with propolis for biomedical applications. **Materials Letters**, v. 116, p. 235-238, 2014.

SILVA, M. J.; DIAS, Y. J.; YARIN, A. L. Electrically-assisted supersonic solution blowing and solution blow spinning of fibrous materials from natural rubber extracted from *havea brasilienses*. **Industrial Crops and Products**, v. 192, p. 116101, 2023.

SILVERSTEIN, P. *et al*. An open, parallel, randomized, comparative, multicenter study to evaluate the cost-effectiveness, performance, tolerance, and safety of a silver-containing soft silicone foam dressing (intervention) vs silver sulfadiazine cream. **Journal of burn care & research**, v. 32, n. 6, p. 617-626, 2011.

SMIRNOV, S. V. *et al*. Polyurethane foam covering for wounds, burns and ulcers. **Wound medicine**, v. 2, p. 6-8, 2013.

SOARES, R. MD *et al*. Electrospinning and electrospray of bio-based and natural polymers for biomaterials development. **Materials Science and Engineering: C**, v. 92, p. 969-982, 2018.

SOUTO, E. B. *et al.* New nanotechnologies for the treatment and repair of skin burns infections. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 393, 2020.

SOUZA, A. B. de *et al*. Hyaluronic Acid in the Intestinal Tract: Influence of Structure, Rheology, and Mucoadhesion on the Intestinal Uptake in Rats. **Biomolecules**, v. 10, n. 10, p. 1422, 2020.

SPIN, J. R. *et al*. Effect of natural latex membranes on wound repair of palate donor areas: A pilot randomized controlled trial study, including the membranes characterization. **Materials Today Communications**, v. 27, p. 102390, 2021.

SPRONK, I.; POLINDER, S.; HAAGSMA, J.A.; NIEUWENHUIS, M.; PIJPE, A.; VAN DER VLIES, C.H.; MIDDELKOOP, E.;VAN BAAR, M.E. Patient-reported scar quality of adults after burn injuries: A five-year multicenter follow-upstudy. **Wound Repair Regen**, v. 27, p.406, 2019.

STOJKO, M. *et al.* Biodegradable electrospun nonwovens releasing propolis as a promising dressing material for burn wound treatment. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 9, p. 883, 2020.

STOKES, M. A. R.; JOHNSON, W. D. Burns in the Third World: an unmet need. **Annals of burns and fire disasters**, v. 30, n. 4, p. 243, 2017.

STUBBE, B. *et al.* Development of gelatin-alginate hydrogels for burn wound treatment. **Macromolecular bioscience**, v. 19, n. 8, p. 1900123, 2019.

SUKSAEREE, J. *et al*. Deproteinization of natural rubber latex and its pale-colored thin films. **Sustainability**, v. 15, n. 13, p. 10015, 2023.

SURRAO, D. C.; WALDMAN, S. D.; AMSDEN, B. G. Biomimetic poly (lactide) based fibrous scaffolds for ligament tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 11, p. 3997-4006, 2012.

TAHIR, H.; MISRAN, M. Natural rubber latex (NRL) waste protein purified at various pH condition and metal extraction studies. **In: Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, p. 012062, 2019.

TAKEJIMA, M. L. *et al.* Curativo de Nanofibras de Celulose Vegetal Auxilia na Cicatrização de Queimaduras de Terceiro Grau? Estudo em Ratos. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 34, 2021.

TANAKA, J. L. *et al*. Natural rubber dressing loaded with silver sulfadiazine for the treatment of burn wounds infected with *Candida spp.* **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 189, p. 597-606, 2021.

TIWARI, V.K. Burn wound: How it differs from other wounds. **Indian J. Plast. Surg.** v.45, p. 364–373, 2012.

TIWARI, N. K., *et al*. Recent progress in polymeric biomaterials and their potential applications in skin regeneration and wound care management, **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.82, 2023.

TOBOUTI, P. L. *et al*. Antimicrobial activity of copaiba oil: A review and a call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 93-99, 2017.

TORRES-MARTÍNEZ, E. J. *et al.* A summary of electrospun nanofibers as drug delivery system: Drugs loaded and biopolymers used as matrices. **Current drug delivery**, v. 15, n. 10, p. 1360-1374, 2018.

VONIATIS, C. *et al.* Co-electrospun polysuccinimide/poly (vinyl alcohol) composite meshes for tissue engineering. **Journal of Molecular Liquids**, v. 306, p. 112895, 2020.

WAIBEL, J. *et al*. Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study on Efficacy of Copaiba Oil in Silicone-Based Gel to Reduce Scar Formation. **Dermatology and therapy**, v. 11, n. 6, p. 2195-2205, 2021.

WANG, F. *et al.* Advances in electrospinning of natural biomaterials for wound dressing. **Journal of Nanomaterials**, v. 2020, p. 1-14, 2020.

WANG, Hualin *et al*. Release kinetics and antibacterial activity of curcumin loaded zein fibers. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 437-446, 2017.

WILK, S.; BENKO, A. Advances in fabricating the electrospun biopolymer-based biomaterials. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 12, n. 2, p. 26, 2021.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-5909, 2009.

WIMPENNY, I.; ASHAMMAKHI, N.; YANG, Y. Chondrogenic potential of electrospun nanofibres for cartilage tissue engineering. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, v. 6, n. 7, p. 536-549, 2012.

WU, S. *et al*. State-of-the-art review of advanced electrospun nanofiber yarn-based textiles for biomedical applications. **Applied Materials Today**, v. 27, p. 101473, 2022.

XING, J. *et al*. Multi-material electrospinning: from methods to biomedical applications. **Materials Today Bio**, p. 100710, 2023.

YANG, Y. *et al*. Structural and functional design of electrospun nanofibers for hemostasis and wound healing. **Advanced Fiber Materials**, v. 4, n. 5, p. 1027-1057, 2022.

YAO, Y. *et al.* Recent trends on burn wound care: Hydrogel dressings and scaffolds. **Biomaterials Science**, v. 9, n. 13, p. 4523-4540, 2021.

YAQUB, K. M.; CHEN, M-H. A review on role of biomaterials in biomedical field. **International Journal of Bio-Pharma Research**, v. 8, n. 9, p. 2788-2793, 2019.

YEKRANG, J.; YOUSEFI, A. Co-electrospun (polyvinyl alcohol/Lepidium perfoliatum seed gum)-polycaprolactone hybrid nanofibers for antibacterial wound dressing applications. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, p. 1-17, 2023.

YILMAZ, E. N.; ZEUGOLIS, D. I. Electrospun polymers in cartilage engineering—state of play. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 77, 2020.

YLÄ-OUTINEN, L. *et al.* Electrospun poly (L, D-lactide) scaffolds support the growth of human embryonic stem cell-derived neuronal cells. **The Open Tissue Engineering and Regenerative Medicine Journal**, v. 3, n. 1, 2010.

YU, N. *et al.* Healing effect of carboxymethyl chitosan-plantamajoside hydrogel on burn wound skin. **Burns**, v. 48, n. 4, p. 902-914, 2022.

YUCHA, S. E. V.; TAMAMOTO, K. A.; KAPLAN, D. L. The importance of the neuro-immuno-cutaneous system on human skin equivalent design. **Cell proliferation**, v. 52, n. 6, p. e12677, 2019.

ZANCANELA, D. C. *et al*. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: physical-chemistry and antimicrobial behaviours. **Materials Science and Engineering: C**, v. 97, p. 576-582, 2019.

ZAPATA, A.; RAMIREZ-ARCOS, S. A comparative study of McFarland turbidity standards and the Densimat photometer to determine bacterial cell density. **Current microbiology**, v. 70, p. 907-909, 2015.

ZAREKHALILI, Z. *et al*. Fabrication and characterization of PVA/Gum tragacanth/PCL hybrid nanofibrous scaffolds for skin substitutes. International journal of biological macromolecules, v. 94, p. 679-690, 2017. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.042

ZHANG, X. *et al.* Electroactive electrospun nanofibers for tissue engineering. **Nano Today**, v. 39, p. 101196, 2021.

ZHANG, Y. *et al*. Nanofibrous tissue engineering scaffold with nonlinear elasticity created by controlled curvature and porosity. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 126, p. 105039, 2022.

ZHAO, R. *et al*. Electrospun chitosan/sericin composite nanofibers with antibacterial property as potential wound dressings. **International journal of biological macromolecules**, v. 68, p. 92-97, 2014.

ZHU, Q. *et al.* Enhanced healing activity of burn wound infection by a dextran-HA hydrogel enriched with sanguinarine. **Biomaterials science**, v. 6, n. 9, p. 2472-2486, 2018.

ZYCH, Ł. *et al*. How surface properties of silica nanoparticles influence structural, microstructural and biological properties of polymer nanocomposites. **Materials**, v. 14, n. 4, p. 843, 2021.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Artigo publicado na revista "*Journal of Applied Polymer Science*" (2024).

JOURNAL OF Applied Polymer SCIENCE

RESEARCH ARTICLE

Development of co-electrospun membrane composed poly(L-co-D,L-lactic acid) and natural rubber with potential application in dermal dressing

Marcelo Formigoni Pinto, Bruna V. Quevedo, Daniel Komatsu, Stephen Christina de Moraes, Marcia Adriana Tomaz Duarte, Eliana Aparecida de Rezende Duek

First published: 17 April 2024 | https://doi.org/10.1002/app.55573

APÊNDICE B – Artigo publicado na revista "*Antibiotics*" (2023).

Order Article Reprints

Open Access Feature Paper Article

Electrospun Membrane Based on Poly(L-co-D,L lactic acid) and Natural Rubber Containing Copaiba Oil Designed as a Dressing with Antimicrobial Properties

by Marcelo Formigoni Pinto [1], Bruna V. Quevedo [2,3], Jessica Asami [1,3], Daniel Komatsu [3], Moema de Alencar Hausen [3,4] and Eliana Aparecida de Rezende Duek [1,2,3,4,*]

[1] Mechanical Engineering Faculty (FEM), State University of Campinas (UNICAMP), Campinas 13083-860, São Paulo, Brazil

[2] Post-Graduation Program in Materials Sciences (PPGCM), Federal University of São Carlos (UFSCar), Sorocaba 18052-780, São Paulo, Brazil

[3] Laboratory of Biomaterials, Faculty of Medical Sciences and Health (FCMS), Pontifical Catholic University of São Paulo (PUC-SP), Sorocaba 18030-070, São Paulo, Brazil

[4] Post-Graduation Program of Biomaterials and Regenerative Medicine, Surgery Department, FCMS, PUC-São Paulo, Sorocaba 18030-070, São Paulo, Brazil

[*] Author to whom correspondence should be addressed.

Antibiotics **2023**, *12*(5), 898; **https://doi.org/10.3390/antibiotics12050898**

Submission received: 28 March 2023 / Revised: 5 May 2023 / Accepted: 9 May 2023 / Published: 12 May 2023