



UNIVERSIDADE CEUMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE



**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE HIDROGEL
À BASE DE ALGINATO INCORPORADAS COM CINAMALDEÍDO.**

DIOGO MARCELO LIMA RIBEIRO

São Luís – MA

2020

DIOGO MARCELO LIMA RIBEIRO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE HIDROGEL
À BASE DE ALGINATO INCORPORADAS COM CINAMALDEÍDO.**

Tese de doutorado apresentada para exame de defesa ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Ceuma, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Luiz Cláudio Nascimento da Silva

São Luís – MA

2020

Lima Ribeiro, Diogo Marcelo.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE
HIDROGEL À BASE DE ALGINATO INCORPORADAS COM CINAMALDEÍDO
/ Diogo Marcelo Lima Ribeiro. - 2020.
92 f.

Orientador(a): Luiz Cláudio Nascimento da Silva
Nascimento da Silva.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís -
Ma, 2020.

1. Alginato. 2. Antimicrobiano. 3. Biopolímero. 4.
Cinamaldeído. 5. Curativo. I. Nascimento da Silva, Luiz
Cláudio Nascimento da Silva. II. Título.

DIOGO MARCELO LIMA RIBEIRO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE HIDROGEL
À BASE DE ALGINATO INCORPORADAS COM CINAMALDEÍDO.**

Tese de doutorado apresentada para exame de defesa ao Curso de Doutorado do Programa de PósGraduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Ceuma, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Luís Cláudio Nascimento da Silva

Aprovada em / /

Banca examinadora

Prof. Dr. Luís Cláudio Nascimento da Silva (Orientador)
UNICEUMA

Profa. Dra. Cristina de Andrade Monteiro
IFMA

Profa. Dra. Julliana Ribeiro Alves dos Santos
UNICEUMA

Prof. Dr. Lídio Goncalves Lima Neto
UNICEUMA

Profa. Dra. Wolia Costa Gomes
UNICEUMA

RESUMO

As infecções cutâneas geram grandes problemas em termos de saúde pública, tornando-se um desafio para a determinação de suas causas, origens, evolução, tratamento e reabilitação, afetando milhões de indivíduos em todo mundo. Polímeros a base de alginato para efeitos curativos têm sido utilizados por serem biocompatíveis e biodegradáveis. O alginato é um biopolímero que apresenta propriedades cicatrizantes e é abundante na natureza, característica que o torna atrativo para a confecção de curativo de lesões de pele. A incorporação do cinamaldeído, principal componente ativo do óleo essencial da canela (*Cinnamomum* sp), aos curativos produzidos a partir do alginato pode levar a um melhor desempenho destes. No presente estudo, membranas hidrogéis a base de alginato foram incorporadas com cinamaldeído e caracterizadas utilizando métodos físico-químicos e biológicos. Inicialmente, as membranas foram formuladas a partir de um planejamento fatorial 2^3 com seis repetições no ponto central e 6 pontos axiais, totalizando 20 ensaios. Um escore de qualidade foi empregado para selecionar a melhor formulação, de acordo com os parâmetros: uniformidade, rachaduras, bolhas, desprendimento da placa, transparência e consistência. Em seguida, a atividade antimicrobiana *in vitro* das membranas contendo ou não cinamaldeído foi verificada contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. As características morfológicas e físicas (morfologia, espessura, rugosidade, comportamento na presença de umidade, comportamento hídrico, sorção de vapor d'água e coloração) das membranas hidrogéis formadas foram verificadas. A membrana contendo cinamaldeído inibiu o crescimento de todos os microrganismos testados. Os hidrogéis com incorporação apresentaram uma estrutura transversal lamelar com pouca evidência da existência da formação de poros, sendo observada uma rugosidade média de $0.2482 \pm 0.04676 \mu\text{m}$ e espessura média de $0,4468 \pm 0,01749\text{mm}$. Apresentou uma boa absorção, 310% de solução salina, uma perda de massa de 52% e capacidade de sorção de vapor d'água de aproximadamente 57%. Os resultados obtidos com os biofilmes de alginato incorporados com cinamaldeído apresentaram perspectivas promissoras para atuação como biocurativos, caracterizados pela capacidade antimicrobiana, estabilidade e absorção de fluidos, por exemplo, no caso de feridas exsudativas.

Palavras -chave: Alginato. Cinamaldeído. Curativo. Biopolímero. Antimicrobiano.

ABSTRACT

Skin infections generate major problems in terms of public health, making it a challenge to determine its causes, origins, evolution, treatment and rehabilitation, affecting millions of individuals worldwide. Alginate-based polymers for curative effects have been used because they are biocompatible and biodegradable. Alginate is a biopolymer that has healing properties and is abundant in nature, a characteristic that makes it attractive for making skin wound dressings. The incorporation of cinnamaldehyde, the main active component of cinnamon essential oil (*Cinnamomum sp*), to dressings produced from alginate can lead to a better performance of these. In the present study, alginate-based hydrogel membranes were incorporated with cinnamaldehyde and characterized using physico-chemical and biological methods. Initially, the membranes were formulated from a factorial design 2^3 with six repetitions at the central point and 6 axial points, totaling 20 tests. A quality score was used to select the best formulation, according to the parameters: uniformity, cracks, bubbles, detachment from the plate, transparency and consistency. Then, the *in vitro* antimicrobial activity of membranes containing or not cinnamaldehyde was verified against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. The morphological and physical characteristics (morphology, thickness, roughness, behavior in the presence of moisture, water behavior, water vapor sorption and coloring) of the hydrogel membranes formed were verified. The membrane containing cinnamaldehyde inhibited the growth of all tested microorganisms. The incorporated hydrogels had a lamellar cross-sectional structure with little evidence of the existence of pore formation, with an average roughness of $0.2482 \pm 0.04676 \mu\text{m}$ and an average thickness of $0.4468 \pm 0.01749\text{mm}$. It had a good absorption, 310% of saline solution, a loss of mass of 52% and a water vapor sorption capacity of approximately 57%. The results obtained with alginate biofilms incorporated with cinnamaldehyde presented promising prospects for acting as biocuratives, characterized by their antimicrobial capacity, stability and fluid absorption, for example, in the case of exudative wounds.

Keywords: Alginate. Cinnamaldehyde. Band Aid. Biopolymer. Antimicrobial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura molecular do cinamaldeído.	11
Figura 2	Estrutura química do ácido alginico com seus respectivos blocos: blocos M ((1,4) β -Dmanuronato) e blocos G (α -L-guluronato).	18

Artigo 1

Figura 1	Structural representations of the polysaccharides used for development of dressings evaluated in this study. (a) Alginate; (b) cellulose; (c) chitosan; (d) hyaluronic acid.	38
-----------------	--	----

Artigo 2

Figura 1	Superfície de resposta para a determinação das concentrações ótimas do alginato, cloreto de cálcio e óleo essencial em função do escore das membranas e planejamento fatorial.	83
Figura 2	Microscopia eletrônica de varredura das membranas com e sem cinamaldeído.	84
Figura 3	Atividade antimicrobiana de hidrogéis de alginato, alginato+cinamaldeído e controle, perante as bactérias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , durante os intervalos de 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas.	85
Figura 4	Rugosidade e espessura média dos hidrogéis com óleo e sem óleo.	86
Figura 5	Intumescimento das membranas por 72h a 37°C em PBS (A), RPMI (B), Água destilada (C) e solução salina (D) das membranas com presença e ausência de óleo.	87
Figura 6	Sorção de vapor d'água em umidade relativa em 95% a 32°C, de membranas hidrogéis com e sem cinamaldeído.	88

Figuras suplementares

Figura 1S	Aspecto macroscópico das membranas produzidas a partir do planejamento fatorial 2^3 com 6 repetições nos pontos centrais e 6 pontos axiais.	89
Figura 2S	Escore das membranas obtido pelo planejamento fatorial, levando-se em consideração: uniformidade, rachaduras, bolhas, desprendimento da placa, transparência e consistência.	90
Figura 3S	Diagrama de Pareto com linha de referência para a significância estatística	91
Figura 4S	Aspecto visual das membranas hidrogéis incorporadas com cinamaldeído. A1 e A2) Membranas hidrogéis de alginato 2,1%, com incorporação de cinamaldeído a 0,8% e reticuladas com cloreto de cálcio a 1,8% .	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Bactérias mais comumente encontradas em pele e em feridas contaminadas.	09
Tabela 2	Ação bactericida do cinamaldeído contra bactérias gram positivas e gram negativas.	12
Tabela 3	Atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra diferentes espécies de microrganismos.	14
Tabela 4	Características principais e secundárias de um curativo ideal.	16
Tabela 5	Biomateriais com incorporação do cinamaldeído.	20

Artigo 1

Tabela 1	Summary of fundamental and secondary characteristics for an ideal dressing.	36
Tabela 2	Advantages and disadvantages of some dressings used for the treatment of wounds.	37
Tabela 3	Polysaccharide-based formulations employed in the treatment of skin-related infections in animal models and clinical trials.	39

Artigo 2

Tabela 1	Matriz do Planejamento fatorial 2^3 com pontos axiais para otimização de membranas hidrogel.	80
Tabela 2	Porcentagem de umidade das membranas com ausência e presença de cinamaldeído	81
Tabela 3	Parâmetros de cor das membranas hidrogeis preparadas com cinamaldeído e sem cinamaldeído.	82

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1	Microrganismos causadores de infecção da pele	8
2.2	Propriedades Antimicrobianas do Cinamaldeído	10
2.3	Óleos essenciais contra microrganismos	13
2.4	Propriedade dos curativos	16
2.5	Polímeros a Base de Alginato para Efeitos Curativos	17
2.6	Polímeros contendo cinamaldeído	19
3	OBJETIVOS	22
3.1	Objetivo geral	22
3.2	Objetivos específicos	22

Artigo 1

1	Introdução	35
2	Polysaccharides and Development of Healing Agents	38
3	Alginate-Based Formulations	40
4	Cellulose-Based Formulations	41
5	Chitosan-Based Formulations	42
6	Hyaluronic Acid-Based Formulations	44
7	Conclusions	46
	References	46

Artigo 2

1	INTRODUÇÃO	57
2	MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1	Reagentes utilizados na parte experimental	58
2.2	Planejamento fatorial	59
2.3	Preparação da membrana de alginato com cinamaldeído	59
2.4	Teste antimicrobiano	60
2.5	Morfologia dos hidrogéis por microscopia de varredura eletrônica (MEV)	60
2.6	Espessura	61
2.7	Rugosidade	61
2.8	Umidade	61
2.9	Comportamento hídrico	62
2.10	Coloração	63
2.11	Sorção	63
2.12	Análise estatística	64
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.1	Desenvolvimento do filme à base de alginato	64
3.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	66
3.3	Atividade antimicrobiana	67
3.4	Rugosidade e espessura	68
3.5	Intumescimento	69
3.7	Umidade	71
3.8	Coloração	71
3.9	Sorção de vapor d'água	72
4	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

As infecções cutâneas têm afetado milhões de indivíduos em todo o mundo, tornando-se um desafio para a determinação de suas causas, origens, evolução, tratamento e reabilitação. Seu tratamento tem desafiado os sistemas de saúde, resultando em incapacidade física e impactos socioeconômicos (Fonseca et al., 2013; Lindholm; Searle, 2016). Além disso, o fenômeno de resistência aos antimicrobianos contribui para o crescimento das infecções cutâneas, que estão surgindo em todos os grupos de microrganismos, sendo o uso excessivo de antibióticos um agravante para este aumento significativo. (Brinkac et al., 2017).

A utilização de polímeros para o tratamento de lesões de pele que apresentam atividade biológica, é considerada pela engenharia de tecidos, procedimento moderno, sendo o alginato um dos polissacarídeos mais estudados, possuindo uma grande contribuição para o processo de cicatrização, melhorando a aparência e funcionalidade do tecido regenerado, com uma potencial tendência para a liberação controlada de agentes bioativos (Muzzarelli et al., 2007; Wiegand; Hipler, 2010).

É necessário que sejam desenvolvidas drogas antibacterianas alternativas para proporcionar a cura de inúmeras doenças infecciosas de diferentes origens, e o grande foco para se atingir este objetivo, são as plantas medicinais. As plantas medicinais são as principais fontes de fármacos em países desenvolvidos e em desenvolvimento para diferentes utilidades terapêuticas. Considerando-se que o Brasil tem a maior biodiversidade de plantas do mundo, com cerca de 20% do número de espécies do planeta, além de ser um grande produtor e exportador de óleos essenciais, tornou-se um campo aberto de possibilidades (Burt, 2004; Sartoratto et al., 2004; Heidari-Sureshjani, 2015).

Os produtos naturais são uma boa ferramenta na prospecção de novos agentes. Tem-se por exemplo, o cinamaldeído, composto presente no óleo da canela que tem sido amplamente utilizado para fins medicinais. O óleo é extraído das cascas da árvore do gênero *Cinnamomum*, família Lauraceae, e foi aprovado como medicamento fitoterápico pela Farmacopéia Chinesa para uso como analgésico e para promover a circulação sanguínea, além da cura de feridas (Commission, 2005; Yuan et al., 2017).

O cinamaldeído possui propriedades anti-inflamatória, antiemética e analgésica (Mihara; Shibamoto, 2015), além de efeitos antioxidativos, antimicrobianos, anticardiovasculares e antidiabéticos, sendo utilizado para o tratamento de doenças cardíacas

e diabetes mellitus (Yuan et al., 2017) sendo que algumas dessas propriedades facilitam o processo de cicatrização (Farahpour; Habibi, 2012).

A busca pelo desenvolvimento de curativos mais eficientes é o objeto de estudo de várias pesquisas recentes, possuindo características marcantes, com atividade biológica que contribuem para o processo de cicatrização, que seja antimicrobiano, que apresente isolamento térmico, de fácil uso dentre outras características (Muzzarelli et al., 2007; Dwivedi et al., 2016; Yingnan Zhu et al., 2017).

Com a possibilidade de os microrganismos serem resistentes a uma grande variedade de fármacos, a utilização de um arsenal terapêutico para tratamento de infecções fica cada vez mais restrito, podendo gerar uma alta taxa de mortalidade, por infecções não tratáveis. Evidencia-se a necessidade do desenvolvimento de novos materiais/coberturas que apresentem ação antimicrobiana e anti-inflamatória, permitindo, assim, uma maior celeridade no tratamento do processo cicatricial. Por esta razão, a descoberta de novas terapias para o tratamento de lesões infectadas é necessária, como por exemplo, a utilização de compostos orgânicos naturais incorporados a biopolímeros, especialmente para tratar o alto número de pacientes refratários aos tratamentos convencionais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Microrganismos causadores de infecção da pele

O desenvolvimento de medicamentos antimicrobianos durante o século 20 trouxe um grande avanço para a medicina, pois pode controlar a propagação de agentes infecciosos. No entanto, não muito tempo depois da sua utilização massiva surgiram sinais de alerta de resistência microbiana para algumas substâncias, transformando o que era a idade de ouro dos antimicrobianos, em uma grande crise de saúde. Tal fato provocou um grande atraso no desenvolvimento de novos antimicrobianos nos últimos 15 a 20 anos, com o reaparecimento de microrganismos resistentes a todos os fármacos disponíveis, aumentando o risco de regressão à era pré-antibiótica, em que muitas pessoas morriam por infecções não tratáveis (Dias; Monteiro, 2010; Brinkac et al., 2017; Jones et al., 2017).

Uma ferida que se prolonga em pele ou tecidos moles torna-se susceptível a contaminação microbiana, podendo provocar o impetigo não complicado à fascite necrosante, potencialmente letal e, uma das bactérias mais presentes nesta situação, é *Staphylococcus aureus*. Sua presença está relacionada com as dificuldades na cicatrização de feridas e resultam em graves complicações (Clebak; Malone, 2018; Viquez-Molina et al., 2018). *S. aureus* possui a capacidade de expressar vários fatores de virulência que facilitam a adesão celular, a evasão do sistema imune, danos à célula hospedeira que provocam os sintomas da doença (febre alta, falta de ar, dores de cabeça, fadiga, tosse e dores musculares) e que aumentam a patogenicidade (Du Toit et al., 2014).

Destaca-se também como colonizantes em feridas *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria oportunista Gram negativa, comumente encontrada em infecções cutâneas (Lister et al., 2009; Livermore, 2002). Esta espécie possui elevada capacidade de adquirir resistência aos antibióticos através de diversos mecanismos, incluindo a expressão de enzimas modificadoras de antibióticos (Lister et al., 2009).

Outra bactéria muito encontrada é *Enterococcus faecalis*, sendo uma das espécies bacterianas isoladas frequentemente em todos os tipos de feridas, incluindo úlceras do pé diabético, queimaduras e locais cirúrgicos (Giacometti et al., 2000; Dowd et al., 2008). Este microrganismo torna-se cada vez mais difícil de tratar devido a sua resistência intrínseca e adquirida a uma variedade de antibióticos (Hollenbeck; Rice, 2012).

Outros agentes patogênicos bacterianos comuns isolados de infecções de feridas, são: *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp.,

Escherichia coli, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. *Citrobacter* spp. e anaeróbios tais como *Clostridium* spp. e *Peptostreptococcus* spp. (Upreti et al., 2018).

No gênero *Acinetobacter*, *A. baumannii* tornou-se um patógeno preocupante em hospitais em todo o mundo, e surtos nosocomiais têm sido relatados devido a cepas multirresistentes, particularmente em unidades de terapia intensiva e unidades de queimaduras (Nomanpour et al., 2011; Huang et al., 2008).

Infecções cutâneas bacterianas agudas são em grande parte causadas por bactérias gram-positivas aeróbicas, mais especificamente cocos como *estreptococos beta-hemolíticos* e *S. aureus* (Sismaet et al., 2016). Ao contrário das infecções agudas, as feridas crônicas são frequentemente contaminadas com espécies da microbiota normal da pele e ocasionalmente por organismos gram-negativos (Cefalu et al., 2017). Os contaminantes mais comuns da pele e das feridas estão listados em dois grupos, mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Bactérias mais comumente encontradas em pele e em feridas contaminadas.

Aeróbios	Anaeróbios
<i>S. aureus</i>	<i>Bacteroides</i> spp
<i>S. epidermidis</i>	<i>Fusobacterium</i> spp
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Veillonella</i> spp
<i>S. aureus resistente à meticilina</i> (MRSA)	<i>Porphyromonas</i> spp
<i>E. faecalis</i>	
<i>Coliformes</i>	
<i>A. baumannii</i>	

Fonte: Cefalu et al. (2017).

As infecções ocasionadas por patógenos podem atrasar a cicatrização da ferida devido a produção de diversos fatores de virulência, como formação de biofilme e produção de toxinas (Ranzato; Martinotti; Burlando, 2011). Os dados estatísticos no Brasil sobre feridas crônicas são raros e atualizados com pouca frequência. No ano de 2003, aproximadamente 3% da população brasileira apresentou esse tipo de lesão, porcentagem que se elevava para 10% quando se considerava apenas a população de diabéticos (Mandelbaum et al., 2003). O crescimento bacteriano facilita a adesão dos patógenos e a formação de biofilme, dificultando, através dos fatores de virulência do patógeno, a ação do sistema imunológico e dos antimicrobianos, contribuindo assim na permanência do patógeno e na gravidade da lesão tecidual (Percival; McCarty; Lipsky, 2015).

Estudo de Netto et al. (2001) com 107 pacientes, grande parte com idade inferior a 30 anos (65%) observou que um terço dos avaliados se referia a algum trauma precedendo ao aparecimento do abscesso que se manifestou na forma de furúnculo, ferida infectada ou foliculite. A prevalência de *S. aureus* nas infecções de pele e tecido celular subcutâneo foi de 66,35%. Os outros pacientes apresentavam culturas negativas ou crescimento de microrganismos diversos. Observaram que *S. aureus* apresentou resistência quase completa (91,55%) às penicilinas (penicilina G e ampicilina).

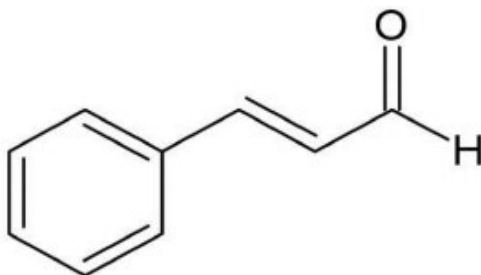
Nos hospitais, o *S. aureus* é a principal causa de infecções bacterianas agudas na pele e na estrutura da pele. Cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina têm sido responsáveis por 53% de todos os isolados de *S. aureus* nos hospitais dos EUA entre 2006 e 2008, com mais da metade oriundas de pacientes em ambientes de cuidados intensivos. A prevenção, o reconhecimento precoce e o gerenciamento de infecções de feridas são fundamentais para o sucesso dos resultados nessa população de pacientes (Bordon et al., 2010).

2.2 Propriedades Antimicrobianas do Cinamaldeído

O óleo essencial extraído de uma especiaria muito utilizada por pessoas de todo o mundo, conhecida como canela, planta do gênero *Cinnamomum*, família Lauraceae, contém óleos vitais e outros derivados importantes, como um componente bioativo principal chamado de cinamaldeído, além do ácido cinâmico, cinamato e outros numerosos componentes, como polifenóis, terpenóides e fenóis hidrofóbicos. Mais de 89 compostos já foram isolados de diferentes partes da planta de canela (Jayaprakasha e Rao, 2011; Chan et al., 2014; Hariri; Ghiasvand, 2016; Rao; Gan, 2014; Rieger; Schiffman, 2014; Tulunay, et al., 2015; Ghiasvand, 2016).

O cinamaldeído (Figura 1) é um líquido amarelo oleoso, encontrado naturalmente como trans-cinamaldeído, que é um aldeído aromático, insaturado com um grupo fenil, é o composto majoritário do óleo essencial de canela, estando presente nas concentrações de 60-80%, quando obtido das cascas do gênero *Cinnamomum*. Sua bioatividade pode estar relacionada principalmente com seus grupos carbonila e aldeído (Burt, 2004; Shan et al., 2007).

Figura 1: Estrutura molecular do cinamaldeído



O cinamaldeído possui atividades antioxidantes e antimicrobianas, apresenta baixa toxicidade, e é amplamente utilizado nas indústrias: farmacêuticas, biomédicas, alimentícias e cosméticas (Shan et al., 2007; Sangal, 2011; Ranasingh et al., 2013; Utcharykiat et al., 2016; Hui et al., 2016; Yuan et al., 2017). Segundo Friedman (2017) devido seu efeito antimicrobiano, o cinamaldeído pode ser utilizado contra múltiplas bactérias patogênicas. Além destas características, possui também propriedades cicatrizantes (Kamath et al., 2003; Farahpour; Habibi, 2012).

Quanto a toxicidade, Dorria et al. (2017) relatou que a canela e o cinamaldeído podem diminuir o efeito de substâncias tóxicas presentes no fígado, rim, sangue, cérebro, embrião, sistema reprodutivo, coração, baço em parte através de efeito antioxidante, eliminação de radicais livres, redução da peroxidação lipídica, antiinflamatório, atividade fungistática e fungicida, modulação das vias de sinalização de CK-MB, LDH, TNF- α , IL-6, proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e fator nuclear kB (NF-kB).

O mecanismo da ação antimicrobiana do cinamaldeído, poderá estar relacionada com a interação junto a membrana celular, pois este óleo essencial proporciona uma rápida inibição do metabolismo energético (Gill; Holley, 2004; Chan et al., 2016). A literatura aborda também que a ação do cinamaldeído está relacionado a sua hidrofobicidade, através do comprometimento da bicamada lipídica da membrana celular, provocando acentuado aumento da permeabilidade aos prótons e saída de moléculas e íons da célula bacteriana, provocando a morte da mesma (JIA et al., 2011).

Amalaradjou e Venkitanarayanan (2011) relataram que a ação do cinamaldeído frente a *Cronobacter sakazakii*, provocou a interrupção de aminoácidos, carboidratos e metabolismo dos lipídios, resultando na inibição das defesas celulares contra o estresse oxidativo que ameniza a virulência.

Domadia et al. (2007) descreveram que as ações antimicrobianas de cinamaldeído estão relacionadas com a inibição da divisão celular através de FtsZ (proteína Z sensível à temperatura de filamentação). Neri et al. (2006) relataram que a principal vantagem

cinamaldeído é que o contato direto não é necessário para a atividade antimicrobiana. Sua atividade microbida pode ser atribuída às altas propriedades eletrofílicas do grupo carbonil adjacente à dupla ligação que tornam este composto particularmente reativo com nucleófilos, como proteína sulfidril e amino grupos do microorganismo.

A ação bactericida do cinamaldeído se dá perante diferentes microrganismos, como pode ser visto pelos estudos mais recentes publicados e mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Ação bactericida do cinamaldeído contra bactérias gram positivas e gram negativas.

Composto Químico	Microrganismos	Autores	
Cinamaldeído	Gram positivo	<i>S. epidermidis</i>	Albano et al. (2018)
		<i>E. faecalis</i>	Ferro et al. (2016)
		<i>S. aureus</i>	Rieger (2014); Ferro et al. (2016); Wen et al. (2016);
	Gram negativo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rieger (2014); Utcharykiat et al. (2016); Wen et al., 2016; Firmino et al. (2018)
		<i>Escherichia coli</i>	Rieger (2014); Wen et al. (2016); Manu et al. (2017); Firmino et al. (2018)
		<i>Salmonella enterica</i>	Manu et al. (2017)
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	Firmino et al. (2018)

Avaliando o efeito *in vitro* do cinamaldeído sobre as cepas de *S. Epidermidis* a concentração inibitória mínima (CIM) encontrada variou de 300 a 500 µg/mL e a concentração bactericida mínima (MBC) de 400 a 600 µg/mL (Albano et al., 2018). Firmino et al. (2018), relataram que as bactérias: *S. pyogenes*, *P. aeruginosae* *E. coli*, foram sensíveis ao contato com cinamaldeído. Nos testes de viabilidade celular, 2 mg/ml de cinamaldeído reduziram o número de células viáveis por 5.74 Log (UFC/ml). Além disso, o cinamaldeído exibiu atividade antimicrobiana e antibiofilme.

No estudo efetuado Utcharykiat et al. (2016) foi utilizada uma variedade de óleos essenciais para testar seus efeitos perante a *P. aeruginosa* multiresistente, da qual o óleo de

casca de canela apresentou uma grande atividade antimicrobiana contra todas as cepas clínicas isoladas multiresistentes de *P.aeruginosa*, com CIM de 0,0562 a 0,225% v/v e MBC de 0,1125 a 1,8% v / v. Relataram ainda que o cinamaldeído, um importante constituinte do óleo de casca de canela, possui maior efeito antimicrobiano para *P. aeruginosa* do que o eugenol.

A eficácia do cinamaldeído foi investigada na inativação de *Salmonella enterica* e *E. coli* e determinação da concentração inibitória mínima de cinamaldeído para ambos os patógenos em meio Brain Heart Infusion (BHI), sendo observado que a concentração de 0,25 µL/mL e a de 1,5 µL/mL inativou completamente as bactérias (Manu et al., 2017). Estudando os efeitos do cinamaldeído perante *S. aureus* e *E. faecalis*, Ferro et al. (2019) encontrou uma CIM foi de 0,25 mg/ml para todas as cepas exceto para *S. aureus* ATCC 25923 (valor MIC de 0,5 mg/ml). Os valores de MBC foram de 1,0 mg/ml para todas as cepas, Valores 2 a 4 vezes maior que cada MIC, indicando um efeito bactericida para a ação do cinamaldeído.

2.3 Óleos essenciais contra microrganismos

Os óleos essenciais são extraídos de diferentes espécies de plantas, as quais contêm para mais de 200 constituintes, sendo compostos por substâncias voláteis e não voláteis de baixo peso molecular. A grande quantidade de produtos (óleo essencial, gel, extrato) derivados de plantas têm sido apontados como promissores, com aplicações destes óleos essenciais como agentes antimicrobianos, anticâncer, anti-inflamatórios, cicatrizantes, antioxidante e antivirais (Suntar et al., 2012; Aziz, 2018; Lu et al., 2018; Pandini, 2018).

Várias substâncias químicas extraídas dos óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana expressivas contra patógenos humanos e vegetais. Como, por exemplo, citronelol, estragol, eudesmol, eugenol, geraniol, ácido linoléico, ácido cinâmico, trans-cinamaldeído, carvacrol e fitol (Burt, 2004; Burt et al., 2005; Woehrlin, 2010; Moon et al., 2011; Maxia, 2012). A capacidade antibacteriana dos óleos essenciais deve-se principalmente à presença dos grupos funcionais orgânicos distintos encontrados no óleo, como o eugenol e o trans-cinamaldeído, os quais perturbam a estrutura celular bacteriana através da penetração das membranas celulares e inibindo a produção de enzimas essenciais em bactérias (Sanla-Ead et al., 2012; Langeveld, 2013).

As propriedades antimicrobianas de produtos derivados de óleos essenciais extraídos de plantas estão cada vez mais sendo testadas contra vários patógenos (CSUPOR et

al., 2010). Alguns estudos mostraram que alguns destes óleos extraídos de plantas, são ativos contra linhagens multirresistente de *P. aeruginosa* (Jayaraman, 2010).

A literatura dispõe de inúmeros resultado de pesquisas realizadas com óleos essenciais no intuito de encontrar novos compostos que apresentem ação antimicrobiana contra microrganismos patogênicos para enfrentar o problema do aumento da resistência (Tabela 3), tendo sido encontrada ação antibacteriana mais pronunciada sobre as bactérias gram-positivas (Behbahni et al., 2013; Tabatabaei-Yazdi et al., 2015; Geraci et al., 2016; Behbahani; Imani, 2017).

As bactérias gram-positivas possuem como característica, uma camada espessa de peptidoglicano fora da membrana celular, enquanto as espécies gram-negativas possuem uma fina camada de peptidoglicano envolvida por uma membrana externa. A parte sacarídea do lipopolissacarídeo na membrana externa fornece uma superfície hidrofílica que forma uma barreira contra muitas substâncias hidrofóbicas, incluindo antibióticos hidrofóbicos (Nikaido, 1994).

Tabela 3: Atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra diferentes espécies de microrganismos.

Óleo Essencial	Microrganismo	Autores
<i>Pimenta dioica</i>	<i>A. baumannii</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. Aureus</i> ; <i>MRSA</i> e a levedura <i>C. albicans</i> .	Lorenzo-Leal et al. (2019)
<i>Guarea kunthiana</i> A. Juss	<i>Salmonella enterica subsp. Enterica</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>Proteus mirabilis</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. epidermidis</i> e <i>Bacillus subtilis</i> .	Pandini et al. (2018)
<i>Oliveria decumbens</i>	<i>P. aerogenes</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>S. epidermidis</i> e <i>S. Pyogenes</i>	Behbahani et al. (2018)
<i>Zira Negra</i>	<i>Enterobacter aerogêneos</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>Shigella flexneri</i> ; <i>S. epidermidis</i> ; <i>S. pyogenes</i> e <i>Candida albicans</i> .	Noshad et al. (2018)
<i>Bursera morelensis</i>	<i>S. pneumoniae</i> ; <i>Vibrio cholerae</i> e <i>E. coli</i>	Canales-Martinez et al. (2017)
<i>Laurus nobilis</i>	<i>S. aureus</i> ; <i>Bacillus cereus</i> (4313); <i>B. cereus</i> (4384); <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	Caputo et al. (2017)
<i>Cinnamomum glanduliferum</i>	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> resistentes à metilicina; <i>Geotrichum candidum</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Helicobacter pylori</i> ; <i>Aspergillus fumigatus</i> ; <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Taha; Eldahshan, (2017).
<i>Phagnalon sordidum</i>	<i>C. albicans</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>Enterobacter cloacae</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>Klebsiella pneumonia</i> ,	Brunel et al. (2016)

<p><i>P. aeruginosa</i>; <i>Bacillus subtilis</i>; <i>Enterococcus faecium</i>; <i>Enterococcus hirae</i>; <i>S. aureus</i>, <i>Staphylococcus chromogenes</i>; <i>S. epidermis</i>; <i>Staphylococcus sciuri</i>, <i>Streptococcus dysgalactiae</i> e <i>Streptococcus uberis</i>.</p>

Estudo de Lorenzo-Leal et al. (2019) demonstrou que o uso de óleos essenciais provenientes da *Pimenta dioica* e *Rosmarinus officinalis* são uma alternativa efetiva contra bactérias patogênicas e como controle antifúngico, isoladamente ou em combinação com antibioticoterapia. Além disso, o óleo extraído de *Rosmarinus officinalis* poderia ser usado como potente agente anti-inflamatório.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Guarea kunthiana* A. Juss foi testada perante diferentes microrganismos: cinco bactérias gram negativas (*E. coli*; *Salmonella enterica subsp. Enterica*; *P. aeruginosa*; *Proteus mirabilis* e *K. pneumoniae*) e quatro bactérias gram-positivas (*S. aureus*; *E. faecalis*; *S. epidermidis* e *Bacillus subtilis*). O óleo foi efetivo frente a todos os microrganismos testados exceto para as bactérias *E. coli* e *K. pneumoniae*, as quais se apresentaram resistentes à ação do óleo. Em geral, as bactérias gram-positivas foram mais suscetíveis à ação do óleo essencial em relação às gram-negativas. Concluindo que o óleo essencial apresentou atividade antibacteriana (Pandini et al., 2018).

O óleo essencial de *Oliveria decumbens* (planta endêmica da flora Iraniana) foi avaliado contra algumas cepas clínicas e padrão causadoras de infecção, entre as quais *P. aerogenes*, *E. coli*, *S. pyogenes* e *S. epidermidis*. As concentração bactericida mínima de óleo essencial de *Oliveria decumbens* para cepas clínicas *P. aerogenes*, *E. coli*, *S. epidermidis* e *S. pyogenes* foi 16, 8, 4 e 2 mg/ml, respectivamente, e para cepas padrão foi de 8, 8, 2 e 1 mg/ml, respectivamente, mostrando-se com atividade antibacteriana, podendo ser utilizado no tratamento de doenças infecciosas (Behbahani et al., 2018).

Bursera morelensis, conhecida como "Aceitillo", é uma árvore endêmica encontrada no México. Os óleos essenciais extraídos da casca desta espécie têm sido utilizados para o tratamento de infecções da pele, apresentando também, propriedades curativas. Este óleo essencial apresentou atividade antibacteriana contra cepas Gram positivas e negativas. As cepas mais sensíveis ao óleo foram *S. pneumoniae*, *Vibrio cholerae* e *Escherichia coli* (concentração mínima inibitória 0.125 mg/mL, concentração bactericida mínima 0.25 mg/mL) Apresentando-se bactericida para *Vibrio cholera* (Canales-Martinez et al., 2017).

2.4 Propriedade dos curativos

Para ser um bom curativo, o material deve apresentar as principais características, que são: capacidade de reduzir infecções, interromper o sangramento, absorver exsudatos, proteger a ferida de infecções secundárias, melhoria da cicatrização e desbridamento da ferida, de fácil uso, biodegradabilidade, de fácil esterilização, não tóxico, não alérgico, fornecer ou manter o ambiente úmido entre a ferida e o curativo, isolamento térmico e permitir trocas gasosas entre o tecido e a ferida (Kokabi et al., 2007; Muzzarelli et al., 2007; Sezer; Cevher, 2011; Ahamed et al., 2015).

Os curativos tradicionais são compostos de gaze e algodão-gaze que são caracterizados por alta capacidade de absorção. No entanto, eles podem causar sangramento, apresentam má permeação de vapor e danificam o epitélio recém formado na remoção. O vazamento de exsudatos desses curativos pode também resultar em infecções bacterianas (Edwards et al., 2001; Waring; Parsons, 2001; Sezer e Cevher, 2011).

Os curativos comercializados, apresentam uma grande variedade, sendo os mesmos destinados ao tratamento de feridas graves e de difícil cicatrização, porém, nenhum produto existente apresenta todos os requisitos de um curativo ideal (MOURA et al., 2013).

Características ótimas e desejáveis para um bom curativo e descritas na literatura (Purner; Babu, 2000; Boateng et al., 2008; Muzzarelli, 2009; Dwivedi et al., 2016; Yingnan Zhu et al., 2017) e estão demonstradas na Tabela 4.

Tabela 4: Características principais e secundárias de um curativo ideal.

Características	
Fundamentais	Secundárias
1- Não ser tóxico e não provocar alergias	1- Alcançar cura rápida, acelerando o processo de reparo tecidual
2- Não liberar partículas ou fibras não biodegradáveis na ferida	2- Possuir atividade antimicrobiana, induzindo a uma baixa carga bacteriana
3- Oferecer proteção mecânica	3- Possuir atividade hemostática
4- Garantir um ambiente úmido para a cicatrização	4- Exibir atividade de desbridamento (remoção de tecidos necróticos e corpos estranhos)
5- Manter a ferida seca, com umidade e pH ótimos	5- Ser transparente para possibilitar o monitoramento da cicatrização
6- Permitir trocas gasosas com o ambiente	7- Possuir capacidade de remover ou inativar enzimas proteolíticas em feridas

crônicas

- 7- Garantir barreira biológica
 - 8- Adequar-se à região da ferida
 - 9- Possuir custo acessível
 - 10- Ser resistente à água e facilmente removível
 - 11- Não provocar dor quando aplicado ou removido, sendo confortável.
 - 12- Não necessitar de trocas frequentes
 - 13- Funcionar efetivamente sob Compressão
 - 8- Ser capaz de absorver o mau odor
-

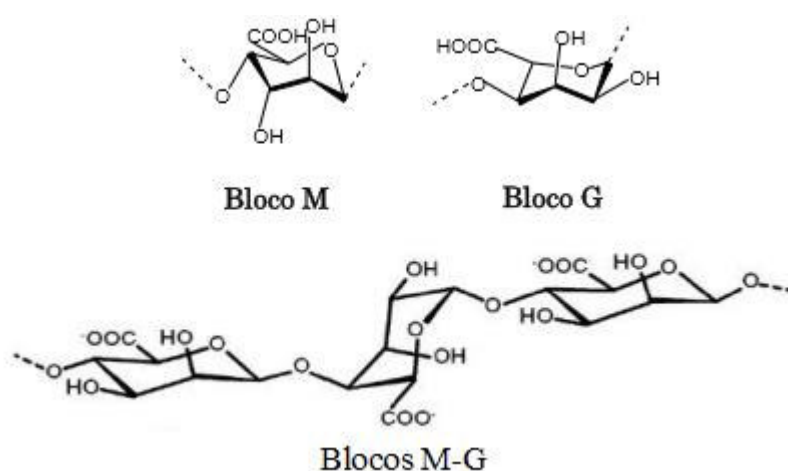
2.5 Polímeros a Base de Alginato para Efeitos Curativos

O Alginato é um biopolímero naturalmente recorrente, polianiónico, e é extraído principalmente de algas marrons das espécies *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*, presente como uma mistura de sais de cátions insolúveis, como o cálcio e o magnésio (George; Abraham, 2006). Considerado um composto não-tóxico, relativamente barato, biocompatível, prontamente disponível, com alta capacidade de absorção e bem tolerado pelo sistema imunológico, tem sido usado como material base para filmes biodegradáveis em curativos para feridas (Sudarsan; Franklin; Guhanathan, 2015; Yadav et al., 2015; Tavassoli-Kafrani et al., 2016; Conzatti et al., 2017).

Os curativos de alginato são produzidos a partir dos sais de cálcio e sódio do ácido algínico. Podem ser comercializados na forma de fibras flexíveis ou espumas liofilizadas. (Boateng et al., 2008; Dhivya et al., 2015). As propriedades únicas do alginato, como citado acima, fazem dele um potencial biopolímero, podendo minimizar os problemas nos curativos de feridas atualmente utilizados, aumentando a absorção de exsudato da ferida, formando géis, minimizando infecções bacterianas, reduzindo os efeitos alérgicos adversos e melhorando a cura devido à sua biocompatibilidade, etc. Possuindo também, propriedades hemostáticas, que são úteis para feridas sangrantes (Boateng et al., 2008; Lee; Mooney, 2012; Sood et al., 2014; Dwivedi et al., 2016).

A estrutura do alginato é descrita como sendo um copolímero linear de ânions (1,4) β -D-manuronato (M) e α -L-guluronato (G), unidos por ligações glicosídicas (1,4) em proporções e arranjos variáveis. Na molécula de alginato, as regiões homopoliméricas, são organizadas em blocos ao longo da cadeia, chamadas de blocos M e blocos G, encontram-se associados a blocos alternados (blocos MG) na mesma molécula, como mostra a Figura 2 (Wiegand; Hipler, 2010; Lee; Mooney, 2012).

Figura 2: Estrutura química do ácido alginico com seus respectivos blocos: blocos M ((1,4) β -Dmanuronato) e blocos G (α -L-guluronato) (adaptada de Lee; Mooney, 2012)



Como características principais do alginato, destaca-se a sua capacidade de absorção e retenção água e suas propriedades gelificantes e estabilizantes. Em função de sua estrutura linear e alta massa molar (variando entre 10^4 e 10^6 g/mol) os alginatos formam filmes e fibras fortes no estado sólido. Forma-se um gel quando o alginato entre em contato com a presença de íons divalentes como Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} e Sr^{2+} , sendo mais comumente empregado o cálcio (Rinaudo, 2008)

Os curativos a base de polímeros naturais como o alginato, são eficientes como aceleradores de cicatrização de feridas, em comparação com polímeros sintéticos. As feridas cobertas com biopolímeros, apresentam uma taxa de cicatrização acelerada, sem deixar cicatriz (Kamoun et al., 2017). De acordo com a composição do alginato, existe duas substância características, o ácido gulurônico e ácido manurônico, cujas proporções afetam a qualidade e as propriedades do polímero gerado. Quanto maior for a proporção de ácido gulurônico, maior a dureza e a fragilidade. Quando a proporção de ácido manurônico for maior, podem formar-se géis elásticos e moles (Dhivya et al., 2015; Jost; Reinelt, 2018).

Polímeros à base de alginato existem em diferentes formas: hidrogeis, filmes, espumas e nanofibras. A sua utilização em curativos de feridas tem se destacado pela alta

absorção do fluido da ferida e formação de géis, aumento da porosidade, liberação sustentada do fármaco e efeitos não imunogênicos, proporcionando uma rápida reepitelização, formação de tecido de granulação, cicatrização de feridas, fornecendo a uma ferida seca com um ambiente fisiologicamente úmido. A incorporação de bioativos para acelerar a taxa de cicatrização e melhorar o potencial mecânico vêm apresentando impacto no avanço terapêutico de curativos para feridas (Wiegand; Hipler, 2010; Szekalska et al. 2016; Aderibigbe; Buyana, 2018).

Membranas de alginato sem incorporações e filmes de Alginato *Ecklonia cava* sem a incorporação de óleos essenciais não mostraram atividade antimicrobiana contra cepas: *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria Monocytogenes* (Baek et al. (2018). No estudo de Ture (2018) foram utilizados filmes contendo alginato com e sem cloridrato de tetraciclina em ensaio de ágar difusão em disco contra *S. Aureus* e *E. Coli*, onde os filmes livres de cloridrato de tetraciclina não apresentavam efeito inibitório contra as bactérias testadas durante 24 h de incubação a 37 °C.

Um filme hidrocolóide de bicamada à base de alginato impregnada com o fármaco modelo (ibuprofeno) com grande potencial para liberação lenta foi desenvolvido por Thu et al. (2012) e os resultados sugeriram que o mesmo pode ser explorado como curativo, pois apresentou como resultado uma taxa mais rápida de fechamento das feridas, e os dados histológicos mostraram uma epiderme bem formada.

2.6 Polímeros contendo Cinamaldeído

Em misturas com biopolímeros, uma grande variedade de óleos essenciais combinados com alginato, quitosana, gelatina ou colágeno foram processados para formar filmes ativos ou nanofibras, possuindo atividades antioxidante, anti-inflamatória ou antimicrobiana. A utilização de polímeros se dá em função de suas propriedades emergentes em comparação com agentes tópicos sob a forma de soluções, cremes ou pomadas, que podem ser absorvidos mais rápido do que o requerido pelo processo de cicatrização, atuando em aspectos que o dificultam, tais como inflamação excessiva, isquemia, cicatrização e infecção da ferida (Aoyagi et al., 2007; Dwivedi et al., 2016; Pérez-Recalde et al., 2018).

A eficácia de um sistema polimérico antimicrobiano é determinada em parte pela liberação controlada das moléculas com capacidade antimicrobiana (Nostro et al., 2015). A confecção de filmes, revestimentos, nanopartículas contendo cinamaldeído foram produzidos utilizando matérias-primas diversas, como visto na Tabela 5.

Tabela 5: Biomateriais com incorporação do cinamaldeído.

Filmes	Autores
Celulose	Sanla-Ead et al. (2012)
Quitosana	Brasil et al. (2012); Marin et al. (2014); Rieger (2014); Loquercio et al. (2015); Wen et al. (2016); Chen et al. (2017)
Alginato	Loquercio et al. (2015)
Pectina	Brasil et al. (2012); Ravishankar et al. (2012)
Gliadina	Balaguer, et al. (2013)
Nano fibras de polivinil	Rieger (2014); Wen et al. (2016)
Polietileno-co-vinilacetato	Nostro et al. (2015)
Ácido láctico-co-glicólico	Gomes et al. (2011); Zodrow et al. (2012)
Nanopartículas de ouro recobertas com sílica	Ramasamy et al. (2017)
Parafina sólida	Rodriguez et al. (2008)
Amido	Tian et al. (2013); De Souza et al. (2014); Ke et al. (2019)
Proteína de soja	Arfa et al. (2007); Wu et al. (2019)

Ao ser incorporado em quitosana ou em nano fibras de polivinil, o cinamaldeído mostrou atividade antimicrobiana contra cepas de: *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* (Rieger, 2014; Wen et al., 2016). O cinamaldeído foi encapsulado em β -ciclodextrina e ácido polilático através da eletrofiação em diferentes proporções. A mistura apresentou atividade antibacteriana contra *E. coli* e *S. aureus*, não apresentando citotoxicidade em células humanas. Segundo estes resultados o polímero produzido poderá ter aplicações como materiais para curativos e para uso em outras aplicações biomédicas (Liu et al., 2017).

Com o objetivo de aumentar a solubilidade do cinamaldeído em água e suas propriedades bacteriostáticas e atividade bactericida contra patógenos aquáticos, o mesmo foi encapsulado em lipossomas, apresentando como resultados das MICs: 120,3 mg/L para *Streptococcus agalactiae* e *Vibrio alginolyticus*, 179,7 mg/L para *Aeromonas hydrophila* e *Vibrio vulnificus* e 59,5 mg/L para *Vibrio parahaemolyticus*. MBCs: de 179,7 mg/L para *S. agalactiae* e *V. alginolyticus*, 239,2 mg/L para *A. hydrophila* e *V. vulnificus*, e 120,3 mg/L para *V. parahaemolyticus*. Tais resultados sugerem que o cinamaldeído poderá substituir antibióticos para o tratamento de patógenos resistentes em ambientes aquáticos (Faikoh et al., 2014).

O efeito da temperatura na liberação de cinamaldeído e carvacrol incorporados por fusão em filmes poliméricos de polietileno-co-vinilacetato, isoladamente e em combinação foi avaliado quanto suas propriedades superficiais e atividade antibacteriana e anti-biofilme contra *E. coli* e *S. aureus*. Os óleos essenciais utilizados, não alteraram a superfície da membrana, mas a mistura dos dois óleos apresentou o maior efeito bactericida (Nostro et al., 2015).

A deterioração de alimentos pelos fungos *Penicillium expansum* e *Aspergillus niger* foi avaliada in vitro com o uso de filmes de gliadina incorporado ao cinamaldeído nas concentrações de 1.5, 3 e 5% (g/100 g de proteína). A concentração a 5% foi suficiente para aumentar o tempode vida dos alimentos na prateleira, demonstrando um potencial notável destes novos bioplásticos com compostos antimicrobianos naturais, como soluções inovadoras a serem usadas em embalagens de alimentos ativos para estender o prazo de validade de produtos alimentícios (Balaguer et al., 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Produzir um biopolímero de alginato biocompatível incorporado com cinamaldeído com capacidade antimicrobiana e possuindo requisitos necessários para tornar-se um bom curativo a ser utilizado em lesões de pele.

3.2 Específicos

- ✓ Realizar um planejamento fatorial utilizando três variáveis - alginato, cloreto de cálcio e cinamaldeído para obtenção de uma membrana hidrogel de trabalho.
- ✓ Testar a eficiência do cinamaldeído incorporado ao alginato frente as bactérias (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *A. baumannii*).
- ✓ Analisar em conjunto os constituintes da membrana hidrogel de acordo com as características morfológicas e físicas, tais como aspecto, morfologia, espessura, rugosidade, comportamento na presença de umidade e comportamento hídrico.

REFERÊNCIAS

- ADERIBIGBE, B. A.; BUYANA, B. Alginate in Wound Dressings. **Pharmaceutics**.10, 42, 2018.
- AHAMED, M.I. N.; SANKAR, S. KASHIFS, P. M.; KASHIF. K. BASHA, S.K.H.; SASTRY, T.P. Evaluation of biomaterial containing regenerated cellulose and chitosan incorporated with silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 72, p. 680-686, 2015.
- ALBANO, M.; CRULHAS, B. P.; ALVES, F. C. B.; PEREIRA, A. F. M.; ANDRADE, B. F. M. T.; BARBOSA, L. N.; JÚNIOR, A. F. Antibacterial and anti-biofilm activities of cinnamaldehyde against *S. epidermidis*. **Microbial Pathogenesis**. v.126, 2018.
- AMALARADJOU, M. A. R.; VENKITANARAYANAN, K. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of trans-cinnamaldehyde against *Cronobacter sakazakii* 415. **Foodborne Pathogens Disease**. 8, 1095–1102. 2011.
- AOYAGI, S., ONISHI, H., MACHIDA, Y. Novel chitosan wound dressings loaded with minocycline for the treatment of severe burn wounds. **International Journal of Pharmaceutics**. 330, 138–145.2007.
- ARFA, A.B.; PREZIOSI-BELLOU, L.; CHALIER, P.; GONTARD, N. Antimicrobial paper based on a soy protein isolate or modified starch coating including carvacrol and cinnamaldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 21;55(6):2155-62. 2007.
- AZIZ, Z. A. A.; AHMAD, AKIL.; SETAPAR, S. H. M.; KARAKUCUK, A.; AZIM, M.M.; LOKHAT, D.; RAFATULLAH, M.; GANASH, M.; KAMAL, M. A. AND ASHRAF, G. M. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. **Current Drug Metabolism**. V. 19, Issue 13, 2018.
- BAEK, S.K.; KIM, S. AND SONG, K. B. Characterization of Ecklonia cava Alginate Films Containing Cinnamon Essential Oils. **International Journal of Molecular Sciences**. 2018.
- BALAGUER, M.P.; LOPEZ-CARBALLO, L.; CATALA, R.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Propriedades antifúngicas de filmes de gliadina incorporando cinamaldeído e aplicação em embalagens ativas de alimentos para alimentos para barrar pão e queijo spread. **Revista Internacional de microbiologia e alimentos**.V.166. Ed. 3. 2013.
- BEHBAHANI, B.A.; IMANI, F.A.A. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhleseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. **Microbial Pathogenesis**. 2017.
- BEHBAHANI, B.A.; TABATABAEI-YAZDI. F.; VASIEE, A.; MORTAZAVI, S.A. *Oliveria decumbens* essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection, **Microbial Pathogenesis**. 2018.

BOATENG, J. S.; MATTHEWS, K. H.; STEVENS, H. N. E.; ECCLESTON, G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 97, p. 2892-2923, 2008.

BORDON, J.; MASTER, R.N.; CLARK, R.B. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to non-b-lactam antimicrobials in the United States from 1996 to 2008. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. 67:395–8. 2010.

BRASIL, I.M.; GOMES, C.; PUERTA-GOMEZ, A.; CASTELL-PEREZ, M.E.; MOREIRA, R.G. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of freshcut papaya. **LWT-Food Science Technology**. 47, 39–45. 2012.

BRINKAC, L.; VOORHIES, A.; GOMEZ, A.; NELSON, K.E. The Threat of Antimicrobial Resistance on the Human Microbiome. **Microbial Ecology**. November. 2017.

BRUNEL, M.; VITRAC, C.; COSTA, J.; MZALI, F.; VITRAC, X.; & MUSELLI, A. Essential Oil Composition of *Phagnalon sordidum*(L.) from Corsica, Chemical Variability and Antimicrobial Activity. **Chemistry & Biodiversity**. 13(3), 299–308. 2016.

BURT, S. “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review,” **International Journal of Food Microbiology**. vol. 94, no. 3, pp. 223–253, 2004.

BURT, S.A.; VLIELANDER, R.; HAAGSMAN, H.P.; VELDHUIZEN, E.J.A. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O157:H7 by addition of food stabilizers. **Journal of Food Protection**. 68: 919–26. 2005.

CANALES-MARTINEZ, M.; RIVERA-YAÑEZ, C.R.; SALAS-OROPEZA, J.; LOPEZ, H. R.; JIMENEZ-ESTRADA, M.; ROSAS-LOPEZ, R.; DURAN, D.A.; FLORES, C.; HERNANDEZ, L.B.; RODRIGUEZ-MONROY, M.A. Antimicrobial activity of *Bursera morelensis* ramírez essential oil. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 14(3), 74–82. 2017.

CAPUTO, L.; NAZZARO, F.; SOUZA, L.F.; ALIBERTI, L.; DE MARTINO, L.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. **Molecules**. Jun 3;22(6). 2017.

CEFALU, J. E.; BARRIER, K. M.; DAVIS, A. H.. Wound Infections in Critical Care. **Critical Care Nursing Clinics of North America**. 29(1), 81–96. 2017.

CHAN, J.; OSHIRO, T.; THOMAS, S.; HIGA, A.; BLACK, S.; TODOROVIC, A.; ELBARBRY, F.; HARRELSON, J. P. Inactivation of CYP2A6 by the Dietary Phenylpropanoid trans-Cinnamic Aldehyde (Cinnamaldehyde) and Estimation of Interactions with Nicotine and Letrozole. **Drug Metabolism and Disposition**. v.44, n.4, p.534–543, 2016.

CHAN, K.W.; KHONG, N.M.; IQBAL, S CH'NG, S.E.; YOUNAS, U.; BABJI, A.S. Cinnamon bark deodorised aqueous extract as potential natural antioxidant in meat emulsion system: a comparative study with synthetic and natural food antioxidants. **Journal of Food Science and Technology**. 51 (11):3269–3276. 2014.

CHEN, H.; MCCLEMENTS, D.J.; CHEN, E.; LIU, S.; LI, B.; LI, Y. In Situ Interfacial Conjugation of Chitosan with Cinnamaldehyde during Homogenization Improves the

Formation and Stability of Chitosan-Stabilized Emulsions. **Langmuir**. 26;33(51):14608-14617. 2017.

CLEBAK, K. T.; MALONE, M. A. Skin Infections. **Primary Care: Clinics in Office Practice**. 45(3), 433–454. 2018.

COMMISSION, C.P. Chinese pharmacopoeia. Vol. 328. Beijing: **Chemical Industry Press**. p. 547. 2005.

CONZATTI, G.; FOUCON, D.; CASTEL, M.; AYADI, F.; CAVALIE, S.; TOURRETTE, A. Alginate/chitosan polyelectrolyte complexes: A comparative study of the influence of the drying step on physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**. 172, 142-151, 2017.

CSUPOR, D.; BLAZSÓ, G.; BALOGH, Á.; HOHMANN, J. The traditional Hungarian medicinal plant *Centaurea sadleriana* Janka accelerates wound healing in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. 127(1), 193–195.2010.

DE SOUZA, A.C.; DIAS, A. M. A.; SOUSA, H. C.; TADINI, C. C. Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food active packaging. **Carbohydrate Polymers**. 102, 830–837. 2014.

DHIVYA, S.; PADMA, V.V.; SANTHINI, E. Wound dressings—a review. **Biomedicine**. 5(4), 2015.

DIAS, M.; MONTEIRO, M. S. Antibiotics and bacterial resistance, old issues, new challenges. **Cadernos Otorrinolaringologia**. Clínica, investigação e inovação. December. 2010.

DOMADIA, P.; SWARUP, S.; BHUNIA, A.; SIVARAMAN, J.; And DASGUPTA, D. Inhibition of bacterial cell Division protein FtsZ by cinnamaldehyde. **Biochemical Pharmacology**. 74, 831–840. 2007.

DORRIA, M.; HASHEMITABARB, S.; HOSSEINZADEH, H. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: a review. **Drug and Chemical Toxicology**. 2017.

DOWD, S.E.; SUN, Y.; SECOR P.R. RHOADS, D.D.; WOLCOTT, B.M.; JAMES, G.A.; WOLCOTT, R.D. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. **BMC Microbiology**. 8:43. 2008.

DU TOIT, A. Immune evasion: Staphylococcus slips through the net. **Nature Reviews Immunology**. 14(1), 4-5. 2014.

DWIVEDI, C.; PANDEY, H.C.; PANDEY, A.W.; RAMTEKE, P. Nanofibre based smart pharmaceutical scaffolds for wound repair and regenerations. **Current pharmaceutical design**. 22(11). ID:1460-71. 2016.

EDWARDS, J. V.; YAGER, D. R.; COHEN, I. K. Modified cotton gauze dressings that selectively absorb neutrophil elastase activity in solution. **Wound Repair and Regeneration**. v. 9, p. 50-58, 2001.

FAIKOH, E.N.; HONG, Y. H.; HU, S. Y. Liposome-encapsulated cinnamaldehyde enhances zebrafish (*Danio rerio*) immunity and survival when challenged with *Vibrio vulnificus* and *Streptococcus agalactiae*. **Fish & Shellfish Immunology**. 38, 15e24. 2014.

FARAHPOUR, M.R.; HABIBI, M. Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of Ceylon cinnamon in mice. **Veterinárni medicina/Agricultural Journals**. 57:53–57. 2012.

FERRO, T.A.F.; ARAÚJO, J.M.; DOS SANTOS PINTO, B.L.; DOS SANTOS, J.S.; SOUZA, E.B.; DA SILVA, B.L.; COLARES, V.L.; NOVAIS, T.M.; FILHO, C.M.; STRUVE, C.; CALIXTO, J.B.; MONTEIRO-NETO, V.; DA SILVA, L.C.; FERNANDES, E.S. Cinnamaldehyde Inhibits *Staphylococcus aureus* Virulence Factors and Protects against Infection in a *Galleria mellonella* Model. **Frontiers in Microbiology**. V.7 |Article: 2052. 2016.

FERRO, T.A.F.; SOUZA, E.B.; SUAREZ, M.A.M.; RODRIGUES, J.F.S.; PEREIRA, D.M.S.; MENDES, S.J.F.; ... FERNANDES, ES. Aplicação tópica de cinamaldeído promove cicatrização mais rápida de feridas cutâneas infectadas com *Pseudomonas aeruginosa*. **Molecules**. 24 (8), 1627. 2019.

FIRMINO, D. F.; CAVALCANTE, T. T. A.; GOMES, G. A.; FIRMINO, N. C. S.; ROSA, L. D.; DE CARVALHO, M. G.; & CATUNDA JR, F. E. A. Antibacterial and Antibiofilm Activities of Cinnamomum Sp. Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **The Scientific World Journal**. 1–9. 2018.

FONSECA, C.; RAMOS, A.; SANTOS, D.; GASPAR, L.; FERREIRA, MARTA. Prática de enfermagem baseada na evidência: O caso das feridas. **Journal of age and innovation**. 2013.

FRIEDMAN, M. Chemistry, Antimicrobial Mechanisms, and Antibiotic Activities of Cinnamaldehyde against Pathogenic Bacteria in Animal Feeds and Human Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 65(48), 10406–10423. 2017.

GERACI, A.; DI STEFANO, V.; DI MARTINO, E.; SCHILLACI, D.; SCHICCHI, R. Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. **Natural Product Research**. 31(6), 653–659.2016.

GEORGE, M.; ABRAHAM, E. Protein drugs: Alginate and chitosan — a review. **Journal of Controlled Release**. v.114, p. 1–14, 2006.

GIACOMETTI, A.; CIRIONI, O.; SCHIMIZZI, A.M.; DEL PRETE, M.S.; BARCHIESE, F.; D'ERRICO, M.M.; PETRELLI, E.; SCALISE, G. Epidemiology and microbiology of surgical wound infections. **Journal of Clinical Microbiology**. 38:918–22. 2000.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004.

GOMES, C.; MOREIRA, R.G.; CASTELL-PEREZ, E. Poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles with entrapped trans-cinnamaldehyde and eugenol for antimicrobial delivery applications. **Journal of Food Science**. 76, S16–S24. 2011.

HARIRI, M.; GHIASVAND, R. Cinnamon and Chronic Diseases. **Drug Discovery from Mother Nature**, 1–24. 2016.

HEIDARI-SURESHJANI, M.; TABATABAEI-YAZDI, F.; ALIZADEH-BEHBAHANI, B.; MORTAZAVI, A. Antimicrobial Effect of Aqueous, Ethanol, Methanol and Glycerin Extracts of *Satureja bachtiarica* on *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. **Zahedan Journal of Research in Medical Sciences**. 17(7): 1-5. 2015.

HOLLENBECK, B.L.; RICE, L.B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *enterococcus*. **Virulence**. 3:421–33. 2012.

HUANG, L.; SUN, L.; XU, G.; XIA, T. Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of *Acinetobacter baumannii* in a Chinese hospital. **Diagn. Journal of Microbiology and Infectious Diseases**. 62:326e32. 2008.

HUI, W.; YUAN, H.; LI, S.; ZHUO, L.; JIANG, M. Synthesis, antimicrobial activity of Schiff base compounds of cinnamaldehyde and amino acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 26, 809–813. 2016.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 51, 547–562, 2011.

JAYARAMAN, P.; SAKHARKAR, M.K.; LIM, C.S.; TANG, T.H & SAKHARKAR, K.R.: Activity and interactions of antibiotic and phytochemical combinations against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. **International Journal of Biological Sciences**. 556 – 568, 2010.

JIA, P.; XUE, Y.J.; DUAN, X.J. E SHAO, S.H. Efeito do cinamaldeído na formação de biofilme e expressão de sarA por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Letters in Applied Microbiology**. 53 (4), 409-416. 2011.

JONES, M. B.; NIEMAN, W.C.; SHAN, Y. et al. Reducing the Bottleneck in Discovery of Novel Antibiotics. **Microbial Ecology**. 73:658–667. 2017.

JOST, V.; REINELT, M. Effect of Ca²⁺ induced crosslinking on the mechanical and barrier properties of cast alginate films. **Journal of Applied Polymer Science**. 135, 45754, 2018.

KAMATH J.V.; RANA, A.C.; CHOWDHURY, A.R. Pro-healing effect of *Cinnamomum zeylanicum* bark. **Phytotherapy Research**. 17:970–2. 2003.

KAMOUN, E. A.; KENAWY, E. S.; CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**. v. 8, p. 217-233, 2017.

KE, J.; XIAO, L.; YU, G.; WU, H.; SHEN, G.; ZHANG, Z. The study of diffusion kinetics of cinnamaldehyde from corn starch-based film into food simulant and physical properties of antibacterial polymer film. **International Journal of Biological Macromolecules**. 15;125:642–650. 2019.

KOKABI, M.; SIROUSAZAR, M.; HASSAN, Z.M. PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. **European Polymer Journal**. 43:773–81. 2007.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical Reviews in Microbiology**. 40(1), 76–94. 2013.

LEE, K.Y.; MOONEY, D.J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**. 37, 106–126. 2012.

LINDHOLM, C.; SEARLE, R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. **International Wound Journal**. v. 13 Suppl 2, p. 5-15, Jul 2016.

LISTER, P. D., WOLTER, D. J, HANSON, N. D. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. **Clinical Microbiology Reviews**. 22(4): 582-610. 2009.

LIU, Y.; LIANG, X.; ZHANG, R.; LAN, W.; & QIN, W. Fabrication of Electrospun Polylactic Acid/Cinnamaldehyde/ β -Cyclodextrin Fibers as an Antimicrobial Wound Dressing. **Polymers**. 9(12), 464. 2017.

LIVERMORE, D. M. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? **Clinical Infectious Diseases**. 34(5): 634-40. 2002.

LOQUERCIO, A.; CASTELL-PEREZ, E.; GOMES, C.; & MOREIRA, R. G. Preparation of Chitosan-Alginate Nanoparticles for Trans-cinnamaldehyde Entrapment. **Journal of Food Science**. 80(10), N2305–N2315. 2015.

LORENZO-LEAL, A. C.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. & BACH, H. Antimicrobial, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activities of Pimenta dioica and Rosmarinus officinalis Essential Oils. **BioMed Research International**. 1-8.2019.

LU, M.; DAI, T.; MURRAY, C.K.; WU, M.X. Bactericidal Property of Oregano Oil Against Multidrug-Resistant Clinical Isolates. **Frontiers in Microbiology**. 2018; 9:2329. Published 2018 Oct 5.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 78(5), p. 525-542, 2003.

MANU, D.; MENDONCA, A. F.; DARABA, A.; DICKSON, J. S.; SEBRANEK, J.; SHAW, A.; WHITE, S. Antimicrobial Efficacy of Cinnamaldehyde Against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in Carrot Juice and Mixed Berry Juice Held at 4°C and 12°C. **Foodborne Pathogens and Disease**. 14(5), 302–307. 2017.

MARIN, L.; MORARU, S.; POPESCU, M.C.; NICOLESCU, A.; ZGARDAN, C.; SIMIONESCU, B.C.; BARBOIU, M. Out-of-water constitutional self-organization of chitosan-cinnamaldehyde dynagels. **Chemistry**. Apr 14;20(16):4814-21. 2014.

MAXIA, A.; FALCONIERI, D.; PIRAS, A. PORCEDDA, S.; MORONGIU, B.; FRAU, M.A.; GONÇALVES, M.J.; CABRAL, C.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L. “Chemical

composition and antifungal activity of essential oils and supercritical CO₂ extracts of *Apiumnodiflorum* (L.) Lag.,"**Mycopathologia**. vol. 174, n^o. 1, pp. 61–67, 2012.

MIHARA, S.; SHIBAMOTO, T. The role off flavor and fragrance chemicals in TRPA1 (transiente receptor potential cátion channel, member A1) activity associated with allergies. **Allergy, Asthma e Clinical Immunology**. 2015.

MOON, S. E.; KIM, H.Y.; CHA, J.D. Synergistic effect between clove oil and its major compounds and antibiotics against oral bacteria. **Archives of Oral Biology**. 56:907–16. 2011.

MOURA, L. I. F.; DIAS, A. M. A.; CARVALHO, E.; DE SOUSA, H. C. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment – A review. **Acta Biomaterialia**. v. 9, p. 7093-7114, 2013.

MUZZARELLI, R.A.A. Quitinas e quitosanas para a reparação de pele, nervos, cartilagens e ossos feridos. **Polímeros de carboidratos**. 76 (2), 167-182.2009.

MUZZARELLI, R. A. A.; MORGANTI, P.; MORGANTI, G.; PALOMBO, P.; PALOMBO M.; BIAGINI, G.; BELMONTE, M. M.; GIANTOMASSI, F.; ORLANDI, F.; MUZZARELLI, C. Chitin nanofibrils/chitosan glycolate composites as wound medicaments. **Carbohydrate Polymers**. v. 70, p. 274–284, 2007.

NERI, F.; MARI, M.; BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. **Plant Pathology**. 55, 100–105. 2006.

NETTO, M. Z.; HERREIRO, F.; BANDEIRA, C.O.P.; ITO, W.; CIORLIN, E.; SAQUETI, E.E.; ANSILIEIRO, I.J.; GONSALVES, L.; SIQUEIRA, V.L.D. *Staphylococcus aureus*: incidência e resistência antimicrobiana em abscessos cutâneos de origem comunitária. **Acta Scientiarum Maringá**. v. 23, n. 3, p. 709-712, 2001.

NIKAIDO, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. **Science**. 264:382–8. 1994.

NOMANPOUR, B.; GHODOUSI, A.; BABAEI, A.; ABTAHI, H.; TABRIZI, M.; FEIZABADI, M. Rapid, cost-effective, sensitive and quantitative detection of *Acinetobacter baumannii* from pneumonia patients. **Iranian Journal of Microbiology**. 2011.

NOSHAD, M.; HOJJATI, M.; & ALIZADEH BEHBAHANI, B. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. **Microbial Pathogenesis**. 116, 153–157. 2018.

NOSTRO, A.; SCAFFARO, R.; BOTTA, L.; FILOCAMO, A.; MARINO, A.; & BISIGNANO, G. Effect of temperature on the release of carvacrol and cinnamaldehyde incorporated into polymeric systems to control growth and biofilms of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Biofouling**. 2015.

PANDINI, J. A.; PINTO, F.G.S.; SCUR, M.C.; SANTANA, C.B.; COSTA, W.F.; TEMPONI, L.G. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant potential of the essential oil of *Guarea kunthiana* A. Juss. **Brazilian Journal of Biology**. vol. 78, n^o. 1, pp.53-60. 2018.

PÉREZ-RECALDE, M.; ARIAS, I. E.R.; & HERMIDA, É. B. Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? A systematic review. **Phytomedicine**. 38, 57–65. 2018.

PERCIVAL, S.L.; MCCARTY, S.M.; LIPSKY, B. Biofilms and wounds: an overview of the evidence. **Advances in Wound Care**. Vol.4, N° 7, 2015.

PURNER, S.K.; BABU, M. Collagen based dressings- A review. **Burns**. 26:54–62. 2000.

RAMASAMY, M.; LEE, J.-H.; & LEE, J. Development of gold nanoparticles coated with silica containing the antibiofilm drug cinnamaldehyde and their effects on pathogenic bacteria. **International Journal of Nanomedicine**. Volume 12, 2813–2828. 2017.

RANZATO, E.; MARTINOTTI S.; BURLANDO, B. Wound healing properties of jojoba liquid wax: na in vitro study. **Journal of Ethnopharmacology**. 134(2): 443-439. 2011.

RAO, P.V.; GAN, S.H. Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. ID:642942. 12p. 2014.

RAVISHANKAR, S.; JARONI, D.; ZHU, L.; OLSEN, C.; MCHUGH, T.; FRIEDMAN, M. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham and bologna using pectin-based apple, carrot, and hibiscus edible films containing carvacrol and cinnamaldehyde. **Journal of Food Science**. 77, M377–M382. 2012.

RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer International**. v. 57, p. 397–430, 2008.

RIEGER, K.A.; SCHIFFMAN, J.D. Electrospinning an essential oil: Cinnamaldehyde enhances the antimicrobial efficacy of chitosan/poly (ethylene oxide) nanofibers. **Carbohydrate Polymers**. 113, 561–568, 2014.

RODRIGUEZ, A.; NERIN, C.; BATLLE, R. New cinnamon-based active paper packaging against *Rhizopus stolonifer* food spoilage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56, 6364–6369. 2008.

SANGAL, A. Role of cinnamon as beneficial antidiabetic food adjunct: A review. **Advances in Applied Science Research**. 440–450. 2011.

SANLA-EAD, N.; JANGCHUD, A.; CHONHENCHOB, V.; SUPPAKUL, P. Antimicrobial Activity of cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films. **Packaging Technology and Science**. 25, 7–17, 2012.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T. and REHDER, V.L.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. vol. 35, no. 4, pp. 275-280. 2004.

SEZER, A.D.; CEVHER, E. Biopolymers as wound healing materials: Challenges and new strategies. **In Biomaterials Applications for Nanomedicine**. Pignatello, R., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia; pp. 383–414. 2011.

SHAN, B.; CAI, Y.Z.; BROOKS, J.D.; CORKE, H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against

foodborne pathogenic bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 55(14):5484–5490. 2007.

SISMAET, H.J.; BANERJEE, A.; MCNISH, S.; CHOI, Y.; TORRALBA, B.S.; LUCAS, B.S.; CHAN, A. Electrochemical detection of *seudomonas* in wound exudate samples from patients with chronic wounds. **Wound Repair Regeneration**. 24(2):366–72. 2016.

SOOD, A.; GRANICK, M.S.; TOMASELLI, N, L. Wound dressings and comparative effectiveness data. **Advances in Wound Care**. 3, 511–529, 2014.

SUDARSAN, S.; FRANKLIN, D.S.; GUHANATHAN, S. Imbibed salts and pH-responsive behaviours of sodium-alginate based eco-friendly biopolymeric hydrogels-A solventless approach. **Macromolecules**. MIIJ, Vol. 11, 24–29, 2015.

SUNTAR, I.; TUMEN, I.; USTUN, O.; KELES, H.; AKKOL, E.K. Appraisal on the wound healing and anti-inflammatory activities of the essential oils obtained from the cones and needles of *Pinus* species by in vivo and in vitro experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**. v.139, n.2, p.533-540, 2012.

SZEKALSKA, M.; PUCIŁOWSKA, A.; SZYMANSKA, E.; CIOSEK, P.; WINNICKA, K. Alginate: Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications. **International Journal of Polymer Science**. 8, 1–17, 2016.

TABATABAEI-YAZDI, F.; Behbahani, B.A.; ZANGANEH, H. The Comparison Among Antibacterial Activity of *Mespilus germanica* Extracts and Number of Common Therapeutic Antibiotics “In Vitro”. **Zahedan Journal of Research in Medical Sciences**. 17(12): 1-6. 2015.

TAHA, A. M. & ELDAHSHAN, O. A. Chemical Characteristics, Antimicrobial, and Cytotoxic Activities of the Essential Oil of Egyptian *Cinnamomum glanduliferum* Bark. **Chemistry & Biodiversity**. 14(5). 2017.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**. 137, 360–374, 2016.

THU, H.-E.; ZULFAKAR, M. H.; & NG, S.-F. Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing. **International Journal of Pharmaceutics**. 434(1-2), 375–383. 2012.

TIAN, Y.; ZHU, Y.; BASHARI, M.; HU, X.; XU, X.; JIN, Z. Identification and releasing characteristics of high-amylose corn starch–cinnamaldehyde inclusion complex prepared using ultrasound treatment. **Carbohydrate Polymers**. 91(2), 586–589. 2013.

TULUNAY, M.; AYPAK, C.; YIKILKAN, H.; GORPELIOGLU, S. Herbal medicine use among patients with chronic diseases. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**. 4(3):217–220. 2015.

TURE, H. Characterization of hydroxyapatite-containing alginate–gelatin composite films as a potential wound dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2018.

UPRETI, N.; RAYAMAJHEE, B.; SHERCHAN, S.P.; CHOUDHARI, M.K.; BANJARA, M.R. Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, multidrug resistant and extended spectrum β -lactamase producing gram negative bacilli causing wound infections at a tertiary care hospital of Nepal. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**. 7:121. 2018.

UTCHARIYAKIA T, I.; SURASSMO, S.; JATURANPINYO, M.; KHUNTAYAPORN, P.; CHOMNAWANG, M. T. Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on antimultidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 16:158. 2016.

VIQUEZ-MOLINA, G., ARAGÃO-SÁNCHEZ, J.; PÉREZ-CORRALES, C.;MURILIVARGAS, C.; LÓPEZ-VALVERDE, M.E.; LIPSKY, B.A. Virulence Factor Genes in *Staphylococcus aureus* Isolated From Diabetic Foot Soft Tissue and Bone Infections. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**. ISSN 1552-6941 (Electronic). Mar, 2018.

WARING, M.J.; PARSONS, D. Physico-chemical characterisation of carboxymethylated spun cellulose fibres. **Biomaterials**. 22 (9):903–12. 2001.

WEN, P.; ZHU, D.H.; WU, H.; ZONG, M.H.; JING, Y.R.; HAN, S.Y. Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. **Food Control**. 59, 366–376, 2016.

WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based biomaterials as dressings of chronic Stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**. v. 294-II, p. 1-13, 2010.

WOEHLIN, F.; FRY, H.; ABRAHAM, K.; PREISS-WEIGERT, A. Quantification of flavoring constituents in cinnamon: high variation of coumarin in cassia bark from the German retail market and in authentic samples from Indonesia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 58:10568–75. 2010.

WU, J.; SUN, Q.; HUANG, H.; DUAN, Y.; XIAO, G.; LE, T. Enhanced physico-mechanical, barrier and antifungal properties of soy protein isolate film by incorporating both plant-sourced cinnamaldehyde and facile synthesized zinc oxide nanosheets. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 1;180:31-38. 2019.

YADAV, P.; YADAV, H.; SHAH, V.G.; SHAH, G.; DHAKA, G. Biomedical biopolymers, their origin and evolution in biomedical sciences: A systematic review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. 2015.

YUAN, X.; HAN, L.; FU, P.; ZENG, H.; LV, C.; CHANG, W.; RUNYON, R. S.; ISHII, M.; HAN, L.; LIU, K.; FAN, T.; ZHANG, W.; LIU, R. Cinnamaldehyde accelerates wound healing by promoting angiogenesis via up-regulation of PI3K and MAPK signaling pathways. **Laboratory Investigation**. 2017.

ZODROW, K. R.; SCHIFFMAN, J. D.; ELIMELECH, M. Biodegradable Polymer (PLGA) Coatings Featuring Cinnamaldehyde and Carvacrol Mitigate Biofilm Formation. **Langmuir**. 28(39), 13993–13999. 2012.

ZHU, Y.; ZHANG, J.; CANÇÃO, J.; YANG, J.; XU, T.; PAN, C.; ZHANG, L. One-Step Synthesis of an Antibacterial and Pro-Healing Wound Dressing That can Treat Wound Infections. **Journal of Materials Chemistry B**. v.00, p. 1-3, 2017.

ARTIGO 1

POLYSACCHARIDE-BASED FORMULATIONS FOR HEALING OF SKIN-RELATED WOUND INFECTIONS: LESSONS FROM ANIMAL MODELS AND CLINICAL TRIALS

FORMULAÇÕES BASEADAS EM POLISACARÍDEOS PARA CURA DE INFECÇÕES RELATIVAS À PELE: LIÇÕES DE MODELOS ANIMAIS E ENSAIOS CLÍNICOS

RESUMO

As lesões na pele constituem uma porta de entrada para bactérias patogênicas que podem ser parte da microbiota tecidual ou adquiridas do meio ambiente. Esses microrganismos (como *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) produzem fatores de virulência que prejudicam a integridade do tecido e sustentam a fase inflamatória, levando ao estabelecimento de feridas crônicas. Os altos níveis de resistência antimicrobiana limitaram o arsenal terapêutico para combater infecções de pele. Assim, o tratamento de feridas crônicas não cicatrizantes é um enorme desafio para os serviços de saúde em todo o mundo, impondo grandes danos socioeconômicos aos indivíduos afetados. Esse cenário incentivou o uso de polímeros naturais, como o polissacarídeo, para desenvolver novas formulações (membranas, nanopartículas, hidrogéis e esponjas) a serem aplicadas no tratamento de infecções de pele. Nesta revisão não exaustiva, discutimos as aplicações de formulações à base de polissacarídeos na cicatrização de feridas infectadas em modelos animais e ensaios clínicos. As formulações discutidas nesta revisão foram preparadas usando alginato, celulose, quitosana e ácido hialurônico. Além de ter ações de cura em si, essas formulações de polissacarídeos podem atuar como sistemas de administração transdérmica de medicamentos, controlando a liberação de ingredientes ativos (como agentes antimicrobianos e de cura). Os trabalhos mostram que essas formulações à base de polissacarídeos são eficientes no controle de infecções e melhoram a cicatrização, mesmo em feridas infectadas crônicas. Esses dados devem impactar positivamente o design de novos curativos para tratar infecções de pele.

Palavras-chave: alginato; celulose; quitosana; ácido hialurônico; feridas infectadas


Review

Polysaccharide-Based Formulations for Healing of Skin-Related Wound Infections: Lessons from Animal Models and Clinical Trials

Diogo Marcelo Lima Ribeiro ^{1,†}, Alexander Rodrigues Carvalho Júnior ^{1,†}, Gustavo Henrique Rodrigues Vale de Macedo ¹, Vitor Lopes Chagas ¹, Lucas dos Santos Silva ¹, Brenda da Silva Cutrim ¹, Deivid Martins Santos ¹, Bruno Luis Lima Soares ¹, Adrielle Zagnignan ¹, Rita de Cássia Mendonça de Miranda ¹, Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque ² and Luís Cláudio Nascimento da Silva ^{1,*}

¹ Programa de Pós-graduação, Universidade Ceuma, São Luís, Maranhão 65075–120, Brazil; diogomlr@hotmail.com (D.M.L.R.); arcarvalhojr@gmail.com (A.R.C.J.); gustavo.macedo.7@hotmail.com (G.H.R.V.d.M.); vitorlopes.ch@gmail.com (V.L.C.); ls.lucas@gmail.com (L.d.S.S.); bsilvadc@gmail.com (B.d.S.C.); deivid.martinss98@gmail.com (D.M.S.); brunoluis14@hotmail.com (B.L.L.S.); adriellyzagnignan@hotmail.com (A.Z.); rita.miranda@ceuma.br (R.d.C.M.d.M.)

² Departamento de Medicina, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, Pernambuco 55294902, Brazil; priscillaibm@hotmail.com

* Correspondence: luisclaudionsilva@yahoo.com.br or luisen.silva@ceuma.br

† These authors contributed equally to this work.



Received: 10 October 2019; Accepted: 15 November 2019; Published: 30 December 2019

Abstract: Skin injuries constitute a gateway for pathogenic bacteria that can be either part of tissue microbiota or acquired from the environmental. These microorganisms (such as *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*) produce virulence factors that impair tissue integrity and sustain the inflammatory phase leading for establishment of chronic wounds. The high levels of antimicrobial resistance have limited the therapeutic arsenal for combatting skin infections. Thus, the treatment of non-healing chronic wounds is a huge challenge for health services worldwide, imposing great socio-economic damage to the affected individuals. This scenario has encouraged the use of natural polymers, such as polysaccharide, in order to develop new formulations (membranes, nanoparticles, hydrogels, scaffolds) to be applied in the treatment of skin infections. In this non-exhaustive review, we discuss the applications of polysaccharide-based formulations in the healing of infected wounds in animal models and clinical trials. The formulations discussed in this review were prepared using alginate, cellulose, chitosan, and hyaluronic acid. In addition to have healing actions *per se*, these polysaccharide formulations can act as transdermal drug delivery systems, controlling the release of active ingredients (such as antimicrobial and healing agents). The papers show that these polysaccharides-based formulations are efficient in controlling infection and improve the healing, even in chronic infected wounds. These data should positively impact the design of new dressings to treat skin infections.

Keywords: alginate; cellulose; chitosan; hyaluronic acid; infected wounds

1. Introduction

Wound healing is a complex biochemical and cellular process consisting of sequential and overlapping phases (hemostasis, inflammatory, proliferative, and remodeling stages) that occur in response to the physical disruption of tissue [1,2]. Skin injuries constitute a gateway for

pathogenic bacteria that can be either part of tissue microbiota or acquired from the environment. These microorganisms produce virulence factors that impair tissue integrity and sustain the inflammatory phase leading for development of wounds [3–5]. Other factors that contribute to chronicity of lesions include the following comorbidities: neoplasias, metabolic disorders, vascular pathologies, and immunodeficiencies [6].

Several pathogens can be involved in skin infections; among them, some bacteria genus are highlighted such as *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, and *Streptococcus* [3,7]. Chronic wounds are frequently infected by more than one species, resulting in increasing damage to host tissue [3]. These infections are usually associated with biofilm formation, an environment where microorganisms interact to produce extracellular substances that contribute to the phenomena of drug resistance and host immune evasion [8]. In addition, the biofilm is a favorable niche for dissemination of genes related to antimicrobial resistance and virulence determinants [9,10].

The treatment of non-healing chronic wounds is a huge challenge for the health services worldwide, imposing great socio-economic damages to the affected individuals [11,12]. A wide range of dressings are used to treat severe wounds. In general, the dressing should have some characteristics that are classified as fundamental or secondary requirements (Table 1). Examples of the fundamental properties include mechanical protection and cytocompatibility. The ideal dressing should have high absorption capacity, be comfortable, allow the visualization of the wound, and avoid pain in the removal. In addition, it should not provoke allergic reaction [13–18].

Table 1. Summary of fundamental and secondary characteristics for an ideal dressing.

Fundamental Characteristics		Secondary Characteristics	
1-	It should offer mechanical protection;	1-	It could promote wound healing;
2-	It should keep the wound with optimum moisture and pH;	2-	It could have antimicrobial activity;
3-	It should allow gas exchange with the environment;	3-	It could have hemostatic activity;
4-	It should ensure biological barrier;	4-	It could promote the debridement;
5-	It should have affordable cost;	5-	It should minimize the scar tissue formation;
6-	It should be water resistant and easily removable;	6-	It could be transparent to allow healing monitoring;
7-	It should not need frequent changes;	7-	It could inactivate proteolytic enzymes in chronic wounds;
8-	It should not be toxic or cause allergic reactions;	8-	It could be able to absorb bad odor.
9-	It should not release non-biodegradable particles or fibers into the wound.		
10-	It should not cause pain when applied or removed.		

Based on [13–19].

Traditional topical dressings (such as gauze) usually offer good absorption, but also provide desiccation of the wound and can provoke skin damage when removed. These disadvantages led to the development of new dressings with a broader spectrum of properties [20]. Different polymeric materials (synthetic or natural) are used for the development of dressings (foams, hydrogels, hydrocolloids, films, membranes), and each type has advantages and disadvantages making them suitable for the treatment of specific types of wound (Table 2).

Furthermore, the treatment of skin infections requires the incorporation of antimicrobial agents such as silver and other marketed antibiotics [20]. In some situations, topical antimicrobials are administrated in combination with systemic antibiotics [21]. However, the high levels of antimicrobial resistance have limited the therapeutic arsenal to combat skin infections [20,22]. In this sense, new bioactive compounds (with antimicrobial, healing, and/or immunomodulatory actions) are explored for the treatment of chronic and infected wounds [20,23,24].

Table 2. Advantages and disadvantages of some dressings used for the treatment of wounds.

Formulation Type	Indications	Advantages	Disadvantages	References
Foams	<ul style="list-style-type: none"> They are indicated for wounds with moderate to high levels of exudates. 	<ul style="list-style-type: none"> They are semipermeable and have good porosity; They provide thermal insulation; They ensure a moist environment; They are suitable for sensitive and fragile skin; They have good absorption capacity; They can reduce over granulation; They allow atraumatic removal. 	<ul style="list-style-type: none"> They do not offer mechanical protection; They are not suitable for treatment of burns. 	[13,19,25–27]
Hydrogels	<ul style="list-style-type: none"> They are indicated for dry necrotic wounds and minimally exuding wounds. 	<ul style="list-style-type: none"> They have high water content and maintain a moist environment; They are clear or transparent, allowing the wound monitoring; They promote re-epithelialization; They facilitate autolytic debridement of necrotic area. 	<ul style="list-style-type: none"> They have weak mechanical properties; They are used in combination with a secondary dressing (such as foams). 	[19,27–29]
Hydrocolloids	<ul style="list-style-type: none"> They are suitable for partial- or full-thickness acute and chronic wounds. 	<ul style="list-style-type: none"> They maintain a moist environment; They absorb minimal to moderate amounts of drainage; They are easy to be removed; They facilitate autolytic debridement of necrotic area; They contribute to pain management; They provide a barrier to external microorganism; They promote re-epithelialization; They promote acidification which can inhibit bacteria growth. 	<ul style="list-style-type: none"> They can have toxicity; They have weak mechanical properties; They can have unpleasant odor. 	[19,27,30]
Films	<ul style="list-style-type: none"> They can be used as primary or secondary dressings. As primary dressing, they are indicated for dry, superficial wound. As a secondary dressing they can be used combined with foam dressings in heavier exuding wounds. 	<ul style="list-style-type: none"> They are semipermeable (impermeability to water, bacteria, and dirt; but permeable to wet vapors); They maintain a moist environment; They are flexible; They are clear or transparent, allowing the wound monitoring. 	<ul style="list-style-type: none"> They do not absorb exudates; They generally require a border of dry, intact skin for application (for adhesiveness); They can damage the epidermal skin layer during the removal. 	[19,20,27,31]
Membranes	<ul style="list-style-type: none"> They are indicated for infected wounds with moderate to heavily exuding wounds. 	<ul style="list-style-type: none"> They have high capacity to absorb exudate (up to 20 times their weight); They are permeable to wet vapors; They maintain a moist environment; They are flexible and biodegradable; They minimize bacterial infection. 	<ul style="list-style-type: none"> They can cause excessive dehydration (not indicated to dry wounds); Some membranes require secondary dressings (to avoid dryness). 	[19,27,31]

Importantly, no existing product meets all the requirements of an ideal dressing. This scenario has encouraged the use of natural polymers, such as carbohydrates, in order to develop new formulations to be applied in the treatment of skin infections [23,32–36]. In this descriptive review, we present the application of polysaccharide-based formulations in *in vivo* experimental models of skin wounds infections induced by bacteria. The manuscripts were obtained in PubMed and were selected papers with formulations prepared with alginate, cellulose, chitosan, and hyaluronic acid (structural representations are shown in Figure 1).

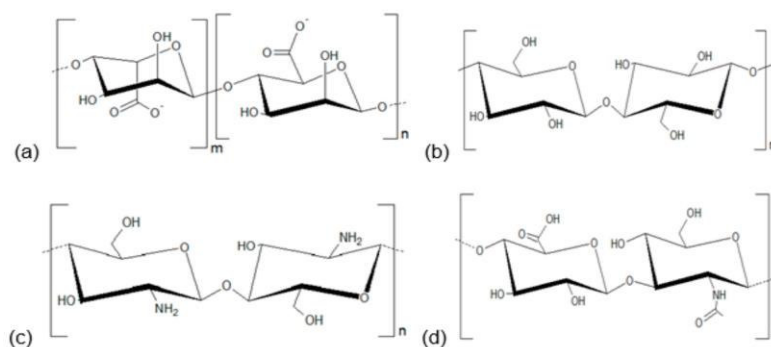


Figure 1. Structural representations of the polysaccharides used for development of dressings Evaluated in this study. (a) Alginate; (b) cellulose; (c) chitosan; (d) hyaluronic acid.

2. Polysaccharides and Development of Healing Agents

Polysaccharides are stereoregular polymers of monosaccharides extracted from plants, algae, animals, fungi, or obtained via fermentation [37–39]; these complex carbohydrates are useful in many biotechnological applications, for example as dietary fiber, texture modifiers, gelling agents, thickeners, emulsifiers, stabilizers, coating agents, and packaging films [40–42]. They are considered unique raw materials due to their inexpensiveness and great availability, for example plant cellulose and chitosan [37,38].

In addition, it is possible to point at several biological and chemical properties that support their application as healing agents, including non-toxicity, biocompatibility, biodegradability, poly-functionality, high chemical reactivity, chirality, chelation, and adsorption capacity [41,43]. The excellent adsorption behavior of polysaccharides is related to four properties: (1) Their high hydrophilicity; (2) the presence of a vast number of functional groups (acetamido, primary amino, and/or hydroxyl groups); (3) the high chemical reactivity of these functional groups; and (4) the flexible structure of the polymer chain [44,45].

Natural gums are polysaccharides composed of multiple sugar units that crosslink to create large molecules with heterogeneous composition. Upon hydrolysis, they yield simple monosaccharides, such as arabinose, galactose, glucose, mannose, xylose or uronic acids [46,47]. Gums are abundant in nature and commonly found in many higher plants; in addition, they are frequently produced as a protection mechanism following plant injury [48,49]. Besides gums, the polysaccharides also include mucilages. Although they share a natural polymeric source, gums and mucilages have certain differences: (i) gums readily dissolve in water, while mucilages form viscous masses; (ii) gums are considered pathological products, whereas mucilages are physiological products [47]. In addition, their similarities are related to their broad range of physicochemical properties [40,50].

Many natural gums form three-dimensional Polymer networks known as gels. In this conformation, the heterogeneous gum molecules become entangled with each other (and any other large molecules also present in the structure), interfering in their movement [46,48,51]. Also, natural gums are often known for their swelling properties; in this case, properties associated with the entrapment of large amounts of water between their chains and branches. The ability to act both as solution and as gel suggests that the physicochemical characteristics of polysaccharides can be used to formulate different matrices, including membranes (films and coatings), scaffolds, gels, and hydrogels [47,51,52].

Studies involving the use of polysaccharide as membranes, gels, and hydrogels have already been developed for important and different purposes. In the pharmaceutical field, for example, polysaccharide-based membranes have been developed as wound dressings for healing treatments due to their characteristics of biomolecule immobilization, controlled release, and adhesion [52–54]. In addition to have healing actions *per se*, these polysaccharide formulations can act as transdermal drug delivery systems, controlling the release of active ingredients [55–59]. In the following sections, we discuss the use of some polysaccharide-based formulations in the healing of infected wounds using animal models and clinical trials (as summarized in Table 3).

Table 3. Polysaccharide-based formulations employed in the treatment of skin-related infections in animal models and clinical trials.

Polysaccharide	Co-Polymer	Formulation Type	Incorporated Agent	Infection Model	Bacteria	Ref.
Alginate	-	Alginate dressing	Silver	Human	-	[60]
	-	Alginate dressing	Silver	Human	-	[61]
	-	Alginate dressing	CM11 peptide	Animal (mice)	MRSA	[32]
	-	Hydrogel	Honey	Animal (rats)	<i>A. baumannii</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	[62]
Cellulose (Sodium carboxymethyl cellulose)	-	Film	-	Animal (rats)	<i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	[33]
Cellulose (Hydroxypropyl cellulose)	-	Gel	PXL150 peptide	Animal (mice)	<i>P. aeruginosa</i>	[63]
Cellulose	Collagen	Scaffolds	Curcumin (loaded in gelatin microspheres)	Animal (rats)	<i>E. coli</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	[34]
Chitosan acetate	-	Dressing	-	Animal (rats)	<i>P. mirabilis</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	[64–66]
	-	Dressing	Silver nanoparticles	Animal (mice)	<i>A. baumannii</i> ; MRSA; <i>P. mirabilis</i> ; <i>P. aeruginosa</i>	[67]

Chitosan		Dressing	Silver nanoparticles	Animal (mice)	MRSA	[68]
	Collagen	Hydrogel	Lysostaphin	Animal (rabbits)	MRSA	[36,69]
Chitosan (glycol chitosan)	Aldehyde-modified poly(ethylene glycol) derivative	Hydrogel	Colistin	Animal (mice)	<i>P. aeruginosa</i>	[36,69]
Chitosan (Carboxymethyl chitosan)	-	- Nanoparticles	-	Animal (rabbits)	<i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	[70]
Chitosan (Hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride chitosan)	Poly(lactic-coglycolic acid)	Nanofibrous Membranes	-	Animal (mice)	<i>S. aureus</i>	[71]
	-	Hydrogel	EDTA ⁻ Fe ³⁺ ; PDGF-BB growth factor	Animal (mice)	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i>	[72]
Hyaluronic acid	Dextran	Hydrogel	Sanguinarine (loaded in gelatin microspheres)	Animal (mice)	<i>E. coli</i> ; MRSA	[73]
	-	Topical spray	Metallic silver	Human	-	[74]

3. Alginate-Based Formulations

Alginate is polymer formed by residues of β -d-mannuronate and α -l-guluronate, which is mainly extracted from brown algae (such as *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum*, and *Macrocystis pyrifera*) [39]. This polysaccharide is biocompatible, relatively inexpensive, and its formulations have high absorption capacities [39]. These characteristics, associated with the fact that alginate forms gels with structural similarity to the extracellular tissue matrices, make alginate an interesting material for wound dressings [75]. Following, examples of healing action of alginate-based formulations in skin wound infection are provided.

A clinical study was designed to evaluate the effects of the treatment with silver-releasing hydroalginate dressing (Silvercel) in patients with infected venous leg ulcers or pressure ulcers. The patients ($n = 99$) were divided into two groups submitted to the treatment with either Silvercel (test group; 41 subjects) or Algosteril (pure calcium alginate dressing; control group with 48 individuals) for four weeks. The authors reported that Silvercel treatment induced a faster closure rate and fewer cases of clinical infection in relation to control group. Furthermore, the wound severity score was lower in the test group [60].

Similar results were observed later in a randomized study using silver alginate powder (silver and calcium alginate powder) for the treatment of chronic wounds (leg and foot ulcers with more than one month of duration). The patients were allocated in the test group ($n = 24$; treated with foam dressing with silver alginate powder) and control group ($n = 10$; treated with foam dressing without silver alginate powder). The study was conducted for four weeks with up to three dressing changes per week. The individuals in the test group showed greater reductions in the infection score and wound surface reduction when compared to control group [61]. It is

important to highlight that these above-mentioned clinical studies did not provide any data about the identification of microbial species involved in the wound infections.

Alginate-based dressings were also evaluated in experimental models of wound infections using mice and rats [32,62]. For instance, the antimicrobial action of an alginate sulfate-hydrogel containing the synthetic peptide CM11 (WKLFKKILKVL-NH₂) was evaluated in a murine skin infection induced by a subcutaneous injection of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) [32]. CM11 was chosen due to its potent antimicrobial action against several species including *A. baumannii*, *Brucella melitensis*, *E. coli*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa* [76–78]. The study used ICR mice (female, eight weeks) that received a subcutaneous injection of MRSA suspension (200 µL; at 3×10^8 CFU/mL) in the scapular area. The wounds were treated using a hydrogel incorporated with CM11 (128 mg/L) or hydrogel without the peptide. The treatment with CM11-loaded hydrogel improved the healing process when compared with mice without treatment. At the end of the treatment, the mice treated with peptide formulation did not show any wounds. These effects were similar to those observed for topical treatment with 2% mupirocin (positive control) [32].

In another study, alginate hydrogel was incorporated with antimicrobial honey collected in Iran for the treatment of burn infection induced by biofilm forming strains. Initially, the authors evaluated the antimicrobial action of different honeys, leading to the selection of the Thymol-based honey collected in Damavand province. The in vivo experimental model used Wistar rats (female, 6–8 weeks). Burn lesions were induced with heated steel disks (2 cm) for 9–11 s, followed by contamination with 100 µL of microbial suspension (at 1.5×10^5 CFU/mL) of each bacteria (*A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, or *S. aureus*). After 24 h, the mice received five grams of honey-based hydrogel (twice a day). The honey-incorporated alginate hydrogel shortened the closure period the wounds infected with all tested pathogens, when compared with the untreated mice infected with each bacteria [62].

Although the results obtained with the two above-described alginate-based hydrogels are promising, the authors did not report some important aspects related to the treatment such as bacterial loads, histological analysis, and immune response. These data are very important in order to better characterize the efficacy of the treatment.

4. Cellulose-Based Formulations

Cellulose is a hydrophilic polysaccharide known as the most abundant renewable organic polymer in the world. It is found in plant cell walls and in some marine organisms, bacteria, algae, fungi, and invertebrates. This carbohydrate and its derivatives have several attributes that makes them interesting as materials for wound dressing, such as bio-degradability, biocompatibility, high moisture content, high surface area, flexibility, and mechanical stability [38,79]. In addition, cellulose has several hydroxyl groups available to form hydrogen bonds that allow the chains to form ordered structures and binding of different materials to the polymeric matrix [38].

Sodium carboxymethylcellulose (SCMC) is a cellulose derivative (sodium salt of carboxymethyl ether cellulose) that has been employed for wound healing [33,80]. Films prepared from SCMC with different molecular weights were evaluated in skin infection induced in Sprague–Dawley (SD) male rats (three months). The wounds were prepared in mice back using circular plastic ring (2.20 cm × 1.27 cm) containing hot water (65.0 ± 5.0 °C). Each wound was inoculated with 40 µL of *P. aeruginosa* or *S. aureus* suspension (10^6 CFU). The animals received the respective film 2 min after the infection, and the films were changed every

6 h for 48 h. The films did not interfere with the bacterial growth in vitro. However, all SCMC films reduced the time needed for healing the *P. aeruginosa*-infected wounds in relation to untreated mice; however, the best results were obtained by the treatment with low molecular weight SCMC (LV) films. These results were confirmed by the reduced levels of bacterial load in LV-treated mice. In relation to *S. aureus* infection, the higher activity was observed for the topical administration of high weight SCMC (HV) films [33].

Other cellulose derivative used for development of wound dressings is hydroxypropyl cellulose [63,81]. A gel based on this carbohydrate was prepared for the incorporation of the synthetic antimicrobial peptide PXL150 and tested in third-degree burn wounds infected with *P. aeruginosa* [63]. The skin of BALB/cOlaHsd mice (7–8 weeks, female) was wounded using metallic rod (1 cm²) heated in boiling water for 30 s. The infection was induced 5 min after wound induction by inoculation of *P. aeruginosa* PAOI-Lux1 (bioluminescent strain, 5×10^6 CFU). The healing and antimicrobial effects of PXL150 were improved by its incorporation in the hydroxypropyl cellulose gel. The authors applied gels containing different concentrations of PXL150 (1.25, 2.5, 5, 10, and 20 mg/g) twice a day and observed positive results in bacterial load in all concentrations (except for 1.25 mg/g) in relation to untreated wounds [63]. PXL150 has been also showed to accelerate the healing in experimental models of surgical site infections and skin and soft tissue infections [82,83].

Cellulose in association with collagen was used for the fabrication of nanocrystals composite scaffolds containing curcumin-loaded gelatin microspheres (Cur/GMs/Coll-CNCs) [34]. This approach was employed due to the low stability and high hydrophobicity of curcumin, a compound highlighted for high therapeutic potential as antimicrobial, healing, and anti-inflammatory agent [84–87]. The authors showed that curcumin was released in a controlled and sustained way from the scaffolds. Cur/GMs/Coll-CNCs also exhibited in vitro inhibitory action towards *E. coli*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*. In the experimental model, full-thickness burns were induced in SD male rats using hot circular copper billets (15 mm diameter; 90 °C) during 20 s. The wounds were infected with *P. aeruginosa* suspension (1×10^8 CFU). The Cur/GMs/Coll-CNCs scaffolds shortened the healing process in relation to untreated rats. The Cur/GMs/Coll-CNCs-treated animals also had lower inflammatory signals, a condition confirmed by the reduced levels of inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, and TNF α) [34].

5. Chitosan-Based Formulations

Due to its special set of biological properties (including biocompatibility, reduced to absent toxicity, and immunostimulatory activities), chitosan has been pointed as an attractive tool for wound healing [43,88]. This polymer is obtained by partial deacetylation of chitin, the most abundant natural polymer after cellulose, as it is found in exoskeleton of certain living organisms like crustaceans and cell wall of fungi. Chitosan and its derivatives are among the most frequently natural material used for wound dressings applications [42,89]. Hybrid materials based on chitosan or its derivatives polymers have been also used for incorporate antimicrobial agents [90,91].

Several evidences have demonstrated that the healing properties of chitosan are related to its ability to modulate cellular processes related to cell proliferation and host immunity [92]. For example, this polymer promotes migration of polymorphonuclear neutrophils (PMNs), and proliferation of dermal fibroblasts [92,93]. In addition, chitosan provides additional protection towards infection due to its direct inhibitory action against several microorganism and causing

minimal adverse effects [64,94]. All these attributes advocate for the use of chitosan and derivatives for the development of dressings for treatment of skin infections.

Chitosan acetate is used for preparation of bandages with high healing activity due to their hemostatic and antimicrobial actions. A comparative analysis of the healing effects of HemCon[®] (an engineered chitosan acetate dressing), alginate sponge bandage, and silver sulfadiazine cream was performed using full-thickness excisional wounds induced in male Balb/c mice and infected with bioluminescent strains of *S. aureus* (25×10^7 CFU), *P. aeruginosa* (5×10^7 CFU) or *Proteus mirabilis* (25×10^7 CFU). HemCon[®] treatment was able to reduce the levels of bacterial loads in the skin. For the models using *P. aeruginosa* and *P. mirabilis*, HemCon[®] prevented the establishment of systemic infection, resulting in the survival of all animals. This effect was not observed for the other groups, where the mice survival was reduced [64].

In a similar work (using the same experimental model described above [64]), the efficacy of HemCon[®] for treatment of full-thickness excisional wounds infected with *S. aureus* was correlated with a reduction in the number of inflammatory cells in the wound [65]. The same research group also reported that topical administration of HemCon[®] in BALB/c mice (female, 6 to 8 weeks) accelerated the healing of third-degree burns created by brass blocks (10×10 mm; preheated at 92–95 °C) and infected by *S. aureus*, *P. aeruginosa*, or *P. mirabilis*. HemCon[®] bandage increased the survival of mice with wounds infected by *P. aeruginosa* or *P. mirabilis* in relation to those animals without treatment [66].

Another application of chitosan is the improvement of the therapeutic value of silver nanoparticles (AgNPs) [67]. Silver is an antimicrobial agent widely used for management of bacterial skin infections [95]. The authors first showed that chitosan acetate and nanoparticle silver exhibited synergistic in vitro effects against MRSA, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, and *A. baumannii*. Following this, third-degree burns were induced in BALB/c mice (female; 6–8 weeks) as reported for Dai et al. [66]. *P. aeruginosa* suspension (1×10^8 CFU) was inoculated in each wound five minutes after the skin damage. The treatment with chitosan acetate dressing incorporated with AgNPs accelerated the healing of *P. aeruginosa*-infected burns in relation to animals treated with chitosan acetate bandage without AgNPs or untreated mice. The use of AgNPs-chitosan acetate dressing reduced the levels of *P. aeruginosa* in blood and the mice mortality when compared with the groups treated with chitosan acetate alone [67].

It has also been reported that chitosan is a good stabilizer for AgNPs and this preparation has improved healing activity [35,96]. A mouse model of wound infection induced by a MRSA was employed to evaluate the healing efficacy of low molecular weight chitosan-coated silver nanoparticles (LMWC-AgNPs). Full-thickness skin wounds (1.5×1.5 cm) were created in the back of Balb/c mice followed by inoculation of 100 μ L of MRSA suspension at 9×10^8 CFU/mL. LMWC-AgNPs showed in vitro antimicrobial action and this preparation was less toxic towards human fibroblast than polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles (PVP-AgNPs) and uncoated AgNPs. Similarly, LMWC-AgNPs exhibited in vivo inhibitory action against MRSA and improved the healing process in relation to untreated mice. Importantly, the adverse effects typically associated with AgNPs on liver function were reduced in mice treated with LMWC-AgNPs [68].

Chitosan has been also applied for the development of hydrogel formulations loaded with therapeutics agents (such as lysostaphin and colistin) in order to manage wound infections [36,69]. Lysostaphin was incorporated into a chitosan-collagen hydrogel (CCHL) and tested against MRSA-induced burn infection in New Zealand White rabbits. The authors used an

electronic temperature controller (80 °C, 15 s) to create third-degree burn wounds (3 × 3 cm). The eschar was removed two days after burning and each wound was infected with MRSA (200 µL of 1×10^9 CFU/mL bacterial suspension). The animals treated with CCHL should show improvements in lesion healing associated with the reduction of MRSA burden when compared to groups treated with chitosan-collagen hydrogel without lysostaphin or saline-treated animals. The administration of CCHL also led to a better restoration of tissue architecture at the end of the treatment [36].

Colistin was loaded into self-healable hydrogel prepared with glycol chitosan and aldehyde-modified poly(ethylene glycol) derivative and used for treatment of *P. aeruginosa*-induced burn infection in neutropenic mice. The animals treated with colistin-loaded chitosan hydrogel showed reduced levels of bacteria in the wound tissue when compared with groups treated with saline or chitosan hydrogel. In fact, colistin-loaded chitosan hydrogel promoted a similar inhibitory profile to the colistin solution for both colistin-sensitive and colistin-resistant *P. aeruginosa* strains [69].

Another application of chitosan derivatives is the loading of photosensitizer agent for photodynamic therapy (PDT). In this case, carboxymethyl chitosan nanoparticles (CMCNPs) were loaded with ammonium methylbenzene blue (MB) and used in PDT against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. In vitro, the PDT with CMCNPs had bactericidal and biofilm eradication properties, related to ROS production. Photodynamic therapy with CMCNPs was also evaluated in vivo using Japanese big ear rabbits submitted to subcutaneous injection of *S. aureus* (0.5 mL of 1×10^7 CFU/mL).

The treatment with PDT plus CMCNPs showed high efficiency in managing bacterial infection when compared with the other experimental groups (animals treated with laser, CMCNPs or untreated). The rabbits treated with PDT plus CMCNPs also showed marked reductions on TNF- α and IL-6 levels and greater resolution of the wound in relation to other groups [70].

A nanofiber composed of poly(lactic-co-glycolic acid)-hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride chitosan (PLGA-HACC) was also evaluated against *S. aureus*-infected wounds in mice. PLGA-HACC exhibited higher in vitro antibacterial activity (against *S. aureus* and *P. aeruginosa*) than membranes produced by PLGA alone or chitosan graft plus PLGA (PLGA-CS). PLGA-HACC also showed favorable properties such as cytocompatibility and significantly stimulated adhesion, spreading, and proliferation of fibroblasts (HDFs) and human keratinocytes (HaCaTs). In vivo studies were performed using BALB/c mice (four weeks old) in a model of full-thickness excisional wounds infected with 100 µL of *S. aureus* suspension (1×10^8 CFU/mL). PLGA-HACC induced a faster contraction of *S. aureus*-infected wounds than the other tested membranes (PLGA and PLGA-CS). This effect was confirmed by the lower levels of bacteria in skin (total eradication was observed after seven days of treatment) and higher collagen deposition [71].

6. Hyaluronic Acid-Based Formulations

Hyaluronic acid (HA) is a non-sulfated glycosaminoglycan composed by repeated disaccharides of β -1,4-linked D-glucuronic acid and β -1,3-linked *N*-acetyl-d-glucosamine [97]. It is found as the main component of extracellular matrix in hydrated tissues, including skin where it plays essential roles in cellular migration and inflammation during tissue regeneration [97–100]. This naturally occurring polymer has some characteristics (wide availability,

biocompatibility, and safety) that make it a suitable material for wound dressings [101–103]. The topical injection of topical hyaluronic acid in combination with cefazolin has been shown to reduce the severity of *S. aureus*-induced surgical-site infection [104].

Recently, a cross-linked hyaluronic acid-based hydrogel with EDTA-Fe³⁺ complexes incorporated with platelet derived growth factor (PDGF-BB; a mitogenic agent) was effectively employed to treat wound infection provoked by *E. coli*. The inclusion of EDTA-Fe³⁺ complexes in hydrogel aimed to promote bacterial inhibition, since during the inflammatory phase the immune cells produce hydrogen peroxide that in turn reacts with Fe³⁺ leading to production of hydroxyl radicals (through Fenton reaction). In vitro analysis showed that the hydrogel inhibited *E. coli* and *S. aureus* growth. The in vivo model used C57BL/6 mice (eight weeks old, female) and was based on the infection of full-thickness excisional wounds by *E. coli* (100 µL of a suspension at 1 × 10⁹ CFU/mL). The mice treated with the hydrogel loaded with PDGF-BB showed a faster tissue reparation than the control groups (animals treated with hydrogel without PDGF-BB or untreated mice). This effect was accomplished with improvement of angiogenesis, reduction of inflammatory burden, and bacteria levels in the skin [72].

Another hydrogel was produced by a combination of HA and dextran; this formulation was functionalized with gelatin microspheres loaded with sanguinarine (SA/GMs/Dex-HA). The alkaloid sanguinarine (purified from roots of plants as *Sanguinaria canadensis* L. and *Chelidonium majus* L.) was chosen due to its antimicrobial (related to DNA damage) and anti-inflammatory effects [105–108]. Firstly, the in vitro antimicrobial action of the formulation was evaluated against MRSA and *E. coli*, along with the mechanical properties and drug release pattern. In summary, the in vitro assay demonstrated that the hydrogel promoted a sustainable release of sanguinarine and preserved its antimicrobial activity [73].

For in vivo studies, deep partial thickness burn was induced in the back of male SD rats with a hot circular copper billet (15 mm diameter, 90°C, 15s). The skin was infected with MRSA suspension (100µL; 1 × 10⁸ CFU) one day after the burn induction. The obtained results showed that SA/GMs/Dex-HA hydrogel favored the healing process of burn lesion infected by MRSA when compared with rat treated with dextran-hyaluronic acid hydrogel or dextran-hyaluronic acid hydrogel incorporated with sanguinarine. In fact, the mice treated by SA/GMs/Dex-HA showed better profiles of re-epithelialization and extracellular matrix remodeling [73]. Furthermore, the treatment down-regulated the amounts of TGF-β1 (transforming growth factor-β1; related with hypertrophic scars and keloids formation due to myofibroblast differentiation [109,110]) and TNF-α; and up-regulated the expression of TGF-β3 (transforming growth factor-β3; inductor of collagen synthesis and fibroblast proliferation [111]). The authors did not report data about bacterial load in the tissue [73].

Based on all positive results obtained from in vitro and in vivo model, a recent clinical trial evaluated the efficacy of a topical spray containing HA and metallic silver (Hyalosilver, Fidia Farmaceutici S.p.A, Abano Terme, Italy) in human lesion (vascular or pressure ulcers) with signs of bacterial colonization. The treatment was based on the daily self-application of the spray for 28 days. The evaluations of wound size, bacterial load, and possible adverse effects were performed at days 1, 7, and 28. The authors showed that the spray application (once a day for 28 days) efficiently reduced the area of chronic wounds and bacteria contamination. The patients treated with the spray also had better clinical parameters (odor, exudate, and erythema) [74].

7. Conclusions

The data analyzed in this manuscript clearly point out that polysaccharides (such as alginate, cellulose, chitosan, hyaluronic acid) are versatile polymers for the development of formulations to treat skin infections. The efficacy of these biomolecules is related to their properties such as biocompatibility, biodegradability, poly-functionality, high chemical reactivity, chirality, chelation, and adsorption capacity. Among the carbohydrates, chitosan (and its derivatives) was the most employed in in vivo studies. In most of the cases, the high therapeutic indexes obtained may be results of synergistic action of the polymer and the incorporated agent (antimicrobial, healing, or immunomodulatory compounds). In summary, these polysaccharide-based formulations can play a role in the first line treatment for infected wounds, or act as adjuvant therapy in combination to traditional methods.

Author Contributions: D.M.L.R., A.R.C.J., and L.C.N.d.S. conceived of the study and participated in its design and coordination. P.B.S.d.A. contributed in the Section “Polysaccharides and Development of Healing Agents.” V.L.C. and G.H.R.V.d.M. contributed in the Section “Alginate-Based Formulations”. B.d.S.C. and A.Z. contributed in the Section “Cellulose-Based Formulations”. D.M.S., B.L.L.S., L.d.S.S., R.d.C.M.d.M. contributed in the Sections “Chitosan-Based Formulations” and “Hyaluronic Acid-Based Formulations”. D.M.L.R., G.H.R.V.d.M. and L.C.N.d.S. prepared the tables and figure. D.M.L.R., A.R.C.J. and L.C.N.S. drafted the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was funded by Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (Processes numbers: UNIVERSAL-00998/16, COOPI-02860/16, BEPP-02241/18) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Process number: 426950/2018-6).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Shaikh-Kader, A.; Houreld, N.N.; Rajendran, N.K.; Abrahamse, H. The link between advanced glycation end products and apoptosis in delayed wound healing. *Cell Biochem. Funct.* **2019**, *37*, 432–442. [CrossRef] [PubMed]
2. Brazil, J.C.; Quiros, M.; Nusrat, A.; Parkos, C.A. Innate immune cell-epithelial crosstalk during wound repair. *J. Clin. Investig.* **2019**, *129*, 2983–2993. [CrossRef] [PubMed]
3. Rahim, K.; Saleha, S.; Zhu, X.; Huo, L.; Basit, A.; Franco, O.L. Bacterial Contribution in Chronicity of Wounds. *Microb. Ecol.* **2017**, *73*, 710–721. [CrossRef] [PubMed]
4. Omar, A.; Wright, J.B.; Schultz, G.; Burrell, R.; Nadworny, P. Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms* **2017**, *5*, 9. [CrossRef]
5. Cefalu, J.E.; Barrier, K.M.; Davis, A.H. Wound Infections in Critical Care. *Crit. Care Nurs. Clin. N. Am.* **2017**, *29*, 81–96. [CrossRef]
6. Morton, L.M.; Phillips, T.J. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *J. Am. Acad. Derm.* **2016**, *74*, 589–605. [CrossRef]
7. Chaudhary, N.A.; Munawar, M.D.; Khan, M.T.; Rehan, K.; Sadiq, A.; Tameez-Ud-Din, A.; Bhatti, H.W.; Rizvi, Z.A. Epidemiology, Bacteriological Profile, and Antibiotic Sensitivity Pattern of Burn Wounds in the Burn Unit of a Tertiary Care Hospital. *Cureus* **2019**, *11*, e4794. [CrossRef]
8. Snyder, R.J.; Bohn, G.; Hanft, J.; Harkless, L.; Kim, P.; Lavery, L.; Schultz, G.; Wolcott, R. Wound Biofilm: Current Perspectives and Strategies on Biofilm Disruption and Treatments. *Wounds* **2017**, *29*, S1–S17.

9. Guo, X.P.; Yang, Y.; Lu, D.P.; Niu, Z.S.; Feng, J.N.; Chen, Y.R.; Tou, F.Y.; Garner, E.; Xu, J.; Liu, M.; et al. Biofilms as a sink for antibiotic resistance genes (ARGs) in the Yangtze Estuary. *Water Res.* **2018**, *129*, 277–286. [CrossRef]
10. Nesse, L.L.; Simm, R. Biofilm: A Hotspot for Emerging Bacterial Genotypes. *Adv. Appl. Microbiol.* **2018**, *103*, 223–246.
11. Olsson, M.; Jarbrink, K.; Divakar, U.; Bajpai, R.; Upton, Z.; Schmidtchen, A.; Car, J. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. *Wound Repair Regen.* **2019**, *27*, 114–125. [CrossRef] [PubMed]
12. Russo, A.; Concia, E.; Cristini, F.; De Rosa, F.G.; Esposito, S.; Menichetti, F.; Petrosillo, N.; Tumbarello, M.; Venditti, M.; Viale, P.; et al. Current and future trends in antibiotic therapy of acute bacterial skin and skin-structure infections. *Clin. Microbiol. Infect.* **2016**, *22*, S27–S36. [CrossRef]
13. Boateng, J.S.; Matthews, K.H.; Stevens, H.N.; Eccleston, G.M. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *J. Pharm Sci* **2008**, *97*, 2892–2923. [CrossRef] [PubMed]
14. Chaganti, P.; Gordon, I.; Chao, J.H.; Zehtabchi, S. A systematic review of foam dressings for partial thickness burns. *Am. J. Emerg Med.* **2019**, *37*, 1184–1190. [CrossRef] [PubMed]
15. Dwivedi, C.; Pandey, H.; Pandey, A.C.; Ramteke, P.W. Nanofibre Based Smart Pharmaceutical Scaffolds for Wound Repair and Regenerations. *Curr. Pharm. Des.* **2016**, *22*, 1460–1471. [CrossRef] [PubMed]
16. Muzzarelli, R.A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *76*, 167–182. [CrossRef]
17. Purna, S.K.; Babu, M. Collagen based dressings—A review. *Burn.: J. Int. Soc. Burn Inj.* **2000**, *26*, 54.
18. Zhu, Y.; Zhang, J.; Song, J.; Yang, J.; Xu, T.; Pan, C.; Zhang, L. One-step synthesis of an antibacterial and pro-healing wound dressing that can treat wound infections. *J. Mater. Chem. B.* **2017**, *5*, 8451–8458. [CrossRef]
19. Abdelrahman, T.; Newton, H. Wound dressings: Principles and practice. *Surgery* **2011**, *29*, 491–495. [CrossRef]
20. Negut, I.; Grumezescu, V.; Grumezescu, A.M. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules* **2018**, *23*, 2392. [CrossRef]
21. Davies, P.; McCarty, S.; Hamberg, K. Silver-containing foam dressings with Safetac: A review of the scientific and clinical data. *J. Wound Care* **2017**, *26*, S1–S32. [CrossRef] [PubMed]
22. Mulani, M.S.; Kamble, E.E.; Kumkar, S.N.; Tawre, M.S.; Pardesi, K.R. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 539. [CrossRef] [PubMed]
23. Albuquerque, P.B.S.; Soares, P.A.G.; Aragao-Neto, A.C.; Albuquerque, G.S.; Silva, L.C.N.; Lima-Ribeiro, M.H.M.; Silva Neto, J.C.; Coelho, L.; Correia, M.T.S.; Teixeira, J.A.C.; et al. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *102*, 749–757. [CrossRef] [PubMed]

24. Carvalho, A.R., Jr.; Diniz, R.M.; Suarez, M.A.M.; Figueiredo, C.; Zagnignan, A.; Grisotto, M.A.G.; Fernandes, E.S.; da Silva, L.C.N. Use of Some Asteraceae Plants for the Treatment of Wounds: From Ethnopharmacological Studies to Scientific Evidences. *Front. Pharm.* **2018**, *9*, 784. [CrossRef]
25. Ousey, K. A multipurpose dressing: A clinical review of the absorption, debridement and healing properties of Aquacel Foam. *J. Wound Care* **2019**, *28*, S1–S23. [CrossRef]
26. Ramos-e-Silva, M.; Ribeiro de Castro, M.C. New dressings, including tissue-engineered living skin. *Clin. Derm.* **2002**, *20*, 715–723. [CrossRef]
27. Vowden, K.; Vowden, P. Wound dressings: Principles and practice. *Surgery* **2017**, *35*, 489–494.
28. Ahmed, E.M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J. Adv. Res.* **2015**, *6*, 105–121. [CrossRef]
29. Caló, E.; Khutoryanskiy, V.V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *Eur. Polym. J.* **2015**, *65*, 252–267. [CrossRef]
30. Pott, F.S.; Meier, M.J.; Stocco, J.G.; Crozeta, K.; Ribas, J.D. The effectiveness of hydrocolloid dressings versus other dressings in the healing of pressure ulcers in adults and older adults: A systematic review and meta-analysis. *Rev. Lat. Am. Enferm.* **2014**, *22*, 511–520. [CrossRef]
31. Dhivya, S.; Padma, V.V.; Santhini, E. Wound dressings—A review. *BioMedicine* **2015**, *5*, 22. [CrossRef] [PubMed]
32. Babavalian, H.; Latifi, A.M.; Shokrgozar, M.A.; Bonakdar, S.; Mohammadi, S.; Moosazadeh Moghaddam, M. Analysis of Healing Effect of Alginate Sulfate Hydrogel Dressing Containing Antimicrobial Peptide on Wound Infection Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Jundishapur. J. Microbiol.* **2015**, *8*, e28320. [CrossRef] [PubMed]
33. Wong, T.W.; Ramli, N.A. Carboxymethylcellulose film for bacterial wound infection control and healing. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *112*, 367–375. [CrossRef] [PubMed]
34. Guo, R.; Lan, Y.; Xue, W.; Cheng, B.; Zhang, Y.; Wang, C.; Ramakrishna, S. Collagen-cellulose nanocrystal scaffolds containing curcumin-loaded microspheres on infected full-thickness burns repair. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2017**, *11*, 3544–3555. [CrossRef] [PubMed]
35. Nguyen, V.Q.; Ishihara, M.; Mori, Y.; Nakamura, S.; Kishimoto, S.; Fujita, M.; Hattori, H.; Kanatani, Y.; Ono, T.; Miyahira, Y.; et al. Preparation of size-controlled silver nanoparticles and chitosan-based composites and their anti-microbial activities. *Biomed. Mater. Eng.* **2013**, *23*, 473–483. [CrossRef]
36. Cui, F.; Li, G.; Huang, J.; Zhang, J.; Lu, M.; Lu, W.; Huan, J.; Huang, Q. Development of chitosan-collagen hydrogel incorporated with lysostaphin (CCHL) burn dressing with anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and promotion wound healing properties. *Drug Deliv.* **2011**, *18*, 173–180. [CrossRef]
37. Ali, A.; Ahmed, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *109*, 273–286. [CrossRef]

38. Tayeb, A.H.; Amini, E.; Ghasemi, S.; Tajvidi, M. Cellulose Nanomaterials-Binding Properties and Applications: A Review. *Molecules* **2018**, *23*, 2684. [CrossRef]
39. Lee, K.Y.; Mooney, D.J. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 106–126. [CrossRef]
40. Albuquerque, P.; Coelho, L.C.; Teixeira, J.A.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Approaches in biotechnological applications of natural polymers. *AIMS Mol. Sci.* **2016**, *3*, 386–425. [CrossRef]
41. Gim, S.; Zhu, Y.; Seeberger, P.H.; Delbianco, M. Carbohydrate-based nanomaterials for biomedical applications. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* **2019**, *11*, e1558. [CrossRef] [PubMed]
42. Hamed, H.; Moradi, S.; Hudson, S.M.; Tonelli, A.E. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *199*, 445–460. [CrossRef] [PubMed]
43. Baldrick, P. The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient. *Regul. Toxicol. Pharm.* **2010**, *56*, 290–299. [CrossRef] [PubMed]
44. Mondal, M.; Hosain, M. Biodegradable surfactant from natural starch for the reduction of environmental pollution and safety for water living organism. *Int. J. Innov. Res. Adv. Eng.* **2014**, *1*, 424–433.
45. Oladoja, N.A.; Unuabonah, E.I.; Amuda, O.S.; Kolawole, O.M. *Polysaccharides as a Green and Sustainable Resources for Water and Wastewater Treatment*; Springer: Berlin, Germany, 2017.
46. Ahmad, S.; Ahmad, M.; Manzoor, K.; Purwar, R.; Ikram, S. A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *136*, 870–890.
47. Hamman, H.; Steenekamp, J.; Hamman, J. Use of Natural Gums and Mucilages as Pharmaceutical Excipients. *Curr. Pharm. Des.* **2015**, *21*, 4775–4797. [CrossRef]
48. Ribeiro, A.J.; de Souza, F.R.L.; Bezerra, J.; Oliveira, C.; Nadvorny, D.; de La Roca Soares, M.F.; Nunes, L.C.C.; Silva-Filho, E.C.; Veiga, F.; Soares Sobrinho, J.L. Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. *Carbohydr. Polym.* **2016**, *147*, 188–200. [CrossRef]
49. Salarbashi, D.; Tafaghodi, M. An update on physicochemical and functional properties of newly seed gums. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *119*, 1240–1247. [CrossRef]
50. Rana, V.; Rai, P.; Tiwary, A.K.; Singh, R.S.; Kennedy, J.F.; Knill, C.J. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *83*, 1031–1047. [CrossRef]
51. Thombare, N.; Jha, U.; Mishra, S.; Siddiqui, M.Z. Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *88*, 361–372. [CrossRef]
52. Albuquerque, P.B.S.; Cerqueira, M.A.; Vicente, A.A.; Teixeira, J.A.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Immobilization of bioactive compounds in *Cassia grandis* galactomannan-based films: Influence on physicochemical properties. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *96*, 727–735. [CrossRef] [PubMed]

53. Aragao-Neto, A.C.; Soares, P.A.; Lima-Ribeiro, M.H.; Carvalho, E.J.; Correia, M.T.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Combined therapy using low level laser and chitosan-polycapajun hydrogel for wound healing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *95*, 268–272. [CrossRef] [PubMed]
54. de Sousa, F.D.; Vasconcelos, P.D.; da Silva, A.F.B.; Mota, E.F.; da Rocha Tome, A.; Mendes, F.; Gomes, A.M.M.; Abraham, D.J.; Shiwen, X.; Owen, J.S.; et al. Hydrogel and membrane scaffold formulations of Frutalin (breadfruit lectin) within a polysaccharide galactomannan matrix have potential for wound healing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *121*, 429–442. [CrossRef] [PubMed]
55. Knopf-Marques, H.; Pravda, M.; Wolfova, L.; Velebny, V.; Schaaf, P.; Vrana, N.E.; Lavallo, P. Hyaluronic Acid and Its Derivatives in Coating and Delivery Systems: Applications in Tissue Engineering, Regenerative Medicine and Immunomodulation. *Adv. Healthc. Mater.* **2016**, *5*, 2841–2855. [CrossRef]
56. Ahsan, S.M.; Thomas, M.; Reddy, K.K.; Sooraparaju, S.G.; Asthana, A.; Bhatnagar, I. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *110*, 97–109. [CrossRef]
57. Rastogi, P.; Kandasubramanian, B. Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering. *Biofabrication* **2019**, *11*, 042001. [CrossRef]
58. Portela, R.; Leal, C.R.; Almeida, P.L.; Sobral, R.G. Bacterial cellulose: A versatile biopolymer for wound dressing applications. *Microb. Biotechnol.* **2019**, *12*, 586–610. [CrossRef]
59. Martinez-Martinez, M.; Rodriguez-Berna, G.; Gonzalez-Alvarez, I.; Hernandez, M.J.; Corma, A.; Bermejo, M.; Merino, V.; Gonzalez-Alvarez, M. Ionic Hydrogel Based on Chitosan Cross-Linked with 6-Phosphogluconic Trisodium Salt as a Drug Delivery System. *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 1294–1304. [CrossRef]
60. Meaume, S.; Vallet, D.; Morere, M.N.; Teot, L. Evaluation of a silver-releasing hydroalginate dressing in chronic wounds with signs of local infection. *J. Wound Care* **2005**, *14*, 411–419. [CrossRef]
61. Woo, K.Y.; Coutts, P.M.; Sibbald, R.G. A randomized controlled trial to evaluate an antimicrobial dressing with silver alginate powder for the management of chronic wounds exhibiting signs of critical colonization. *Adv. Skin Wound Care* **2012**, *25*, 503–508. [CrossRef]
62. Mirzaei, B.; Etemadian, S.; Goli, H.R.; Bahonar, S.; Gholami, S.A.; Karami, P.; Farhadi, M.; Tavakoli, R. Construction and analysis of alginate-based honey hydrogel as an ointment to heal of rat burn wound related infections. *Int. J. Burns Trauma* **2018**, *8*, 88–97. [PubMed]
63. Bjorn, C.; Noppa, L.; Naslund Salomonsson, E.; Johansson, A.L.; Nilsson, E.; Mahlapuu, M.; Hakansson, J. Efficacy and safety profile of the novel antimicrobial peptide PXL150 in a mouse model of infected burn wounds. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2015**, *45*, 519–524. [CrossRef] [PubMed]
64. Burkatovskaya, M.; Tegos, G.P.; Swietlik, E.; Demidova, T.N.; Castano A, P.; Hamblin, M.R. Use of chitosan bandage to prevent fatal infections developing from highly contaminated wounds in mice. *Biomaterials* **2006**,

- 27, 4157–4164. [CrossRef] [PubMed]
65. Burkatovskaya, M.; Castano, A.P.; Demidova-Rice, T.N.; Tegos, G.P.; Hamblin, M.R. Effect of chitosan acetate bandage on wound healing in infected and noninfected wounds in mice. *Wound Repair Regen.* **2008**, *16*, 425–431. [CrossRef]
 66. Dai, T.; Tegos, G.P.; Burkatovskaya, M.; Castano, A.P.; Hamblin, M.R. Chitosan acetate bandage as a topical antimicrobial dressing for infected burns. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 393–400. [CrossRef]
 67. Huang, L.; Dai, T.; Xuan, Y.; Tegos, G.P.; Hamblin, M.R. Synergistic combination of chitosan acetate with nanoparticle silver as a topical antimicrobial: Efficacy against bacterial burn infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 3432–3438. [CrossRef]
 68. Peng, Y.; Song, C.; Yang, C.; Guo, Q.; Yao, M. Low molecular weight chitosan-coated silver nanoparticles are effective for the treatment of MRSA-infected wounds. *Int. J. Nanomed.* **2017**, *12*, 295–304. [CrossRef]
 69. Zhu, C.; Zhao, J.; Kempe, K.; Wilson, P.; Wang, J.; Velkov, T.; Li, J.; Davis, T.P.; Whittaker, M.R.; Haddleton, D.M. A Hydrogel-Based Localized Release of Colistin for Antimicrobial Treatment of Burn Wound Infection. *Macromol. Biosci.* **2017**, *17*. [CrossRef]
 70. Sun, L.; Jiang, W.; Zhang, H.; Guo, Y.; Chen, W.; Jin, Y.; Chen, H.; Du, K.; Dai, H.; Ji, J.; et al. Photosensitizer-Loaded Multifunctional Chitosan Nanoparticles for Simultaneous in Situ Imaging, Highly Efficient Bacterial Biofilm Eradication, and Tumor Ablation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 2302–2316. [CrossRef]
 71. Yang, S.; Han, X.; Jia, Y.; Zhang, H.; Tang, T. Hydroxypropyltrimethyl Ammonium Chloride Chitosan Functionalized-PLGA Electrospun Fibrous Membranes as Antibacterial Wound Dressing: In Vitro and In Vivo Evaluation. *Polymer* **2017**, *9*, 697. [CrossRef]
 72. Tian, R.; Qiu, X.; Yuan, P.; Lei, K.; Wang, L.; Bai, Y.; Liu, S.; Chen, X. Fabrication of Self-Healing Hydrogels with On-Demand Antimicrobial Activity and Sustained Biomolecule Release for Infected Skin Regeneration. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 17018–17027. [CrossRef] [PubMed]
 73. Zhu, Q.; Jiang, M.; Liu, Q.; Yan, S.; Feng, L.; Lan, Y.; Shan, G.; Xue, W.; Guo, R. Enhanced healing activity of burn wound infection by a dextran-HA hydrogel enriched with sanguinarine. *Biomater. Sci.* **2018**, *6*, 2472–2486. [CrossRef] [PubMed]
 74. Gazzabin, L.; Serantoni, S.; Palumbo, F.P.; Giordan, N. Hyaluronic acid and metallic silver treatment of chronic wounds: Healing rate and bacterial load control. *J. Wound Care* **2019**, *28*, 482–490. [CrossRef] [PubMed]
 75. Aderibigbe, B.A.; Buyana, B. Alginate in Wound Dressings. *Pharmaceutics* **2018**, *10*, 42. [CrossRef]
 76. Moghaddam, M.M.; Abolhassani, F.; Babavalian, H.; Mirnejad, R.; Azizi Barjini, K.; Amani, J. Comparison of in vitro antibacterial activities of two cationic peptides CM15 and CM11 against five pathogenic bacteria: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Escherichia coli*. *Probiotics. Antimicrob. Proteins* **2012**, *4*, 133–139. [CrossRef]
 77. Mohammadi Azad, Z.; Moravej, H.; Fasihi-Ramandi, M.; Masjedian, F.; Nazari, R.; Mirnejad, R.; Moosazadeh Moghaddam, M. In vitro synergistic effects of a short cationic

- peptide and clinically used antibiotics against drug-resistant isolates of *Brucella melitensis*. *J. Med. Microbiol.* **2017**, *66*, 919–926. [CrossRef]
78. Moosazadeh Moghaddam, M.; Eftekhary, M.; Erfanimesh, S.; Hashemi, A.; Fallah Omrani, V.; Farhadhosseinabadi, B.; Lasjerdi, Z.; Mossahebi-Mohammadi, M.; Pal Singh Chauhan, N.; Seifalian, A.M.; et al. Comparison of the antibacterial effects of a short cationic peptide and 1% silver bioactive glass against extensively drug-resistant bacteria, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, isolated from burn patients. *Amino Acids* **2018**, *50*, 1617–1628. [CrossRef]
 79. Sulaeva, I.; Henniges, U.; Rosenau, T.; Potthast, A. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review. *Biotechnol. Adv.* **2015**, *33*, 1547–1571. [CrossRef]
 80. Ramli, N.A.; Wong, T.W. Sodium carboxymethylcellulose scaffolds and their physicochemical effects on partial thickness wound healing. *Int. J. Pharm.* **2011**, *403*, 73–82. [CrossRef]
 81. Ogawa, A.; Nakayama, S.; Uehara, M.; Mori, Y.; Takahashi, M.; Aiba, T.; Kurosaki, Y. Pharmaceutical properties of a low-substituted hydroxypropyl cellulose (L-HPC) hydrogel as a novel external dressing. *Int. J. Pharm.* **2014**, *477*, 546–552. [CrossRef]
 82. Myhrman, E.; Hakansson, J.; Lindgren, K.; Bjorn, C.; Sjostrand, V.; Mahlapuu, M. The novel antimicrobial peptide PXL150 in the local treatment of skin and soft tissue infections. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, *97*, 3085–3096. [CrossRef] [PubMed]
 83. Hakansson, J.; Bjorn, C.; Lindgren, K.; Sjostrom, E.; Sjostrand, V.; Mahlapuu, M. Efficacy of the novel topical antimicrobial agent PXL150 in a mouse model of surgical site infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 2982–2984. [CrossRef] [PubMed]
 84. Tejada, S.; Manayi, A.; Daglia, M.; Nabavi, S.F.; Sureda, A.; Hajheydari, Z.; Gortzi, O.; Pazoki-Toroudi, H.; Nabavi, S.M. Wound Healing Effects of Curcumin: A Short Review. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2016**, *17*, 1002–1007. [CrossRef] [PubMed]
 85. Shin, M.S.; Yu, J.S.; Lee, J.; Ji, Y.S.; Joung, H.J.; Han, Y.M.; Yoo, H.H.; Kang, K.S. A Hydroxypropyl Methylcellulose-Based Solid Dispersion of Curcumin with Enhanced Bioavailability and its Hepatoprotective Activity. *Biomolecules* **2019**, *9*, 281. [CrossRef]
 86. Freitas, M.A.; Pereira, A.H.; Pinto, J.G.; Casas, A.; Ferreira-Strixino, J. Bacterial viability after antimicrobial photodynamic therapy with curcumin on multiresistant *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiol.* **2019**, *14*, 739–748. [CrossRef]
 87. Guran, M.; Sanliturk, G.; Kerkuklu, N.R.; Altundag, E.M.; Suha Yalcin, A. Combined effects of quercetin and curcumin on anti-inflammatory and antimicrobial parameters in vitro. *Eur. J. Pharm.* **2019**, *859*, 172486. [CrossRef]
 88. Paul, P.; Kolesinska, B.; Sujka, W. Chitosan and Its Derivatives—Biomaterials with Diverse Biological Activity for Manifold Applications. *Mini Rev. Med. Chem.* **2019**, *19*, 737–750. [CrossRef]
 89. Patrulea, V.; Ostafe, V.; Borchard, G.; Jordan, O. Chitosan as a starting material for wound healing applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015**, *97*, 417–426. [CrossRef]

90. Penchev, H.; Paneva, D.; Manolova, N.; Rashkov, I. Electrospun hybrid nanofibers based on chitosan or N-carboxyethylchitosan and silver nanoparticles. *Macromol. Biosci.* **2009**, *9*, 884–894. [CrossRef]
91. Penchev, H.; Paneva, D.; Manolova, N.; Rashkov, I. Hybrid nanofibrous yarns based on N-carboxyethylchitosan and silver nanoparticles with antibacterial activity prepared by self-bundling electrospinning. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 2374–2380. [CrossRef]
92. Jayakumar, R.; Prabakaran, M.; Sudheesh Kumar, P.T.; Nair, S.V.; Tamura, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 322–337. [CrossRef] [PubMed]
93. Shariatnia, Z. Pharmaceutical applications of chitosan. *Adv. Colloid. Interface Sci.* **2019**, *263*, 131–194. [CrossRef] [PubMed]
94. Dai, T.; Tanaka, M.; Huang, Y.Y.; Hamblin, M.R. Chitosan preparations for wounds and burns: Antimicrobial and wound-healing effects. *Expert. Rev. Anti-Infect.* **2011**, *9*, 857–879. [CrossRef] [PubMed]
95. Percival, S.L.; Thomas, J.; Linton, S.; Okel, T.; Corum, L.; Slone, W. The antimicrobial efficacy of silver on antibiotic-resistant bacteria isolated from burn wounds. *Int. Wound J.* **2012**, *9*, 488–493. [CrossRef] [PubMed]
96. Ishihara, M.; Nguyen, V.Q.; Mori, Y.; Nakamura, S.; Hattori, H. Adsorption of Silver Nanoparticles onto Different Surface Structures of Chitin/Chitosan and Correlations with Antimicrobial Activities. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 13973–13988. [CrossRef] [PubMed]
97. Gupta, R.C.; Lall, R.; Srivastava, A.; Sinha, A. Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 192. [CrossRef]
98. Litwiniuk, M.; Krejner, A.; Speyrer, M.S.; Gauto, A.R.; Grzela, T. Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds* **2016**, *28*, 78–88.
99. Neuman, M.G.; Nanau, R.M.; Oruna-Sanchez, L.; Coto, G. Hyaluronic acid and wound healing. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2015**, *18*, 53–60. [CrossRef]
100. Liu, M.; Liu, T.; Zhang, X.; Jian, Z.; Xia, H.; Yang, J.; Hu, X.; Xing, M.; Luo, G.; Wu, J. Fabrication of KR-12 peptide-containing hyaluronic acid immobilized fibrous eggshell membrane effectively kills multi-drug-resistant bacteria, promotes angiogenesis and accelerates re-epithelialization. *Int. J. Nanomed.* **2019**, *14*, 3345–3360. [CrossRef]
101. Su, Z.; Ma, H.; Wu, Z.; Zeng, H.; Li, Z.; Wang, Y.; Liu, G.; Xu, B.; Lin, Y.; Zhang, P.; et al. Enhancement of skin wound healing with decellularized scaffolds loaded with hyaluronic acid and epidermal growth factor. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2014**, *44*, 440–448. [CrossRef]
102. Salwowska, N.M.; Bebenek, K.A.; Zadło, D.A.; Wcisło-Dziadecka, D.L. Physicochemical properties and application of hyaluronic acid: A systematic review. *J. Cosmet. Derm.* **2016**, *15*, 520–526. [CrossRef] [PubMed]
103. Keen, M.A. Hyaluronic Acid in Dermatology. *Skinmed* **2017**, *15*, 441–448. [PubMed]
104. Park, J.H.; Park, E.J.; Yi, H.S. Wound Healing and Anti-inflammatory Effects of Topical Hyaluronic Acid Injection in Surgical-Site Infection Caused by *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Low Extrem. Wounds* **2017**, *16*, 202–207. [CrossRef] [PubMed]

105. Hamoud, R.; Reichling, J.; Wink, M. Synergistic antimicrobial activity of combinations of sanguinarine and EDTA with vancomycin against multidrug resistant bacteria. *Drug Metab. Lett.* **2014**, *8*, 119–128. [CrossRef]
106. Godowski, K.C. Antimicrobial action of sanguinarine. *J. Clin. Dent.* **1989**, *1*, 96–101. [PubMed]
107. Croaker, A.; King, G.J.; Pyne, J.H.; Anoopkumar-Dukie, S.; Liu, L. Sanguinaria canadensis: Traditional Medicine, Phytochemical Composition, Biological Activities and Current Uses. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 1414. [CrossRef] [PubMed]
108. Li, W.; Li, H.; Yao, H.; Mu, Q.; Zhao, G.; Li, Y.; Hu, H.; Niu, X. Pharmacokinetic and anti-inflammatory effects of sanguinarine solid lipid nanoparticles. *Inflammation* **2014**, *37*, 632–638. [CrossRef]
109. Abdou, A.G.; Marae, A.H.; Al-Bara, A.M.; Diab, W.M. Immunohistochemical expression of TGF-beta1 in keloids and hypertrophic scars. *Am. J. Derm.* **2011**, *33*, 84–91. [CrossRef]
110. Liu, Y.; Li, Y.; Li, N.; Teng, W.; Wang, M.; Zhang, Y.; Xiao, Z. TGF-beta1 promotes scar fibroblasts proliferation and transdifferentiation via up-regulating MicroRNA-21. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 32231. [CrossRef]
111. Lichtman, M.K.; Otero-Vinas, M.; Falanga, V. Transforming growth factor beta (TGF-beta) isoforms in wound healing and fibrosis. *Wound Repair Regen.* **2016**, *24*, 215–222. [CrossRef]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ARTIGO 2

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE HIDROGEL À BASE DE ALGINATO INCORPORADAS COM CINAMALDEÍDO.

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF HYDROGEL MEMBRANES BASED ON ALGINATE INCORPORATED WITH CINAMALDEHYDE.

RESUMO

Polímeros a base de alginato para efeitos curativos têm sido utilizados por serem biocompatíveis e biodegradáveis. O alginato é um biopolímero que apresenta propriedades cicatrizantes e é abundante na natureza, característica que o torna atrativo para a confecção de curativo de lesões de pele. A incorporação do cinamaldeído, principal componente ativo do óleo essencial da canela (*Cinnamomum* sp), aos curativos produzidos a partir do alginato pode levar a um melhor desempenho destes. No presente estudo, membranas hidrogéis a base de alginato foram incorporadas com cinamaldeído e caracterizadas utilizando métodos físico-químicos e biológicos. Inicialmente, as membranas foram formuladas a partir de um planejamento fatorial 2^3 com seis repetições no ponto central e 6 pontos axiais, totalizando 20 ensaios. Um escore de qualidade foi empregado para selecionar a melhor formulação, de acordo com os parâmetros: uniformidade, rachaduras, bolhas, desprendimento da placa, transparência e consistência. Em seguida, a atividade antimicrobiana *in vitro* das membranas contendo ou não cinamaldeído foi verificada contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. As características morfológicas e físicas (morfologia, espessura, rugosidade, comportamento na presença de umidade, comportamento hídrico, sorção de vapor d'água e coloração) das membranas hidrogéis formadas foram verificadas. A membrana contendo cinamaldeído inibiu o crescimento de todos os microrganismos testados. Os hidrogéis com incorporação apresentaram uma estrutura transversal lamelar com pouca evidência da existência da formação de poros, sendo observada uma rugosidade média de $0.2482 \pm 0.04676 \mu\text{m}$ e espessura média de $0,4468 \pm 0,01749 \text{mm}$. Apresentou uma boa absorção, 310% de solução salina, uma perda de massa de 52% e capacidade de sorção de vapor d'água de aproximadamente 57%. Os resultados obtidos com os biofilmes de alginato incorporados com cinamaldeído apresentaram promissores para atuação como biocurativos, caracterizados pela capacidade antimicrobiana, estabilidade e absorção de fluidos, por exemplo, no caso de feridas exsudativas.

Palavras -chave: Alginato. Cinamaldeído. Curativo. Biopolímero. Antimicrobiano.

ABSTRACT

Alginate-based polymers for curative effects have been used because they are biocompatible and biodegradable. Alginate is a biopolymer that has healing properties and is abundant in nature, a characteristic that makes it attractive for making skin wound dressings. The incorporation of cinnamaldehyde, the main active component of cinnamon essential oil (*Cinnamomum sp*), to dressings produced from alginate can lead to a better performance of these. In the present study, alginate-based hydrogel membranes were incorporated with cinnamaldehyde and characterized using physico-chemical and biological methods. Initially, the membranes were formulated from a factorial design 2^3 with six repetitions at the central point and 6 axial points, totaling 20 tests. A quality score was used to select the best formulation, according to the parameters: uniformity, cracks, bubbles, detachment from the plate, transparency and consistency. Then, the in vitro antimicrobial activity of membranes containing or not cinnamaldehyde was verified against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. The morphological and physical characteristics (morphology, thickness, roughness, behavior in the presence of moisture, water behavior, water vapor sorption and coloring) of the hydrogel membranes formed were verified. The membrane containing cinnamaldehyde inhibited the growth of all tested microorganisms. The incorporated hydrogels had a lamellar cross-sectional structure with little evidence of the existence of pore formation, with an average roughness of $0.2482 \pm 0.04676 \mu\text{m}$ and an average thickness of $0.4468 \pm 0.01749\text{mm}$. It had a good absorption, 310% of saline solution, a loss of mass of 52% and a water vapor sorption capacity of approximately 57%. The results obtained with alginate biofilms incorporated with cinnamaldehyde presented promising prospects for acting as biocuratives, characterized by their antimicrobial capacity, stability and fluid absorption, for example, in the case of exudative wounds.

Keywords: Alginate. Cinnamaldehyde. Band Aid. Biopolymer. Antimicrobial.

1 INTRODUÇÃO

As infecções cutâneas têm afetado milhões de indivíduos em todo o mundo, tornando-se um desafio para a determinação de suas causas, origens, evolução, tratamento e reabilitação. Seu tratamento tem desafiado os sistemas de saúde, resultando em incapacidade física e impactos socioeconômicos (Fonseca et al., 2013; Lindholm; Searle, 2016). Além disso, o fenômeno de resistência aos antimicrobianos contribui para o crescimento das infecções cutâneas, que estão surgindo em todos os grupos de microrganismos, sendo o uso excessivo de antibióticos um agravante para este aumento significativo. (Brinkac et al., 2017).

A utilização de polímeros para o tratamento de lesões de pele que apresentam atividade biológica, é considerada pela engenharia de tecidos, procedimento moderno, sendo o alginato um dos polissacarídeos mais estudados, possuindo uma grande contribuição para o processo de cicatrização, melhorando a aparência e funcionalidade do tecido regenerado, com uma potencial tendência para a liberação controlada de agentes bioativos (Muzzarelli et al., 2007; Wiegand; Hipler, 2010).

É necessário que sejam desenvolvidas drogas antibacterianas alternativas para proporcionar a cura de inúmeras doenças infecciosas de diferentes origens, e o grande foco para se atingir este objetivo, são as plantas medicinais. As plantas medicinais são as principais fontes de fármacos em países desenvolvidos e em desenvolvimento para diferentes utilidades terapêuticas. Considerando-se que o Brasil tem a maior biodiversidade de plantas do mundo, com cerca de 20% do número de espécies do planeta, além de ser um grande produtor e exportador de óleos essenciais, tornou-se um campo aberto de possibilidades (Burt, 2004; Sartoratto et al., 2004; Heidari-Sureshjani, 2015).

Os produtos naturais são uma boa ferramenta na prospecção de novos agentes. Tem-se por exemplo, o cinamaldeído, composto presente no óleo da canela que tem sido amplamente utilizado para fins medicinais. O óleo é extraído das cascas da árvore do gênero *Cinnamomum*, família Lauraceae, e foi aprovado como medicamento fitoterápico pela Farmacopéia Chinesa para uso como analgésico e para promover a circulação sanguínea, além da cura de feridas (Commission, 2005; Yuan et al., 2017).

O cinamaldeído possui propriedades anti-inflamatória, antiemética e analgésica (Mihara; Shibamoto, 2015), além de efeitos antioxidativos, antimicrobianos, anticardiovasculares e antidiabéticos, sendo utilizado para o tratamento de doenças cardíacas e diabetes mellitus (Yuan et al., 2017) sendo que algumas dessas propriedades facilitam o processo de cicatrização (Farahpour; Habibi, 2012).

A busca pelo desenvolvimento de curativos mais eficientes é o objeto de estudo de várias pesquisas recentes, possuindo características marcantes, com atividade biológica que contribuem para o processo de cicatrização, que seja antimicrobiano, que apresente isolamento térmico, de fácil uso dentre outras características (Muzzarelli et al., 2007; Dwivedi et al., 2016; Zhu et al., 2017).

Com a possibilidade de os microrganismos serem resistentes a uma grande variedade de fármacos, a utilização de um arsenal terapêutico para tratamento de infecções fica cada vez mais restrito, podendo gerar uma alta taxa de mortalidade, por infecções não tratáveis. Evidencia-se a necessidade do desenvolvimento de novos materiais/coberturas que apresentem ação antimicrobiana e anti-inflamatória, permitindo, assim, uma maior celeridade no tratamento do processo cicatricial. Por esta razão, a descoberta de novas terapias para o tratamento de lesões infectadas é necessária, como por exemplo, a utilização de compostos orgânicos naturais incorporados a biopolímeros, especialmente para tratar o alto número de pacientes refratários aos tratamentos convencionais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes utilizados na parte experimental

O Cinamaldeído utilizado neste estudo foi obtido comercialmente da Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha), pureza de $\geq 95\%$. Na execução do planejamento fatorial utilizou-se a concentração entre 0,2 e 2%. Propileno glicol P.A (Isifar-Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda, Rio Janeiro, Brasil) pureza 98%, Alginato de sódio (Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha) e Cloreto de cálcio P.A (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, São Paulo, Brasil).

Os reagentes utilizados na caracterização das membranas foram tampão fosfato salino (PBS), NaCl (Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha), além do meio de cultura RPMI-1640 (Nutricell-Nutrientes Celulares, São Paulo, Brasil).

2.2 Planejamento Fatorial

A metodologia estatística de planejamento fatorial é utilizada para avaliar os efeitos de duas ou mais variáveis de influência. O estudo sobre variáveis experimentais são elaboradas por procedimentos que levam em consideração uma variável por vez, ocasionando desvantagens que resultam numa otimização sem eficiência, impedindo o estabelecimento de resultados verdadeiros precisos, os quais são atingidos pelo emprego de sistemas multivariados (Brasil et al., 2007). Os sistemas de planejamento fatorial se destacam, pois avaliam ao mesmo tempo o efeito de um número superior de variáveis, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais, quando se compara aos processos que avaliam uma única variável (Peralta-Zamora et al., 2005).

Para avaliar a influência das três variáveis independentes selecionadas (alginato, cloreto de cálcio e cinamaldeído) na qualidade das membranas foi elaborado um planejamento fatorial de 2 níveis (-1 e +1) e três fatores, sendo um modelo de 2ª ordem. A matriz do planejamento fatorial está representada na Tabela 1. Sendo utilizado um planejamento 2^3 , 3 representando o número de fatores e 2 representando o número de níveis escolhidos com seis repetições no ponto central e 6 pontos axiais, totalizando 20 ensaios. O número de pontos axiais corresponde a $2 \times n$, onde “n” é o número de variáveis independentes.

2.3 Preparação da membrana de alginato com cinamaldeído.

As membranas hidrogéis de alginato foram obtidas de acordo com adaptações do método estabelecido por Baek et al. (2018). Uma mistura de Propilenoglicol, óleo essencial e solução de Alginato de sódio foi preparada da seguinte forma: Preparou-se a solução numa proporção de 4:1, quatro partes do alginato para cada uma parte da mistura óleo+ propilenoglicol. Selecionou-se uma “forma” para a confecção dos filmes - Placa de 24 poços, cortando pedaços de papel de filtro de maneira que coubesse no fundo do suporte, umidificou-se esse papel com solução de Cloreto de Cálcio a 1,8%. Colocou-se sobre o papel 0,5mL da mistura de solução de Alginato + solução de Propilenoglicol + óleo essencial, deixando-se por 48 horas a temperatura ambiente.

Após a incubação, adicionou-se 3mL de solução de Cloreto de Cálcio a 1,8%, aguardou-se por 2 minutos; em seguida lavou-se três vezes com água destilada. A placa

com a membrana foi deixada por 24h no dessecador. Armazenando-o em seguida em geladeira a -4°C .

Após a confecção das membranas utilizou-se o teste morfológico que consiste numa análise macroscópica para gerar o resultado do escore das membranas obtido pelo planejamento fatorial, aplicando-se os parâmetros de uniformidade, rachaduras, bolhas, desprendimento da placa, transparência e consistência, os testes foram realizados em triplicatas, retiradas as médias e atribuindo os valores e suas referências: 0= péssimo; 1= ruim; 2= bom; 3= muito bom.

A composição da membrana com escore mais favorável foi selecionada para os demais testes. Em todos os ensaios, foram preparadas membranas contendo o cinamaldeído e a respectiva formulação sem o composto (controle).

2.4 Teste antimicrobiano

Culturas recentes dos microrganismos-teste (*A. baumannii* ATCC 19606, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 25923 e isolados clínicos de *P. aeruginosa* e *S. aureus*) foram utilizadas para preparação de inóculos a uma densidade de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Em paralelo, as membranas foram preparadas em placa de 12 poços e expostas a luz UV por 15 minutos. Cada poço recebeu 2 mL de caldo Muller-Hinton (MH) e 200 μL do inóculo bacteriano. Poços sem as membranas foram utilizados como controles positivos de crescimento bacteriano. Posteriormente, a placa foi incubada a 37°C e após cada hora estipulada (0, 2, 4, 6, 8 e 24h) retirou-se alíquotas de 100 μL de cada poço para realização de diluição seriada e plaqueamento em placas de Petri contendo ágar MH. Após incubação a 37°C por 24h foi realizada a contagem de colônias. O ensaio foi realizado em triplicata para cada grupo de membrana.

2.5 Morfologia dos hidrogéis por microscopia de varredura eletrônica (MEV)

Para as análises de microscopia eletrônica de varredura, as membranas foram cortadas com tesoura em corpos de prova de 1 cm x 1 cm e mantidas em dessecador com sílica por no mínimo 24 horas. Após o armazenamento as amostras foram fixadas em *stubs* metálicos com o auxílio de uma fita de carbono dupla face e submetidas a análise do MEV(TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão), com modo de operação de elétrons

retroespalhados e aceleração de voltagem de 15KV. Imagens em magnificações de 50x e 250x foram obtidas da superfície superior do filme para análise dos aspectos gerais morfológicos das amostras. Imagens adicionais das superfícies laterais também foram coletadas para análise de espessura dos filmes, determinada através de uma ferramenta de mensuração incorporada ao equipamento.

2.6 Espessura

A espessura das membranas foi medida utilizando-se um micrômetro digital (Starrett, série 3732, Japão), sendo realizadas 5 (cinco) medidas, incluindo o ponto central em cada formulação. Antes das medidas, as membranas foram previamente acondicionadas em umidade relativa de 20% por, no mínimo, 48 horas. A armazenagem prévia em umidade controlada é importante para evitar variações nos resultados, tendo sido escolhido um baixo valor de umidade relativa (20%) de modo a evitar que as amostras ficassem excessivamente ressecadas.

2.7 Rugosidade

A análise de rugosidade foi realizada utilizando-se um rugosímetro digital Mitutoyo SJ-201, executando-se 3 (três) leituras em cada filme. Os comprimentos de amostragem (cutoff) e comprimento de medição total foram programados no equipamento antes da realização das medidas. As membranas foram previamente acondicionadas em umidade relativa de 20% por 48 horas.

2.8 Umidade

O teor de umidade dos filmes foi avaliado através da medida de perda de massa. Amostras de cada filme, em triplicata, foram pesadas em balança analítica e em seguida aquecidas em estufa de secagem a 75 ± 1 °C em tempos pré-estabelecidos de 1 hora. As amostras foram acondicionadas em um dessecador até atingirem a temperatura ambiente, em seguida elas foram novamente pesadas, esse procedimento foi repetido até que as amostras mantivessem o seu peso constante. A umidade contida nas amostras foi relacionada à perda de peso, de acordo com a equação 1 (Gomes, 2016).

$$U\% = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

Em que: $U\%$ = porcentagem de umidade

M_i = Massa inicial

M_f = Massa final

2.9 Comportamento hídrico

A capacidade de absorção e a estabilidade das membranas foram avaliadas em diferentes soluções aquosas de modo a simular as suas condições de aplicação. Nestes ensaios utilizou-se água deionizada; solução salina (NaCl a 0,9% m/v, SS), a qual seria potencialmente empregada para a hidratação das membranas antes de seu uso in vivo; tampão fosfato salino (PBS, pH 7,2), essas soluções isotônicas com concentração de sais próxima à do corpo humano, e meio RPMI-1640 (0,3 g/L de L-glutamina, 2,0 g/L de D-glicose, 2,0 g/L de NaHCO₃, 10000 UI/L de penicilina e 0,05 g/L de estreptomicina) suplementado com Hepes (5,958 g/L) e soro fetal bovino (10% v/v), o qual é comumente empregado como suplemento do meio para o cultivo de células da pele nas membranas. Os dois ensaios, de análise da capacidade de absorção e da estabilidade, foram realizados em triplicata, utilizando três corpos de prova para cada solução aquosa. As membranas foram previamente cortadas em corpos de prova de 3cm x 1cm, os quais foram armazenados em dessecador com sílica por 24hs para remoção de umidade e, em seguida, sua massa inicial foi determinada em balança analítica.

Para a determinação da capacidade de absorção, os corpos de prova foram imersos em 3 mL das referidas soluções a 37°C por 0, 12, 24, 48 e 72 horas, de forma a atingir o equilíbrio de absorção. Após este período o excesso de solvente foi removido levemente com papel de filtro por cerca de 5 segundos e a massa final foi imediatamente determinada em balança analítica. A capacidade máxima de absorção (Ab) foi calculada de acordo com a Equação 2 abaixo.

$$Ab = \frac{(M_u - M_s)}{M_s} \times 100 \quad (2)$$

onde M_u refere-se à massa da amostra úmida e M_s refere-se à massa da amostra seca.

2.10 Coloração

A avaliação de cor foi realizada a fim de verificar quantitativamente a influência do cinamaldeído misturado com alginato e propilenoglicol sobre o aspecto visual das membranas, uma característica que poderia ser relevante do ponto de vista de atratividade para potenciais usuários. As membranas foram previamente acondicionadas em umidade relativa de 20% por 48 horas e a análise foi realizada em triplicata com auxílio de colorímetro portátil Minolta CT-310, o qual utiliza o padrão CIELAB. Neste sistema, a luminosidade e a cor são determinadas pelos parâmetros L, a e b. O parâmetro “L” varia de 0 (preto) a 100 (branco), o parâmetro “a” varia de -60 (verde) a +60 (vermelho) e o parâmetro “b” varia de -60 (azul) a +60 (amarelo). A obtenção destes parâmetros permitiu calcular a tonalidade métrica (Hue), que indica a cor do material, o croma métrica (Cr), relacionado à intensidade de cor em uma escala de 0 a 16, e a diferença de cor em relação a um padrão (ΔE), que foi definido com sendo a membrana sem óleo. Os cálculos foram realizados de acordo com as Equações 3.1, 3.2 e 3.3 abaixo:

$$\text{Hue} = \arctan (b/a) \quad (3.1)$$

$$\text{Cr} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (3.2)$$

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (3.3)$$

2.11 Sorção de vapor d'água

A sorção de vapor d'água foi avaliada gravimetricamente, em triplicatas, segundo o método proposto por Dias et al. (2011). As membranas foram cortadas em corpos de prova de 1 cm x 1 cm e armazenadas por 48 horas em um recipiente contendo solução saturada de LiCl para manter a umidade relativa em 20% à temperatura ambiente. Em seguida, mediram-se as massas iniciais dos corpos de prova, os quais foram então transferidos para um recipiente hermético contendo solução saturada de K_2SO_4 para manter a umidade relativa em 95% a 32°C.

As massas dos corpos de prova foram medidas periodicamente até completar 9 horas de ensaio. A capacidade de sorção de vapor (SV) foi calculada de acordo com a

Equação 4 abaixo, onde M_t é a massa da amostra no tempo t e M_0 é a massa inicial da amostra:

$$SV = \frac{(M_t - M_0)}{M_0} \times 100 \quad (4)$$

2.12 Análise estatística

Os gráficos e a avaliação estatística dos resultados foram realizados por meio de análise de variância (ANOVA) no programa Graphpad Prism 5.0 e o Software Estatística V.1.1.5., seguida pelo teste de Boferroni ou Kruskal – Wallis, para dados paramétricos e não paramétricos respectivamente. Adotou-se o nível de significância igual a 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desenvolvimento do filme à base de alginato

Um planejamento fatorial foi realizado para determinar a influência de três variáveis na qualidade das membranas de alginato contendo cinamaldeído (Tabela 1). Foram formuladas 20 membranas que apresentaram diferentes níveis de flexibilidade, consistência, uniformidade e transparência diferenciadas (Figura 1S). Nas condições do ensaio 9 (0,50% de alginato, 1,80% de cloreto de cálcio, 1,10% de cinamaldeído) não houve formação da membrana. Foi realizado um escore para cada uma, de acordo com as suas características. A membrana hidrogel formulada no ensaio 13, apresentou o maior escore dentre os vinte ensaios realizados, mostrando-se diferença estatística em comparação com as membranas com altos valores de escores: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 11 ($p < 0,05$) (Figura 2S).

Baek et al. (2018) incorporaram o óleo da canela a membranas de alginato em embalagens biodegradáveis utilizando uma variação de CaCl_2 na reticulação de suas membranas (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% e 7%), sendo a concentração otimizada para 3% com base nas propriedades mecânicas do filme. Segundo o referido estudo, a quantidade de trans-cinamaldeído retirada da folha e da casca da canela utilizada no experimento

foi de (0,4%, 0,7% e 1%), resultando em um aumento da flexibilidade do filme na utilização da concentração de 0,7%.

Rhim (2004) relata que concentrações acima de 0,03 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /g alginato, a solução filmogênica formada era muito espessa, o que dificultava o processo de deposição da solução de cloreto de cálcio no suporte. Para Rezende et al. (2007) avaliando o efeito da composição do *scaffold* em termos de comportamento mecânico, consideraram-se estruturas com concentrações de 2% e 5% de alginato, chegando a conclusão de que as constantes elásticas e viscosas apresentam valores superiores em estruturas de menor concentração em alginato.

Os dados encontrados no escore das membranas foram utilizados para construções de gráficos de superfície resposta representados na Figura 1. Através da análise de superfície de resposta, observam-se as concentrações ótimas das variáveis utilizadas, que foram: 2,1% de alginato; 1,8% de solução de cloreto de cálcio e 0,8% da relação entre óleo + propilenoglicol. As membranas hidrogéis preparadas nesta condição apresentaram-se macroscopicamente homogêneas, sem rachaduras, flexíveis e aderentes, como visto na Figura 3S.

Após a análise da superfície resposta no quesito incorporação do cinamaldeído, notou-se a utilização de uma maior concentração do mesmo (0,8%), pois na caracterização morfológica, a membrana 13, que apresentou o maior escore, possuía 0,2% do cinamaldeído incorporado. Porém, do ponto de vista de segurança, o cinamaldeído é uma opção viável para uso em humanos e animais, tanto por via oral como para uso cutâneo. Estudos em animais sugerem que o cinamaldeído é seguro por via oral quando administrado como dose única em concentrações de 2.220 mg/kg ou repetidamente e até durante 2 anos (550 mg/kg/dia) e na concentração de até 8% no tecido cutâneo em humanos e de até 15% em ratos, coelhos e porquinho-da-índia (Bickers, 2005; Ferro, 2016).

A partir do diagrama de pareto (Figura 4S), foram determinados os valores absolutos dos efeitos padronizados desde o maior efeito até o menor efeito. O gráfico também traça uma linha de referência para indicar quais efeitos são estatisticamente significativos. Comprovou-se que apenas a concentração alginato apresentou diferença estatística em relação as características macroscópicas do filme ($p < 0,05$). As variáveis concentrações de cinamaldeído e cloreto de cálcio não foram estatisticamente significantes.

Para Myers e Montgomery (2002) os valores do coeficiente de correlação R^2 entre 0,85 e 0,90 obtidos a partir do coeficiente de regressão no Software Estatística são considerados bons modelos para explicar a variação existente no processo de estudo. Já para Dancey e Reidy (2006) mostraram uma classificação um pouco diferente: $r = 0,10$ até 0,30 (fraco); $r = 0,40$ até 0,6 (moderado); $r = 0,70$ até 1 (forte). Sendo assim, o coeficiente R^2 (0,842) obtido na análise de variância (ANOVA) table do programa Estatística, sugere que o modelo ajustado é capaz de explicar 84% do total da variação existente nesse processo, possuindo habilidade em gerar previsões testáveis neste experimento.

3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O MEV é uma técnica que permite visualizar a morfologia da superfície das membranas, principalmente a distribuição dos compostos bioativos utilizados para compor a microestrutura da matriz do filme. A Figura 2 mostra a morfologia da superfície das membranas à base de alginato. Foi possível observar por MEV alguns grânulos que estão relacionados aos resíduos deixados pelo cloreto de cálcio (A3 e B3) na etapa de reticulação da membrana, sendo destacado que o material foi exposto a três lavagens com água destilada, para remoção dos resíduos.

As imagens de MEV mostram as diferenças existentes na morfologia das membranas preparadas na presença e na ausência de cinamaldeído. Sendo que as imagens A1 e B1 referem-se a superfície lateral do hidrogel com magnificações de 50x, onde foram medidas as espessuras das mesmas. As imagens A2 e B2 com magnificações de 250x observou-se a estrutura lateral interna e as A3 e B3 com magnificações de 250x, foi observado a estrutura superior do material.

Nota-se que, ambas as formulações (A2 e B2) apresentaram seção transversal lamelar, sendo que a amostra (A2) com cinamaldeído, mostrou uma ótima compactação do material, sem formação de poros evidentes. As amostras A1 e B1 apontaram uma espessura média de 252,5 e 242,5 μm , respectivamente. Esse leve aumento na espessura das membranas com cinamaldeído sugere uma perfeita interação entre os constituintes para a formação da membrana hidrogel. Já as amostras A3 e B3 apresentaram uma superfície homogênea, com pequenas quantidades de cristais de cloreto de cálcio.

No estudo de Baek et al. (2018) com o óleo da canela em membranas de alginato em embalagens biodegradáveis, foi observado que à medida que o conteúdo dos óleos essenciais aumentava, ficava evidente que a microestrutura não era compacta e os poros eram formados. Essa mudança estrutural e a formação de poros no filme aumentaram a permeabilidade ao vapor de água. Além disso, Zhang et al. (2015) também relataram que os filmes de alginato tinham uma superfície relativamente homogênea e lisa, mas a adição de óleo essencial de canela ou óleo essencial de soja resultou em superfícies com poros irregulares.

3.3 Atividade antimicrobiana

Em seguida, foi avaliada a atividade antimicrobiana das membranas hidrogéis de alginato contendo cinamaldeído (Figura 3). O cinamaldeído foi liberado das membranas resultando na inibição das espécies bacterianas testadas. Em contrapartida, as membranas sem cinamaldeído não significativamente interferiram no crescimento bacteriano quando comparadas com o grupo controle ($p > 0,05$).

No caso da bactéria *A. baumannii* ATCC 19606, inibições significativas foram observadas após 4h ($62,28 \pm 6,65\%$) de contato com a membrana incorporada com cinamaldeído (Figura 3A). A partir das 6h, não foi possível detectar colônias viáveis. Foram obtidos resultados semelhantes para *P. aeruginosa*, sendo que a linhagem padrão ATCC 27853 foi inibida parcialmente a partir de 2 h de incubação e totalmente após 24h (Figura 3B). O isolado clínico de *P. aeruginosa* foi mais sensível, sendo totalmente erradicado após 2h de contato (Figura 3C). Ambas as linhagens de *S. aureus* apresentaram o mesmo perfil de sensibilidade, sendo inibidas a partir das 2h e erradicadas após 24 h de exposição (Figura 3D e 3E).

Os hidrogéis contendo cinamaldeído apresentaram atividade antimicrobiana contra todas as cepas bacterianas testadas. Os resultados de Ferro et al. (2019) já haviam comprovado que a *P. aeruginosa* foi sensível a concentrações baixas de cinamaldeído (0,25, 0,5 e 1 mg/mL). Além disso, o óleo não induziu resistência a longo prazo como observou-se com o uso de alguns antibióticos. Estudos mostraram que a resistência de *P. aeruginosa* ocorre principalmente através de bombas de efluxo e super-expressão de genes de resistência, com seu efeito promissor semelhante à colistina (Topa et al., 2018;

Tétard et al., 2019). A inibição de *P. aeruginosa* de forma bastante significativa é sustentada por ensaios anteriores que demonstram, por exemplo, a diminuição da sua colonização em feridas tratadas por 4 e 7 dias (Ferro et al., 2019), redução da viabilidade, motilidade e formação de biofilme (Firmino et al., 2018; Topa et al., 2018).

A presença maciça de *S. aureus* em feridas infectadas demonstra que o desenvolvimento de novos compostos bioativos é realmente promissor. O hidrogel contendo cinamaldeído se mostrou eficaz na eliminação parcial destas bactérias em intervalos curtos de tempo, como já mostrado por (Gadkari et. al., 2019). Similarmente, como já observado na literatura, observou-se a eficácia do cinamaldeído contra cepas clínicas já resistentes a diversos β -lactâmicos, além de significativa ação contra MRSA formadores de biofilme inclusive em superfícies não-aderentes (Budri et al., 2015; Kot et al., 2019), bem como a não indução do fenótipo de resistência e provável inibição de genes de resistência como *sarA* (Jia et al., 2011; Ferro et, al., 2016).

Como agente causador de infecções cutâneas severas, *A. baumannii* teve seu log de crescimento consideravelmente suprimido com poucas horas de interação com o hidrogel contendo cinamaldeído em baixas concentrações, concordando com os resultados observados por Valcourt et al. (2016) e Montagu et al. (2016). Por outro lado, Uygur et al. (2009), em um modelo de infecção cutânea, comprovaram que o cinamaldeído é capaz de inibir a adesão de *A. baumannii* aos queratinócitos HEK001 e a formação de biofilmes, favorecendo o processo de cicatrização. Além disso, o efeito biológico do cinamaldeído também pode estar correlacionado ao aumento da sensibilidade de *A. baumannii* a antibióticos como a metilina, inibindo bombas de efluxo e genes de resistência voltados aos β -lactâmicos (Karumathil et al., 2018).

3.4 Rugosidade e espessura

Os dados da rugosidade e da espessura são apresentados na Figura 4, obtidos pela utilização de dois hidrogeis distintos: com cinamaldeído 0,8% e sem cinamaldeído. A rugosidade apresentou média de $0.2482 \pm 0.04676\mu\text{m}$ para a coluna com óleo e $0.2735 \pm 0.1065 \mu\text{m}$ para a coluna sem óleo (Figura 4A). A média dos resultados da espessura para a coluna com óleo foram $0,4468 \pm 0,01749\text{mm}$ e para a coluna sem óleo foi de $0,3109 \pm 0,02178\text{mm}$ (Figura 4B). Os dados mostraram-se significativamente diferentes apresentando ($p < 0,05$).

O aumento da espessura se deu em virtude de uma maior incorporação, como esperado, já a diminuição da rugosidade no hidrogel com óleo incorporado ocorreu pelo fato da formação do óleo na superfície do material, criando assim uma superfície mais lisa, com formação de uma película fina e aderente em torno do alginato. A espessura dos hidrogéis elaborada é interessante para aplicação em feridas cutâneas, pois está relacionada com as propriedades mecânicas e de barreira das mesmas. Apesar da baixa rugosidade, o hidrogel mostrou-se adaptável a superfícies mais rugosas, sendo o material maleável e de baixa espessura.

A rugosidade exerce um papel fundamental na caracterização de superfícies de filmes, podendo influenciar na resistência oferecida pela superfície ao transporte de fluidos, aparência, aderência, resistência mecânica, entre outros fatores. A rugosidade é uma maneira de quantificar as irregularidades observadas através das micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (Fabra et al., 2009). Os valores de rugosidade encontrados no presente estudo foram considerados aceitáveis, segundo a literatura estudada, uma vez que na utilização de curativos com rugosidade os valores foram inferiores a 200 μm (Boehringer et al., 2011).

Os resultados de Lopes et al. (2017) obtidos com formulações a base de alginato e gelatina, mostraram variação no tamanho, desde 1,53 a 1,90 mm, na rugosidade de superfície. Ma et al. (2001) relataram que os substitutos poliméricos da derme são de menor espessura do que a pele humana, variando de 0,5 a 2 mm, dependendo de alguns requisitos como, idade, sexo e região do corpo. Com base nesta informação, pode-se inferir que o hidrogel produzido tem potencial de ser utilizado como curativo para a pele.

3.5 Intumescimento

O desempenho hídrico das membranas foi analisado em água destilada, solução salina, tampão fosfato-salino (PBS) e meio RPMI suplementado com HEPES, o que pode ser visualizado na Figura 10. Primordialmente, analisou-se a tumescência nas soluções a 37°C.

Como mostrado na Figura 5, ambos os grupos de membranas com ausência e presença do cinamaldeído absorveram volumes consideráveis de solução. O ápice de absorção das membranas com e sem cinamaldeído ocorreu entre 12h e 24h de ensaio,

respectivamente. Após a absorção máxima, todas as membranas apresentaram diminuição de massa.

As membranas sem cinamaldeído mostraram maior capacidade de intumescimento em PBS, RPMI e água destilada, chegando em alguns casos a intumescer até 700% em seu ápice de absorção, com exceção da solução salina. Enquanto as membranas com cinamaldeído apresentaram menor capacidade de intumescimento na demais soluções, apresentou maior absorção em solução salina em comparação as membranas sem cinamaldeído, chegando ao ápice de 310% de absorção em 12h de ensaio.

O aumento de massa da membrana se dá com a penetração do solvente no espaço intramembranar, pois a capacidade do alginato de se intumescer é favorecida pelos grupos carboxílicos que se ligam fortemente às moléculas de água, logo promove ampliação estrutural devido à diferença de pressão osmótica no interior e fora da membrana, visto que, a estabilidade é alcançada quando tal pressão entre os meios se iguala (Linhares, et al., 2015).

Aparentemente o óleo diminuiu o influxo das soluções para o espaço intramembranar, visto que se trata de uma substância lipofílica, não interagindo diretamente com água e com tais soluções que apresentam sais e componentes de caráter hidrofílico. Resultados similares aos obtidos aqui foram observados por Linhares et al. (2015), nos quais seus hidrogéis de polivinil, carboximetilcelulose com as concentrações de alginato a 0,2%, 0,5% e 1%, apresentaram de 380% a 550% de intumescimento, tendo como destaque o hidrogel de alginato a 0,5% conseguindo obter de fato os 550%, onde todos os hidrogéis alcançaram um platô de absorção por volta de 20 horas de ensaio .

As membranas de Gontijo et al. (2017), na proporção de 1:1 de carboximetilcelulose e alginato de sódio contendo diclofenaco (50 mg/g de biopolímero), reticuladas com CaCl_2 nas concentrações de 2,5%, 5% e 7,5%, exibiram os seguinte resultado de absorção, 2,4g $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ filme, 2,18 g $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ filme e 1,96 g $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ filme, respectivamente. As membranas reticuladas com o CaCl_2 a 2,5% mostraram maior capacidade de absorção por conta da menor concentração de agente reticulante, fator que permite menor empacotamento e densidade polimérica.

Com base nos resultados acima, constatou-se que os hidrogéis processados no presente estudo apresentaram alta capacidade de absorção quando em contato com os

solventes acima, correlacionando com a absorção de exsudato presente em feridas. Além de apresentarem resultados semelhantes aos existentes na literatura, constatou-se que o cinamaldeído modifica a característica de tumescência da membrana de alginato, visto que os resultados elucidam esta premissa.

3.6 Umidade

O teste de umidade relaciona a massa inicial e final dos hidrogéis acondicionados em estufa sob a temperatura de 75°C, evidenciando a umidade das amostras no decorrer do ensaio, mostrados na Tabela 2.

Os resultados do teste de umidade mostram a diferença da massa inicial e final dos hidrogéis, com presença e ausência de cinamaldeído, após as membranas serem acondicionadas em estufa a 75° C. Inicialmente, as membranas com e sem cinamaldeído apresentaram mutuamente a massa de $21.5 \pm 0,0032$ e $32 \pm 0,0082$ mg, enquanto no fim do ensaio tinham $10.4 \pm 0,0015$ e $18 \pm 0,0042$ mg, respectivamente.

A Tabela 2 mostra que as membranas com cinamaldeído apresentaram em torno de 52% de umidade em sua formulação e as membranas sem cinamaldeído, 46%. Observou-se que as membranas tiveram grandes perdas de massa, o que pode ser explicado pela maior capacidade de absorção de água destas, fazendo com que tenham maior conteúdo de umidade.

O teor de umidade auxilia na reidratação do tecido lesionado e as membranas formuladas para o presente estudo apresentaram alta umidade em comparação aos filmes de alginato contendo Natamicina utilizada por Silva, (2009), observaram entre 0,175g H₂O/g filme e 0,192 g H₂O/g filme, correspondendo a (17,5% e 19,2%), e os filmes de alginato de Rhim (2004) que apresentaram umidade entre 15,7 e 17,7%.

3.7 Coloração

As colorações das membranas hidrogéis preparadas com e sem cinamaldeído foram avaliadas objetivando-se verificar quantitativamente a influência deste óleo essencial sobre as características do hidrogel. Os parâmetros de cor obtidos são apresentados na Tabela 3, mostrando que a luminosidade dos hidrogéis (L) não sofreu influência com a concentração de cinamaldeído utilizado para o preparo da membrana hidrogel, o que se reflete numa igualdade de opacidade.

Os parâmetros a e b foram usados para calcular a tonalidade métrica das membranas hidrogeis (Hue), sendo que a adição de cinamaldeído provocou a diminuição de a e b. A tonalidade das formulações com cinamaldeído e sem cinamaldeído, apresentaram tonalidades tendendo ao amarelo, porém a formulação sem cinamaldeído apresentou tonalidade mais acentuada.

Através do parâmetro Croma, pode-se observar a intensidade da cor das membranas hidrogeis, cujo limite poderá chegar ao valor de 16 (KONICA MINOLTA INC., 2007). Para as membranas com cinamaldeído, observou-se um valor baixo de

intensidade de cor, já para as formulações sem cinamaldeído a intensidade da cor extrapolou o limite permitido.

O parâmetro ΔE , que afere a diferença de cor, foi calculado utilizando-se a formulação sem cinamaldeído como padrão de referência. Observou-se uma diferença entre as formulações, podendo ser justificada também pela distinção entre as tonalidades métricas.

Para Baek et al. (2018), os resultados de L, a e b para as membranas de alginato incorporadas com cinamaldeído a 0,7% derivados da folha e da casca da canela, foram respectivamente: $L = 66.40 \pm 0.43$ e 67.12 ± 1.10 ; $a = 8.53 \pm 0.19$ e 8.17 ± 0.24 $b = 45.21 \pm 1.08$ e 48.52 ± 0.81 . As membranas sem incorporação apresentaram valores de $L = 72.03 \pm 0.27$, $a = 5.16 \pm 0.10$ e $b = 49.19 \pm 0.34$. A incorporação do óleo diminuiu os valores de L e b, enquanto o valor de a aumentou, concluindo que a diferença total de cores (ΔE) nos filmes de alginato com óleo essencial aumentou em comparação com a dos filmes sem óleo essencial.

De acordo com a tabela 3, para ser um bom curativo, uma característica secundária é a transparência, que possibilita o monitoramento da cicatrização, apesar de não indicar melhor funcionalidade, apenas melhor controle. No entanto, a literatura não cita uma cor característica ideal para curativos, existindo curativos opacos e transparentes.

3.8 Sorção de vapor d'água

Uma característica de grande valor a ser considerada é a afinidade das membranas hidrogeis por água, quando em contato com a pele, pois as mesmas têm que ter a capacidade de reter e transportar a umidade em níveis apropriados, evitando, assim,

o ressecamento ou a maceração da ferida causada pelo acúmulo de líquido. Ademais, a hidrofiliabilidade possui influência nos mecanismos de adesão, crescimento e migração celulares (TANODEKAEW et al., 2004).

Na Figura 6 são apresentadas as sorções de vapor d'água das membranas hidrogeis produzidas na presença e ausência de cinamaldeído, em 3, 6 e 9 horas de ensaio. As membranas hidrogeis com óleo apresentaram uma taxa média de sorção respectivamente de $56,16 \pm 2,67\%$, $56,86 \pm 6,82\%$ e $60,19 \pm 8,37\%$ e as membranas hidrogeis sem óleo apresentaram valores médios de $43,20 \pm 4,13\%$; $47,55 \pm 7,74\%$ e $53,91 \pm 11,64\%$. A maior taxa de sorção em relação as massas iniciais das membranas para ambas formulações, se deu em torno de 3 (três) horas, sendo que as formulações com e sem cinamaldeído não mostraram diferenças significativas.

Os resultados para a capacidade de sorção de vapor d'água das membranas de quitosana e alginato contendo ou não Pluronic F68 e Silpuran® 2130 A/B, apresentados por Pires et al. (2014), foi de 23% para as formulações contendo simultaneamente o tensoativo e o agente siliconado, fato este sendo justificado, devido o maior número de poros presentes na estrutura. As outras membranas em estudo: quitosana+alginato, quitosana+alginato+Pluronic F68 e quitosana+alginato+Silpuran® 2130 A/B, apresentaram valores da taxa de sorção variando entre 14 e 18%.

Dias et al. (2013), estudando o efeito de curativos com atividade anti-inflamatória a base de N-Carboxibutil quitosana (CBC), colágeno/celulose (Promogran®) e à base de ácido hialurônico (Hyalofill®), incorporados com um extrato obtido de jucá (*Libidibia ferrea*), obteve valores de sorção de vapor d'água igual a: $28.85 \pm 0.58\%$, $56.51 \pm 0.49\%$ e $35.72 \pm 0.67\%$ respectivamente.

Para Dias et al. (2013), a capacidade de sorção de vapor d'água entre 29 e 57% é considerada adequada para o tratamento de lesões de pele e as membranas hidrogeis produzidas neste trabalho são julgadas como viáveis para reter e transportar a umidade em níveis apropriados.

4 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida durante a elaboração deste estudo permitiu obter membranas hidrogeis de alginato contendo cinamaldeído, através da otimização das formulações com o uso de planejamento experimental. O planejamento fatorial permitiu o estabelecimento de condições ótimas de trabalho, a partir de um reduzido número de

experimentos sem prejuízo da qualidade da informação. Além disso, permitiu o estudo simultâneo de diversas variáveis, separando seus efeitos e dando uma maior confiabilidade nos resultados.

Constatou-se que Cinamaldeído possui atividade antimicrobiana contra linhagens clínicas e de referência das bactérias *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *A. baumannii*, sendo observado a total eliminação das bactérias em 24 horas.

Como conclusão das análises de capacidade de absorção e perda de massa das membranas em diferentes soluções aquosas, pode-se inferir que a formulação com cinamaldeído é adequada para aplicações que requeiram estabilidade do biomaterial, por exemplo, no caso de curativo que necessita de aplicações com alta capacidade de absorção de fluidos, por exemplo, no caso de feridas exsudativas.

Em relação as características morfológicas e a aplicação das membranas como curativos de pele, acredita-se que a formulação preparada com cinamaldeído é bastante promissora, uma vez que a sua transparência permite o monitoramento do processo de cicatrização sem a necessidade de remoção do curativo, além de possuir a capacidade de reter e transportar a umidade em níveis apropriados.

REFERÊNCIAS

BAEK, S.K.; KIM, S. AND SONG, K. B. Characterization of Ecklonia cava Alginate Films Containing Cinnamon Essential Oils. **International Journal of Molecular Sciences**. 2018.

BICKERS, D.; CALOW, P.; GREIM, H.; HANIFIN, J.M.; ROGERS, A.E.; SAURAT, J.H.; SIPES, I.G.; SMITH, R.L.; TAGAMI, H. A. Toxicologic and dermatologic assessment of cinnamyl alcohol, cinnamaldehyde and cinnamic acid when used as fragrance ingredients: The RIFM expert panel. **Food and Chemical Toxicology**. Volume 43, Issue 6, June 2005.

BRASIL, J. L.; VAGHETTI, J. C. P.; SANTOS JR , B. R. A.; SIMON, N. M.; PAVAN, F. A.; DIAS, S. L. P.; LIMA, E. C. Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de biossorção de Cu(II) em batelada utilizando-se casca de nozes pecã como biossorvente. **Química Nova**. v.30, n.3, 2007.

BRINKAC, L.; VOORHIES, A.; GOMEZ,A.; NELSON, K.E. The Threat of Antimicrobial Resistance on the Human Microbiome. **Microbial Ecology**. November. 2017.

BOEHRINGER, J. R.; KARPOWICZ, J.; MITRA, A.; RADL, C. L. Growth stimulating wound dressing with improved contact surfaces. **United States Patent**. 31.Maio.2011.

BUDRI, P.E.; SILVA, N.C.C.; BONSAGLIA, E.C.R.; FERNANDES, A.; ARAÚJO, J.P.; DOYAMA, J.T.; RALL, V.L.M. Efeito de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Cinnamomum zeylanicum* e seus principais componentes na produção de biofilme em cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite. **Journal of Dairy Science**. 98 (9). 5899-5904. 2015.

BURT, S. “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review,” **International Journal of Food Microbiology**. vol. 94, no. 3, pp. 223–253, 2004.

COMMISSION, C.P. Chinese pharmacopoeia. Vol. 328. Beijing: **Chemical Industry Press**. p. 547. 2005.

DANCEY, C.; REIDY, J. Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows. Porto Alegre, **Artmed**. 2006.

DIAS, A. M. A.; BRAGA, M. E. M.; SEABRA, I. J.; FERREIRA, P.; GIL, M. H.; DE SOUSA, H. C. Development of natural-based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 9-19, 2011.

DIAS, A. M. A.; REY-RICO, A.; OLIVEIRA, R. A.; MARCENEIRO, S.; ALVAREZLORENZO, C.; CONCHEIRO, A.; JUNIOR, R. N. C.; BRAGA, M. E. M.; DE SOUSA, H. C. Wound dressings loaded with an anti-inflammatory juca (Libidibia

ferrea) extract using supercritical carbon dioxide technology. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 74, p. 34-45, 2013.

DWIVEDI, C.; PANDEY, H.C.; PANDEY, A.W.; RAMTEKE, P. Nanofibre based smart pharmaceutical scaffolds for wound repair and regenerations. **Current pharmaceutical design**. 22(11). ID:1460-71. 2016.

FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. **Food Hydrocolloids**. v. 23, p.676-683, 2009.

FARAHPOUR, M.R.; HABIBI, M. Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of Ceylon cinnamon in mice. **Veterinárni medicina/Agricultural Journals**. 57:53-57. 2012.

FERRO, T.A.F.; ARAÚJO, J.M.; DOS SANTOS PINTO, B.L.; DOS SANTOS, J.S.; SOUZA, E.B.; DA SILVA, B.L.; COLARES, V.L.; NOVAIS, T.M.; FILHO, C.M.; STRUVE, C.; CALIXTO, J.B.; MONTEIRO-NETO, V.; DA SILVA, L.C.; FERNANDES, E.S. Cinnamaldehyde Inhibits *Staphylococcus aureus* Virulence Factors and Protects against Infection in a *Galleria mellonella* Model. **Frontiers in Microbiology**. V.7 |Article: 2052. 2016.

FERRO, T.A.F.; SOUZA, E.B.; SUAREZ, M.A.M.; RODRIGUES, J.F.S.; PEREIRA, D.M.S.; MENDES, S.J.F.; ... FERNANDES, ES. Aplicação tópica de cinamaldeído promove cicatrização mais rápida de feridas cutâneas infectadas com *Pseudomonas aeruginosa*. **Molecules**. 24 (8), 1627. 2019.

FIRMINO, D. F.; CAVALCANTE, T. T. A.; GOMES, G. A.; FIRMINO, N. C. S.; ROSA, L. D.; DE CARVALHO, M. G.; & CATUNDA JR, F. E. A. Antibacterial and Antibiofilm Activities of Cinnamomum Sp. Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **The Scientific World Journal**. 1-9. 2018.

FONSECA, C.; RAMOS, A.; SANTOS, D.; GASPAR, L.; FERREIRA, MARTA. Prática de enfermagem baseada na evidência: O caso das feridas. **Journal of age and innovation**. 2013.

GADKARI, R. R.; SUWALKA, S.; ALI, M. R.; ALI, W.; DAS, A. R. Alagirusamy.Green Synthesis of chitosan-cinnamaldehyde cross-linked nanoparticles: characterization and antibacterial activity. **Journal Pre-proof**. 2019.

GOMES, D. N. Desenvolvimento e caracterização de filmes de alginato incorporados com extratos de *anadenanthera colubrina* (vell.) brenan visando o desenvolvimento de substituto temporário de pele. **Dissertação de Mestrado**. Recife. 2016.

GONTIJO, J. F.; SILVA, M.R.A; BIERHALZ, A.C.K. Membranas de carboximetilcelulose e alginato para liberação de diclofenaco de sódio em lesões de pele. **Biomateriais**. 2017.

HEIDARI-SURESHJANI, M.; TABATABAEI-YAZDI, F.; ALIZADEH-BEHBAHANI, B.; MORTAZAVI, A. Antimicrobial Effect of Aqueous, Ethanol,

Methanol and Glycerin Extracts of *Satureja bachtiarica* on *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. **Zahedan Journal of Research in Medical Sciences**. 17(7): 1-5. 2015.

JIA, P.; XUE, Y.J.; DUAN, X.J. E SHAO, S.H. Efeito do cinamaldeído na formação de biofilme e expressão de sarA por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Letters in Applied Microbiology**. 53 (4), 409-416. 2011.

KARUMATHIL, D.P.; NAIR, M.S.; GAFFNEY, J.; KOLLANOOR-JOHN, A. & VENKITANARAYANAN, K. O trans-cinamaldeído e o Eugenol aumentam a sensibilidade do *Acinetobacter baumannii* aos antibióticos beta-lactâmicos. **Fronteiras em Microbiologia**. 9. 2018.

KONICA MINOLTA INC. **Precise color communication – Color control from perception to instrumentation**, Japan, 2007.

KOT, B.; SYTYKIEWICZ, H.; SPRAWKA, I.; & WITESKA, M. Efeito do trans-cinamaldeído na formação de biofilme resistente à meticilina *Staphylococcus aureus*: avaliação da atividade metabólica e análise da expressão de genes associados a biofilme. **International Journal of Molecular Sciences**, 21 (1), 102. 2019.

LINDHOLM, C.; SEARLE, R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. **International Wound Journal**. v. 13 Suppl 2, p. 5-15, Jul 2016.

LINHARES, K. P.; OLIVEIRA, M.J.A.; ALCÂNTARA, M.T.; MUNHOZ, M.M.L.; LUGÃO, A.B. Hidrogel polimérico com alginato e AgNP para tratar e absorver exudato de feridas. **Associação Brasileira de Enfermagem**. 2015.

LOPES, S.; BUENO, L.; AGUIAR J. F. e FINKLER, C. Preparação e caracterização de microcápsulas de alginato e gelatina contendo *Lactobacillus rhamnosus*. **Academia Brasileira de Ciências**. vol.89, n.3 , pp.1601-1613. 2017.

MA, J.; WANG, H.; HE, B.; CHEN, J. A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neonatal dermal fibroblasts. **Biomaterials**. v. 22, p. 331-336, 2001.

MIHARA, S.; SHIBAMOTO, T. The role of odor and fragrance chemicals in TRPA1 (transient receptor potential cation channel, member A1) activity associated with allergies. **Allergy, Asthma e Clinical Immunology**. 2015.

MONTAGU, A.; JOLY-GUILLOU, M.-L.; ROSSINES, E.; CAYON, J.; KEMPF, M.; SAULNIER, P. Condições de estresse induzidas por Carvacrol e Cinamaldeído em *Acinetobacter baumannii*. **Fronteiras em Microbiologia**. 7. 2016.

MUZZARELLI, R. A. A.; MORGANTI, P.; MORGANTI, G.; PALOMBO, P.; PALOMBO M.; BIAGINI, G.; BELMONTE, M. M.; GIANTOMASSI, F.; ORLANDI, F.; MUZZARELLI, C. Chitin nanofibrils/chitosan glycolate composites as wound medicaments. **Carbohydrate Polymers**. v. 70, p. 274–284, 2007.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, **New York: John Wiley and Sons**. 2002.

PERALTA-ZAMORA, P.; MORAIS, J. L.; NAGATA, N. Por que otimização multivariada. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.10, n.2, p.106-110, 2005.

PIRES, A. L. R.; DIAS, A. M. A.; SOUSA, H. C.; BRAGA, M. E.; MORAES, A. M. Análise Comparativa das Propriedades de Membranas de Quitosana e Alginato Densas e Porosas Preparadas na Presença ou Ausência do Polímero Sintético Silpuran® 2130 A/B. **XX congresso brasileiro de engenharia química**. Florianópolis SC. 2014.

REZENDE, R. A.; BÁRTOLO, P. J.; MENDES, A.; FILHO, R. M. Análise do Comportamento Mecânico do Alginato como Biomaterial para a Fabricação de Scaffolds na Engenharia de Tecidos. **IN XII CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMECÂNICA**. São Pedro. XII Congresso Brasileiro de Biomecânica. 2007.

RHIM, J.W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **LWT-Food science and technology**. v. 37, n. 3, p. 323-330, 2004.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T. and REHDER, V.L.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. vol. 35, no. 4, pp. 275-280. 2004.

SILVA, M. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes compostos de alginato e quitosana contendo natamicina como agente antimicótico. **Tese doutorado**. 2009.

TANODEKAEW, S.; PRASITSILP, M.; SWASDISON, S.; THAVORNYUTIKARN, B.; POTHSREE, T.; PATEEPASEN, R. Preparation of acrylic grafted chitin for wound dressing application. **Biomaterials**. v. 25, p. 1453–1460, 2004.

TÉTARD, A.; ZEDET, A.; GIRARD, C.; PLÉSIATA, P.; LLANES C. Cinnamaldehyde induces pumps expression and multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **American Society for Microbiology**. 2019.

TOPA, S.H.; SUBRAMONI, S.; PALOMBO, E.A.; KINGSHOTT, P.; RICE, S.A.; BLACKALL, L.L. O cinamaldeído interrompe a formação de biofilme e a motilidade de enxame de *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiologia**. 2018.

UYGUR, F.; ÖNCÜL, O.; EVINÇ, R.; DIKTAS, H.; ACAR, A. E ÜLKÜR, E. Efeitos de três curativos antibacterianos tópicos diferentes em queimaduras de espessura total contaminadas por *Acinetobacter baumannii* em ratos. **Burns**. 35 (2), 270-273. 2009.

VALCOURT, C.; SAULNIER, P.; UMERSKA, A.; ZANELLI, M.P.; MONTAGU, A.; ROSSINES, E.; JOLY-GUILLOU, M.L. Interações sinérgicas entre doxiciclina e componentes terpênicos de óleos essenciais encapsulados em nanocápsulas lipídicas contra bactérias gram-negativas. **International Journal of Pharmaceutics**. 498 (1-2), 23–31. 2016.

WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based biomaterials as dressings of chronic Stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**. v. 294-II, p. 1-13, 2010.

YUAN, X.; HAN, L.; FU, P.; ZENG, H.; LV, C.; CHANG, W.; RUNYON, R. S.; ISHII, M.; HAN, L.; LIU, K.; FAN, T.; ZHANG, W.; LIU, R. Cinnamaldehyde accelerates wound healing by promoting angiogenesis via up-regulation of PI3K and MAPK signaling pathways. **Laboratory Investigation**. 2017.

ZHANG, Y., MA, Q.; CRITZER, F.; DAVIDSON, PM.; ZHONG, Q. Propriedades físicas e antibacterianas de filmes de alginato contendo óleo de casca de canela e óleo de soja. **LWT - Food Science and Technology**. 2015.

ZHU, Y.; ZHANG, J.; SONG, J.; YANG, J.; XU, T.; PAN, C.; ZHANG, L. One-step synthesis of an antibacterial and pro-healing wound dressing that can treat wound infections. **Journal of Materials Chemistry B**. (2017).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Matriz do Planejamento fatorial 2^3 com pontos axiais para otimização de membranas hidrogel.

Ensaio	Códigos			Variáveis para (100mL)		
	A	B	C	A (%)	B (%)	C (%)
1	-1	-1	-1	1,10	0,80	0,60
2	1	-1	-1	2,50	0,80	0,60
3	-1	1	-1	1,10	2,80	0,60
4	1	1	-1	2,50	2,80	0,60
5	-1	-1	1	1,10	0,80	1,60
6	1	-1	1	2,50	0,80	1,60
7	-1	1	1	1,10	2,80	1,60
8	1	1	1	2,50	2,80	1,60
9	-1,68	0	0	0,50	1,80	1,10
10	1,68	0	0	3,00	1,80	1,10
11	0	-1,68	0	1,80	0,50	1,10
12	0	1,68	0	1,80	3,00	1,10
13	0	0	-1,68	1,80	1,80	0,20
14	0	0	1,68	1,80	1,80	2,00
15	0	0	0	1,80	1,80	1,10
16	0	0	0	1,80	1,80	1,10
17	0	0	0	1,80	1,80	1,10
18	0	0	0	1,80	1,80	1,10
19	0	0	0	1,80	1,80	1,10
20	0	0	0	1,80	1,80	1,10

* A- Alginato; B- cloreto de cálcio e C- cinamaldeído.

Tabela 2: Porcentagem de umidade das membranas com ausência e presença de cinamaldeído

Membranas	Umidade%
Com Cinamaldeído	51,62±0,08
Sem Cinamaldeído	46,34±2,15

Tabela 3: Parâmetros de cor das membranas hidrogéis preparadas com cinamaldeído e sem cinamaldeído.

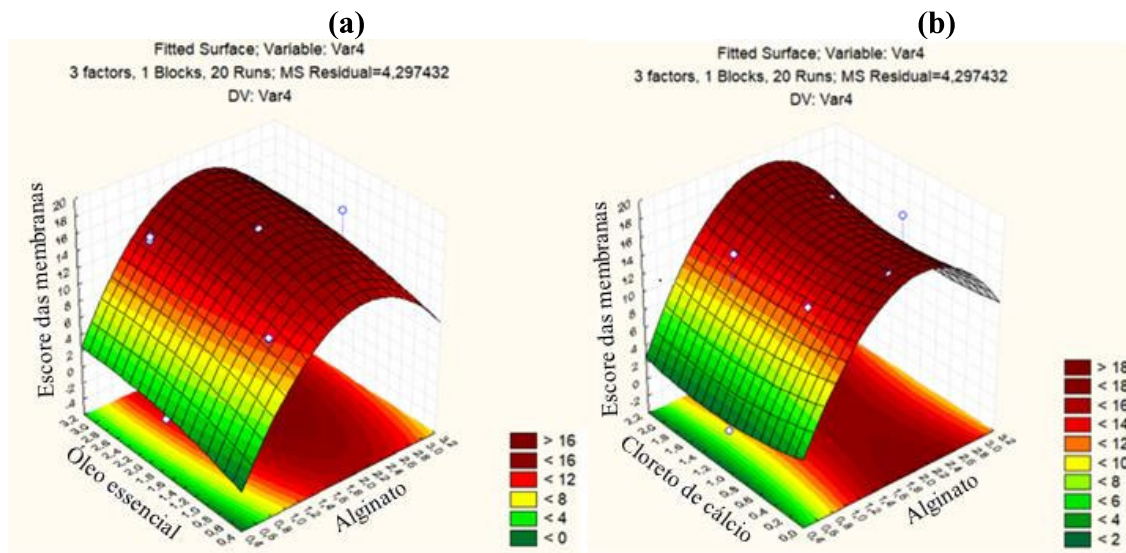
Formulação	Parâmetro					
	L	A	b	Hue	Croma	ΔE^*
Com Cinamaldeído	68,18±2,9 ^a	-3,14±0,23 ^a	8,84±1,21 ^a	109,71°±1,95 ^a	9,29±1,04 ^a	12,54±1,95
Sem Cinamaldeído	68,76±4,84 ^a	-1,96±0,54 ^b	20,3±2,34 ^b	95,60°±1,72 ^b	20,39±2,32 ^b	0

Mesma letra na mesma coluna indica que não há diferença significativa entre os valores médios (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

* ΔE : em relação à membrana hidrogel sem cinamaldeído.

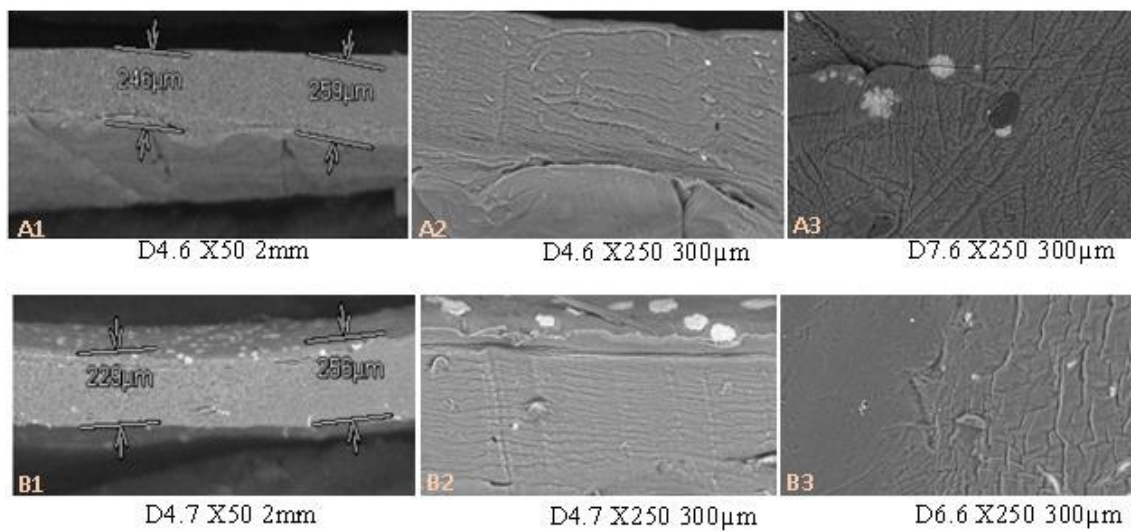
LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Superfície de resposta para a determinação das concentrações ótimas do alginato, cloreto de cálcio e óleo essencial em função do escore das membranas e planejamento fatorial.



* (a) em função do alginato, cloreto de cálcio e escore das membranas e (b) alginato, óleo essencial e escore das membranas respectivamente.

Figura 2: Microscopia eletrônica de varredura das membranas com e sem cinamaldeído.



* A1, A2, A3) membrana preparada na presença de cinamaldeído, B1, B2, B3) membrana preparada na ausência de cinamaldeído.

Figura 3: Atividade antimicrobiana de hidrogeis de alginato, alginato+ cinamaldeído e controle, perante as bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, durante os intervalos de 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas.

,0

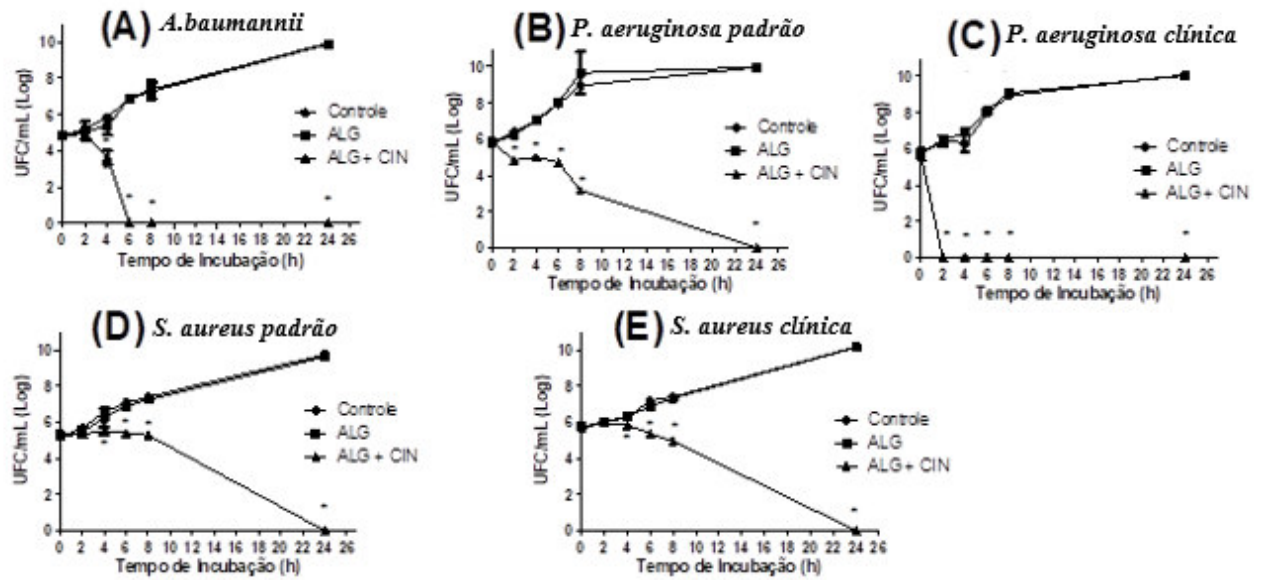
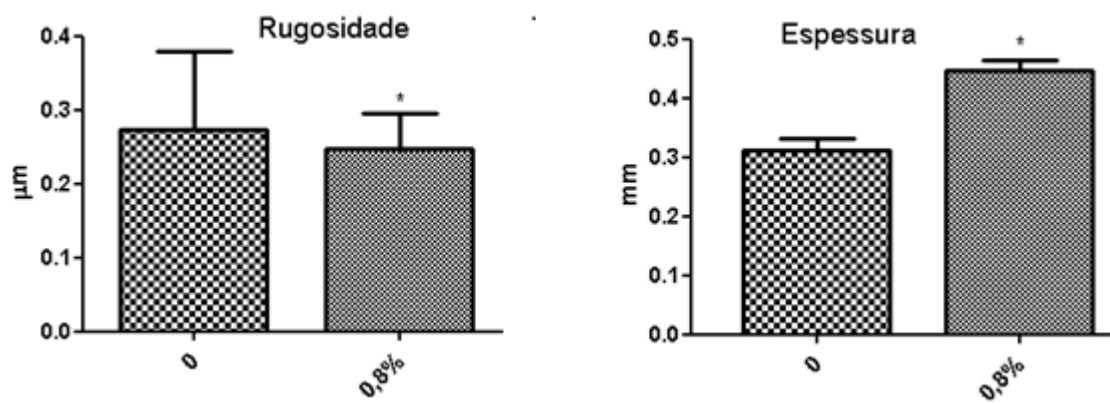


Figura 4: Rugosidade e espessura média dos hidrogeis com óleo e sem óleo



0= sem óleo; 0,8%= com óleo

Figura 5: Intumescimento das membranas por 72h a 37°C em PBS (A), RPMI (B), Água destilada (C) e solução salina (D) das membranas com presença e ausência de óleo.

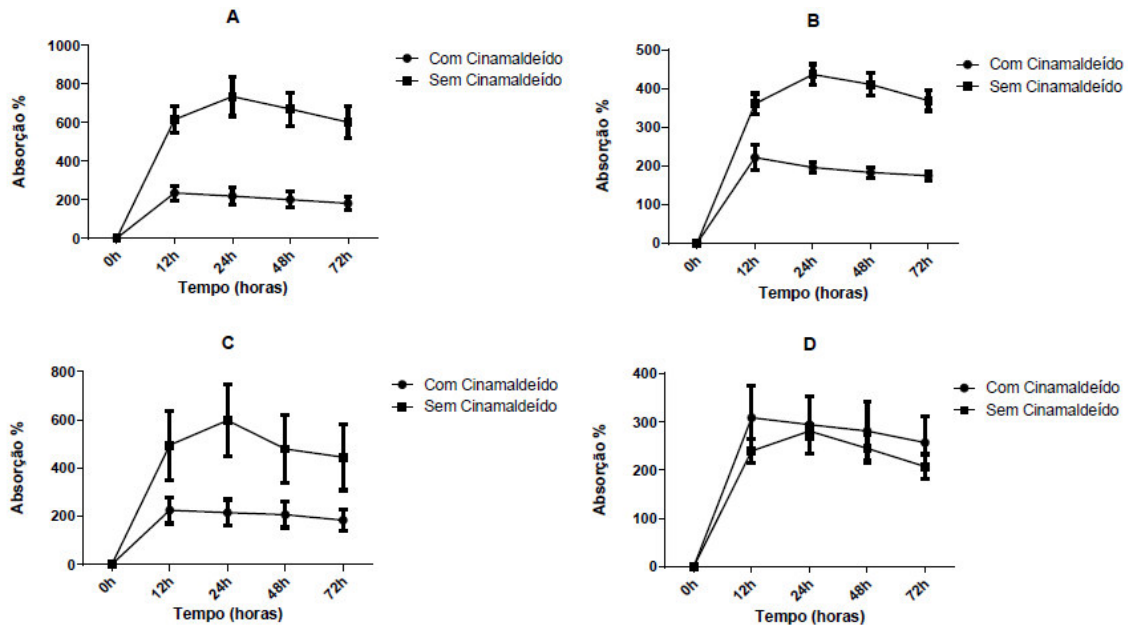
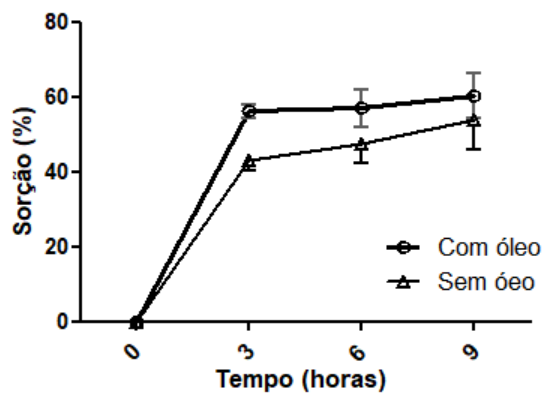


Figura 6: Sorção de vapor d'água em umidade relativa em 95% a 32°C, de membranas hidrogeis com e sem cinamaldeído.



Figuras Suplementares

Figura 1S: Aspecto macroscópico das membranas produzidas a partir do planejamento fatorial 2^3 com 6 repetições nos pontos centrais e 6 pontos axiais.

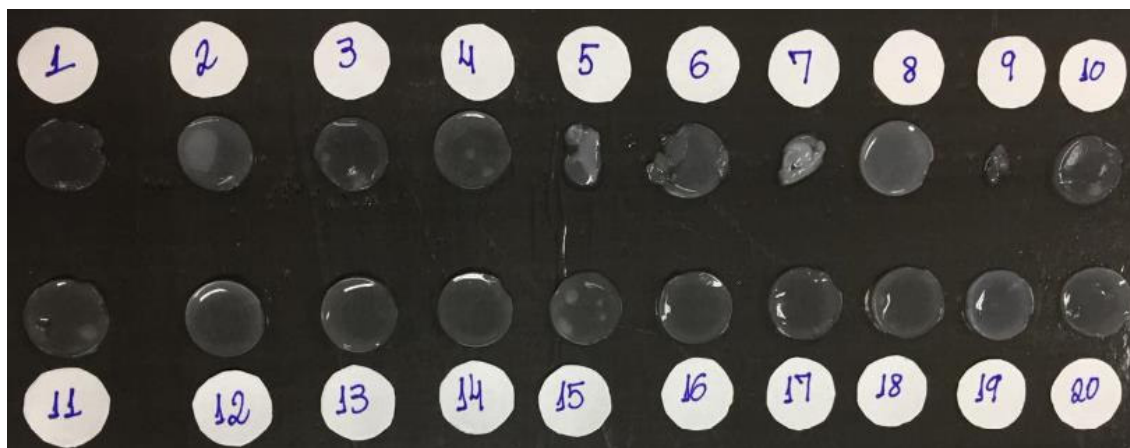
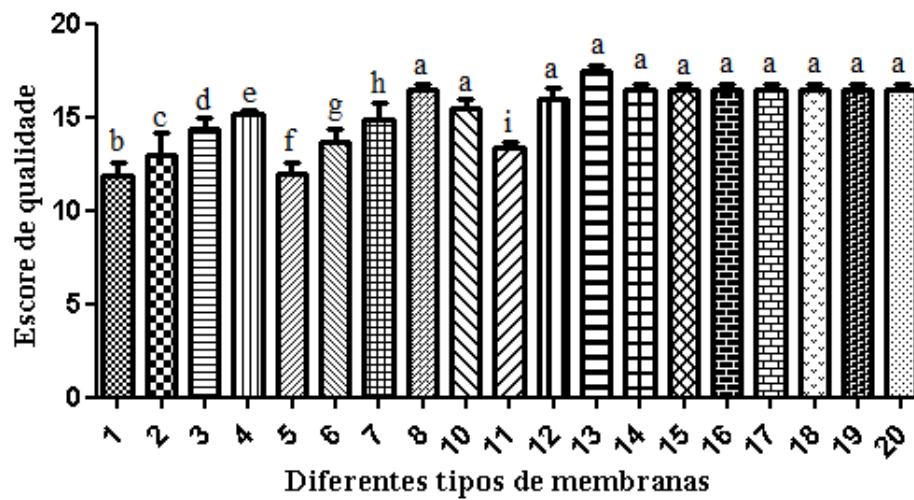
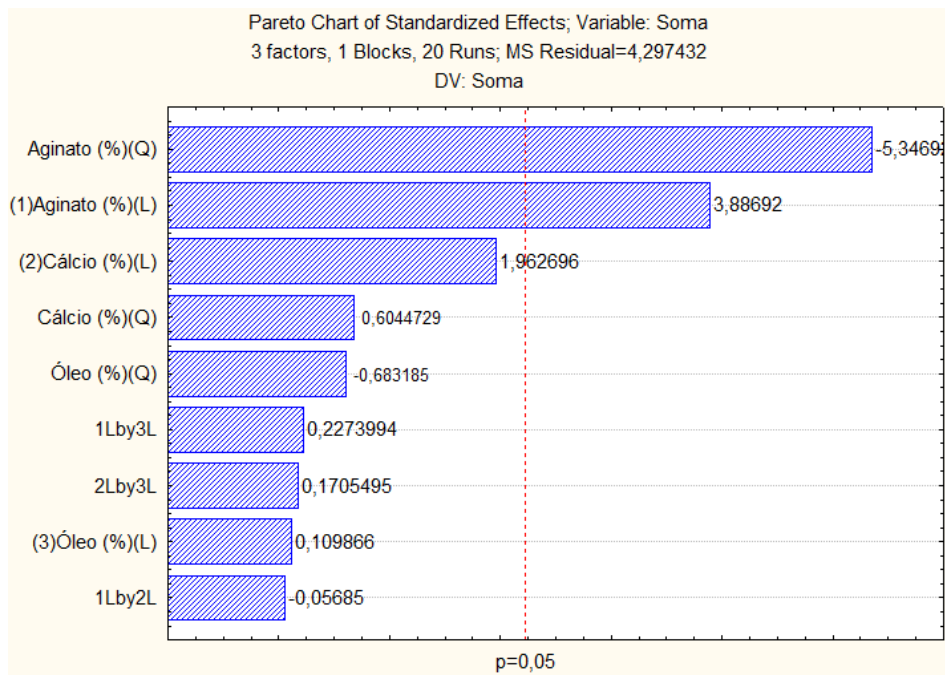


Figura 2S: Escore das membranas obtido pelo planejamento fatorial, levando-se em consideração: uniformidade, rachaduras, bolhas, desprendimento da placa, transparência e consistência.



* Em comparação com o ensaio 13, mesma letra entre as colunas indica que não há diferença significativa entre os valores médios (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Figura 3S: Diagrama de Pareto com linha de referência para a significância estatística



* Q: quadrático; L: linear.

Figura 4S: Aspecto visual das membranas hidrogéis incorporadas com cinamaldeído. A1 e A2) Membranas hidrogéis de alginato 2,1%, com incorporação de cinamaldeído a 0,8% e reticuladas com cloreto de cálcio a 1,8% .

