



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DE FILMES POLIMÉRICOS
CONTENDO UM DERIVADO N-ACILIDRAZÔNICO**

BIANCA KELLY LUNGUINHO DO NASCIMENTO

Campina Grande – PB
2024

BIANCA KELLY LUNGUINHO DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DE FILMES POLIMÉRICOS
CONTENDO UM DERIVADO N-ACILIDRAZÔNICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Estadual da Paraíba como requisito
para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

Coorientadora: Dra. Airlla Laana de Medeiros Cavalcanti

Campina Grande – PB

2024

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto em versão impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que, na reprodução, figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

N244a Nascimento, Bianca Kelly Lunguinho do.

Avaliação da atividade cicatrizante de filmes poliméricos contendo um derivado N-acilidrazônico [manuscrito] / Bianca Kelly Lunguinho do Nascimento. - 2024.

42 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dr. Bolivar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS".

"Coorientação: Prof. Dra. Airla Laana de Medeiros Cavalcanti, Farmácia".

1. Lesões cutâneas. 2. Quitosana. 3. JR19. 4. Sulfadiazina de Prata. I. Título

21. ed. CDD 610.73

BIANCA KELLY LUNGUINHO DO NASCIMENTO

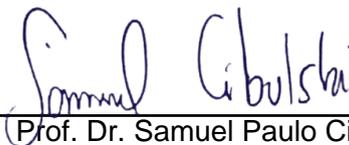
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DE FILMES POLIMÉRICOS
CONTENDO UM DERIVADO N-ACILIDRAZÔNICO**

Aprovada em: 22/11/2024.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba



Prof. Dr. Samuel Paulo Cibulski
Universidade Federal do Rio Grande do Norte



Prof. Dra. Maria Elaine Cristina Araruna
Universidade Estadual da Paraíba

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus por ter sido minha fortaleza durante toda a trajetória, pude sentir o seu cuidado em cada detalhe. Quando pensei em desistir, Ele me sustentou.

Aos meus pais Fabiano Duarte do Nascimento e Fabiana Cristina Lunguinho do Nascimento, por todo amor, cuidado e por toda a dedicação para que eu pudesse terminar a graduação.

Aos meus irmãos Bruno e Ana Beatriz e aos meus avós Manoel Lunguinho e Ivonete por todo apoio ao longo dessa jornada.

A minha tia Maria José Lunguinho, pelo acolhimento em seu apartamento desde quando eu cheguei para morar em Campina Grande. Muito obrigada!

Ao meu tio e padrinho Marcones Lunguinho (*in memoriam*), que vivenciou parte dessa conquista e sempre torceu por mim.

Ao meu orientador Bolívar Damasceno pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) e por todas as contribuições e auxílio durante a pesquisa que contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Obrigada!

A minha coorientadora Airla Laana, por toda a paciência, ensinamentos e conhecimentos compartilhados e pela confiança depositada em mim, minha eterna gratidão.

Ao laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos (LDSF), em especial ao professor Ricardo Olímpio de Moura, pela disponibilidade do JR19 utilizado em nosso estudo.

As minhas amigas de turma Catarina, Laura e Raline por todo o suporte e apoio durante a graduação. Vocês tornaram o processo mais leve.

Ao meu grupo de pesquisa, Bruna, Jordannia e Maria Júlia por todo apoio e por estarem comigo dividindo a rotina da pesquisa.

A todos os meus amigos e familiares, pelas palavras que me fortaleceram quando eu achei que não conseguiria, e que torceram e vivenciaram comigo essa trajetória. Gratidão!

E por fim a Universidade Estadual da Paraíba, por me proporcionar uma formação acadêmica de excelência. Aos professores, sou grata pela orientação, apoio e dedicação, que foram essenciais para o meu crescimento profissional e pessoal.

“É justo que muito custe o que muito vale”.

(Santa Teresa D'Ávila)

RESUMO

As feridas são lesões na pele que podem resultar em sérios riscos à saúde humana e representam um problema de saúde global. O desenvolvimento de novos curativos é fundamental, tendo em vista os desafios que os métodos convencionais por vezes não conseguem resolver. Dessa forma, o uso de filmes poliméricos de quitosana incorporados com o derivado N-acilidrazônico JR19 (FJR19), assim como a combinação com sulfadiazina de prata (FJRSP), surgem como alternativas inovadoras para o tratamento dessas lesões, devido às propriedades anti-inflamatórias do JR19 que podem promover uma cicatrização mais eficaz. Esse estudo teve como o objetivo investigar a atividade antimicrobiana *in vitro* e o potencial cicatrizante *in vivo* dos FJR19 e FJRSP. A atividade antimicrobiana contra linhagens de *Staphylococcus aureus* foi avaliada por meio do método de difusão em disco. A capacidade cicatrizante *in vivo* foi avaliada em modelos de feridas excisionais em ratos Wistar. A análise da atividade antimicrobiana demonstrou que apenas o FJRSP apresentou atividade inibitória, com formação de halo de inibição. Na avaliação da cicatrização de feridas, o tratamento com FJR19 e com FJRSP foi capaz de induzir uma aceleração significativa no processo de cicatrização já nos primeiros dias (2^o ao 7^o dia) em relação ao grupo não tratado (salina). Entretanto, não houve uma interação sinérgica relevante entre os dois componentes, sugerindo que a aceleração da cicatrização está ligada às propriedades anti-inflamatórias do FJR19. Esses resultados indicam que o FJR19 possui potencial terapêutico, acelerando o processo de cicatrização de feridas, evidenciando sua eficácia no tratamento de lesões cutâneas.

Palavras-chave: Lesões cutâneas; Quitosana; JR19; Sulfadiazina de prata.

ABSTRACT

Wounds are skin lesions that can result in serious risks to human health and represent a global health problem. The development of new dressings is essential, given the challenges that conventional methods sometimes fail to solve. Thus, the use of chitosan polymeric films incorporated with the N-acylhydrazone derivative JR19 (FJR19), as well as the combination with silver sulfadiazine (FJRSP), emerge as innovative alternatives for the treatment of these lesions, due to the anti-inflammatory properties of JR19 that can promote more effective healing. This study aimed to investigate the *in vitro* antimicrobial activity and *in vivo* healing potential of FJR19 and FJRSP. The antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* strains was evaluated using the disk diffusion method. The *in vivo* healing capacity was evaluated in excisional wound models in Wistar rats. The analysis of antimicrobial activity demonstrated that only FJRSP presented inhibitory activity, with formation of an inhibition halo. In the evaluation of wound healing, treatment with FJR19 and FJRSP was able to induce a significant acceleration in the healing process in the first days (2nd to 7th day) in relation to the untreated group (saline). However, there was no relevant synergistic interaction between the two components, suggesting that the acceleration of healing is linked to the anti-inflammatory properties of FJR19. These results indicate that FJR19 has therapeutic potential, accelerating the wound healing process, evidencing its efficacy in the treatment of skin lesions.

Keywords: Skin lesions; Chitosan; JR19; Silver sulfadiazine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura da pele e suas principais camadas.	14
Figura 2 - Fases do processo de cicatrização: hemostasia, inflamação proliferação remodelação, e as células envolvidas.	18
Figura 3 - Estrutura molecular da quitosana.	20
Figura 4 - Estrutura molecular do álcool polivinílico (PVA).	20
Figura 5 - Estrutura molecular do JR19.	21
Figura 6 - Estrutura molecular da Sulfadiazina de Prata.	22
Figura 7 - Produção dos filmes poliméricos: FQ, FJR19 e FJRSP.	23
Figura 8 - Avaliação da atividade antimicrobiana através da técnica de difusão em disco.	24
Figura 9 - Imagem representativa da ferida cutânea excisional após indução.	25
Figura 10 - Atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos contra o <i>S.aureus</i> . FQ: Filme de quitosana; FJR19: Filme incorporado com JR19; FJRSP: Filme incorporado com JR19 e sulfadiazina de prata.	27
Figura 11 - Fotografias do tamanho da ferida no processo de cicatrização e espessura total após os tratamentos com FQ: Filme de quitosana; FJR19: Filme incorporado com JR19; FJRSP: Filme incorporado com JR19 e sulfadiazina de prata; Pomada dipropionato de betametasona com gentamicina e solução salina, em intervalos de 7, 14 e 21 dias.	29
Figura 12 - Avaliação do efeito cicatrizante de FQ, FJR19, FJRSP, solução salina (controle negativo) e pomada de dipropionato de betametasona com gentamicina (controle positivo) em feridas excisionais de ratos Wistar (n=7). Os dados são expressos como média ± erro padrão da média. As diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA one-way, seguida do teste de Tukey. a p < 0,05 em relação ao grupo salina; b p < 0,05 em relação ao grupo pomada; c p < 0,05 em relação ao grupo; d p < 0,05 em relação ao grupo FJR19.	30

LISTA DE SIGLAS

µm	Micrômetro
AMH	Müeller Hinton
BHI	Brain Heart Infusion
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
cm	Centímetros
e.p.m	Erro padrão da média
EGF	Fator de crescimento epidérmico
FBs	Fibroblastos
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FJR19	Filme incorporado com JR19
FJRSP	Filme polimérico contendo a incorporação de JR19 e sulfadiazina de prata
FQ	Filme de quitosana
FDA	Food and Drug Administration
g	Grama
IFAs	Insumos farmacêuticos ativos
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-17	Interleucina 17
Kg	Quilograma
LAC	Laboratório de Análises Clínicas
LDCPF	Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos
LDSF	Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos
m/v	Massa/volume
MEC	Matriz extracelular
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PIBIC	Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
PVA	Álcool polivinílico
QTS	Quitosana

TGF	Fator de crescimento transformador
TNF	Fator de necrose tumoral
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mililitro
v/v	Volume/volume

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivos gerais	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Pele	14
3.1.1 Epiderme	14
3.1.2 Derme	15
3.1.3 Hipoderme	16
3.2 Processo de cicatrização de feridas na pele	16
3.3 Filmes poliméricos	18
3.4 Quitosana.....	19
3.5 PVA.....	20
3.6 Derivado N-acilidrazônico JR19	20
3.7 Sulfadiazina de Prata.....	21
4. METODOLOGIA	23
4.1 Produção dos filmes	23
4.2 Atividade antimicrobiana.....	24
4.3 Avaliação de atividade cicatrizante <i>in vivo</i>	25
4.4 Análise do fechamento das lesões.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 Atividade antimicrobiana.....	27
5.2 Testes <i>in vivo</i> – modelo de ferida cutânea excisional	28
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
ANEXO 1 – Aprovação da CEUA	41

1. INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano, responsável pela excreção e regulação térmica, início da síntese de vitamina D, hidratação e proteção contra inúmeros patógenos (Guerra *et al.*, 2018). Interrupções provocadas na pele por qualquer trauma, de natureza física, química, mecânica ou como resultado de afecções clínicas, podendo atingir a epiderme e estruturas mais profundas, deixam o paciente susceptível a infecções por microrganismos, e distúrbios sanguíneos (Barros *et al.*, 2022). Entre essas interrupções da pele, destacam-se as feridas.

As feridas são danificações provocadas por inúmeros fatores como cirurgias, lesões, fatores extrínsecos (pressão, queimaduras e cortes) ou condições patológicas como diabetes ou doenças vasculares. São consideradas agudas quando resultam na restauração sustentada da integridade anatômica e funcional da pele. Em contrapartida, se tornam crônicas quando não conseguem alcançar a integridade anatômica e funcional ótima, necessitando assim, de métodos que acelerem o processo de cicatrização de forma eficaz (Tottoli *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2016).

Essas lesões têm grande impacto sobre a saúde do paciente, resultando em dor, sofrimento, internação hospitalar prolongada, morbidade crônica e até mesmo mortalidade. Além disso, o processo de cicatrização é dificultado em pacientes que possuem fatores subjacentes, como idade avançada e presença de comorbidades, afetando diretamente sua qualidade de vida e trazendo mais riscos à saúde (Lindholm; Searle, 2016).

No tratamento de lesões, como feridas, há uma crescente busca por novos sistemas de liberação de insumos farmacêuticos ativos (IFAs). Entre as opções promissoras, destacam-se os filmes poliméricos à base de quitosana. Esse polímero oferece diversas vantagens, como baixa toxicidade, habilidade de adsorção, biocompatibilidade, biodegradabilidade, capacidade de promover trocas gasosas, absorção de exsudato, além de possuir propriedades antimicrobianas (Azevedo *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2023; Pacheco *et al.*, 2023).

Dessa forma, a quitosana oferece uma base ideal para a formulação de curativos eficazes, permitindo a incorporação de diversos compostos bioativos, dentre eles os derivados N-acilidrazônicos, que apresentam propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana e analgésica comprovadas (Barreiro, 2002, Reis *et al.*, 2011; Natasã *et al.*, 2015). Estudos realizados por Apolinário (2016) demonstraram que o derivado N-

acilidrazônico JR19, também conhecido como N'-(1H-indol-3yl)metileno-2-cianoacetohidrazida apresentou atividades antioxidante e anti-inflamatória, apresentando potencial para o tratamento de lesões cutâneas.

Um dos tratamentos convencionais para feridas crônicas é a sulfadiazina de prata, amplamente utilizada pela sua eficácia na prevenção de infecções bacterianas. Sua ação ocorre através da liberação gradual de íons de prata, que possuem propriedades bactericidas. No entanto, o uso da sulfadiazina de prata apresenta algumas limitações. Em pacientes com grandes áreas afetadas, há risco de toxicidade, além de potenciais efeitos adversos, como a argiria. O uso prolongado também pode retardar a cicatrização, causar reações alérgicas e favorecer o surgimento de linhagens bacterianas resistentes (Fong; Wood, 2006).

O uso combinado de sulfadiazina de prata com o JR19, incorporados em um filme polimérico à base de quitosana, pode oferecer significativas vantagens para o tratamento de feridas cutâneas, maximizando a eficácia terapêutica. Essa combinação pode acelerar o processo de cicatrização ao reduzir a inflamação e tratar infecções de maneira mais eficiente. Além disso, o JR19 pode minimizar os efeitos adversos associados ao uso prolongado da sulfadiazina de prata, como o atraso na cicatrização. Dessa forma, essa combinação pode levar a uma abordagem terapêutica mais e eficaz no tratamento de lesões cutâneas.

Diante do exposto, esse trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* e a atividade cicatrizante *in vivo* de filmes poliméricos incorporados com um derivado N-acilidrazônico, JR19 isolado, e juntamente com a sulfadiazina de prata, para o tratamento de lesões na pele.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar a atividade cicatrizante de filmes poliméricos de quitosana contendo o derivado N-acilidrazônico JR19.

2.2 Objetivos Específicos

a) Investigar, *in vitro*, a ação antimicrobiana dos filmes poliméricos de quitosana contendo o derivado N-acilidrazônico JR19 (FJR19 e FJRSP) contra cepas de *Staphylococcus aureus*.

b) Avaliar o potencial cicatrizante dos filmes poliméricos de quitosana com o derivado N-acilidrazônico JR19 (FJR19) em um modelo animal de lesões cutâneas utilizando ratos Wistar.

c) Avaliar o potencial cicatrizante dos filmes poliméricos de quitosana com o derivado N-acilidrazônico JR19 juntamente com a sulfadiazina de prata (FJRSP) em um modelo animal de lesões cutâneas utilizando ratos Wistar.

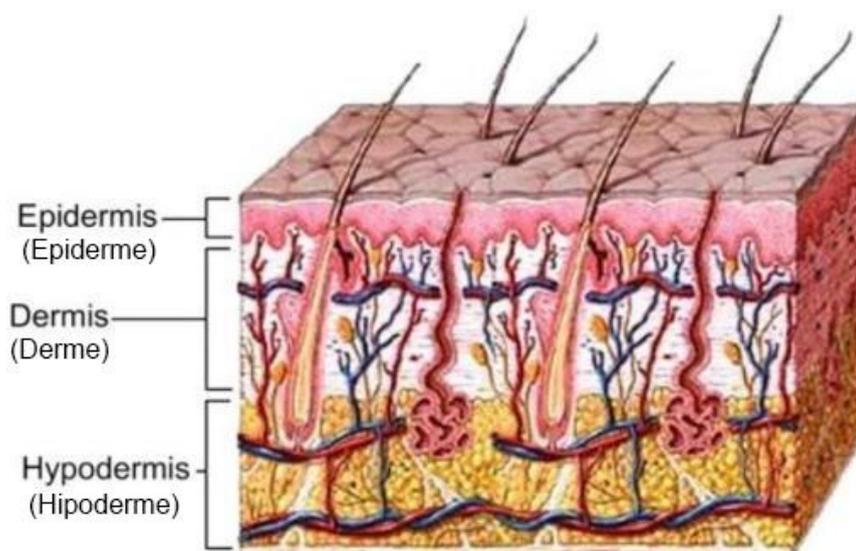
3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Pele

A pele é um órgão que cobre a superfície corporal e atua como primeira linha de defesa contra infecções por vírus, bactérias e fungos, funcionando como uma interface entre os tecidos e o ambiente externo. Além disso, oferece proteção contra agentes físicos, químicos, calor, infecções, água e radiação (Zeeuwen *et al.*, 2013).

A pele estruturalmente é composta por três camadas principais (Figura 1): a epiderme, sendo a camada mais externa, que atua na proteção e funciona como uma barreira, a derme, a camada intermediária, que fornece força e elasticidade à pele e a hipoderme, que fica abaixo da epiderme e da derme, juntamente com o tecido adiposo (Pullar *et al.*, 2017; Kolimi *et al.*, 2022).

Figura 1 – Estrutura da pele e suas principais camadas.



Fonte: Adaptado de Khavkin, J., Ellis. (2011)

3.1.1 Epiderme

A epiderme é a camada mais externa da pele, considerada um epitélio de renovação contínua, que está subdividido em camadas ou estratos. A camada mais profunda é a camada basal, localizada acima da derme, composta por células que estão envolvidas no processo de renovação, embora apenas cerca de 15% participam de forma ativa desse processo. As células restante são ativadas quando é necessária uma maior proliferação, como é o caso da cicatrização de feridas. A camada basal é

seguida pelas camadas espinhosa, granulosa e, por fim, a camada superior, o estrato córneo. A epiderme abrange os folículos pilosos, as glândulas sebáceas e sudoríparas, além de fornecer integridade estrutural, imunidade e nutrição ao sistema tegumentar (Baroni *et al.*, 2012; Mamum *et al.*, 2024).

A camada mais externa da epiderme, é o estrato córneo, que funciona como uma barreira física que protege as células de estresses químicos e mecânicos, como também da penetração de microrganismos (Roy *et al.*, 2023). Além disso, é formada por compostos lipídicos como as ceramidas e o colesterol, que ajudam a prevenir a perda de fluidos. Esses lipídios, portanto, desempenham um papel crucial na função protetora da pele (Arda *et al.*, 2014).

Além disso, epiderme é composta de queratinócitos e outras células, como melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, fornecendo integridade e nutrição à pele. Os queratinócitos são as células predominantes da epiderme, responsáveis pela síntese de várias proteínas estruturais e lipídios durante sua maturação (Zhang *et al.*, 2023). As queratinas são as principais proteínas envolvidas nesse processo. Outras proteínas estruturais, como involucrina, loricrina e queratolinina, estão contidas na célula da camada espinhosa superior. Já os melanócitos, atuam na produção de melanina, o pigmento responsável pela cor. E por fim, as células de Langerhans, que estão envolvidas na apresentação de antígenos durante o processo imunológico, enquanto as células de Merkel são responsáveis pelas respostas táteis (Baroni *et al.*, 2012).

3.1.2 Derme

A derme é a camada que está abaixo da epiderme, separada pela membrana basal. Em sua composição há a presença de duas camadas com estruturas diferentes, a camada papilar, que reside abaixo da epiderme e está organizada em papilas dérmicas, compostas por terminações nervosas, necessárias para inervação e nutrição e a camada reticular, sendo a mais profunda, onde a matriz extracelular tem uma estrutura mais definida: feixes de colágeno são organizados em fibras densas, juntamente com filamentos de elastina (Woodley, 2017). Essas camadas diferem devido a densidade das células e, com o envelhecimento, a derme papilar reduz em volume, torna-se mais fina e é gradualmente aumentada pela derme reticular. A derme é composta por fibroblastos (FBs), que são as células mais abundante, atuando na

síntese e remodelação da matriz extracelular (MEC). Além disso, desempenham um papel fundamental na cicatrização de feridas, participam de redes inflamatórias e modulam as funções das células imunes (Rippa; Kalabusheva; Vorotelyak, 2019).

3.1.3 Hipoderme

A hipoderme, também conhecida como camada subcutânea, representa a parte mais profunda da pele, situada abaixo da derme e acima do músculo subjacente. Ela desempenha um papel importante na termorregulação, no isolamento e na proteção contra lesões mecânicas, amortecendo impactos, além de atuar como um reservatório de energia. As principais células da hipoderme são os adipócitos, organizados em lóbulos primários e secundários, separados por septos de tecido conjuntivo, contribuindo também para a estrutura e o suporte da pele (Kanitakis, 2002; Khavkin; Ellis, 2011).

3.2 Processo de cicatrização de feridas na pele

As feridas são danificações que afetam a integridade da pele, resultantes de um trauma acidental ou cirúrgico e de diferentes condições médicas, atingindo a capacidade da pele fornecer proteção e aumentando a suscetibilidade a infecções. Essas lesões podem ser agudas, quando passam por estágios de cicatrização e os sinais de cicatrização são definidos em um curto período de tempo (Trinh *et al.*, 2022). No entanto, se tornam crônicas quando não progridem pelas fases normais de cicatrização e permanecem em um estado inflamatório persistente (Sirotkin *et al.*, 2024; Zhao. *et al.*, 2016).

Conforme destacado por Ribeiro *et al.* (2024), a cicatrização de feridas compreende quatro fases contínuas que colaboram para a restauração e recuperação do tecido lesionado, sendo elas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (Figura 2).

A hemostasia é o primeiro estágio da cicatrização, que interrompe o sangramento após danos vasculares. É caracterizado pela presença de componentes sanguíneos que entram em contato com o revestimento interno dos vasos, levando à formação de um tampão plaquetário inicial através das plaquetas, células que interagem com o fibrinogênio e são essenciais para a formação do coágulo sanguíneo, caracterizando a hemostasia primária. A ativação das plaquetas também resulta na

liberação de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Nas lesões cutâneas, para impedir a hemorragia, as artérias sanguíneas sofrem constrição (Ellis; Lin; Tartar, 2018). Além da hemostasia primária, ocorre a hemostasia secundária, processo no qual a cascata de coagulação é formada, através da conversão do fibrinogênio solúvel em fios insolúveis, que formam uma rede de fibrina. Dessa forma, a formação de um trombo ocorre para interromper a hemorragia e facilitar a liberação de fatores de crescimento para promover a cicatrização das lesões que acometem à pele (Mamun *et al.*, 2024).

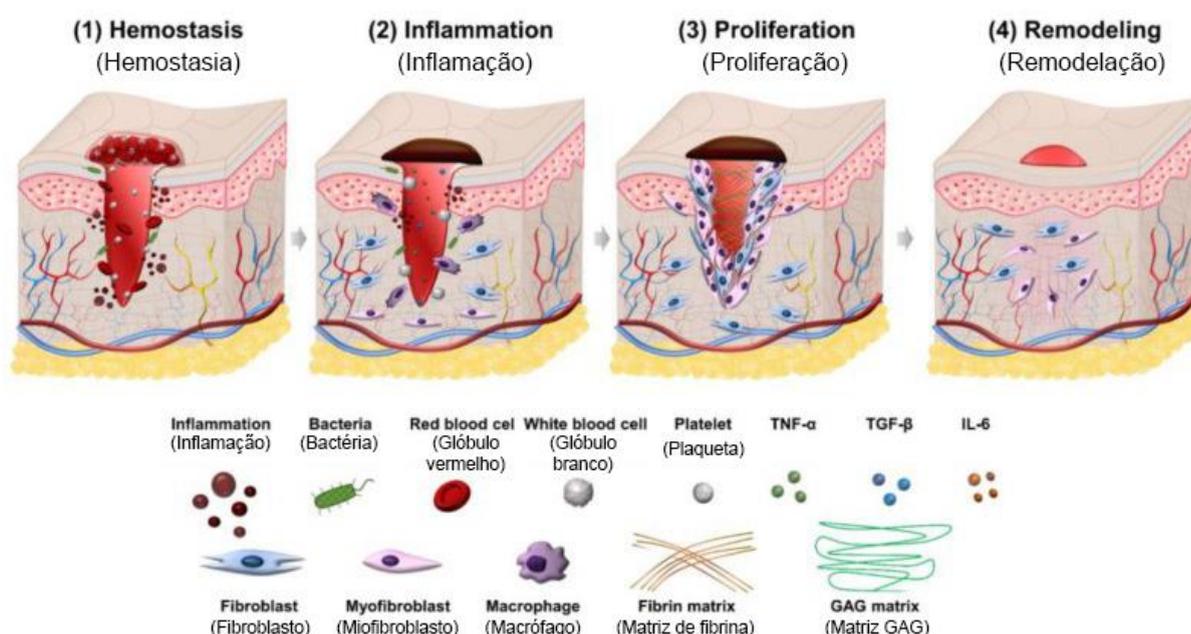
A fase inflamatória inicia após a hemostasia e prepara a ferida para a regeneração, buscando evitar infecções e promover a remoção de tecidos mortos. Nessa fase, ocorre a ativação do sistema imunológico, através de células como neutrófilos, que chegam ao local primeiro e desempenham papel antimicrobiano, além dos monócitos e linfócitos, que também migram para o local da lesão em resposta aos sinais de danos que possam causar infecção. Durante a inflamação, os glóbulos brancos também migram através do sangue para atingir a ferida e atuar na digestão de contaminantes microbianos. Ainda em resposta a inflamação, há a liberação de fatores de crescimento e citocinas, como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento transformador (TGF); interleucina (IL)-1, IL-6 e IL-17 e fator de necrose tumoral (TNF), que auxiliam no recrutamento celular (Kolimi *et al.*, 2022; Tottoli *et al.*, 2020).

A fase proliferativa da cicatrização de feridas ocorre após o estágio inflamatório. Essa fase inclui a criação de neovascularização, reepitelização, tecido de granulação, e modulação do sistema imunológico. A neovascularização é essencial para o transporte de nutrientes, preservação do equilíbrio de oxigênio e regeneração do tecido. Durante a cicatrização do tecido, o processo que leva à formação de vasos sanguíneos é denominado angiogênese, que contribui para a proliferação celular, migração e produção de colágeno. Além disso envolve a ativação de células endoteliais locais em resposta à diminuição da concentração de oxigênio nos tecidos e fatores de crescimento, como o fator derivado de plaquetas. As células endoteliais movem-se através da membrana basal e começam a proliferar. A maturação dessas células resulta na formação dos capilares recém-nascidos, que junto aos fibroblastos em proliferação formam o tecido de granulação, essencial para o reparo tecidual. Posteriormente fibroblastos e miofibroblastos migram para o local da ferida, a fim de

manter a integridade dos tecidos e aproximar as bordas da pele danificada (Mamum *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2024).

A fase de remodelação é considerada a fase final da cicatrização das lesões cutâneas, que consiste na reconstituição do tecido de granulação, no entanto, esse processo ainda pode continuar a sofrer remodelação ou maturação por meses ou anos. À medida que a ferida completa a cicatrização, células como miofibroblastos sofrem apoptose. Conseqüentemente, o tecido de granulação que é rico em colágeno III, presente na matriz extracelular, é lentamente substituído por colágeno do tipo I mais forte à medida que a remodelação avança, garantindo a manutenção e integridade da pele, através da síntese simultânea do colágeno I e lise do colágeno III (Rodrigues; Kosaric; Bonham e Gurtner, 2019).

Figura 2 - Fases do processo de cicatrização: hemostasia, inflamação, proliferação, remodelação, e as células envolvidas.



Fonte: Adaptado de Trinh *et al.* (2022).

3.3 Filmes poliméricos

A cicatrização das lesões cutâneas é um processo demorado, que necessita curativos para criar uma barreira entre a pele e o ambiente externo, a fim de evitar infecções bacterianas. Esses curativos devem ser eficazes para a reparação da área

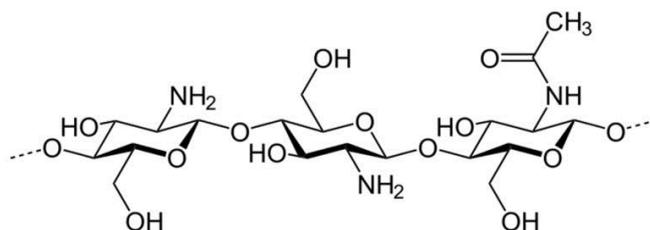
lesionada, sendo essencial ter características como: capacidade de manter um ambiente úmido, permitir o movimento da epiderme, promover a regeneração do tecido, garantir calor suficiente para estimular a circulação sanguínea, proteger contra infecções, ser facilmente removível, estéril, não tóxico, além de absorver o exsudato da ferida (Raju *et al.*, 2022).

Nessa perspectiva, os filmes poliméricos surgem como compostos promissores para o tratamento de feridas, uma vez que permitem a incorporação de fármacos, permitindo uma liberação mais controlada (Khubiev *et al.*, 2023). Além de possuírem características como baixa toxicidade, permeabilidade à água e ao oxigênio, flexibilidade, biodegradabilidade e não se rompem ou rasgam facilmente (Araújo *et al.*, 2023).

3.4 Quitosana

A quitosana é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza. Estruturalmente, a quitosana (Figura 3) é formada por 2-amino-desoxi- β -D- glucano, unidas por ligações glicosídicas covalentes do tipo β -1,4 (Tao *et al.*, 2020). A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, presente em carapaças de crustáceos, exoesqueletos de insetos e em alguns fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Mucor* e *Penicillium* (Alven e Aderibigbe, 2020; Ali *et al.*, 2023). Além disso, é um polímero amplamente utilizado na área farmacêutica devido às suas características como atoxicidade, bioadesividade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, efeitos hemostáticos, propriedades antimicrobianas e características cicatrizantes, podendo ser utilizada também para a preparação de hidrogéis, filmes, fibras ou esponja. (Abourehab *et al.*, 2022). Esses métodos oferecem vantagens como a biocompatibilidade e controle sobre a dosagem, tornando-os promissores para aplicações terapêuticas em áreas como tratamento de inflamações e doenças crônicas (Rinaudo, 2006).

Figura 3 - Estrutura molecular da quitosana.

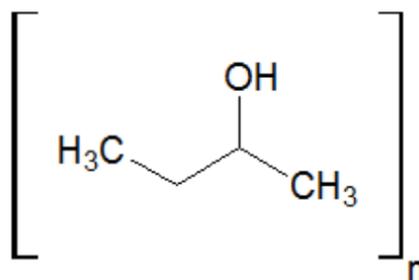


Fonte: Mikušová e Mikuš (2021).

3.5 PVA

O álcool polivinílico (PVA - Figura 4) é um polímero sintético e biocompatível, produzido por hidrólise, alcoólise ou aminólise do acetato de vinila. É amplamente utilizado na administração de medicamentos, além de possuir propriedades hidrofílicas, sendo eficaz na absorção de fluidos, o que é vital para a cicatrização. O PVA é reconhecido por suas excelentes características, como durabilidade e flexibilidade, tornando-o adequado para várias aplicações biomédicas, especialmente em curativos, que podem ser benéficos para o tratamento de feridas crônicas. Quando combinado com outros polímeros como a quitosana, o PVA oferece melhor suporte ao reparo do tecido (Palani *et al.*, 2024; Nathan *et al.*, 2023; Kumar A; Behl T; Chadha S; 2020).

Figura 4 - Estrutura molecular do álcool polivinílico (PVA).



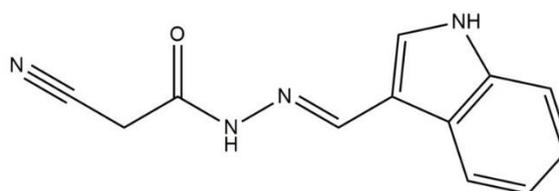
Fonte: Tavares (2013).

3.6 Derivado N-acilidrazônico JR19

Os derivados N-acilidrazônicos são compostos que apresentam em sua estrutura a função N-acil-hidrazona, relatada na literatura como um grupo farmacóforo

de moléculas que possuem atividades farmacológicas, incluindo efeitos anti-inflamatórios. Dentre eles, destaca-se o JR19, também conhecido como N-(1H-indol-3il)metileno-2-cianoacetohidrazida (Figura 5), investigado por suas atividades antioxidante e anti-inflamatória. O JR19 pode interagir com outras moléculas por meio dos átomos mais eletronegativos presentes em sua estrutura, como oxigênio e nitrogênio, além dos grupos hidrofóbicos do anel indol, que favorecem interações hidrofóbicas. Além disso, esse derivado N-acilidrazônico, mostra-se promissor para ser incorporado em filmes poliméricos, principalmente em aplicações farmacológicas direcionadas à pele (Wanderley, 2020; Assis *et al.*, 2021).

Figura 5 - Estrutura molecular do JR19.



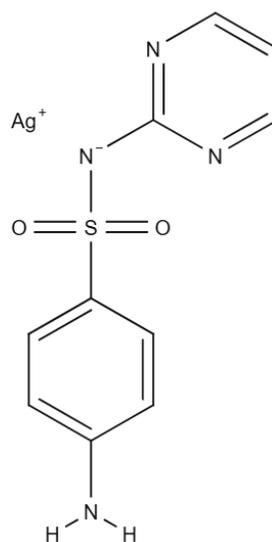
Fonte: Silva *et al.* (2022).

3.7 Sulfadiazina de Prata

A utilização de moléculas de prata com finalidade antimicrobiana é relatada desde a civilização grega e americana durante o século XVII. Além disso, ainda nesse período, foram introduzidas nos tratamentos de feridas, como também para remover verrugas e desbridar úlceras. A prata é biologicamente ativa em sua forma solúvel, como aglomerados Ag^+ ou Ag^0 . A Ag^+ é a forma iônica encontrada em nitrato de prata, sulfadiazina de prata ou outros compostos iônicos de prata (Fong; Wood; 2006). A sulfadiazina de prata (Figura 6) é um medicamento que foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA), como agente tópico para controlar infecções bacterianas, através da inibição da transcrição do DNA bacteriano (Venkataraman; Nagarsenker, 2013). Seu mecanismo de ação ocorre através da fração sulfa, que impede a absorção bacteriana de folato e a síntese de DNA, enquanto os íons de prata liberados podem se ligar e interromper a estrutura e a replicação do DNA bacteriano, evitando também a formação de biofilmes. A atividade antibacteriana da sulfadiazina de prata para o tratamento de feridas é limitada pela baixa solubilidade das partículas e sua

citotoxicidade, o que torna necessário aplicações frequentes do creme comercializado para atingir a concentração terapêutica (Liu *et al.*, 2023).

Figura 6 - Estrutura molecular da Sulfadiazina de Prata.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

4. METODOLOGIA

4.1 Produção dos filmes

Os filmes poliméricos foram obtidos de acordo com a produção de Wanderley *et al.* (2020), que utilizou método de evaporação de solvente, conforme descrito por Lima *et al.* (2010) e Fajardo *et al.* (2013) (Figura 7). Inicialmente, foram obtidas soluções poliméricas de quitosana (QTS) e álcool polivinílico (PVA). A dissolução da QTS ocorreu em solução de ácido acético 1% (v/v), enquanto o PVA foi dissolvido em água aquecida. Ambas as soluções foram preparadas com uma concentração final de 1% (m/v).

As soluções poliméricas obtidas foram misturadas na proporção 1:1, com a adição das concentrações específicas dos fármacos. Esse sistema foi homogeneizado em agitador magnético por 24 horas para garantir a completa mistura dos componentes. Após a homogeneização, as soluções foram cuidadosamente vertidas em placas de Petri de 5x5 cm, com um volume final de 10 mL. As placas foram então transferidas para uma estufa de circulação de ar a 50 °C, onde permaneceram por 24 horas para a formação dos filmes poliméricos.

A partir dessas soluções, produziu-se três tipos de filmes poliméricos: FQ (Filme de quitosana + PVA 1:1), FJR19 (Filme de quitosana + PVA 1:1 contendo 8,6 mg de JR19) e FJRSP (Filme de quitosana + PVA 1:1 contendo 1 mg de sulfadiazina de prata e 8,6 mg de JR19).

Figura 7 - Produção dos filmes poliméricos: FQ, FJR19 e FJRSP.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

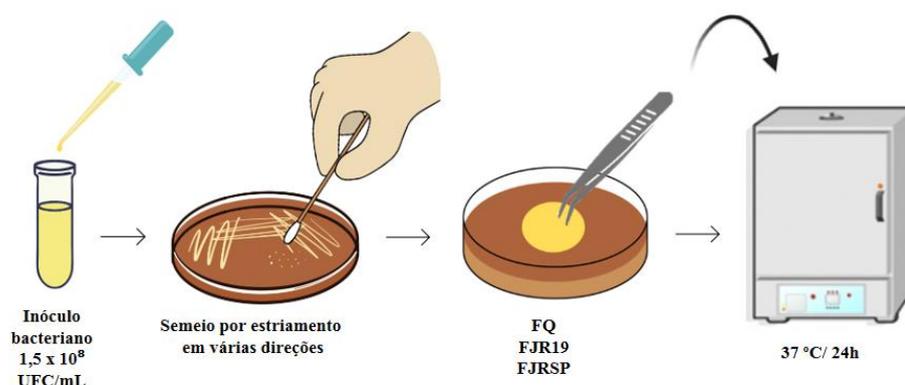
4.2 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do filme polimérico de quitosana (FQ), FJR19 e FJRSP foi avaliada utilizando a técnica de difusão em disco em meio de cultura sólido ágar Müller Hinton (AMH) (Figura 8). Para a realização do teste foi utilizada a linhagem *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923, previamente reativada em caldo de enriquecimento *Brain Heart Infusion* (BHI).

Após o enriquecimento, uma alíquota foi semeada em placa utilizando a técnica de esgotamento por estrias em AMH e incubada a 37°C por 24 horas. Posteriormente à incubação, o inóculo bacteriano foi preparado diluindo-se algumas colônias em solução salina estéril a 0,9%, ajustando a turbidez para 0,5 na escala de McFarland, equivalente a uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Em seguida, *swabs* estéreis foram mergulhados na suspensão bacteriana padronizada e a cultura foi semeada por toda a superfície do AMH através de estrias em várias direções para permitir um crescimento homogêneo e confluyente. Com a utilização de uma pinça estéril, os filmes FQ, FJR19 e FJRSP foram depositados sobre a superfície do meio inoculado e as placas incubadas a 37 °C por 24 h. Após a incubação, as placas foram observadas quanto à homogeneidade do crescimento bacteriano e à presença de halos de inibição.

Figura 8 - Avaliação da atividade antimicrobiana através da técnica de difusão em disco.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

4.3 Avaliação de atividade cicatrizante *in vivo*

Todo o protocolo experimental *in vivo* foi iniciado somente após a aprovação do Comitê de Ética para Uso de Animais da UEPB (certidão nº 030/2023- Anexo I) em conformidade com as normas e princípios éticos de experimentação animal.

Para esse experimento foram utilizados ratos Wistar (*Ratus norvegicus*) machos (9 a 10 semanas, 200 – 300 g), procedentes do Biotério da UEPB. Os animais foram alojados caixas de polipropileno e submetidos à dieta balanceada à base de ração tipo pellets (Presence®, Paulínia, SP, Brasil) e acesso à água *ad libitum*. Além disso, os animais foram mantidos em salas com ventilação e temperatura (22 ± 2 °C) controladas e submetidos a um ciclo claro-escuro de 12h.

Para a indução das lesões, os animais foram pesados e anestesiados com cloridrato de xilazina (5mg Kg^{-1}) e cloridrato de cetamina (75 mg Kg^{-1}), administrados por via intraperitoneal. Após a anestesia, realizou-se a tricotomia, utilizando um tricotomizador e a antisepsia da região dorsal torácica com digluconato de clorexidina 2%, seguido do procedimento experimental.

A ferida foi criada por meio de uma excisão circular de fragmento cutâneo, no centro da área depilada, com o auxílio de um punch metálico de 1,0 cm de diâmetro até a exposição da fáscia muscular dorsal, conforme ilustrado na Figura 9.

Figura 9 - Imagem representativa da ferida cutânea excisional após indução.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Os animais foram aleatoriamente divididos em grupos experimentais ($n=7$) destinados aos respectivos tratamentos tópicos: controle negativo (salina 0,9%), controle positivo (pomada de dipropionato de betametasona com gentamicina), FQ (veículo), FJR19 e FJRSP. Os tratamentos foram aplicados imediatamente após a indução das lesões e, posteriormente, a cada dois dias, no mesmo horário, por um

período de 21 dias consecutivos para ambos os modelos experimentais.

No pós-operatório, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sob as mesmas condições ambientais do pré-operatório. Durante as reposições de tratamentos, todas as lesões foram hidratadas e limpas com solução salina 0,9%. Além disso, os filmes tiveram seus tamanhos ajustados para a área superficial de cada lesão.

4.4 Análise do fechamento das lesões

Os animais foram avaliados diariamente quanto às condições físicas, bem-estar pós-procedimento e processo de cicatrização. Os parâmetros clínicos observados incluíram estado geral (movimentação, alerta e responsividade) e aspectos macroscópicos como sangramento, exsudato e formação de crostas.

A análise da cicatrização tecidual foi realizada por meio de fotodocumentação, em que todas as lesões foram fotografadas e sua área superficial mensurada com o software ImageJ Pro 6.1 (National Institutes of Health, Bethesda, EUA). As imagens foram registradas no dia da indução da lesão e ao final de cada ciclo de subgrupo no 2º, 4º, 7º, 14º e 21º dia após a lesão com auxílio de uma câmera digital na presença de uma escala graduada. A área superficial das lesões (%) foi calculada com base na equação 1, utilizada por Moreira (2016):

$$\text{Área superficial da lesão (\%)} = \frac{\text{área superficial do dia } n}{\text{área superficial do dia } 1} \times 100 \quad (1)$$

Ao final do ciclo de cada subgrupo do protocolo, os animais foram eutanasiados nos dias 7, 14 e 21, por overdose anestésica, conforme Resolução N° 1000 do Conselho Federal de Medicina Veterinária. Em seguida, foram coletadas amostras das áreas cicatriciais para análises histopatológicas.

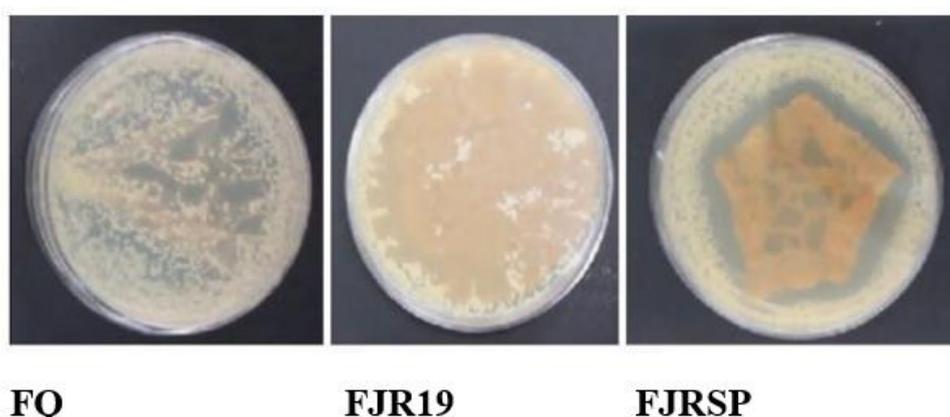
Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m). A análise estatística foi realizada empregando-se o teste ANOVA one-way, seguida do pós-teste de Tukey, considerando significativas as diferenças com $p < 0,05$. Os dados foram analisados e plotados no software GraphPad Prism® versão 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes testados é apresentada na Figura 10. Os resultados mostraram que apenas o filme FJRSP exibiu atividade inibitória, evidenciada pelo halo de inibição contra *S. aureus*. Em contraste, os filmes FQ e FJR19 não apresentaram efeito inibitório, comprovado pela formação de colônias bacterianas sobre os filmes.

Figura 10 - Atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos contra o *S.aureus*. FQ: Filme de quitosana; FJR19: Filme incorporado com JR19; FJRSP: Filme incorporado com JR19 e sulfadiazina de prata.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Apesar da quitosana ter uma atividade antimicrobiana comprovada (Azevedo *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2023; Pacheco *et al.*, 2023), esse efeito não foi observado na cultura tratada com o FQ. Estudos de atividade antimicrobiana de Sugumar *et al.* (2015) e Coma *et al.* (2002) com FQ demonstraram que QTS de alto peso molecular (90% de desacetilação) tendem a não se difundir no meio de ágar adjacente.

Embora a QTS utilizada em nosso estudo possua de 75-85% de desacetilação, o mesmo fenômeno foi observado, sugerindo dificuldade de difusão no meio. Portanto, a sua eficácia contra *S. aureus* pode ter sido comprometida justamente por fatores como peso molecular, grau de desacetilação e a concentração utilizada. Esses fatores afetam a capacidade de interação da quitosana com a parede celular bacteriana. Uma quitosana com maior grau de desacetilação e peso molecular moderado tende a ter

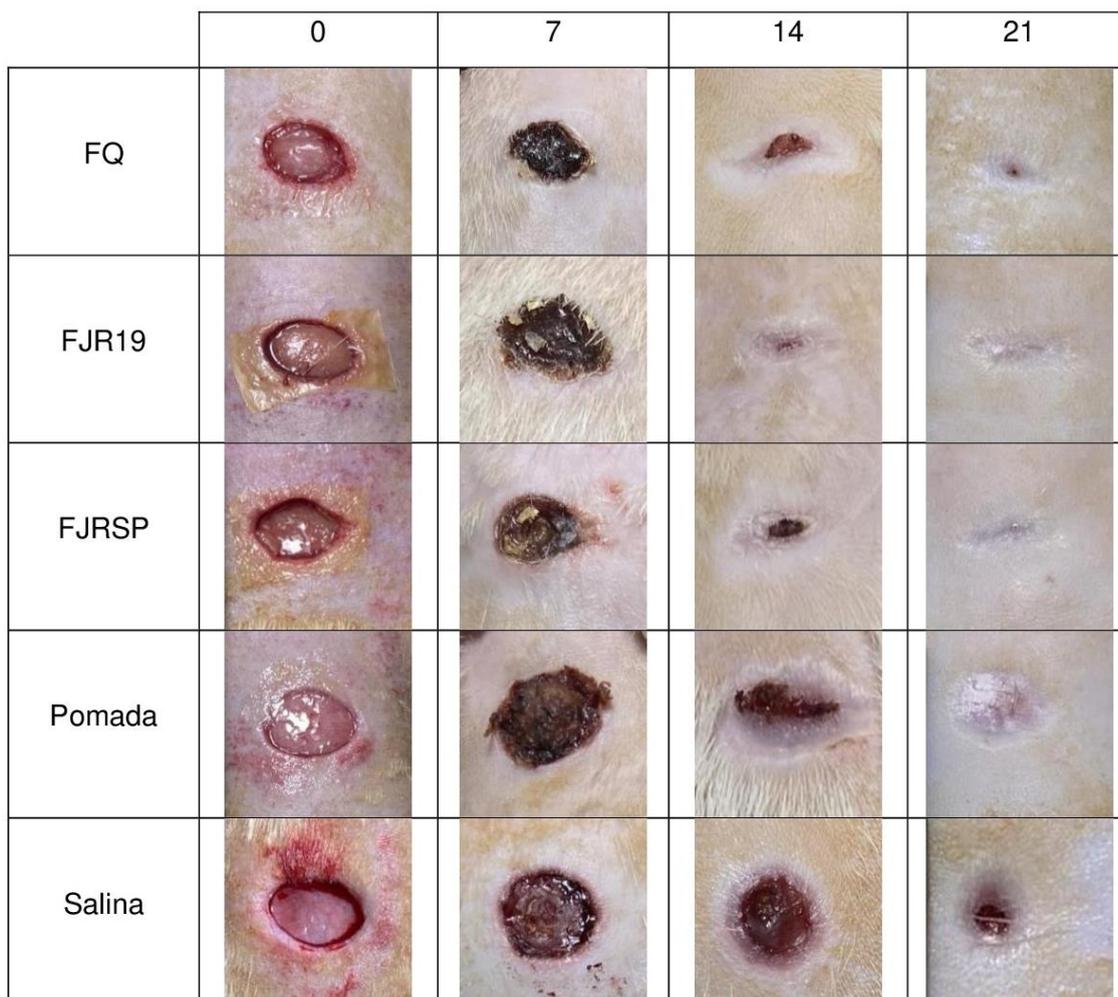
melhor atividade antimicrobiana. Já em concentrações mais baixas, a QTS pode ter eficácia limitada contra *S. aureus*. Em concentrações mais altas, a atividade antimicrobiana tende a aumentar.

5.2 Testes *in vivo* – modelo de ferida cutânea excisional

No modelo experimental de ferida realizado, nenhum animal apresentou sinais de infecção ou formação de abscessos. A formação de crostas foi observada entre o segundo e terceiro dia após a indução da lesão em todos os grupos.

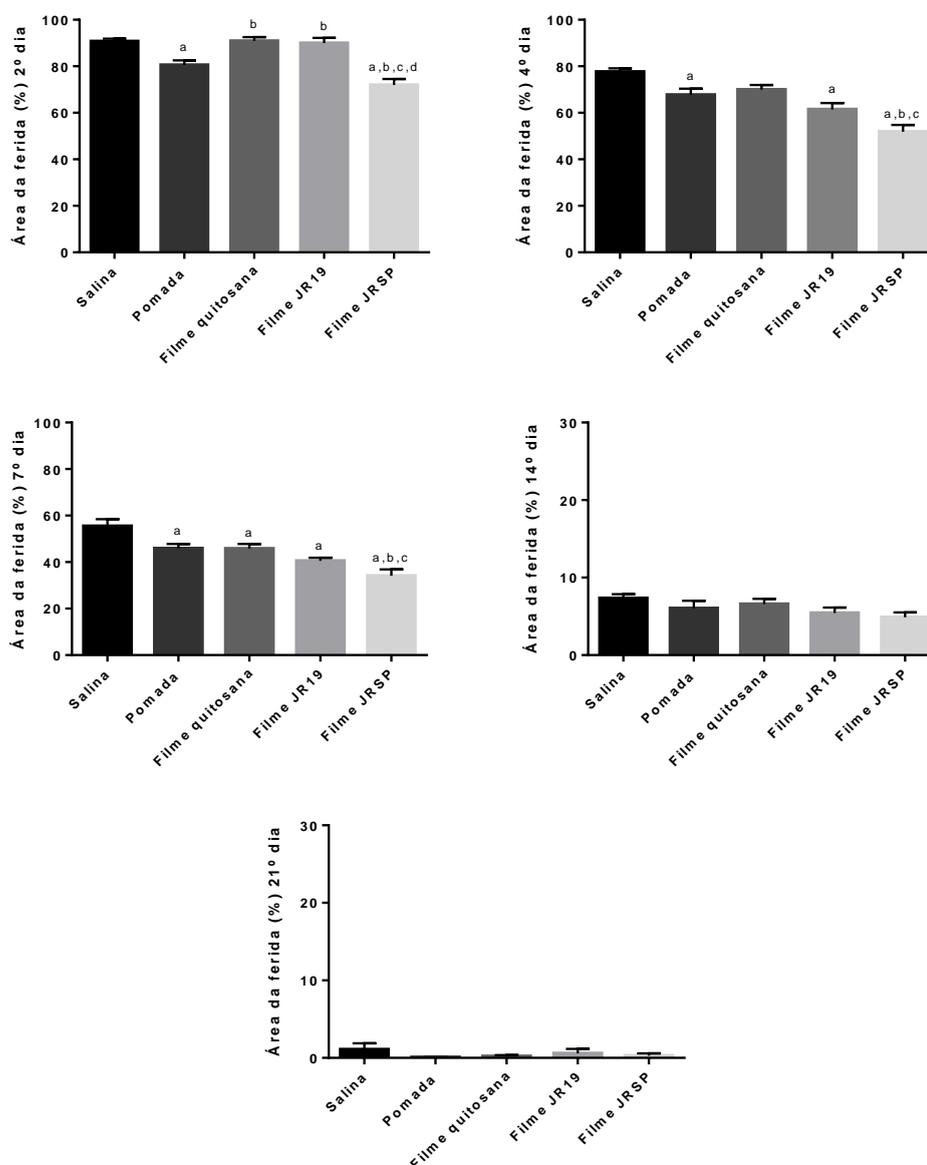
Nesse contexto, os resultados da cicatrização das feridas demonstraram que o processo foi mais eficiente quando as lesões foram tratadas com os filmes FJR19 e FJRSP quando comparadas ao controle negativo (solução salina), evidenciando o potencial cicatrizante desses filmes. Esse efeito pode ser observado na Figura 11 e Figura 12.

Figura 11 - Fotografias do tamanho da ferida no processo de cicatrização e espessura total após os tratamentos com FQ: Filme de quitosana; FJR19: Filme incorporado com JR19; FJRSP: Filme incorporado com JR19 e sulfadiazina de prata; Pomada dipropionato de betametasona com gentamicina e solução salina, em intervalos de 7, 14 e 21 dias.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Figura 12 - Avaliação do efeito cicatrizante de FQ, FJR19, FJRSP, solução salina (controle negativo) e pomada de dipropionato de betametasona com gentamicina (controle positivo) em feridas excisionais de ratos Wistar (n=7). Os dados são expressos como média \pm erro padrão da média. As diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA one-way, seguida do teste de Tukey. a $p < 0,05$ em relação ao grupo salina; b $p < 0,05$ em relação ao grupo pomada; c $p < 0,05$ em relação ao grupo; d $p < 0,05$ em relação ao grupo FJR19.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Os resultados obtidos demonstraram que o FJR19 melhorou o processo de cicatrização, do ponto de vista macroscópico, a partir do 4º dia pós lesão, apresentando uma área de 61,44%, exibindo uma ação cicatrizante semelhante ao controle positivo, com área de 67,67% e uma diferença de efeito estatisticamente significativa em relação ao grupo não tratado que apresentou 77,65%. Esse perfil de efeito manteve-se até o 7º dia após a indução da ferida. Diferentemente do que ocorreu entre o 14º e o 21º dia, em que, macroscopicamente, não houve mais diferenças estatísticas nas áreas residuais das feridas entre os grupos avaliados, uma vez que o processo de reepitelização tecidual já se encontrava praticamente completo em todos os tratamentos.

Estudos prévios de Silva e colaboradores (2023) demonstraram que o JR19 apresentou atividade anti-inflamatória promissora em modelos inflamatórios *in vivo*, como peritonite, bolsão de ar e edema de pata. Assim, a melhora do processo cicatricial induzida pelo FJR19 pode ser atribuída à sua propriedade anti-inflamatória relacionada a capacidade de suprimir a ação e/ou a liberação de aminas vasoativas, óxido nítrico e prostaglandinas pró-inflamatórias, o que acaba por acelerar o processo de cicatrização.

A associação do composto JR19 com sulfadiazina de prata em filme foi realizada com o objetivo de explorar um possível efeito sinérgico, visando otimizar o processo cicatricial. Macroscopicamente, o FJRSP demonstrou uma melhora significativa na cicatrização já no 2º dia pós-lesão, exibindo uma área de ferida de 71,95%, estatisticamente superior a todos os grupos, incluindo o FJR19. No entanto, essa diferença com o JR19 desapareceu entre o 4º e o 21º dia, apresentando áreas remanescentes de ferida semelhantes em ambos os grupos. Esses resultados macroscópicos sugerem que não houve um efeito sinérgico significativo entre os compostos ao longo da maior parte do estudo.

O uso de curativos à base de prata é amplamente difundido, pois são indicados para tratar infecções de feridas declaradas ou para prevenir a colonização de feridas (Atiyeh *et al.*, 2007; Leaper e MacGregor, 2012), evitando riscos adicionais que levem a complicações. Como as feridas induzidas em nosso estudo não eram declaradamente infeccionadas e ao longo do experimento não apresentaram processo

infeccioso, esse resultado pode ser atribuído ao fato de a sulfadiazina de prata ter um efeito anti-inflamatório secundário, limitado ao controle de infecções que amplificam a resposta inflamatória, sem exercer uma ação anti-inflamatória direta.

Entretanto, Oliveira & Peripato (2017) observaram uma associação benéfica entre sulfadiazina de prata e géis de quitosana, levando a uma maior produção de fibroblastos, redução da reação inflamatória e uma melhora na angiogênese, indicando uma maior evolução no processo cicatricial dos pacientes em relação ao tratamento convencional. Esse fato nos abre um pressuposto de que, embora não tenha ocorrido uma diferença macroscópica significativa da área da ferida entre os filmes JR19 e JRSP, é possível que em análises relacionadas aos eventos que envolvem o processo cicatricial de forma celular, o filme que contenha a associação do JR19 com a sulfadiazina de prata possa desempenhar um melhor efeito cicatricial ao longo do tempo.

Nesse sentido, diante dos resultados obtidos nesse trabalho, tanto o FJR19 quanto o FJRSP demonstraram eficácia no processo de cicatrização desde os primeiros dias. A melhora na cicatrização está mais associada às propriedades anti-inflamatórias do FJR19 do que à combinação com a sulfadiazina de prata. Sendo assim, o uso de filmes poliméricos à base de quitosana com a inclusão do JR19 e da sulfadiazina de prata, em lesões cutâneas, mostraram-se como alternativas promissoras para acelerar esse processo de cicatrização.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o filme FJRSP apresentou atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus*, o que pode ser atribuído à presença da sulfadiazina de prata, um agente antimicrobiano amplamente reconhecido por sua eficácia. Por outro lado, os filmes FJR19 e FQ não demonstraram efeito antimicrobiano significativo, explicado pela ausência de um efeito farmacológico direto do FJR19 contra essa bactéria e pela dificuldade de difusão da quitosana no meio de cultura, comprometendo sua ação.

No que diz respeito ao tratamento cicatricial, tanto o FJR19 quanto o FJRSP evidenciaram eficácia no processo de cicatrização desde os primeiros dias do experimento, indicando sua relevância no estímulo à regeneração tecidual. Os resultados macroscópicos apontaram que a melhora na cicatrização está mais associada às propriedades anti-inflamatórias do derivado N-acilidrazônico presente no FJR19 do que à combinação com a sulfadiazina de prata. Essa observação reforça o potencial terapêutico do composto JR19 em atuar como um agente cicatrizante eficiente, independentemente de sua associação com agentes antimicrobianos.

Portanto, os dados sugerem que o filme FJR19 possui um papel promissor no controle da inflamação e na aceleração da cicatrização. Dessa forma, ambos os filmes oferecem perspectivas diferenciadas e complementares, que podem ser exploradas para o manejo de feridas complexas, com ou sem infecção associada.

REFERÊNCIAS

ABOUREHAB, M. A. S.; PRAMANIK, S.; ABDELGAWAD, M. A.; ABUALSOUD, B. M.; KADI, A.; ANSARI, M. J.; DEEPAK, A. Recent advances of chitosan formulations in biomedical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 18, p. 10975, 2022. doi: 10.3390/ijms231810975.

ALI, M.; MIR, S.; ABID, O. U. R.; AJLOUNI, A. W.; BIBI, S. Applications of chitosan based bionanocomposites in drug-delivery and anticancer treatment: A review. **European Polymer Journal**, v. 201, 2023.

ALVEN, S.; ADERIBIGBE, B. A. Chitosan and cellulose-based hydrogels for wound management. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. 9656, 2020. doi: 10.3390/ijms21249656.

APOLINÁRIO, N. M. **Elucidação estrutural e avaliação do potencial biológico de novos derivados N-acilhidrazônicos**. 2016. 114 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

ARDA, O.; GÖKSÜGÜR, N.; TÜZÜN, Y. Basic histological structure and functions of facial skin. **Clinical Dermatology**, v. 32, n. 1, p. 3-13, jan./fev. 2014. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2013.05.021. PMID: 24314373.

ASSIS, A. C. L. *et al.* N-acylhydrazone Derivative-Loaded Cellulose Acetate Films: Thermoanalytical, Spectroscopic, Mechanical and Morphological Characterization. **Polymers (Basel)**, v. 13, n. 14, p. 2345, 2021. DOI: 10.3390/polym13142345.

ATIYEH, B. S.; COSTAGLIOLA, M.; HAYEK, S. N.; DIBO, S. A. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. **Burns**, v. 33, p. 139–148, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.burns.2006.06.010>.

AZEVEDO, H. *et al.* Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.

BARONI, A. *et al.* Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinical Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 257-262, 2012. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2011.08.007.

BARREIRO, E. J. *et al.* **A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos- protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e anti-trombóticos.** Química Nova, v. 25, n. 1, p. 1-8, 2002.

BARROS, C. F.; LIMA, I. A.; BUNHAK, E. J. Filmes poliméricos no manejo de feridas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, e10111628757, 2022.

CATÃO, M. H. C. V.; NONAKA, C. F. W.; ALBUQUERQUE Jr; OLIVEIRA, R. C. Effects of red laser, infrared, photodynamic therapy, and green LED on the healing process of third-degree burns: clinical and histological study in rats. **Lasers in Medical Science**, v. 30, p. 421-428, 2015.

CHEN, S. *et al.* Cerium oxide nanoparticles in wound care: a review of mechanisms and therapeutic applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 12, p. 1404651, 2024. doi: 10.3389/fbioe.2024.1404651.

DOMINGUES, M. A. *et al.* Adaptação transcultural de um instrumento de avaliação de feridas. **Cogitare Enfermagem**, v. 23, n. 3, e54927, 2018.

ELLIS, S.; LIN, E. J.; TARTAR, D. Immunology of wound healing. **Current Dermatology Reports**, v. 7, n. 4, p. 350-358, 2018. doi: 10.1007/s13671-018-0234-9.

FAJARDO, A. R.; LOPES, L. C.; CALEARE, A. *et al.* Silver sulfadiazine loaded chitosan/chondroitin sulfate films for a potential wound dressing application. **Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications**, v. 33, n. 2, p. 588-595, 2013

FONG, J.; WOOD, F. Nanocrystalline silver dressings in wound management: a

review. **International Journal of Nanomedicine**, v. 1, n. 4, p. 441-449, 2006. DOI: 10.2147/nano.2006.1.4.441.

GUERRA, A.; BELINHA, J.; JORGE, R. N. Modelling skin wound healing angiogenesis: A review. **Journal of Theoretical Biology**, v. 459, p. 1-17, 14 dez. 2018. DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.09.020. Epub 19 set. 2018. PMID: 30240579.

HEYER, K.; HERBERGER, K.; PROTZ, K. Epidemiologia de feridas crônicas na Alemanha: análise de dados de seguro de saúde estatutário. **Regeneração de Reparação de Feridas**, v. 24, p. 34-42, 2016.

KANITAKIS, J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. **European Journal of Dermatology**, v. 12, n. 4, p. 390-399, 2002. PMID: 12095893

KHAVKIN, J.; ELLIS, D. A. Aging skin: histology, physiology, and pathology. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 19, n. 2, p. 229-234, 2011. DOI: 10.1016/j.fsc.2011.04.003. Adaptado.

KHUBIEV, O. M. *et al.* Chitosan-based antibacterial films for biomedical and food applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, p. 10738, 27 jun. 2023. DOI: 10.3390/ijms241310738. PMID: 37445916; PMCID: PMC10342135.

KOLIMI, P.; NARALA, S.; NYAVANANDI, D.; YOUSSEF, A. A. A.; DUDHIPALA, N. Innovative treatment strategies to accelerate wound healing: trajectory and recent advancements. **Cells**, v. 11, n. 15, p. 2439, 2022. doi: 10.3390/cells11152439.

KUMAR, A.; BEHL, T.; CHADHA, S. Synthesis of physically crosslinked PVA/Chitosan loaded silver nanoparticles hydrogels with tunable mechanical properties and antibacterial effects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 1262-1274, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.048.

LEAPER, D.; MACGREGOR, L. Appropriate use of silver dressings in wounds: international consensus document. **International Wound Journal**, v. 9, p. 461–464, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.01091>.

LIU, X.; FAN, H.; MENG, Z.; WU, Z.; GU, R.; ZHU, X.; GAN, H.; DOU, G. Combined silver sulfadiazine nanosuspension with thermosensitive hydrogel: an effective antibacterial treatment for wound healing in an animal model. **International Journal of Nanomedicine**, v. 18, p. 679-691, 2023. doi: 10.2147/IJN.S395004.

MAMUN, A. A.; SHAO, C.; GENG, P.; WANG, S.; XIAO, J. Recent advances in molecular mechanisms of skin wound healing and its treatments. **Frontiers in Immunology**, v. 15, p. 1395479, 2024. doi: 10.3389/fimmu.2024.1395479.

MEYER, T. N.; SILVA, A. L. A standard burn model using rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 1999. DOI: 10.1590/S0102-86501999000400009.

MIKUŠOVÁ, V.; MIKUŠ, P. Advances in chitosan-based nanoparticles for drug delivery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9652, 2021. doi: 10.3390/ijms22179652.

MONCELIN, P. R. **Acidentes por queimadura grave em usuários de hospitais municipais de urgência do município de São Luís MA: Análise quantitativa e qualitativa**. 2018. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

MOREIRA, V. M. **Avaliação da atividade anti-inflamatória/cicatrizante de filmes poliméricos de quitosana contendo sinvastatina**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

NATASÃ, C.; DURMA, M.; BENEDEC, D.; ONIGA, O. New hydrazones bearing thiazole scaffold: Synthesis, characterization, antimicrobial, and antioxidant investigation. **Molecules**, v. 20, p. 17325-17338, 2015.

OLIVEIRA, A. P. B. S.; PERIPATO, L. A. A cobertura ideal para tratamento em paciente queimado: uma revisão integrativa da literatura. **Rev. bras. queimaduras**, v. 16, n. 3, p. 188–193, 2017.

PULLAR, J. M.; CARR, A. C.; VISSERS, M. C. M. The roles of vitamin C in skin health. **Nutrients**, v. 9, n. 8, p. 866, 2017. doi: 10.3390/nu9080866.

RAJU, S. *et al.* Multifunctional and Smart Wound Dressings - A Review on Recent Research Advancements in Skin Regenerative Medicine. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 8, p. 1574, 2022. DOI: 10.3390/pharmaceutics14081574.

RIBEIRO, M.; SIMÕES, M.; VITORINO, C.; MASCARENHAS-MELO, F. Hydrogels in cutaneous wound healing: insights into characterization, properties, formulation and therapeutic potential. **Gels**, v. 10, n. 3, p. 188, 2024. doi: 10.3390/gels10030188.

RINAUDO, M. Quitina e quitosana: Propriedades e aplicações. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.05.001.

RIPPA, A. L.; KALABUSHEVA, E. P.; VOROTELYAK, E. A. Regeneration of dermis: scarring and cells involved. **Cells**, v. 8, n. 6, p. 607, 2019. doi: 10.3390/cells8060607.

RODRIGUES, M.; KOSARIC, N.; BONHAM, C. A.; GURTNER, G. C. Wound healing: a cellular perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665-706, 2019. doi: 10.1152/physrev.00067.2017.

ROY, S.; HO, J. C. S.; TEO, D. L. C.; GUPTA, S.; NALLANI, M. Biomimetic stratum corneum liposome models: lamellar organization and permeability studies. **Membranes (Basel)**, v. 13, n. 2, p. 135, 2023. doi: 10.3390/membranes13020135.

SILVA, P. R.; APOLINÁRIO, N. M.; SILVA, S. Â. S. D.; ARARUNA, M. E. C.; COSTA, T. B.; E SILVA, Y. M. S. M.; DA SILVA, T. G.; DE MOURA, R. O.; DOS SANTOS, V. L. Anti-inflammatory activity of N'-(3-(1H-indol-3-yl)benzylidene)-2-cyanoacetohydrazide derivative via sGC-NO/cytokine pathway. **Pharmaceutics (Basel)**, v. 16, n. 10, p. 1415, 2023. doi: 10.3390/ph16101415.

SILVA, T. F. *et al.* Novel orally active analgesic and anti-inflammatory cyclohexyl-N-acylhydrazone derivatives. **Molecules**, v. 20, p. 3067-3088, 2015. DOI: 10.3390/molecules20023067.

SIMÕES, T. M. S. *et al.* Fotobiomodulação das luzes vermelha e verde no processo de reparação de queimaduras de terceiro grau na pele. **Lasers in Medical Science**, v. 35, p. 51-61, 2020.

SIROTKIN; KHYLUSTOVA; TITOV; NAUMOVA; KICHEEVA; KHIZHKINA; AGAFONOV. Plasma synthesis and characteristics of nanocomposite coatings based on PVA and chitosan with incorporated nanoparticles for the healing of skin wounds. **Materials Chemistry and Physics**, v. 327, p. 129887, 2024. ISSN 0254-0584. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2024.129887.

SUGUMAR, S.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Eucalyptus oil nanoemulsion-impregnated chitosan film: antibacterial effects against a clinical pathogen, *Staphylococcus aureus*, *in vitro*. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, supl. 1, p. 67-75, 2015.

TAO, F. *et al.* Applications of chitin and chitosan nanofibers in bone regenerative engineering. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115658, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115658.

TAVARES, Mariane Alves. **Amido, álcool polivinílico e ácidos carboxílicos na produção de biofilmes**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2013.

TRINH, X. T.; LONG, N. V.; VAN ANH, L. T.; NGA, P. T.; GIANG, N. N.; CHIEN, P. N.; NAM, S. Y.; HEO, C. Y. A comprehensive review of natural compounds for wound healing: targeting the bioactivity perspective. **International Journal of Molecular Sciences**. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms231>. Adaptado.

THOMAS, L.; MATHEW, S.; JOHNSON, S. In-silico prediction of role of chitosan, chondroitin sulphate and agar in process of wound healing towards scaffold development. **Informatics in Medicine Unlocked**, v. 20, p. 100406, 2020. DOI: 10.1016/j.imu.2020.100406.

TOTTOLI, E. M. *et al.* Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 735, 2020. DOI: 10.3390/pharmaceutics12080735.

VENKATARAMAN, M.; NAGARSENKER, M. Silver sulfadiazine nanosystems for burn therapy. **AAPS PharmSciTech**, v. 14, n. 1, p. 254-264, mar. 2013. DOI: 10.1208/s12249-012-9914-0.

WANDERLEY, D. M. S. *et al.* Physical-chemical characterization of N-acylhydrazone derivative chitosan films using spectroscopic and thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, p. 3789-3796, 2019.

WANDERLEY, D. M. S.; MELO, D. F.; SILVA, L. M.; SOUZA, J. W. L.; PINA, H. V.; LIMA, D. B.; AMOAH, S. K. S.; BORGES, S. M. P.; FOOK, M. V. L.; MOURA, R. O.; LIMA, R. S. C.; DAMASCENO, B. P. G. L. Biocompatibility and mechanical properties evaluation of chitosan films containing an N-acylhydrazone derivative. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 155, p. 105547, 2020. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105547.

WOODLEY, D. T. Distinct fibroblasts in the papillary and reticular dermis: implications for wound healing. **Dermatologic Clinics**, v. 35, n. 1, p. 95-100, jan. 2017. DOI: 10.1016/j.det.2016.07.004. PMID: 27890241.

ZEEUWEN, P. L. *et al.* Microbiome and skin diseases. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 13, n. 5, p. 514-520, 2013. DOI: 10.1097/ACI.0b013e328364ebeb.

ZHANG, M.; XING, J.; ZHONG, Y.; ZHANG, T.; LIU, X.; XING, D. Advanced function, design and application of skin substitutes for skin regeneration. **Materials Today Bio**, v. 24, p. 100918, 2023. doi: 10.1016/j.mtbio.2023.100918.

ZHAO, R.; LIANG, H.; CLARKE, E.; JACKSON, C.; XUE, M. Inflammation in chronic wounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, p. 2085, 11 dez. 2016. DOI: 10.3390/ijms17122085. PMID: 27973441; PMCID: PMC5187885.

ANEXO 1 – Aprovação da CEUA



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **“Uso dos filmes poliméricos com derivado n-acilidrazônico e sulfato de prata para o tratamento e cicatrização de queimaduras e lesões cutâneas: testes in vivo”**, registrada com o nº 030/2023, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Prof. Dr. Bolívar P. G. de Lima Damasceno, que envolve o uso de Ratos – Noruegicos Wistar, para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, com o decreto 6.899 de 05 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual da Paraíba.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	04/2023 a 01/2024
Espécie/linhagem/raça	Ratos – Noruegicos/ Wistar
Nº de animais	150 (cento e cinquenta)
Idade/peso	aproximadamente 90 dias/ 300g
Sexo	machos
Origem	Centro de Bioterismo da UEPB

Informação ao pesquisador:

Lembramos que o pesquisador responsável deverá encaminhar à CEUA-UEPB o **Relatório Final** baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do **relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, previsto para conclusão em 01/2024.**

Campina Grande, 28 de março de 2023.

Coordenadora da CEUA/UEPB

