

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA**

JANAYNA BATISTA BARBOSA DE SOUSA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DE NANOFIBRAS ELETROFIADAS
FORMADAS POR BLENDS DE PLA E COPAIBA
(*C. Luetzelburgii Harms*)**

**PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND MICROBIOLOGICAL
EVALUATION OF ELECTROSPUN NANOFIBERS FORMED BY
BLENDS FROM PLA AND COPAIBA (*C. Luetzelburgii Harms*)**

São Paulo – SP

2022

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

JANAYNA BATISTA BARBOSA DE SOUSA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DE NANOFIBRAS ELETROFIADAS
FORMADAS POR BLENDS DE PLA E COPAIBA
(*C. Luetzelburgii Harms*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Profa. Dra. Adriana Pavinatto da
Costa
Orientadora

Prof. Dr. Bruno Vinícius Manzolli
Rodrigues
Coorientador

São Paulo – SP

2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade
Brasil, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).**

S697p

SOUSA, Janayna Batista Barbosa de.

Produção, caracterização e avaliação microbiológica de nanofibras eletrofiadas formadas por blendas de PLA e Copaíba (*C. Luetzelburgii Harms*) / Janayna Batista Barbosa de Sousa. -- São Paulo: Universidade Brasil, 2022.

70 f.: il. color.

Tese de Doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Profa. Dra. Prof. Adriana Pavinatto da Costa.

Coorientação: Prof. Dr. Bruno Vinícius Manzolli Rodrigues.

1. Eletrofição. 2. Poli (ácido láctico). 3. Extrato de copaíba. 4. Biomateriais/nanotecnologia. 5. Ação antimicrobiana/farmacológica. I. Costa, Adriana Pavinatto da. II. Rodrigues, Bruno Vinícius Manzolli. III. Título.

CDD 620.82



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

TERMO DE APROVAÇÃO

JANAYNA BATISTA BARBOSA DE SOUSA

**“PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE
NANOFIBRAS ELETROFIADAS FORMADAS POR BLENDA DE PLA E
COPAIBA (*C. Luetzelburgii* Harms)”**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof(a). Dr(a) Adriana Pavinatto da Costa (presidente-orientadora)

Prof(a). Dr(a) Danila Fernanda Rodrigues Frias (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Luis Gustavo Sabino (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a). Celyane Alves Piauilino (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ)

Prof(a). Dr(a). Jorge Augusto de Moura Delezuk (INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ)

São Paulo, 22 de novembro de 2022.
Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a) Adriana Pavinatto da Costa

Houve alteração do Título: sim () não (X):



UNIVERSIDADE
BRASIL

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(am) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **"PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE NANOFIBRAS ELETROFIADAS FORMADAS POR BLENIDAS DE PLA E COPAIBA (*C. Luetzelburgii* Harms)"**.

Autor(es):

Discente: **Janayna Batista Barbosa de Sousa**

Assinatura: Janayna Batista Barbosa de Sousa

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Adriana Pavinatto da Costa**

Assinatura: Adriana Pavinatto da Costa

Coorientador(a): **Prof.(a) Dr.(a)**

Assinatura: _____

Houve alteração do Título: sim () não (X);

Data: 22/11/2022

Campus Itaquera
Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030
Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070
www.ub.edu.br

AGRADECIMENTOS

Deus, nosso Pai, criador e dono de todas as coisas. Gratidão por permitir que eu viva tudo isso de uma maneira tão engrandecedora, aprendendo coisas novas em cada passo dessa jornada.

À minha mãe, Maria do Carmo Batista, pelos ensinamentos de perseverança, determinação e minha maior ajudante para a conclusão desse ciclo, mostrando-me, a cada dia, que a minha maior conquista profissional é adquirida por meio dos meus esforços e renúncias.

Ao meu pai, Washington Barbosa de Sousa e irmão mais que amado, Cyro César Batista Barbosa de Sousa (ambos *in memoriam*), pela alegria de viver e lembranças diárias que me movem.

Ao melhor irmão do mundo, Cayo César Batista, meu melhor amigo, pai portião e maior incentivador em tudo na vida.

À pessoa mais importante da minha vida, sem a qual, nada faria sentido: meu grande amor em forma de filha, Indira Maria, que me ensina todo os dias, do seu modo mais que especial e único, que podemos sempre ir além .

Ao namorado, Eládio Barbosa, por me aturar e cuidar com zelo, amor e alegria, mesmo nos meus momentos mais difíceis.

Ao amigo e companheiro de jornada doutoranda e laceriana, Denis Rômulo L.Furtado, pelo cuidado, atenção de irmão, ensinamentos e estímulo, quando tudo parecia perdido.

À Professora Dra. Zenaide Moreno Fernandes, pelo extrato etanólico da cabaíba e pronta atenção sempre que precisei.

Ao Professor Dr. Bruno Manzolli pela orientação no início do trabalho.

À Professora Dra. Adriana Pavinatto da Costa, pela orientação, atenção, acolhimento, dedicação e zelo e, principalmente, ética em relação à conclusão desse feito. Verdadeira lição de como ser um bom professor e mestre!

À CAPES pela bolsa de estudos concedida e ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil pela oportunidade. Aos professores do Programa, pelos ensinamentos.

À todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

Este estudo foi financiado pela coordenação de aperfeiçoamento do pessoal do ensino superior – CAPES – Brasil (código financeiro 001).

*“Pois Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas. A Ele seja a glória
para sempre. Amém!”*

(Paulo de Tarso, apóstolo de Cristo)

RESUMO

É cada vez maior o interesse da indústria médico-farmacêutica pela produção e utilização de biomateriais. Estes podem ser originários de macromoléculas naturais, tais como os biopolímeros, ou produzidos de maneira sintética ou semissintética. Contudo, ao substituir ou preencher partes corporais defeituosas ou mesmo afuncionais, devem exercer seu papel da maneira mais segura possível, em função do contato com membranas, células e tecidos. O objetivo deste estudo foi produzir um biomaterial eletrofiado a partir do poli(ácido láctico) (PLA) associado ao extrato de copaíba (*Copaifera luetzelburgii*), aqui identificado por EC, nas concentrações de 0,5% e 1,0% e verificar algumas de suas propriedades físico-químicas e antimicrobianas. Para caracterização das propriedades, foram feitas análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e de ângulo de contato (AC) nas membranas. Para o teste antimicrobiano, semearam-se discos de 6 mm do material eletrofiado PLA+EC (PLAEC) nas concentrações de 0,5% e 1% em placas, na presença de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus fecalis* e *Cândida albicans*. Todos os microrganismos foram semeados em ágar *Mueller Hinton* e, em seguida, os discos de PLAEC foram adicionados ao meio. Usaram-se discos de PLA como controle negativo e antibióticos padrões (método de antibiograma): amicacina para bactérias gram-negativas e teicoplanina para as gram-positivas, sendo que todas as amostras foram previamente submetidas à radiação ultravioleta por 90 *min* em estufa apropriada, a fim de evitar qualquer tipo de contaminação. Os espectros FTIR mostraram as principais bandas vibracionais para grupos químicos formadores do PLA e medidas de hidrofiliidade mostram que todas as membranas formadas apresentam características hidrofóbicas. Todas as amostras de PLAEC mostraram-se eficazes contra todos os microrganismos citados, em ambas as concentrações testadas. Com base nos resultados, sugere-se que o biomaterial estudado é promissor para uso clínico, em processos infecciosos, servindo como alternativa na escolha antimicrobiana.

Palavras chave: eletrofiação, nanotecnologia, caracterização farmacológica, ação farmacológica, atividade antimicrobiana, bioquímica, extrato de copaíba, engenharia em saúde.

ABSTRACT

The interest of the medical/pharmaceutical industry in the production and use of biomaterials is increasing. These can originate from natural macromolecules (biopolymers) or synthetically or semi-synthetically. However, when replacing or filling defective or even nonfunctional body parts, they must perform their role in the safest way possible, due to the intimate contact with membranes, cells and tissues. The objective of this study was to produce a biomaterial from poly(lactic acid) (PLA) associated with copaiba extract (*Copaifer luetzelburgii*), here identified by EC, at concentrations of 0.5 and 1.0% and to verify some of its physicochemical and antimicrobial properties. To characterize the properties, analysis of absorption spectroscopy in the infrared region (FTIR) and contact angle test (AC) were performed. For antimicrobial test, 6 mm diameter discs of electrospun material PLA+EC (PLAEC) were seeded at concentrations of 0.5% and 1% in plates, in the presence of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus fecalis* and *Candida albicans*. All microorganisms were seeded on Mueller Hinton agar and then PLAEC discs were added to the medium. PLA disks were used as a negative control and standard antibiotics (antibiogram method): amikacin for gram-negative bacteria and teicoplanin for gram-positive bacteria, and all samples were subjected to ultraviolet radiation for 90 min in an appropriate oven, in order to avoid any type of contamination. The FTIR spectra showed the main vibrational for chemical groups forming PLA and hydrophilicity measurements show that all membranes formed have hydrophobic characteristics. All PLAEC samples proved to be effective against all mentioned microorganisms, in both concentrations tested. Based on the results, it is suggested that the studied biomaterial is promising for clinical use, in infectious processes, serving as an alternative in the antimicrobial choice.

Keywords: electrospinning, nanofibers, characterization FTIR, antimicrobial activity, poly (lactic acid), copaiba extract.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Este trabalho permitiu a produção de novos biomateriais via processo de eletrofiação, a partir do uso de soluções de poli(ácido láctico) com extrato de copaíba em duas concentrações diferentes: 0,5% e 1,0%. Estes biomateriais foram então submetidos a testes físico-químicos para caracterização de suas propriedades estruturais, onde foi possível verificar a impregnação adequada do extrato de copaíba. Procedeu-se também a análise antimicrobiana por meio de teste de antibiograma padrão, para testagem da sua capacidade de inibição de bactérias (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, *E. fecalis*) e do fungo *C. albicans*. A manta resultante da eletrofiação de PLAEC possui coloração levemente amarronzada, em semelhança à cor do extrato, possui características mais hidrofólicas se comparadas a manta de PLA (o qual não apresentou espectro de bandas significativamente modificadas após associação) e os seus discos semeados nos microrganismos citados apresentaram atividade antimicrobiana e antifúngica, nas duas concentrações testadas. O biomaterial aqui desenvolvido tem potencial para futuros estudos clínicos, como alternativa na escolha de medicamentos que possuam atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e anti-fúngicas, assim como promissora forma farmacêutica adesiva de uso em feridas ou queimaduras.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do PLA	21
Figura 2 – Aparato experimental da técnica de eletrofição de laboratório (com agulha)	23
Figura 3 – Teste de solubilidade do EC em DMF, água, ácido acético, solução hidroalcolica 70%, álcool a 70% e clorofórmio (A) a partir do extrato liofilizado (B)	36
Figura 4 – Material usado para a síntese da membrana ou manta: (A) PLA; (B) Extrato de copaíba a 0,5% e a 1,0%	37
Figura 5 – Sistema de eletrofição com coletor de recepção da manta eletrofiada ...	38
Figura 6 – Membranas de PLA e PLAEC 0,5% e 1% (em tamanho de 4 cm – Figura A), semeada em ágar sangue, por 24 horas, em estufa a 37°C – Figura 6B.	39
Figura 7 – Teste de solubilidade do EC em DMF, água, ácido acético, solução hidroalcolica 70%, álcool a 70% e clorofórmio	42
Figura 8 – Mantas de PLA: pura (A) e associadas a EC, PLAEC 0,5% (B) e PLAEC 1% (C).....	45
Figura 9 – Prova de esterilização das mantas produzidas	46
Figura 10 – Espectros de FTIR das mantas eletrofiadas de PLA, PLAEC 0,5% e PLAEC 1 %.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores dos ângulos de contato entre a água e as membranas.	50
Tabela 2 – Perfil de sensibilidade do PLA controle, PLAEC 0,5% e PLAEC 1 %, pelo método de antibiograma em bactérias Gram Positivas	51
Tabela 3 – Perfil de sensibilidade do PLA controle, PLAEC 0,5% e PLAEC 1 %, pelo método de antibiograma em bactérias Gram (-) e <i>Candida albicans</i>	52

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A.C.	Antes de Cristo
AC	Ângulo de Contato
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATR	Reflectância atenuada
BRCAS	Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DMF	Dimetilformamida
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EC	Extrato etanólico de copaíba
EDS	Energia Dispersiva
EMA	Agência Europeia de Medicina
EPI	Equipamentos de Proteção Individual
ESBL	Beta lactamases de espectro estendido
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Região do Infra – vermelho
HPLC	High performance liquid chromatography
KV	Quilovolts
LACEN	Laboratório Central do Piauí
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MIN	Minuto
MM	Milímetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Oxacilina
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PDLA	Dextrógiro poliácido láctico
PLA	Poli(ácido láctico)
PLAEC	Poli(ácido láctico) e extrato de copaíba associados
PLLA	Levógiro poliácido láctico
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i> ,	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
T 1	30 minutos
T 2	60 minutos
T 3	90 minutos
T0	Tempo zero
UFPI	Universidade Federal do Piauí
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

Sumário

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivos específicos	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	Biomateriais	20
3.2	Poli(ácido Lático) (PLA)	21
3.3	Técnica de Eletrofiação	22
3.4	Plantas Medicinais do Brasil	25
3.5	Copaíba sp	26
3.6	Bactérias e Fungos	28
3.6.1	Escherichia coli	28
3.6.2	Pseudomonas aeruginosa	29
3.6.3	Staphylococcus aureus	30
3.6.4	Staphylococcus epidermidis	31
3.6.5	Enterococcus faecalis	32
3.6.6	Candidas albicans	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Produção do extrato etanólico de copaiba (EC)	35
4.2	Teste de solubilidade para EC	35
4.3	Preparação da membrana de PLA e EC através da técnica de eletrofiação	36
4.4	Caracterização do Material Eletrofiado	38
4.4.1	Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	38
4.4.1	Ângulo de contato	38
4.5	Esterelização das Membranas (Nanofibras eletrofiadas)	39
4.6	Análise microbiológica	40
4.7	Análise de Dados	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	Teste de solubilidade	42
5.2	Mantas de PLA e PLAEC	44
5.3	Teste de esterilização	46
5.4	Caracterização das Membranas	47
5.4.1	FTIR	47
5.4.2	Ângulo de Contato	49
5.5	Análise microbiológica	50
6	CONCLUSÕES	55
	REFERÊNCIAS	56
7	APÊNDICE A	70

1 INTRODUÇÃO

Em meados da década de 1970, a indústria médico/farmacêutica direcionou-se para os estudos de nanotecnologia, parte da ciência que se preocupa com a utilização de partículas ultrafinas, ou seja, matéria com dimensões em escalas nanométricas, com o propósito de estudar a preparação/viabilidade de nanomateriais ou nanodispositivos, bem como a associação desses nanossistemas com extratos naturais que surgiram e vêm despontando na atualidade, como estratégias terapêuticas, em substituição de tecidos ou partes do corpo danificadas ou com função comprometida (ROSSIN et al., 2020; BERNARDO et. al., 2021).

Assim, entende-se por nanotecnologia o processo de manipular, entender e utilizar a matéria com dimensões muito pequenas, unindo consigo a engenharia, ciência e tecnologia para a formulação de unidades estruturais de grãos, partículas, fibras e outros materiais, conseguindo viabilizar e preparar aparatos, dispositivos e sistemas em escala nano. Nessa vertente da nanotecnologia e produção de biomateriais, surge o mecanismo da eletrofiação, estratégia útil e versátil para formação de fibras poliméricas, as quais têm sido utilizadas para os mais diversos propósitos, compreendendo numerosos ramos da ciência e da indústria, em virtude da elevada área de superfície e funcionalidades de suas fabricações (ROSSIN et al., 2020).

Dessa maneira, a manipulação e o uso das nanofibras tem se estendido em vários ramos, tais como: medicina, engenharia de tecidos, engenharia eletrônica, produção de sensores e confecção de roupas protetivas, além de outros. Sua utilização na medicina, propriamente dita, já abrange a confecção de curativos, protótipo de fármacos, curativos e dispositivos hemostáticos, como até mesmo vasos sanguíneos artificiais, regeneração de nervos e tecidos do tipo scaffold 3D (base de suporte produzida pela engenharia de tecidos) para a regeneração. Como também, usos no campo da energia e eletrônica, produção de células fotovoltaicas, baterias e sensores eletroquímicos e de fluorescência óptica, gases bioquímicos e capturadores de aerossóis. (RODRIGUEZ; BEJARANO, 2021).

A eletrofiação é utilizada em dinâmicas diversificadas, pela facilidade de produção de fibras, tanto em escala nano quanto micro, possuindo alta razão de aspecto superfície/volume e não requerendo um grande aparato laboratorial (BARTOLLACI.,2019). Os nanomateriais eletrofiados são promissores e não

requerem instrumentação difícil ou onerosa. Assim, caracterizam-se como uma técnica simples e versátil e que pode possibilitar a adição de extratos de plantas, ou ainda, substâncias distintas associadas à manta a ser produzida, dependendo do objetivo do que será confeccionado, além de serem dotados de alto potencial para reprodução industrial, bem como, uma boa repetibilidade sem maiores custos, reproduzindo, com fidelidade, as características do material almejado (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015)

Além do mais, nanofibras obtidas por eletrofiação demonstram propriedades atrativas, como por exemplo: alta porosidade, grande área superficial e versatilidade quanto ao material empregado. Tais vantagens permitem que elas possam ser empregadas em diferentes aplicações, incluindo engenharia de tecidos, tratamento de água, sensores e possibilidade de associação com substâncias variadas ou extrato de plantas e, além disso, podem ou não conter constituintes isolados, como o poli(ácido láctico), polímero de grande utilização em cosmetologia (GONÇALVES et al., 2017).

Assim, diversas pesquisas têm verificado a viabilidade da associação de biomateriais a extratos de plantas de atividade farmacológica definida e conhecida, para fins de adição de propriedades e respostas benéficas. A escolha do polímero ou da combinação desse varia de acordo com o intuito de aplicação e com as propriedades mecânicas, térmicas e biológicas. A blenda polimérica torna-se uma das maneiras de obtenção de novas e melhores propriedades, a qual consiste na união ou mistura de dois ou mais polímeros com o objetivo de melhorar as propriedades de cada componente de maneira isolada (CHAGAS., 2021)

Em virtude do Brasil ser internacionalmente conhecido por possuir uma grande reserva florestal, uma das maiores biodiversidades do planeta e sua flora conhecida pelo amplo e costumeiro uso em medicina alopática e homeopática, destaca-se uma planta bioativa, coletada no Nordeste do País e que merece destaque por desempenhar uma gama de atividades terapêuticas: a copaíba. Ao longo dos anos, os produtos vegetais vêm ampliando sobremaneira o arsenal terapêutico para cura de doenças e, nesse âmbito, a *Copaífera sp* é tida como um dos exemplos de planta com atividade medicinal bastante promissora e já detentora de diversas propriedades catalogadas e publicadas (ZAMBONINI., 2019).

A partir do exposto, pretende-se desenvolver a produção de blendas através da associação de PLA e extrato etanólico da planta *Copaifera luetzelburgii* (copaíba),

vegetal de ampla distribuição no território brasileiro, em cuja composição já foram identificadas substâncias dotadas de propriedades medicinais diversificadas, tais como: atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antineoplásica, dentre outras (QUEMEL., 2021), bem como verificar a atividade antimicrobiana desse biomaterial, pois acredita-se que a utilização indiscriminada dos antibióticos já disponíveis contribui para a produção de superbactérias que dificultam a ação dos antimicrobianos do mercado. Acredita-se, também, que os constituintes de plantas configuram-se em alternativa para utilização de compostos naturais que tenham ação bactericida, os quais possam se comportar como agentes modificadores de resistência.

2 OBJETIVOS

Produzir e caracterizar membranas eletrofiadas de poliácido láctico (PLA) associado ao extrato etanólico de copaíba (EC) e verificar as suas principais propriedades químicas e antimicrobianas.

2.1 *Objetivos específicos*

- Obter e caracterizar membranas eletrofiadas à base de PLA e EC, aqui denominado PLAEC, nas concentrações de EC de 0,5 % e 1%;
- Caracterizar a estrutura química das mantas, através de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) ;
- Verificar a molhabilidade das blendas nanofibrosas produzidas;
- Verificar a atividade antimicrobiana do PLAEC, através da inoculação de discos (método do antibiograma) frente às bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, *E. fecalis*;
- Averiguar a atividade antifúngica do PLAEC, através da sua inoculação de discos do método de antibiograma na presença do fungo *C. albicans*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 *Biomateriais*

A nomenclatura de biomaterial é dada a uma substância ou combinação de substâncias não medicamentosas, de origem natural ou sintética, que podem ser usadas em substituição a células, tecidos ou órgãos do corpo humano (WILLIAMS, 2019). Dessa maneira, os biomateriais são utilizados com finalidade de recompor ou mesmo substituir alguma parte ou órgão que esteja com a função prejudicada ou sem funcionalidade, pois, conforme a Sociedade Europeia de Biomateriais, são “materiais que objetivam a interação com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (ROSSIN et al., 2020).

Esses materiais são submetidos à técnicas de fabricação de acordo com padrões de qualidade internacionais que tentem a minimizar qualquer possibilidade de falha mecânica e, assim, tem se constituído um ramo muito promissor da indústria farmacêutica devido às diversas vantagens, principalmente no que diz respeito à sua disponibilidade e reprodutibilidade. Nesse sentido, é importante acompanhar a evolução do mercado farmacêutico e/ou nutracêutico, que tende a trazer melhorias ou revolucionar avanços tecnológicos com fins de restauração funcional, regeneração biológica ou apenas incremento de tratamentos (exemplo: membranas biodegradáveis) que são especialmente benéficos no campo dos restabelecimentos funcionais de tecidos, sobretudo da pele e anexos (BERNARDO et al., 2021).

A produção de biomateriais poliméricos em nanoestrutura tem sido muito promissora ao mercado, em virtude da possibilidade de funções diversas, como liberação controlada de medicamentos, regeneração e cicatrização da pele, etc. Com isso, nanofibras de materiais poliméricos vêm, cada vez mais, conquistando notoriedade. As nanofibras são fibras em escala nanométrica de características indispensáveis para aplicações em sistemas biológicos, uma vez que possuem alta área superficial, alta porosidade, propriedades mecânicas notáveis e podem participar na confecção de estruturas tridimensionais (SOUZA., 2021).

Nas últimas décadas, muito tem sido tratado a respeito da utilização de micro/nanofibras poliméricas como excipientes para encapsulamento, liberação de fármacos e partículas inteligentes, bioimplantes e enxertos ósseos com método inovador, haja vista que biomateriais compósitos associam as melhores propriedades físico-

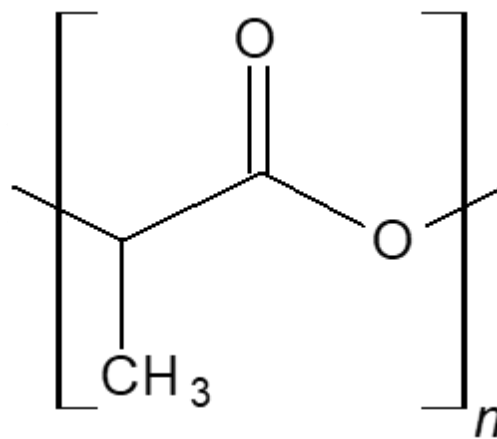
químicas, colaborando com o progresso de estudos aplicados em nanotecnologia e, principalmente, corroborando com a associação dos nanomateriais com polímeros de usos já conhecidos e estudados, o que pode incrementar e aprimorar o uso (AGUIAR et al., 2020; MITSUO., 2022).

3.2 *Poli(ácido Lático) (PLA)*

Diversas pesquisas têm focado na administração de medicamentos utilizando-se de polímeros biodegradáveis como veículos e, também na utilização desses como componentes e mecanismos de regeneração de partes do corpo, em substituição a outras danificadas ou hipofuncionais (BERNARDO et al., 2021).

O poliácido lático (PLA) é um dos mais promissores polímeros, por ser biodegradável e exibir elevados índices de sucesso. É aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e pela *Agência Europeia de Medicina* (EMA) em vários sistemas de administração. Sua estrutura química está explicitada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura química do PLA



Fonte : ACD-LABS (www.acdlabs.com).

O referido polímero comporta-se quimicamente como linear, composto de um carbono α assimétrico (quiral) com dois estereoisômeros D e L, em termos estereoquímicos clássicos. Daí, a partir de L-ácido lático e D-ácido-lático, o PLA pode ser sintetizado como cadeia composta por L-ácido lático (PLLA), por D-ácido lático (PDLA), ou uma mistura racêmica (PDLLA), o que determina quais propriedades ficam assim contempladas dependendo de sua conformação química. Nesse sentido, seu

uso vem despontando na área da saúde, além de apresentar um custo relativatimante acessível (MENDES *et al.*, 2017; LOPES; TORRES., 2020).

Trata-se de um material semissintético, obtido por meio de uma fonte renovável: o ácido láctico, que é usado e produzido por fermentação de carboidratos, como glucose, sacarose, lactose e amido (milho, mandioca, batatas e assemelhados), com *Lactobacillus* (*L. delbreuckii*, *L. helveticus*, *L. amylophylus*, *L. amylovirus*, *L. lactis*, *L. pentosus*) e que, adicionalmente, apresenta características estimulantes e vantajosas, como: biocompatibilidade, biodegradabilidade, flexibilidade, fácil processabilidade e bastante útil e com rica utilização biomédica como compartimento inteligente de liberação controlada, curativos, e na engenharia de tecidos (VIRLAN *et al.*, 2015; MAGINI., 2021; ESKANDARINIA *et al.*, 2019).

Trabalhos recentes têm cada vez mais referenciado o uso de po(li)ácido láctico em forma de placas sendo usados como implantes, pois não se degradam e são absorvidos pelo organismo (BRANDÃO., 2022). Outros, ainda, referem o seu emprego em impressões do tipo 3D e em outros produtos, visto que possui uma ampla resistência, transparência e maior fluidez no manejo. Adicionalmente, apresenta baixas temperaturas para manuseio em processo de extrusão, baixa retração térmica e ausência de odor durante o aquecimento (ROCHA *et al.*, 2020).

Nesse sentido, biopolímeros podem se aliar à técnica de eletrofiação, a qual consiste na aplicação de forças eletrostáticas e de arraste em soluções poliméricas para a formação de fibras ultrafinas e nanofibras que podem ser empregadas como base na formação desses biomateriais. E esses, têm sido cada vez mais úteis e promissores na área médica como substituintes de membranas (bioabsorvíveis), para liberação controlada de fármacos, enxertos, fios de sutura, materiais de fixação óssea, de implantes cirúrgicos ou como coadjuvantes na fabricação de tecidos artificiais (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015; BERNARDO *et al.*, 2021).

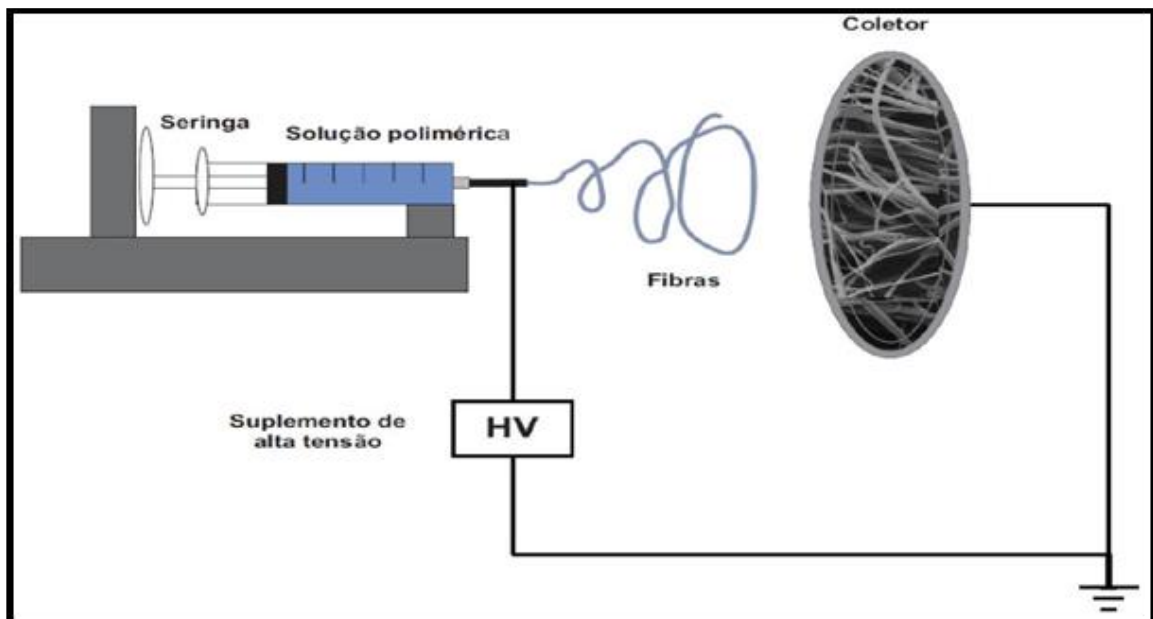
3.3 Técnica de Eletrofiação

Uma das primeiras abordagens sobre este tema foi atribuída a John Francis Cooley (1861-1903), o qual depositou a primeira patente com eletrofiação em 1900 e o classificou como método simples, econômico e com potencial de produção em escala. Essa técnica, que objetiva a produção de fibras poliméricas em escala nano

ou micrométrica por meio de forças eletrostáticas, é atualmente reconhecida e estudada no mundo inteiro (ROSSIN., 2020).

Para produção de um material eletrofiado necessita-se de uma solução polimérica acondicionada em agulha, a qual alimenta uma taxa de fluxo definida de acordo com o objetivo. Assim, com uma seringa conectada a uma fonte de alimentação de alta voltagem sob o campo elétrico com uma voltagem específica, um cone de Taylor é construído pelo alongamento da gota de polímero na extremidade da seringa em uma forma cônica característica. O aumento do campo elétrico causa a formação de um jato constante alongado que jorra por repulsão eletrostática sobre uma placa de metal (coletor). O solvente evapora quando as forças eletrostáticas prevalecem sobre a tensão superficial e o jato fica mais fino, ocasião em que as fibras se depositam sucessivamente no coletor (VAKILINEZHAD et al., 2019; CHAGAS., 2021; RAMATI., 2021; SHI et al., 2021;), esquematizado na Figura 2.

Figura 2 – Aparato experimental da técnica de eletrofiação de laboratório (com agulha)



Fonte: Adaptado de Rossin *et al.*, 2020.

Então, laboratorialmente essa técnica necessita de três componentes principais: fonte de alta tensão, capilar (agulha metálica) e coletor metálico. A corrente contínua de alta tensão é fornecida pela agulha, a qual está em contato com a seringa contendo solução polimérica a ser fiada, enquanto o coletor é aterrado. Quando ocorre formação da gota na ponta do capilar, na presença da alta tensão fornecida pela

agulha, tem-se do cone de Taylor. O cone de Taylor é formado quando as forças eletrostáticas são superiores a tensão superficial da solução e que devido ao campo elétrico formado, propicia o estiramento da gota em forma de fibra e sua deposição aleatória (Figura 2). Da ponta do capilar até o alvo coletor, todo o solvente é evaporado, restando apenas as fibras poliméricas (ROSSIN, 2020).

Algumas propriedades importantes são próprias das nanofibras produzidas por eletrofiação, ressaltando-se, dentre elas: a capacidade de produzir películas/filmes finos extremamente porosos como resultado do emaranhamento das fibras produzidas em um dado intervalo de tempo, a elevada razão área superficial/volume (de até 103 vezes maior do que a razão área superficial/volume no caso das microfibras) e, a possibilidade de incorporar nanopartículas metálicas, células e princípios ativos, a flexibilidade na superfície, e as suas funcionalidades em solução. Aliado a isso, uma tecnologia acessível e ao custo de produção relativamente baixo, se comparado com outras tecnologias (VAKILINEZHAD et al., 2019; AGUIAR et al., 2020; CHAGAS., 2021).

Entretanto, apesar de todos os pontos positivos citados frente aos materiais eletrofiados, existem desvantagens no processo, que podem estar relacionadas a contaminantes que possam inviabilizar o uso do material (produzindo vírus, bactérias, fungos – dentre outros), bem como a taxa de produção muito baixa e deficiência de um potencial produtivo econômico e de aumento de escala, por exemplo: fazendo uso de uma única seringa apenas, o tempo de obtenção do produto nanofibroso eletrofiado é de várias horas. Porém, a adoção de outras metodologias, como multijato, várias agulhas ou sem agulha, permitem confeccionar nanofibras em maior ou mais significativa escala (LI et al., 2013; VAKILINEZHAD et al., 2019).

A possibilidade real de produção de nanomateriais associados a extratos e/ou aditivos externos que possam incrementar a atividade de mantas eletrofiadas, bem como verificar um possível sinergismo de efeito quando associadas a outros biocompostos, colocam os biomateriais em condição de destaque, considerando-se que podem expressar propriedades já conhecidas pelo agente escolhido como coadjuvante, uma propriedade inerente ao meio de confecção da manta ou, até mesmo uma combinação delas, oferecendo tecido/material mais palpável, o que pode contribuir sobremaneira na condução de terapias diversas como tratamentos cicatriciais ou antibacterianos, por exemplo (SCANDARINIA., 2019; LOPES; TORRES., 2020; LI et al., 2021).

3.4 Plantas Medicinais do Brasil

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do planeta, com um número elevadíssimo de espécies vivas, tanto no reino vegetal quanto animal. A flora brasileira é composta por mais de cento e vinte mil espécies diferentes, sendo considerada a maior da terra, representando mais de 20% da mundial. Não só na região amazônica, onde a extensão geográfica já propicia uma ideia do poder da diversidade da flora brasileira, mas também em outras regiões, como a Nordeste, há uma infinidade de vegetais que representam, para uma grande parcela da população, uma vasta fonte de fármacos (TRAVASSOS, 2010).

As plantas medicinais estão presentes nos primeiros registros sobre a medicina antiga, datados de mais de 2500 anos a.C. A historiografia médica aponta alguns nomes como importantes vultos ligados à terapia com plantas, dentre eles: Mitrídates, rei de Ponto, que viveu no século II a.C., como o primeiro farmacologista experimental; Shen-Nung monarca chinês (2838-2698 a.C.), considerado o pai da tradicional medicina chinesa e autor do “*Pen Tsan*” (O Herbário); o egiptólogo Ebers, decifrador do Papiro de mesmo nome, que aborda inúmeros tratamentos com vegetais; e Pedamaos Dioscórides, autor da obra “*Matéria Médica*”, subdividida em cinco livros, nos quais são relatadas mais de 600 plantas e que, embora com caráter empírico, foi considerada a maior fonte de informações sobre tratamento de enfermidades durante séculos (BADKE, 2011).

A grande utilização de plantas e produtos naturais na cura de doenças foi, aos poucos, sendo substituída pelo uso dos medicamentos industrializados, embora nos últimos tempos, este panorama tem sido influenciado por fitoterápicos que têm conseguido um espaço maior no arsenal terapêutico nacional, a partir da busca de alternativas que possam complementar ou auxiliar o arsenal sintético (OLIVEIRA et al., 2009).

Nesse sentido, em um país de extensa flora, que já foi cognominada por muitos estudiosos de “laboratório natural”, por conta da imensidão de plantas com atividades comprovadas ou em processo de estudo, destacam-se espécies como a copaíba, árvore grande e bastante abundante na região Norte e em alguns estados do Nordeste. Além do nome “copaíba”, a árvore deste gênero também é conhecida como copaibeira, pau-de-óleo, copaúva, copaibarana, copaibo, copal, marimari, por ser rica em um azeite oleoso e de cheiro característico, que foi chamado de bálsamo dos

jesuítas. Em muitos lugares do mundo (por exemplo, na França e em toda a América Latina), a árvore é conhecida como “*palo de bálsamo/arbre balsamo*”, em virtude da riqueza do seu óleo (PIERI et al., 2009).

3.5 *Copaíba sp*

As copaibeiras são árvores de grande porte pertencentes a famílias Fabacea e ao gênero *Copaifera spp.*. Possuem crescimento vagaroso e podem alcançar de 25 a 40 metros de altura, em até 400 anos, sendo encontradas abundantemente nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil (COSTA., 2020).

Copaifera spp. demonstra extenso potencial farmacológico, sendo as ações anti-inflamatória, cicatrizante e antimicrobiana referenciadas em diversos trabalhos. Também se destacam as atividades citoprotetora sobre a mucosa gástrica, antitumoral, antiparasitária, antinociceptiva periférica e central, diurética, laxante, antitetânica e antisséptica do aparelho urinário (LIMA et al., 2021).

O óleo-resina é um exsudato vegetal oriundo de pequenos cortes na casca do caule de diversas espécies do gênero *Copaifera spp* e bastante rico (constituído por ácidos resinosos, diterpenos e sesquiterpenos). O uso tradicional desse exsudado se retrata na história antes mesmo da época colonial, espelhando a contribuição do conhecimento produzido por etnias indígenas e africanas. Era, inclusive, usado em lamparinas como combustível e até mesmo em embarcações marítimas pelos colonizadores portugueses (LIMA et al, 2020).

Existem relatos que, desde meados do século XVI, o óleo/resina da copaibeira já era usado pelos indígenas nativos para tratamentos diversos. Essas práticas acabam passando de geração em geração e a sabedoria popular vai dando origem a descoberta de novos medicamentos (DIEFEMBAR.,2018; CAMPOS et al., 2021). PIERI; MUSSC; MOREIRA (2009) relataram que, segundo o Index Kewensis/1996, existem 72 espécies catalogadas desta planta, sendo 16 delas encontradas aqui no Brasil. Assim, dentre os exemplares brasileiros, destacam-se *Copaifera multijuga* Hayne (Amazônia), *Copaifera confertiflora* e *Copaifera luetzelburgii* (Piauí), *Copaifera cariacea* (Bahia) e *Copaifera cearensis* (Ceará). E o óleo resina em si, é proveniente tronco dessas várias espécies .

O óleo de copaíba, maior detentor de suas propriedades medicinais, é constituído de 45% de óleos essenciais e 55% de resina e compõe-se de uma estrutura química formada por vários diterpenos, sesquiterpenos e ácido polilático. Quanto aos seus efeitos, por ocasião desses constituintes, os estudos expõem propriedades anti-inflamatórias, antissépticas, antimicrobianas, germicida, antitumoral, analgésica, diurética, expectorante e cicatrizante, principalmente, dependendo da espécie e da temporada (ARAÚJO., 2022)

De acordo com estudos bem atuais, a composição exata do óleo copaibeiro pode variar de acordo com a estação do ano, a região do Brasil e a espécie em questão. Por exemplo: *C. reticulata* apresentou variação em sua composição entre a concentração de compostos químicos nas estações seca e chuvosa. Assim, os sesquiterpenos podem representar cerca de 90% da composição, mas diferem nas quantidades e concentrações dos componentes em diferentes situações. Estudos também apontam que as propriedades anti-inflamatórias estão relacionadas à presença de β -cariofileno. Então, essas e outras atividades biológicas podem estar relacionadas à presença de diferentes moléculas em distintas quantidades (MAURMANN et al., 2022).

Desse modo, devido às propriedades já conhecidas da copaíba, juntamente com a necessidade de estudos que acrescentem as várias teorias populares, verifica-se a importância em conhecer mais acerca das atividades do óleo resina da planta, principalmente associado à técnica de eletrofiação, na intenção da produção de biomaterial sólido, biodegradável, útil e barato que ainda possa desempenhar prováveis atividades do tipo antibacteriana e até regeneradora e cicatrizante, por exemplo (LIMA et al., 2022). Pois, este óleo, também conhecido por bálsamo, é um produto natural de alta empregabilidade na indústria cosmética e farmacêutica, porém ainda carece de conhecimentos acerca de suas propriedades fitoquímicas e antimicrobianas, especialmente quando associados às mantas eletrofiadas, assunto ainda não abordado nas bases de dados da literatura.

3.6 Bactérias e Fungos

3.6.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria pertencente à grande família *Enterobacteriaceae*, do gênero *Escherichia*, classificada como comensal, pois vive normalmente no intestino de humanos e de alguns animais, sem que haja qualquer sinal evidente de doença e de grande visibilidade na saúde mundial em decorrência da quantidade de doenças entéricas capaz de causar. Entretanto, alguns tipos de *E. coli* podem ser malélicas e quando adentram ao organismo por meio de alimentos contaminados, podem causar sérios danos à saúde e gerar doenças, como gastroenterites com diarreia intensa e com muco ou severas diarreias sanguinolentas, além de infecções urinárias, setpcemias, etc (SOUZA et al., 2016).

Existem alguns tipos de *E. coli* que causam infecções intestinais de maior gravidade, exemplificadas por: *E. coli* enterotoxigênica, enteroinvasiva, enteropatogênica e enterohemorrágica. Estes tipos podem ser identificados na pesquisa parasitológica de fezes comum, principalmente em caso de crianças, gestantes, idosos ou imunodeprimidos (BONA et al., 2014; DRUMOND et al., 2018). Além de infecções intestinais, a *E. coli* também pode ser responsável por infecções urinárias, principalmente em pacientes do sexo feminino, sendo importante que seja tão logo identificada por meio de exame microbiológico de urina específico para que seja iniciado o tratamento antimicrobiano adequado. Dessa maneira, acaba sendo fonte de contaminação para o homem e para o ambiente, em decorrência dessa sua fácil transmissão fecal-oral e assim, constitui-se em assunto de interesse em saúde pública (SOUZA et al., 2016).

Estudos recentes apontam que o contato entre seres humanos e animais podem contribuir para a transmissão entre espécies de cepas *E. coli* produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e lactamases do tipo AmpC, que são cepas resistentes a antimicrobianos considerados de espectro ampliado (SOARES et al., 2022).

Assim, a partir da década de 1980 começou-se a perceber que os antibióticos existentes no mercado já não estavam mais aptos a tratamentos com infecções produzidas por *E coli*, devido a produção de enzimas inativadoras dos antimicrobianos disponíveis: as betalactamases. A partir de então, começaram a ser introduzidos no

mercado farmacêutico, novos antimicrobianos com potencial de ação contra diversos micro-organismos, sendo chamados antimicrobianos beta lactâmicos de amplo espectro. E essas conferem resistência principalmente às cefalosporinas, além dos monobactâmicos, dotados da capacidade de clivar a ligação amida do anel β -lactâmico e dificultar a ação do fármaco (SILVEIRA et al.,2022).

3.6.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é uma bacilo gram-negativo, aeróbio, móvel, encontrado em animais, plantas, solos, reservatórios de água e no ambiente hospitalar, como chuveiros, pias e águas de banheiros. É a espécie bacteriana oportunista mais associada a infecções nosocomiais e a pacientes imunocomprometidos (CORREIA, 2018).

Considera -se que *P. aeruginosa* é preponderante entre 7,1% a 7,3% no universo de todas as infecções relacionadas à saúde e, em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e as principais manifestações induzidas por este bacilo englobam pneumonia, infecções do trato urinário e de sítio cirúrgico e sepse (LIMA, 2022).

No Brasil, essa espécie chama atenção por ocasionar infecções de origem hospitalar, sendo considerada o patógeno mais prevalente associado à pneumonia nosocomial e a terceira em infecção primária da corrente sanguínea em UTIs. Além disso, é considerada pela comunidade científica internacional como um patógeno multirresistente, visto que se comporta como produtora de betalactamases, bem como outras enzimas encarregadas de inativar a ação de antibióticos de uso clínico (FIGUEIREDO et al., 2021).

Esta bactéria, com essa evidência de resistência intrínseca a diversos antimicrobianos, pode ser classificada como uma “superbactéria” que ameaça à saúde pública global, implicando no aumento de custos com tratamentos, morbidade e mortalidade, principalmente em UTIs e internações de longa permanência. Além da produção de enzimas betalactamases, inativadoras dos fármacos betalactâmicos, podem ativar bombas de efluxo, alterar sítios protéicos (porinas) e modificar os sítios-alvo (LIMA et al.,2022).

Essa característica, associada à sua multirresistência natural a um elevado número de antimicrobianos, a torna uma bactéria de grande importância para estudos na comunidade científica. Além do mais, em virtude dos desafios nos tratamentos atuais das infecções, fica notável a necessidade de encontrar novas substâncias capazes de combater microrganismos cada vez mais resistentes (SIQUEIRA et al., 2019).

Para a OMS, o problema da resistência aos antibióticos é muito sério e ela preconiza que até 2050 este problema causará em torno 10 milhões de óbitos, anualmente, em todo o planeta. Nesse contexto, *P. aeruginosa* é considerada uma bactéria de perfil de resistência bastante elevada. Assim, o tratamento das infecções causadas por estes microrganismos é um grande desafio para o campo médico e, exige a busca de novas substâncias de outras fontes, incluindo as de origem vegetal (ALVES et al., 2022; LIMA., 2022)

3.6.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria esférica, integrante do grupo dos cocos gram-positivos, frequentemente encontrada na pele e mucosas de humanos e animais, sobretudo na nasofaringe de pessoas saudáveis. Contudo, pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção (acnes, furúnculos e celulites) até casos graves como: pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, sepse e outras (CORREIA, 2018).

É considerado o principal patógeno humano e é responsabilizada por infecções, variando de assintomáticas a polissintomáticas, devido a capacidade de dispersão principalmente em ambiente hospitalar, produção de toxinas e resistência a antibióticos, como as cepas ORSA (*Staphylococcus aureus* resistente a Oxacilina), além de ser responsável por casos de infecção hospitalares graves, como a conhecida Síndrome da pele escaldada com alto índice de mortalidade e morbidade, principalmente em recém-nascidos (TORRES et al., 2017).

Infecções causadas por *Staphylococcus* sp. tem causado sérios problemas dentro e fora do ambiente hospitalar, por se tornarem cada vez mais resistentes, em função do uso indiscriminado de antibióticos e por serem produtores de toxinas. As toxinas

são proteínas produzidas e secretadas ou expostas à superfície pela bactéria cuja atividade é prejudicial e/ou destrutiva para as células humanas. Dessa maneira, a alta capacidade de produção das mais variadas toxinas pela espécie em questão, a classifica como um problema de saúde que merece especial atenção no meio científico, especialmente o hospitalar. Nesse sentido, as taxas de infecções estafilocócicas tem sido ascendentes nos últimos anos, frente ao advento da resistência aos antimicrobianos, devido a sua capacidade de desenvolver genes de patogenicidade e capacidade de adaptação à resposta do hospedeiro (MOTA et al.,2022).

3.6.4 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis é uma espécie de bactéria gram positiva, coagulase negativa, pertencente ao gênero *Staphylococcus*, que se arranja em cachos e tétrades. Por muito tempo, foi considerada uma espécie comensal, porém sabe-se que ela é um patógeno oportunista, responsável principalmente por infecções hospitalares, através de cateteres, sondas (material de plástico) bem como próteses, devido a sua capacidade de formar biofilmes (CORREIA., 2018).

Uma vez em contato com o hospedeiro, essas bactérias se multiplicam, formando camadas e produzem polissacarídeo extracelular, conhecido como biofilme, que aumenta seu poder bacteriano e favorece a aderência e manutenção dos outros microorganismos, além de promover barreira à ação dos antibióticos e às células do sistema imunológico (CORREIA., 2018).

Os biofilmes bacterianos dificultam a chegada de antimicrobianos e até mesmo de células fagocíticas ao foco de infecção. A concentração de antibiótico requerida para destruir bactérias nessa ocasião é muito maior do que a necessária para destruir as mesmas espécies em infecções ditas normais, dificultando o tratamento, os custos com medicamentos e aumentando a possibilidade de infecções recorrentes, uma vez que as bactérias ficam protegidas do sistema imune do hospedeiro, sendo a formação de biofilme considerada um fator de virulência bem importante. Uma observação interessante, nesse contexto, é que a formação desses biofilmes foi um fator responsável pela co-infecção *S. aureus* o vírus SARS COV, fator que provavelmente acelerou a morte de milhares de pacientes nos leitos de UTIs

durante as internações por COVID-19 durante o período pandêmico (ARAÚJO et al., 2021).

Outro ponto importante para o poder patogênico dessa espécie se deve à sua capacidade de aderir a superfícies e permanecer ali através de determinantes que promovem a sua persistência no hospedeiro. Por ser um micro-organismo ubíquo, *S. epidermidis* pode ser um importante transportador e reservatório para genes de resistência antimicrobiana, podendo transmiti-los a outras bactérias, o que justifica, além dos outros pontos expostos, a necessidade de estudos para posterior desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas (CORREIA, 2018).

3.6.5 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis é uma bactéria Gram-positiva não esporulada comensal (da flora normal) do sistema digestivo humano e de outros mamíferos que se dispõem em cachos curtos. Amplamente encontrada no ambiente, pode causar infecção urinária, meningite e bacteremia, especialmente em ambientes hospitalares (NARANG, NARANG., 2017).

E. faecalis podem ser móveis, facultativamente anaeróbicas, catalisam diversas fontes de energia e, normalmente, são encontradas no sistema digestivo e no trato genital feminino. Podem estar no solo, na água e nas plantas. Formam cadeias curtas e pares e podem parecer cocobacilares em alguns cultivos. Sobrevivem em ambientes aversivos, incluindo pH extremamente alcalino (9,6) e elevadas concentrações de sal. Resistem a sais biliares, detergentes, metais pesados, etanol, azida e a dessecação. Podem crescer no intervalo de 10 a 45 °C e sobreviver a temperaturas de 60 °C, durante 30 min. O destaque na sua ação patogênica advém da capacidade de produção de substâncias de agregação e adesinas de superfície, o que os torna característicos da mucosa oral (OLIVEIRA et al., 2009; RAMOS., 2020).

De acordo com FIGUEIREDO et al, 2016, espécies de *Enterococcus* permaneceram por muitos anos como bactérias sem importância clínica, pois são colonizantes naturais do trato gastrointestinal dos seres humanos e animais e apresentam uma baixa virulência em comparação com outros microrganismos gram positivos. Contudo, atualmente, tem se mostrado como patógenos hospitalares de relevância clínica e epidemiológica, devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos

de amplo espectro e dispositivos invasivos, como cateteres hospitalares.

Esta bactéria constitui cerca de 85 a 90% das espécies de *Enterococcus* identificados nos humanos, sendo uma espécie bastante propensa ao desenvolvimento de resistência a antibióticos. Além do mais, uma observação interessante é que as infecções podem acontecer por um mecanismo de transmissão endógeno, através da ação de isolados da própria microbiota normal do paciente; ou por um processo exógeno através da troca de microrganismos de paciente/paciente ou profissional/paciente ou, ainda, pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados. Desta forma, alguns fatores relacionados com o microrganismo e o hospedeiro são importantes para que *Enterococcus* colonizantes da microbiota humana possam fazer um papel de patógeno potencial em infecções relacionadas à assistência à saúde (XAVIER JÚNIOR., 2011; DAMASCENO., 2022).

Já foram relatados exemplares intrinsecamente resistentes a uma grande quantidade de antibióticos, ou providas de mecanismos adquiridos por processos de mutações e/ou a aquisição de genes por conjugação utilizando plasmídeos. A partir desse processos de resistências aos antimicrobianos, percebe-se menor suscetibilidade aos aminoglicosídeos, à ampicilina e à vancomicina, dificultando a escolha da opção terapêutica mais eficiente. Outro aspecto importante relacionado aos mecanismos de resistências aos antimicrobianos, principalmente relacionado à vancomicina, é a capacidade de transferência de genes resistentes para outras bactérias gram positivas, como *S. aureus* (FIGUEIREDO., 2017).

3.6.6 *Candidas albicans*

C. albicans é uma espécie de fungo diplóide que causa, oportunamente, alguns tipos de infecção, sobretudo oral e vaginal, nos seres humanos. As infecções causadas por fungos emergiram como uma das principais causas de morte em pacientes com algum tipo de imunodeficiência (como é o caso dos portadores de HIV e os que estão sendo submetidos à quimioterapia antineoplásica. Além disso, esse fungo pode ser perigoso para pacientes cuja saúde já esteja enfraquecida, como aqueles de unidades de tratamento intensivo. Devido a estes fatores, a *C. albicans* tem despertado grande interesse das pesquisas na área de saúde (PEREIRA. , 2012).

A *C. albicans* está entre os muitos organismos que residem na boca e no

sistema digestivo humano. Em circunstâncias normais, pode ser encontrada em 80% da população humana sem que isso implique em quaisquer efeitos prejudiciais a saúde, embora a infecção resulte em uma enfermidade chamada Candidíase (PERES., 2010)

4 MATERIAL E MÉTODOS

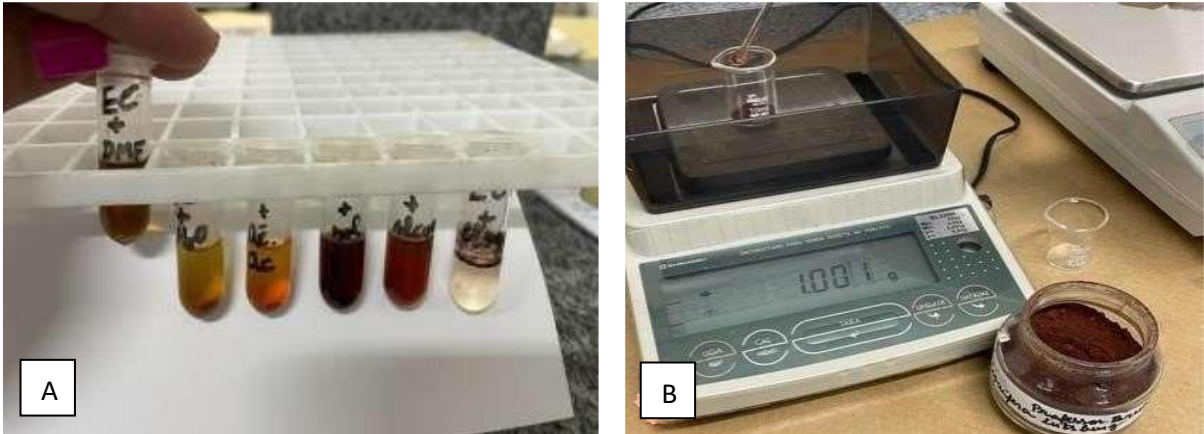
4.1 *Produção do extrato etanólico de copaiba (EC)*

As cascas de *Copaífera luetzelburgii* Hamrs foram coletadas no mês de outubro do ano 2021, na comunidade Quilombola dos Macacos, localizada a 26 km do município de São Miguel do Tapuio, no estado do Piauí. As exsiccatas da planta foram identificadas e armazenadas no Herbário Graziela Barroso, da Universidade Federal do Piauí - UFPI, sob o Registro nº 26.235. As cascas da planta foram secas em uma estufa de circulação de ar forçada (Centro de Ciências Agrárias – UFPI) durante 72 hs a uma temperatura máxima de 45 °C (± 1) e trituradas em moinho tipo Willi. Em seguida, extraídas com etanol P.A. em 4 etapas consecutivas, à temperatura ambiente, com rotaevaporação subsequente para a obtenção do extrato concentrado e, posteriormente, liofilizado (criodessecação – CCA-UFPI)

4.2 *Teste de solubilidade para EC*

Esse teste foi realizado no laboratório de pesagem da Universidade Brasil, campos Itaquera. Para ele, preparou-se 6 (seis) soluções a partir de diferentes solventes orgânicos e inorgânicos e pó liofilizado de EC em microtubos (eppendorfs) a fim de avaliar a solubilidade e dispersão do pó de *C. luetzelburgii*. Para esse fim, adicionou-se 0,01g do extrato, pesado em balança analítica, a 1mL dos solventes: dimetilformamida (DMF), água, ácido acético, solução hidroalcoólica 70%, álcool a 70% e clorofórmio, respectivamente (Figura 2) e deixou-se em repouso por um tempo de 20 minutos.

Figura 3 – Teste de solubilidade do EC em DMF, água, ácido acético, solução hidroalcoólica 70%, álcool a 70% e clorofórmio (A) a partir do extrato liofilizado (B)



4.3 Preparação da membrana de PLA e EC através da técnica de eletrofiação

A síntese da membrana (ou manta) foi feita no Laboratório de Eletrofiação/ Sala de Bioimpressão localizada no Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, unidade Itaquera. Para tal, posteriormente ao teste da solubilidade, preparou-se a solução controle de PLA. Pesou-se 1 g de PLA em um frasco âmbar e acrescentou-se em seguida 7 mL de clorofórmio. A mistura resultante foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética constante. Depois de 20 minutos, 3 mL de DMF foram adicionados ao frasco e a solução resultante foi deixada em agitação magnética por mais 1 hora, até a total solubilização.

Em seguida, foi novamente feita a pesagem de 1 g de PLA, colocando em dois frascos âmbar e acrescentando 7 mL de clorofórmio em cada frasco, deixando-os à temperatura ambiente e agitação magnética constante durante 20 min. Logo depois, pesaram-se 0,5 g e 1 g do pó liofilizado EC, colocando-os em seus respectivos frascos e acrescentaram-se 3 mL de DMF em cada frasco, deixando-os em agitação magnética por mais 1 hora. Após todo esse processo, preparou-se o sistema de eletrofiação e iniciou-se o processo.

Figura 4 – Material usado para a síntese da membrana ou manta: (A) PLA; (B) Extrato de copaíba a 0,5% e a 1,0%



Fonte: Autoria própria, 2021.

A confecção da manta de PLA com copaíba (PLAEC) nas concentrações de 0,5 e 1 % ocorreu por meio de um suporte com seringa acoplada verticalmente, o qual continha a solução (em torno de 30 microlitros) de polímero com extrato gotejado através uma agulha metálica de 1cc fixos em uma matriz, distante 10 cm do coletor aterrado metálico e submetidos a tensões elétricas que variavam entre 15,0 e 15,8 kV, por um tempo calculado entre 1 e 1,5 hora (FIGURA 5). Todo o processo de eletrofição foi baseado e adaptado dos protocolos de SALLES et al.,2017.

O aumento da tensão gradativa aplicada à agulha, fazia a solução presente na seringa (contendo cargas elétricas) começar a gotejar de modo que cada gota, em resposta à tensão elétrica, culmina em um jato polimérico extremamente fino (ROSSIN et al., 2020; PENNE, 2022).

A placa metálica recoberta por papel alumínio (coletor aterrado) utilizada como contra-eletrodo é o local de armazenamento da manta eletrofiada. O suporte fica em posição vertical do interior de uma capela com exaustão, sendo a solução polimérica submetida à ação gravitacional (Figura 5).

Figura 5 – Sistema de eletrofição com coletor de recepção da manta eletrofiada



Fonte: Autoria própria, 2021.

4.4 Caracterização do Material Eletrofiado

1.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

A espectroscopia FTIR foi utilizada para identificar as estruturas químicas dos componentes das membranas. As análises foram realizadas em equipamento da marca Thermo Nicolet Nexus 470 com transformata de Fourier usando o modo de reflectância atenuada (ATR). Os espectros foram coletados na faixa de 4000-500 cm^{-1} com um total de 64 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} .

4.4.1 Ângulo de contato

A molhabilidade das membranas foi analisada utilizando-se o goniômetro da marca KSV instruments modelo CAM 200. Para identificar os ângulos de contato entre a água e as membranas, as mesmas foram acopladas em uma placa (lâmina de microscópio) e posicionadas centralmente a seringa. Depois de inserida a gota sobre a superfície da membrana, as imagens foram capturadas e os ângulos medidos pelo

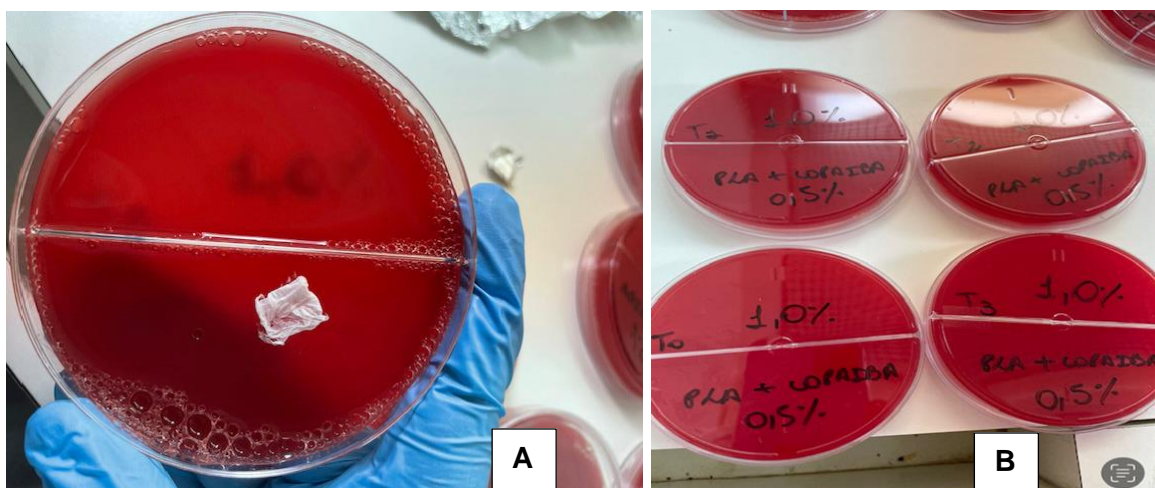
software. As medidas foram realizadas em triplicata (três gotas do mesmo volume) e os valores calculados através da média de 10 medições na mesma gota, obtidas automaticamente pelo software. O erro foi obtido através do cálculo de desvio padrão.

4.5 Esterelização das Membranas (Nanofibras eletrofiadas)

As membranas PLA e PLAEC foram, antes dos testes microbiológicos, submetidas ao processo de esterelização. Todo esse procedimento foi feito no Laboratório Central de Saúde Pública Dr Costa Alvarenga- LACEN, em Teresina, Piauí.

Para isso, as blendas foram divididas (cortadas) em pedaços de 4 cm², os quais foram colocados numa capela de fluxo laminar com luz ultravioleta e com potência de 15 W (0,30, 60 e 90 min). Posteriormente, os cortes de mantas foram transferidos para placas de petri com meio de cultura ágar sangue, a fim de verificar possível crescimento de qualquer microorganismo. O processo de incubação foi 24 h e em estufa microbiológica a 37 °C.

Figura 6 – Membranas de PLA e PLAEC 0,5% e 1% (em tamanho de 4 cm – Figura A), semeada em ágar sangue, por 24 horas, em estufa a 37°C – Figura 6B.



Fonte: Autoria própria, 2021.

4.6 Análise microbiológica

O ensaio foi realizado no setor de microbiologia do LACEN-PI, baseado no protocolo do Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos – BrCAST., 2022. Para realização do antibiograma, foram usados discos cortados partir das membranas eletrofiadas de PLA em tamanhos de discos padrões do protocolo (diâmetro de 6 mm) e separados como grupo controle (PLA puro) e PLAEC 0,5% e 1%, obtidos com o auxílio de um perfurador de papel de filtro, submetidos a um processo de esterilização por radiação ultravioleta (UV), por 90 min e discos de antibióticos padrões de antibiograma (controle positivo), amicacina para bactérias Gram negativas (–) e teicoplanina para Gram positivas (+). Os micro-organismos utilizados no teste foram cepas bacterianas Gram positivas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Enterococcus faecalis* (ATCC BAA-2573); Gram negativas de *Escherichia coli* (ATCC 25922 – enterobactéria) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27953 – não fermentadora de glicose) e o fungo *Candida albicans* (ATCC 76645).

As colônias bacterianas e a fúngica foram previamente cultivadas em meios de cultura ágar sangue e ágar MacConkey, respectivamente. Em seguida, com auxílio de uma alça de inoculação estéril e descartável, as colônias foram pinçadas e diluídas em salina estéril até atingir o grau de turbidez de 0,5 na escala de McFarland (cerca de 1 a 2×10^8 UFC/mL). Posteriormente, as soluções foram semeadas em placas 150 x 15 mm de ágar Mueller Hinton com o auxílio de swabs estéreis. Após o semeio, foram colocados os discos de: PLA controle, PLAEC a 0,5%, PLAEC a 1%, acrescidos à cada placa contendo as amostras dos micro-organismos já especificados.

Como controle positivo, foi feito semeio dos discos de amicacina nas placas com bactérias Gram (–) e teicoplanina nas placas com bactérias Gram (+), conforme já mencionado. Não foi usado controle positivo para fungos. Posteriormente, essas placas foram colocadas em estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, para avaliação da sensibilidade dos microrganismos frente aos discos utilizados. Cada etapa da análise microbiológica foi realizada em triplicata.

4.7 Análise de Dados

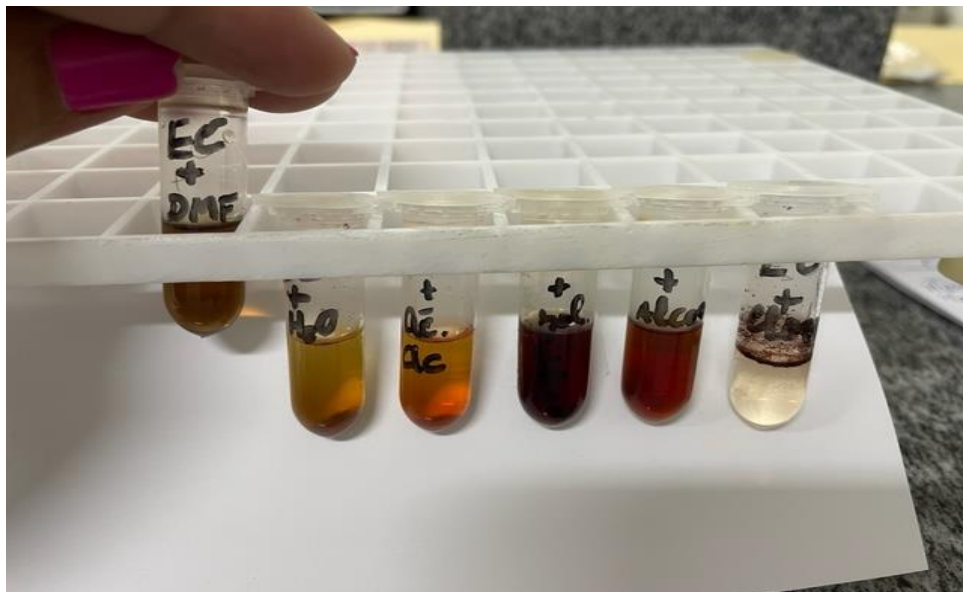
Os dados obtidos com a medição dos halos resultantes da inoculação dos discos de PLA ou PLA+EC foram tratados com o sistema *Graph Pad Prisma* versão 8.0 e foi realizada a análise de variância (ANOVA) para identificar diferenças entre tratamentos e a avaliação de quais grupos diferiram, foi feita pelo teste paramétrico de Kruskal Wallis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teste de solubilidade

No teste de solubilidade do EC, verificou-se que todas as soluções mostraram um pó sedimentado (corpo de fundo) ao fundo do ependorf, exceto a solução de clorofórmio que mostrou material residual flutuante e o da solução de DMF, o qual se mostrou completamente diluída. Verificou-se, assim, que todas as soluções se comportaram como miscíveis ao extrato, com ênfase no DMF (totalmente miscível), vindo, em seguida, o clorofórmio.

Figura 7 – Teste de solubilidade do EC em DMF, água, ácido acético, solução hidroalcoólica 70%, álcool a 70% e clorofórmio



Fonte : Acervo individual do autor

O resultado da solubilização entre duas substâncias químicas é decorrente das interações entre o soluto e solvente. Trata-se, portanto, de uma interação física (molecular) importante que desempenha um papel fundamental no comportamento dos compostos orgânicos. Esse é um assunto de importância em diversas áreas da ciência, como por exemplo: biologia de materiais, ciências farmacêutica e ambiental. Além do mais, o conhecimento da solubilidade mostra-se essencial para previsão do destino ambiental de contaminantes e poluentes, processos de adsorção no solo e

fatores de bioconcentração de agrotóxicos, dentre outros (MARTINS, LOPES e ANDRADE.,2013).

Nesse contexto, a solubilidade da copaíba a todos os solventes testados, em maior ou em menor grau é resultante da sua estrutura química complexa e rica. O óleo (presente em quase todas as partes da planta, inclusive nas raízes) é uma mistura de terpenos de variados pesos moleculares. Os mais leves, líquidos à temperatura ambiente, solubilizam os mais pesados, resinosos. No caso do óleo-resina de copaíba, os terpenos leves são sesquiterpenos, principalmente o cariofileno e seus derivados e isômeros, e os pesados são ácidos di terpênicos de esqueletos labdano, clerodano e caurano (LIMA et al., 2020).

Os principais constituintes químicos desse óleo resinoso são descritos em diversos trabalhos, nos quais várias técnicas foram empregadas para sua identificação, desde as mais antigas, até as mais modernas, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, ou HPLC, do inglês high performance liquid chromatography), com colunas cromatográficas de fase estacionária quiral. Assim, o óleo da copaibeira é basicamente uma mistura de sesquiterpenos e diterpenos, β -cariofileno e ácido copálico (copálico e acetóxi-copálico), agático, hardwickiico, poliáltico e o óxido de cariofileno, os quais participam da composição química de quase todos os já descritos, em maior ou menor grau, pois a quantidade desses compostos de maneira isolada dependem da espécie, da região, clima e solo onde é encontrada a árvore. O certo é que, os constituintes são majoritariamente considerados como ácido graxos simplesmente e, dessa maneira, fica fácil compreender sua solubilidade em solventes orgânicos, como por exemplo o clorofórmio, visto que tem afinidades por partículas apolares, daí a boa dissolução do PLA, o que o torna em posição de destaque na escolha para a produção de mantas eletrofiadas (LIMA et al.,2020; SAMPAIO., 2022). Inclusive, diversos estudos têm sido realizados com polímeros para a obtenção de fibras e um dos polímeros mais escolhidos é o PLA, poliéster, biodegradável em meios biológicos e majoritariamente hidrofóbico (ALMEIDA.,2021).

Portanto, a relação solubilidade EC em água deve-se ao fato da riqueza de sua molécula em compostos polares (do extrato), como ácidos carboxílicos, acetóxi-copálico, agático, hardwickiico, poliáltico e o óxido de cariofileno, além de compostos nitrogenados, que permitem ligações químicas à molécula da água, fator que justifica a facilidade em adulteração desse produto, a fim de gerar maior lucro no comércio.

Acontecem adulterações do óleo de copaíba com produtos de menor valor agregado, com o objetivo de diluir o óleo e aumentar quantidade. Estas adulterações já eram descritas desde o começo do século em todos os lugares do mundo, onde o produto era exportado, misturado com óleo de madeira e água. Atualmente, ainda é comum a comercialização do produto da copaibeira diluído com água. Essas adulterações devem ainda ser somadas àquelas praticadas pelos laboratórios farmacêuticos, que utilizam óleos vegetais comestíveis como a soja e o milho para a diluição “clandestina” (MEDEIROS., 2019).

Ademais, o extrato utilizado é de característica etanólica e o etanol, C_2H_5OH , é um composto polar, muito solúvel em água, uma vez que as interações dipolo-dipolo que se estabelecem entre as moléculas de água e as de etanol (ligações de hidrogênio) são da mesma ordem de grandeza das atrações entre as moléculas do etanol, justificando o sucesso da solubilidade (MARTINS, LOPES e ANDRADE., 2013).

A partir do exposto, entende-se que a escolha do solvente para a produção das membranas é uma etapa fundamental, pois a polaridade desta substância determina a condutividade, o que pode acelerar ou atrapalhar no processo de eletrofição e formação das mantas (CASASOLA et al., 2014).

5.2 Mantas de PLA e PLAEC

Através do processo de eletrofição, produziram-se mantas de PLA e PLA associado à extrato de copaíba (PLAEC) em duas concentrações diferentes (PLAEC 0,5% e PLAEC 1.0%), podendo-se observar nitidamente as similaridades de cores das mantas PLAEC em relação à coloração do extrato de copaíba (Figura 8 A, B e C).

Figura 8 – Mantas de PLA: pura (A) e associadas a EC, PLAEC 0,5% (B) e PLAEC 1% (C).



Fonte: Autoria própria.

5.3 Teste de esterilização

Objetivando uma correta e confiável utilização das mantas eletrofiadas no teste de antibiograma, essas foram submetidas a um processo de esterilização em UV e semeio em ágar sangue, a fim de avaliar possível contaminação.

O resultado deste processo foi positivo, no sentido de que as placas de ágar sangue contendo as mantas PLA controle, PLAEC 0,5% e PLAEC 1%, nos diferentes tempos, T0 (0'), T1 (30'), T2 (60') e T3 (90'), não apresentaram crescimento microbiano, indicando ausência de contaminação externa.

Figura 9 – Prova de esterilização das mantas produzidas



Fonte: Autoria própria

Entende-se por esterilização a eliminação total de todos os tipos de microorganismos, incluindo bactérias, leveduras e vírus. Pode ser realizada por mecanismos físicos e/ou químicos que inativam todos as formas de vida microbiana. Nessa conjuntura, a irradiação ultravioleta é classificada como um processo de esterilização de *Scaffolds*, e, igualmente usada para esterilizar superfícies de materiais e descontaminação de ambientes (FRANCISCO., 2019)

Ainda de acordo com Francisco.,2019 o processo de esterilização por luz ultravioleta possui diversas vantagens: baixa temperaturas, processo rápido, de baixo

custo, sem deixar resíduos tóxicos. Porém, se houver exagero na incidência de radiação, podem acontecer alterações nas propriedades estruturais e bioquímicas do material.

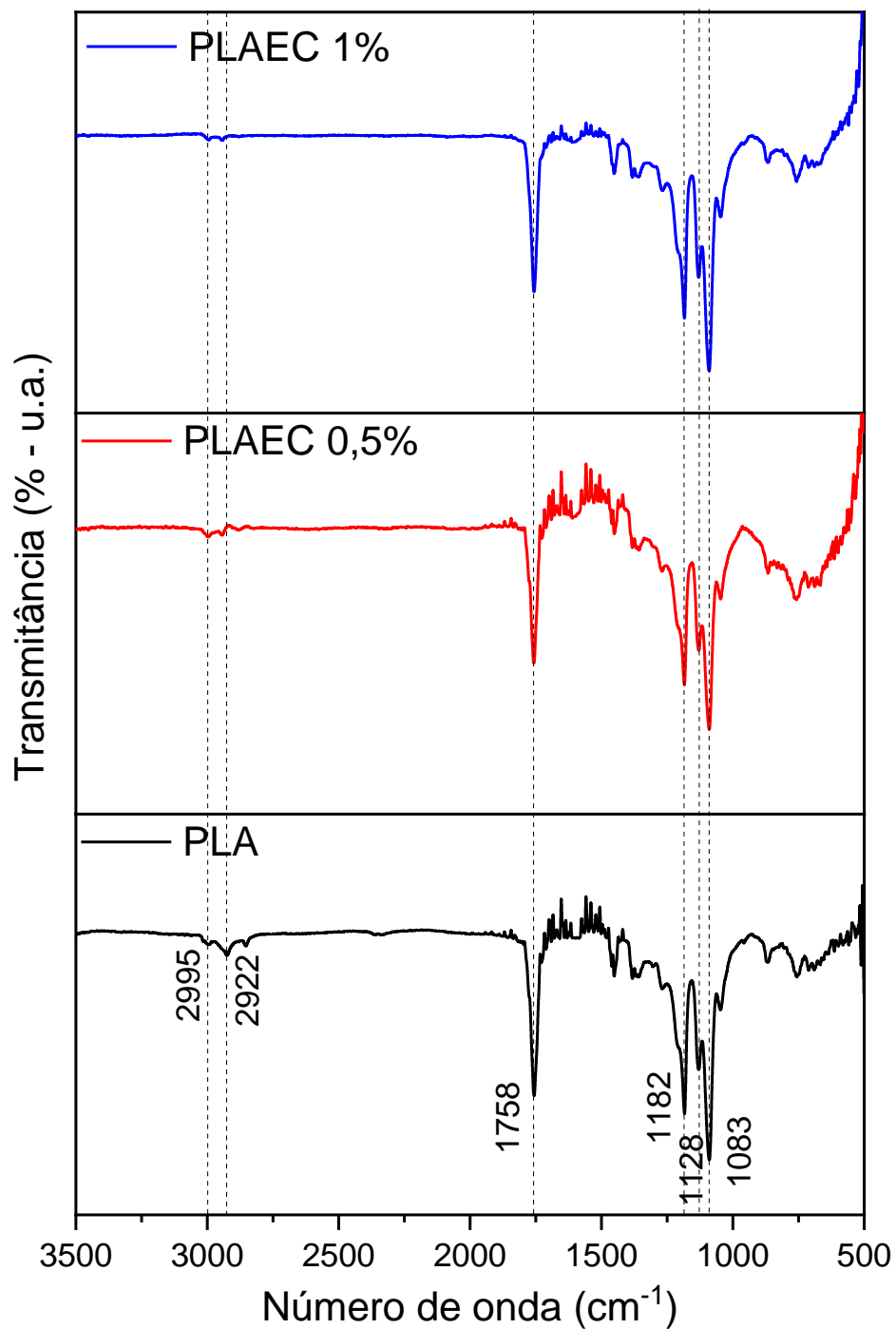
5.4 Caracterização das Membranas

5.4.1 FTIR

Espectros FTIR foram obtidos a fim de se caracterizar os grupos químicos dos materiais formadores das membranas, conforme mostra a Figura 10. Para todas as amostras foi possível observar as bandas relativas às vibrações dos grupos funcionais do PLA, entre as quais podemos destacar: as bandas centradas em 2995 cm^{-1} e 2922 cm^{-1} associados a vibrações de CH_2 , a banda em 1758 cm^{-1} referente à ligação $\text{C}=\text{O}$ e as bandas centradas em 1182 cm^{-1} , 1128 cm^{-1} e 1083 cm^{-1} associadas as vibrações do grupamento $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (LOCILENTO., 2018).

A presença de bandas centradas no intervalo próximo de 1300 a 1000 cm^{-1} sugerem grupo alquil/aril éster ($\text{nC}-\text{O}$) e, a presença de uma banda de absorção em 1758 cm^{-1} ($\text{nC}=\text{O}$) em conjunto com a anteriormente relatada ($\text{nC}-\text{O}$), é indicativa da função éster. Dessa maneira, analisando-se essas duas bandas, é possível sugerir que as mantas têm uma função mista – éster e fenol (LOPES., 2020). Todas as bandas foram atribuídas em acordo com a literatura (LOCILENTO, 2018; LOPES, 2020; de DEUS, 2021)

Figura 10 – Espectros de FTIR das mantas eletrofiadas de PLA, PLAEC 0,5% e PLAEC 1 %



Fonte: Autoria própria.

Os espectros observados para as nanofibras contendo PLAEC foram semelhantes ao obtido para o PLA puro, o que pode ser relacionado à sobreposição das bandas ou à baixa concentração de copaíba associada (protocolo). O mesmo comportamento foi observado nas nanofibras contendo copaíba a 0,5% e a 1%,

demonstrando que o PLA incorporou de maneira bastante eficaz às duas diferentes concentrações do extrato etanólico e que se comporta como um veículo positivo para desempenho do extrato associado em questão (LOCILENTO., 2018).

5.4.2 Ângulo de Contato

A hidrofiliidade/molhabilidade é um aspecto importante nas aplicações práticas de materiais desenvolvidos para uso na área biomédica. Baseado nisso, a hidrofiliidade das membranas foi avaliada através da análise de ângulo de contato entre as membranas e a água. Para LAW (2014), se o ângulo de contato (θ) é $\leq 90^\circ$ o material é considerado hidrofílico, hidrofóbico se $150^\circ \geq \theta > 90^\circ$ e superhidrofóbico se $180^\circ \geq \theta > 150^\circ$. Dessa maneira, quanto menor a molhabilidade, diz-se que o material é mais hidrofílico. Diversos estudos relatam correlação entre o aumento da propriedade hidrofílica com uma redução na formação de biofilme, acreditando-se que o material hidrofílico interfere na fase inicial de adesão microbiana baseada em interações eletrostáticas, forças de Van der Waals e interações de hidrogênio, onde, se percebe que o aumento da hidrofiliidade do material, dificulta o processo de deposição microbiana (CAMPOS., 2022), o que corrobora com o presente trabalho.

A Tabela 1 apresenta os resultados de ângulo de contato formados entre a água e as membranas. Conforme pode-se observar, os valores indicam características hidrofóbicas tanto para as membranas contendo EC, quanto para a membrana pura de PLA (valores de ângulo = $150^\circ \geq \theta > 90^\circ$). E, as membranas associadas a EC apresentaram característica mais hidrofóbicas quando comparadas à manta pura de PLA (elevação da molhabilidade de PLAEC). Os resultados apresentam qualitativamente a diferença expressiva entre o ângulo de contato formado sobre as mantas de PLA isolado e os ângulos formados sobre os filmes PLAEC (HOTT., et al, 2021), verificando-se, assim, diminuição do teor hidrofílico da manta associada, o que a torna mais hidrofóbica e, portanto, melhor absorvível no contexto (farmacológico) de absorção comparada a medicamentos.

Tabela 1 – Valores dos ângulos de contato entre a água e as membranas.

Amostra	Ângulo de contato médio
PLA	111 ± 0,2
PLAEC 0,5%	115 ± 0,6
PLAEC 1%	125 ± 0,2

Nota: O erro corresponde ao desvio padrão calculado em triplicata

5.5 *Análise microbiológica*

Para se entender os achados da avaliação do material eletrofiado em relação às atividades microbianas, é importante enfatizar que o óleo resina, mesmo na forma in natura, como é retirado do tronco da copaibeira, é amplamente usado na medicina popular com indicações das mais variadas (MULLER et al., 2013). Dentre os diversos estudos existentes sobre a copaíba, muitos já demonstram evidências da sua atividade bacteriana (ARAÚJO., 2022).

De acordo com Yamaguchi e Garcia (2020), a potencialidade terapêutica da planta está diretamente relacionada à presença de compostos fenólicos, flavonóides, terpenóides, diterpenóides e sesquiterpenóides em sua estrutura química, capazes de neutralizar radicais livres, impedindo a propagação de processos oxidativos, trabalhando assim como agente anti-inflamatório na garantia da integridade da célula. Talvez por isso, o extrato da copaibeira seja um dos extratos mais usados no mundo, sobretudo no Brasil, onde a espécie tem vasta ocorrência e pode ser encontrada à venda até em feiras livres, ervanários e lojas de produtos naturais, sendo, inclusive, um produto com aprovação pela FDA (*Food and Drug Administration*), órgão de regulamentação de drogas e alimentos do governo americano (QUEMEL., 2021).

Neste trabalho, os extratos produzidos foram associados à solução de PLA em duas concentrações diferentes: 0,5 % e 1,0 %, para processo de eletrofição e, então, utilização dos discos produzidos a partir desse material. Após o semeio dos pequenos discos em *S aureus*, *S epidermidis*, *E. coli*, *E. faecalis* e *P. aeruginosa*, percebeu-se atividade inibitória da atividade bacteriana em todos os casos e, complementarmente, atividade antifúngica, testada através da inoculação do disco PLAEC em *C. albicans*, corroborando os resultados de diversos estudos já publicados acerca da sua atividade antibacteriana e antifúngica (SANTANA., 2021).

Em ambas as concentrações de EC, evidenciou-se atividade antimicrobiana

e antifúngica, contra todos os micro-organismos testados. Os resultados referentes ao PLAEC a 0,5 % e 1 % estão apresentados na Tabela 2 , para as bactérias Gram positivas, e na Tabela 3, para as Gram negativas e o fungo *C. albicans*. Conforme se constata, o biomaterial PLAEC produziu halos de inibição do crescimento para os micro-organismos de todas as placas. Fica, portanto, evidente a presença de atividade antimicrobiana e antifúngica sobre as espécies testadas, podendo-se classificá-la, ainda, em uma atividade intensa, de acordo com as medidas dos halos expostos nas Tabelas 2 e 3 , tal como sugeriram ALVES et al., 2000.

Tabela 2 – Perfil de sensibilidade do PLA controle, PLAEC 0,5% e PLAEC 1 %, pelo método de antibiograma em bactérias Gram Positivas

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecalis</i>
Teicoplanina	15 ± 0,58 mm***	20 ± 0,58 mm***	17 ± 0,58 mm***
PLA controle	0 mm	0 mm	0 mm
PLAEC 0,5%	20 ± 0,58 mm***	17 ± 0,58 mm***	18 ± 0,58 mm***
PLAEC 1%	22 ± 1,15 mm**	21 ± 0,58 mm***	19 ± 0 mm****

Valores expressos com média ± e.p.m. ***p < 0,001 e ****p < 0,0001 representam diferença estatística em relação aos grupos Teicoplanina x PLA controle e Teicoplanina x PLAEC 0,5% e 1% (One-Way ANOVA, Graphpad Prism 8.0.1). Fonte: Autoria própria.

Conforme se constata na Tabela 2, o biomaterial PLAEC produziu halos de inibição do crescimento microbiano em todas as placas, demonstrando atividade significativa da manta produzida com biomaterial associado ao extrato da copaibeira frente às bactérias Gram positivas testadas, as quais são, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis*

O oleo-resina da espécie em questão apresentou uma boa atividade antibacteriana para bactérias Gram positivas e até mesmo para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) com concentração inibitória mínima (CIM) de 62,5 a 125 µg/mL. Provavelmente tal resultado foi devido ao ácido hardwickiico, um dos principais compostos ativos do oleo-resina (SAMPAIO., 2022).

Tabela 3 – Perfil de sensibilidade do PLA controle, PLAEC 0,5% e PLAEC 1 %, pelo método de antibiograma em bactérias Gram (–) e *Candida albicans*

	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Amicacina	20 ± 0,58 mm**	20 ± 0,58 mm***	NT
PLA controle	0 mm	0 mm	0 mm
PLAEC 0,5%	15,33 ± 0,88 mm**	10 ± 0,58 mm**	17 ± 0,58 mm***
PLAEC 1%	15,33 ± 0,33 mm***	14 ± 0,58 mm**	21 ± 0 mm***

Valores expressos com média ± e.p.m. **p < 0,05 e ***p < 0,001 representa diferença estatística em relação aos grupos Amicacina x PLA controle e Amicacina x PLAEC 0,5% e 1% (One-Way ANOVA, Graphpad Prism 8.0.1). NT = não testado. Fonte: Autoria própria.

Conforme exposto na Tabela 3, o biomaterial PLAEC manifesta halos de inibição do crescimento microbiano em todas as placas, demonstrando atividade significativa da manta produzida com biomaterial associado ao extrato da copaibeira frente às bactérias Gram negativas testadas, as quais são, *E. Coli*, *P. aeruginosa* e o fungo *C. albicans*.

Em estudos anteriores já foi relatada a ação do óleo resina de copaíba isolado sobre as espécies microbianas *Staphilococcus epidermidis*, *Stafilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis* e *Pseudomonas aeruginosa* (DIPIERI, 2012; BALLOTTIN, 2014; TORRES et al., 2017; SANTANA et al., 2020), tal como foi visualizado e numericamente apresentado nas Tabelas 2 e 3.

A atividade evidenciada, muito provavelmente, baseia-se na presença dos constituintes sesquiterpênicos fenólicos identificados em sua composição química, os quais também se mostraram capazes de inibir formação de placa bacteriana em cães testados no experimento, cujos halos de inibição apresentaram resultados significativos e relevantes, conforme expõem as tabelas 2 e 3. (PIERI, 2012).

Em outro trabalho (BALLOTTIN, 2014), é relatada a ação antimicrobiana do biofilme, associado a outros compostos dotados de ação antimicrobiana, onde foi visualizada a eficácia contra *C albicans*, demonstrando uma resposta biocida sobre o fungo, por meio de espectroscopia UV-VIS.

Nesse sentido, vai ficando cada vez mais sugestivo que os compostos fenólicos sesquiterpênicos e diterpênicos (com suas porcentagens labdânicas e

kaurânicas), variantes de acordo com a espécie de copaíba, são os responsáveis pelas características já citadas. Merecem destaques o halo de inibição contra *P aeruginosa* (PFIFER, 2019; LEANDRO, 2021), que é uma bactéria Gram negativa tipicamente hospitalar, causadora de sérios problemas de saúde pública em decorrência do alto índice de infecções hospitalares em UTIs e de difícil tratamento, por se comportar como multirresistente (FIGUEREDO, 2021).

Em um outro trabalho realizado por Landim (2019), utilizando resina de copaíba difusão em disco, a efetividade contra *E. coli* foi superior à atividade contra *S. aureus*. Mesmo com técnicas diferentes e medições em triplicata, neste experimento, o halo produzido em *E. coli* também foi numericamente maior.

Os trabalhos de Barbosa (2015) e Brand et al, (2019) também corroboram com este resultado, na medida em que, observando a inibição *in vitro* de agentes da mastite presentes no leite de bovinos, encontraram achados promissores com discos de óleo de copaíba em placas inoculadas com *S aureus*, *E coli*, *E faecalis* e *P aueruginosa*. O mecanismo de ação descrito envolve participação dos constituintes químicos do óleo da copaíba, já citados e expostos anteriormente, principalmente substâncias dos grupos dos sesquiterpenos, diterpenos e terpenoides que podem variar na concentração, dependendo da região e da florada da árvore. Os terpenóides podem transpor a membrana da bactéria, desestabilizando os gradientes de pH, gerando consequências que podem resultar na morte celular bacteriana (BERTIPAGLIA., 2020).

Neste estudo foi demonstrada a eficácia dos biomateriais PLAEC a 0,5% e PLAEC a 1,0%, frente a todas as bactérias e no fungo, testados neste trabalho.

Ainda não foram encontrados, na literatura, trabalhos publicados sobre a associação de PLA e copaíba, através de eletrofiação, o que torna esse estudo inovador e promissor em diversos aspectos.

Como já foi enfatizado, a atividade antimicrobiana de produtos oriundos das espécies de copaíba contra uma variedade de micro-organismos, Gram-positivos e Gram-negativos, já foi verificada. Os principais componentes do óleo e o β -cariofileno com ação anti- inflamatória, antibacteriana, antifúngica e antiendêmica, e o β -bisaboleno, com efeito analgésico e anti-inflamatório (ARAÚJO., 2022). Assim, ao testar PLAEC, presume-se que aconteça alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana. Então, acredita-se que o efeito antimicrobiano na estrutura da parede celular bacteriana, desnatura e coagula proteínas, modificando a

permeabilidade da membrana citoplasmática para íons de hidrogênio e potássio, interrompe os processos vitais da célula, como transporte de elétrons, translocação de proteínas, fosforilação e outras reações que dependem de enzimas, resultando na perda do controle quimiosmótico da célula afetada e culmina no resultado esperado, que é a morte bacteriana (SANTANA et al., 2020).

Almeida-Silva et al. (2020) demonstraram o elevado potencial de inibição da copaibeira para crescimento sobre as três bactérias patogênicas já citadas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), das quais duas delas são Gram-negativas e uma Gram-positiva, mostrando resultado concentração dependente. O estudo explica que as Gram-positivas são menos suscetíveis do que as Gram-negativas e atribui isso a diferença nas paredes celulares, pois as bactérias Gram-positivas apresentam múltiplas camadas de peptidoglicano e muitas vezes apresentam ácidos teicóico ou ácidos lipoteicóico que têm carga negativa e dificultam penetração.

Portanto novos estudos devem ser realizados para melhor caracterizar o potencial antimicrobiano da manta eletrofiada de PLA com copaíba em concentrações diversas e testando outros micro-organismos.

6 CONCLUSÕES

A produção de fibras de PLA, pela técnica de eletrofição, com extrato de copaíba incorporado (PLAEC), nas concentrações de 0,5% e a 1%, é factível.

O PLAEC comporta-se como um biomaterial de natureza hidrofóbica, solúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos.

A associação do PLA a EC conserva as suas características químicas e demonstra maior hidrofobicidade, característica favorável a produtos farmacêuticos.

A adição das mantas de PLAEC, nas concentrações de 0,5% e a 1%, em placas contendo *E. coli* (enterobactéria Gram negativa); *S. aureus* e *S. epidermidis* (bactérias Gram positivas), *P. aeruginosa* (bactéria Gram negativa não fermentadora), *E. faecalis* (bactéria Gram positiva e *Candida albicans* (fungo leveduriforme) inibe o crescimento destes micro-organismos, tendo o PLAEC a 1,0%, uma ação mais efetiva.

Diante dessas afirmações, é possível dizer que:

- O extrato de copaíba incorporado ao PLA, nas concentrações de 0,5% e 1,0% é eficaz na inibição do crescimento de enterobactérias.
- O extrato de copaíba incorporado ao PLA, nas concentrações de 0,5% e 1,0% inibe do crescimento de Gram positivas.
- O extrato de copaíba incorporado ao PLA, nas concentrações de 0,5% e 1,0% é eficaz na inibição do crescimento de fungos.
- O extrato de copaíba incorporado ao PLA, nas concentrações de 0,5% e 1,0% é eficaz na inibição de micro-organismos resistentes à amicacina e teicoplanina.

Estudos adicionais são necessários para melhor caracterizar a atividade antimicrobiana do PLAEC, sobretudo, para determinar a concentração inibitória mínima e testar o efeito na inibição de outras espécies microbianas, principalmente as multirresistentes.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-SILVA, J.E.; PICANÇO, T.A.; PARANATINGA, I.L.D.; SOUSA JÚNIOR, J. J. V.; ESCHER, S.K.S.; OLIVEIRA, E. C. P. Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de Oleorresina de Copaíba. **Rev. UNINGÁ**, Maringá, v. 57, n. 2, p. 12-22, abr./jun. 2020.

ALMEIDA, C.L. Mantas de fibras poliméricas biodegradáveis obtidas por Solution Blow Spinning como modelo biomimético de casulos de *Rostchildia* sp. (Dissertação). Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais. 2021. UFRN. 91 f. Natal-RN. 2021

ALVES, T. M. A.; SIVA, F.C.; BRANDÃO. M.; GRANDI, T.S.M.; SMÃNIA, E.F.A.; SMÃNIA JÚNIOR, A.S.; ZANI, C.L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2000, v. 95, n. pp. 367-373. Disponível em : <https://doi.org/10.1590/S0074-02762000000300012>>. Epub 05 May 2000. ISSN 1678-8060. <https://doi.org/10.1590/S0074-027620000003000> Acesso em 10 October 2022

ALVES, M. V. D.; KLEIBERT, K. R. U. ; BABER, S. C.; PLETSCH, M. U.; STAUDT, K. J. S.; ALVES, I. A. A.; COLET, C.F. Atividade antibacteriana de óleos essenciais frente à *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus*. *Revista de Biotecnologia & Ciência*, v.11, n.1, 2022 ISSN 2238-6629 Universidade Estadual de Goiás. Disponível em: <///E:/Downloads/12594-Texto%20do%20artigo-47949-1-10-20220223.pdf>. Acesso em 23 set 2022

AGUIAR, J.; ARAÚJO, M; DURÇO, B.B.; PORTEL, C. S; PAGANI, M.M.; MACHADO, M.T.C.; ESMERINO, E.A. Emprego da nanotecnologia como mecanismo de inovação tecnológica na indústria de alimentos: aplicações e desafios. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**. v. 1, n. 12, 2020. Disponível em: <https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/alimentos/article/view/1761>. Acesso em 20 ago 2022

ARAÚJO, L. O.; FREITAS, P. J. F.; ABREU, J. A. C.; FREITAS, N. L.; BRANDÃO, F. COINFECÇÃO COM *Staphylococcus aureus* COMO AGRAVANTE DA COVID19. *Unimontes Científica*, v. 23, n. 1, p. 1–20, 2021. DOI: 10.46551/ruc.v23n1a03. Disponível em:

<https://www.periodicos.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/4310>. Acesso em: 7 out. 2022.

ARAÚJO, M.T. M.; RESENDE, C. J.; SENDDYK, R.W.; ROMAN-TORRES, C.V.G. As propriedades do óleo *Copaifera ssp.* em estudos laboratoriais e clínicos: uma revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, e19511527994, 2022. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i5.27994>. Acesso em 23 set 2022.

ASGARI, Q.; ALISHAHI, M.; DAVANI, F.; CARAVAN, D.; KHORRAM, M.; ENJAVI, Y.; BARZEGAR, S.; F ESFANDIARI, F.; ZOMORODIAN, K. Fabrication of amphotericin B-loaded electrospun core-shell nanofibers as a novel dressing for superficial mycoses and cutaneous leishmaniasis. **International Jour. of Pharmaceutics**, v. 5, n.606, 2021

BADKE, A. R. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Rev. Esc. Anna Nery**, v.15, n.1, 2011.

BALLOTTIN, D. P. M. **Caracterização de nanopartículas de prata e sua aplicação na produção de tecidos antimicrobianos**. 2014. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas, SP. 2014. C: <https://xdocs.com.br/doc/nanopartículas-de-prata-ballottindanielapottmarinhodpdf-loyw49y1gwj83> .Acesso 20 jan.2021.

BARBOSA, A.L.; WENZEL-STORJOHANN, A.; BARBOSA, J.D .; ZIDORN, C .; PEIFER, C.; ÇIÇEK, S.S.; Antimicrobial and cytotoxic effects of the *Copaifera reticulata* oleoresin and its main diterpene acids. *J Ethnopharmacol*. 2019 Apr 6;233:94-100. doi: 10.1016/j.jep.2018.11.029. Epub 2018 Nov 23. PMID: 30472403. Acesso em 22 set 2022

BARBOSA, A.F.C.. **Óleo-resina de copaíba e extrato de barbatimão na dieta de poedeiras comerciais infectadas por *Escherichia coli***. Escola de Veterinária Zootecnia da UFG, 2015. 112 f Dissertação (Mestrado em Zootecnia). <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/8935>. Acesso 10 jan 2021.

BARBOSA, E. S.; LEITE, C.J.; MENDES, D. do C.; BRÍGIDO H. P. Cprevalência e perfil de resistência da *Escherichia coli* isolada de infecções do trato urinário. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, e0611124280, 2022 .DOI:<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i1.24280>. Acesso em 23 set 22022

BARTOLLACI, A. C. **Desenvolvimento e avaliação de meios filtrantes com nanofibras eletrofiadas e agentes bactericidas aplicados na filtração de ar.** UFSCar. 2019. 118 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.2019.

BARROS, A. F.; SALES, A.F.R.; SILVA, S.N.; FREITAS, K.M. Influência do colágeno tipo I na propriedade físico-química, morfológica e biológica de blendas poliméricas de PLGA para aplicação oftálmica. *Matéria* (Rio de Janeiro). 2022, v. 27, n. 1e202145885. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1517-7076-RMAT-2021-45885>> 2022. ISSN 1517-7076. <https://doi.org/10.1590/1517-7076-RMAT-2021-45885>. Acesso em 12 out 2022

BERNARDO, M. P.; PASCHOALIN, R.T.; SANTOS, D.M.; BILATTO, S.; FARINAS, C.S.; CORREA, D.S.; OLIVEIRA JÚNIOR, O.N.; MATTOSO, L.H.C. Processamento e aplicação de biomateriais poliméricos: avanços recentes e perspectivas. **Rev Química Nova**, v. 44, n. 10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170781>. Acesso: 20 jul 2022.

BERTIPAGLIA, L. M. A.; SANTANA, B. B.; MELO, G.M.P; BRENNECKE, C.; REZENDE, C.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I; MELO, W.J. Ação Antimicrobiana do Óleo de Copaíba (Copaifera langsdorffii Desf.) frente ao Agente da Mastite Bovina: Staphylococcus aureus. In: Produção e Controle de Produtos Naturais 2. SILVA- MATOS, R.R.S.; CARDOSO, V.R.; CORDEIRO, K.V. Atena. Ponta Grossa-PR.2020. Disponível em : file:///E:/Downloads/cap9_ecddaca7b56dcb12796914084bbf3b28666b0d94.pdf

BRAND, Q.C.S.; OLIVEIRA, M.P.V.; CORDEIRO, M.; TIBOLLA, T.S.; ASSIS, M.Z.; DEZEN, D.; MILLEZI, A. F. Atividade do óleo resina de copaíba contra Staphylococcus aureus ATCC 25923 e isolado de caso de mastite bovina. **ANAIS DA SEMANA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DO IFC**, Campus Concórdia, 2019. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/sepeifcconcordia2019/175953-ATIVIDADE-DO-ÓLEO-RESINA-DE-COPAÍBA-CONTRA-STAPHYLOCOCCUS-AUREUS-ATCC-25923-E-ISOLADO-DE-CASO-DE-MASTITE-BOVINA>. Acesso em 20 jan 2021.

BRANDÃO, R. M. Active packaging poly (lactic acid) nanofibers containing essential oils for table grapes: antifungal and physicochemical properties. UFLA. 2022. 162 f. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

CASASOLA, R.; NOOREEN, T.; TRIBALLA, A.; GEORGIADOU, S. Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres:effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter. Loughborough University. 2014. Journal contribution. <https://hdl.handle.net/2134/17923>. Acesso em 26 set 2022

CAMPOS, C.; TURCK, P.; TAVARES, A.M.V.;CORSSAC, C; LACERDA,D; ARAUJO, A.; LLESUY, S.;KLEIN, A. B. Efeitos do Óleo de Copaíba em Marcadores Periféricos de Estresse Oxidativo em um Modelo de *Cor Pulmonale* em Ratos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 117, n. 6, p. p. 1106-1112, 2021.

CAMPOS, D.S.Caracterização, Avaliação das Propriedades Físico- Mecânicas e Atividade Antifúngica Após de Resinas Acrílicas Termopolimerizadas Incorporadas com Nitrato de Cério. 2022. UFPB. **Tese** (Doutorado em Odontologia – Área de Concentração em Ciências Odontológicas). 2022 98 f. João Pessoa- PB. 2022

CHAGAS, P. A. M. Mantas de Fibras Poliméricas Eletrofiadas Baseadas em Poli(Ácido Láctico) (Pla) e Borracha Natural Contendo Curcumina visando aplicações como Curativo Cutâneo. UFSCar, 2021, 100 f. **Tese** (Doutorado em Biotecnologia. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2021.

CORREIA, T. T. S. Inativação fotodinâmica antimicrobiana in vitro de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* assistida por Nanocascas de ouro. UFPE, 2018. 81 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Recife. Universidade Federal de Pernambuco. 2018. Disponível em <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/34079>. Acesso em 13.ago.2020.

COSTA, J.A.S. Copaifera in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB22895>. Acesso em: 29 set. 2022.

DAMASCENO,M.K.S.S.Resistência à linezolidina em enterococos resistentes à vancomicina isolados no Brasil.UFAL, 2022. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Maceió. Universidade Federal de Alagoas.2022.Disponível em : <https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/123456789/9486/1/Resist%C3%A0ncia%20%C3%A0%20linezolidina%20em%20enterococos%20resistentes%20%C3%A0%20vancomicina%20isolados%20no%20>. Acesso em 08 out 2022.

s resistente à vancomicina: uma preocupação em expansão no ambiente hospitalar. *Infect Control, Brazil*, 6(1):11-15, 2017. ISSN 2316-5324. Disponível em : [file:///E:/Downloads/160-783-3-PB%20\(3\).pdf](file:///E:/Downloads/160-783-3-PB%20(3).pdf). Acesso em 08 set 2022

FIGUEIREDO, A. C.; FREITAS, N. L. DALMOLIN, T.V.; BRANDÃO, F. *Pseudomonas aeruginosa*: panorama do perfil de resistência aos carbapenêmicos no Brasil. **Brazilian Journal of Development** ISSN: 2525-8761 9661. Curitiba, v.7, n.1, p. 9661-9672 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/download/23742/19073>. Acesso em: 16. Fev.2021.

FINOTTI, P. F.; COSTA, L.C.; CAPOTE, T.S. ESCAREL-CAMINAGA, R.M.;CHINELATTO, M.A. Immiscible poly lactic acid/poly(E caprolactoni) for temporary implants: compatibility and cytotoxicity. **Journ. Mechanical Behavior of biomedical materials**. V. 68, p. 155-162, 2017.

FRANCISCO, E. M. **Estudo da esterilização de scaffolds para regeneração do tecido ósseo**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos) – Programa de pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019

GALUCIO, C. S.; BENITES, C. I.; RODRIGUES R. A. F.; MACIELA M. R. W. **Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular**. *Química Nova*, 2016; 39(7), 795-800.2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160096>. Acesso 03 jan 2021

GIBELLI, I. C. **Ação antibacteriana de nanopartículas de prata em poliácido láctico: PLA e estudo de biodegradação**. UFSCar, 2012, 52 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de São Carlos, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/7004>. Acesso em 12 ago 2022.

GOMES, A.; AGUIAR,C.S.; DA PAZ, A .T.; BEGA, A. Avaliação in vitro da ação do ozônio em *Staphylococcus aureus*. **REVISTA IBERO-AMERICANA DE PODOLOGIA**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 25 -29, 2022. DOI: 10.36271/iajp.v1i1.3. Disponível em: <https://iajp.com.br/index.php/IAJP/article/view/3>. Acesso em: 7 out. 2022.

GONÇALVES, S.; VEIGA, C.; AQUINO, A.; COSTA, V. e MORAIS, G. Nanofibras de poli (d,l-ácido láctico) obtidas pela técnica de electrospinning. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 57°. Gramado, RS. 2017. Disponível em:

<http://www.abq.org.br/cbq/2017/trabalhos/12/12466-24647.html>. Acesso em 20.Out.2021.

HENCH, L. L.; POLAK, J. M. Third-generation biomedical materials - larry I. **Science**, v. 295, p. 1014-1017, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2019v65n4.400>. Acesso em 20.Out.2021.

HENRIQUE, R. L. UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE CLORETOS EM COMPÓSITOS DE MATRIZ CIMENTÍCIA. **Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização**. Especialização em Produção e Gestão do Ambiente Construído. 2019. UFMG. 56 f. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2019

HOTT, M.V.M.; MICHELLE, K.M.F.; SILVA, A.L.; CRUZ, C.L.C.; SILVA, S.N. Estudo comparativo entre filmes microporosos e nanoporosos de TiO₂ produzidos pelo processo eletroquímico de anodização sobre a liga Ti6Al4V. *Matéria* (Rio de Janeiro). 2021, v. 26, e13072. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1517-707620210004.1372>. ISSN 1517-7076. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620210004.1372>. Acesso em 12 out 2022

LANDIM, M. G. Estudo da atividade antibacteriana de nanoemulsão à base de óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) e de sua combinação com ácido anacárdico. UNB, 2019, 100 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia. Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

LAW, K. Definitions for Hydrophilicity, Hydrophobicity, and Superhydrophobicity: Getting the Basics Right. *J. Phys. Chem*, v.5, n.4, p.686-688, Feb. 2014. Disponível em : <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jz402762h>. Acesso em 12 out 2022

LOPES, J. C. E.; TORRES, M. L. P. Utilização De Nanopartículas No Tratamento Do Câncer: Aspectos Gerais, Mecanismos De Ação Antineoplásicos E Aplicabilidades Tumoriais. *Revista Brasileira de Cancerologia*; v. 65, n. 4, p. 2020. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/download/400/536>. Acesso em: 10 jan 2022.

LI, C; FU, R; YU, C; LI, Z; GUAN, H; H. D. Silver nanoparticle/chitosan oligosaccharide/poly (vinyl alcohol) nanofibers as wound dressings: a preclinical study.

Int J Nanomedicine. V. 8, n. 1, p.4131-4145. 2013.

LIMA, A. L. A.; CRUZ, A. V.; GONZALEZ, C. A. G.; SILVA, E. A. S. C.; SOUZA, M. C.; LIMA, H. K. S. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de leite de vacas com mastite em propriedades de agricultura familiar. **Research, Society and Development**, v.9, n.11, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/9438/8466/131069>. Acesso em :21 jan 2022.

LIMA, M. C. F.;CAVALCANTE, S.F.A.;WIEDEMANN, L. S. M.; VEIGA-JÚNIOR,V. F. Caracterização e Controle de Qualidade de óleos de Copaíba (*Copaifera sp.*) Utilizando Detecção de Marcadores por Fator de Retenção Relativa em HPTLC. Química Nova. 2020, v. 43, n. 7, pp. 878-883.Disponível em: <<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170563>>. Epub 21 Ago 2020. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170563>. Acessado 9 Outubro 2022

LIMA, C. A. S.; POVOASB, I. M.; ALVESB, W. K.; CARVALHO, F. T.; DIASA, N. S.; ANJOSA, T. R.;ANDRADE, K. R. N. C. ; FRASSONC,A. P. Z.; DOS SANTOS, M. D.; CARVALHO, R. C. T. C. Atualizações Sobre as Propriedades Medicinais do Óleo de Copaíba (*Copaifera spp.*): uma Revisão Bibliográfica. Uniciencias, v.25, n.2, 2021, p.100-106. DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-5141.2021v25n2p100-106>. Acesso em [23. set.2022](https://doi.org/10.17921/1415-5141.2021v25n2p100-106)

LIMA, M.L.X.; Uma Revisão da literatura Sobre *Pseudomonas aeruginosa*: FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA BACTERIANA. 2022. UFRN.32 f.**Tcc.**(Farmácia). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal -RN. 2022.Disponível em : <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/48502>. Acesso em 23 set 2022

LOCILENTO, D.A. Produção e Caracterização de Mantas de Nanofibras Poliméricas EletrofiadasContendo prontocianians e sua Potencial Aplicação no Tratamento de Lesões Cutâneas. 2018. UFSC. 92 f. **Tese** (Doutorado em Ciências). Universidade federal de São Carlos.São carlos-SP. 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/11437>

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. Química Nova. 2004, v. 27, n. 4, pp. 670-673. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400025>>. Acessado em 25 Outubro 2022

LOPES, J.C.E; TORRES, M.L.P. Utilização de nanopartículas no tratamento do câncer: aspectos gerais, mecanismos de ação antineoplásica e aplicabilidades tumorais. **Revista Bras. Cancerologia**, v. 65, n. 4. 2020.

MAGINI, E. B. Concentração de Sinvastatina Incorporada em Arcabouços de Acido poli(láctico-co-glicólico) para Promover a Formação óssea em defeitos Ósseos críticos *in vivo*: uma revisão sistemática. 2021. UFSC. 62 f. **Dissertação** (Mestrado em Odontologia). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/229216/PODO0745-D.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>. Acesso em 23.Nov.2021.

MARTINS, C.R.; LOPES, W.A.;ANDRADE, J.B. Solubilidade das Substâncias Orgânicas. *Quim. Nova*, Vol. 36, No. 8, 1248-1255, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800026> . Acesso em 26 set 2022

MAURMANN, N.;LUND, D.G.;PEREIRA,D.P.:PRANKE,P. Avaliação da composição química de um óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) e seu efeito em células-tronco mesenquimais. *Rev Med (São Paulo)*. 2022 set.-out.;101(5):e-185868. doi: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v101i5e-185868>. Acesso em 20. Set.2022

MEDEIROS, V.G. Isolamento, síntese e Avaliação da atividade biológica de diterpenos do tipo lábdano. **Dissertação** (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular). 2019.162 f. Universidade Federal de Juiz de Fora. Governador Valadares-MG. Disponível em : <https://www.ufjf.br/pmbqbm/files/2018/04/Disserta%C3%A7%C3%A3oVanessaGon%C3%A7alves-Medeiros.pdf>. Acesso em 26 set 2022

MENDES JÚNIOR, D., DOMINGUES,J. A.; HAUSEN, M. A.; CATTANI,S; ARAGONES, A.; OLIVEIRA, A.; INÁCIO, R. F.;BARBO, M.;DUEK,E. Study of mesenchymal stem cells cultured on a poly(lactic-co-glycolic acid) scaffold containing simvastatin for bone healing. **Journal of applied biomaterials & functional materials**. v. 15, n. 2, p. 133–141, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6379770/>. Acesso em: 20 jan. 2022

MITSUO MONÇÃO, M. . (2022). Biomateriais e regeneração óssea: conceitos e perspectivas. *Revista De Ciências Médicas E Biológicas*, 21(1), 3–4. <https://doi.org/10.9771/cmbio.v21i1.49880>. Acesso em : 16 set. 2022

MOUSAVI, M.A. ABDIB, Z.; KHAVASI, N.; SARDARI, S; TOFANGCHIHA, S.
Bromelain-ferula gum-loaded polyurethane nanofibers for bedsore healing in rats
Experimental Study. Published: 14 July 2021. Disponível em: <https://link.springer.Com/article/10.1007/s00238-021-01848>. Acesso em 10 jan 2022

MOTA , E. de A.; CARRARO, F. M.; REY , L. M. R. .; RUBIO , K. A. J. .; ONACA, F. M. T. FERREIRA, L. R. de P. .; SANTOS, I. C. dos .; BARBOSA, L. N. .; GONÇALVES, D. D. . A descriptive review of the resistance profile of Staphylococcus spp. in pregnant women and use of medicinal plants extracts as a therapeutic perspective. Research, Society and Development, v. 11, n. 8, p. e43311831124, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/31124>. Acesso em: 7 oct. 2022

MULLER, J.B.B.S. Studies of Copaifera luetzelburgii Harms in reproductive pharmacology: in vivo and in vitro approaches. **African Journal of Comunication**. v.12 n. 24, p. 3864-3871, 2013. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJB/cited-by-article/6F9516A23905>. Acesso em 10 nov 2019

NARANG, J. K.; NARANG, R. S. Emerging role of nanoemulsions in oral health management. **International journal of pharmaceutical investigation**, v. 7, n. 1, p. 1, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/315347534>. Acesso em: 10 jan 2022

OLIVEIRA, R.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v. 16, n. 1. p. 77-82, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/fhbcpCdW9VB8gxsrFXGHdZt/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 16 jul 2021

OLIVEIRA, F.C.; ALBUQUERQUE, U.P.; FONSECA-KRUEL, V. S.; HANAZAKI, N. **Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil**. Acta Bot. Bras. vol.23, n.2, p. 590-605, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abb/a/QkXGmDHvNdZQPvPqjRx6GdM/abstract/?lang=pt> Acesso em: 10 jan 2022.

OREFICE, R. L. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. 538 p.

PAVINATTO, A.; MERCANTEA, L. A.; FACUREA, M. H. M.; PENAA, R. B., SANFELICEA, R. C.; MATTOSOA, L. H. C.; CORREA, D. S. Ultrasensitive biosensor based on polyvinylpyrrolidone

done/chitosan/reduced graphene oxide electrospun nanofibers for 17 α Ethinylestradiol electrochemical detection. *Applied Surface Science* .V. 458, 15 November 2018,P. 431-437. Disponível em : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433218319081?via%3Dihub>. Acesso em 03 out 2022

PACHECO, K.M.L PRODUCTION AND USE OF MEMBRANES BASED ON CHITOSAN AND TURMERIC IN THE TISSUE REPAIR PROCESS. UNIBRASIL. 2022.64 f. Dissertaçãoo (Mestrado em Engenharia Biomédica).Universidade Brasil. Itaquera, São Paulo, 2022. Disponível em : <file:///E:/Desktop/noovas%20referencias/PACHECO,%20K.M.L%20testes%20fitoqu%C3%ADmicos.pdf>. Acesso em 08 out 2022

PENNA, I.; MARTINS ,T. S.; SILVEIRA.; Fibras Eletrofiadas Aplicadas na Remoção de Metais Pesados em Águas Residuárias da Mineração: uma Revisão Sistemática. **Revista Virtual de Química**. V.14. n. 3. 2022, Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220088>. Acesso em:10 jul 2022.

PEREIRA,F.D.O. Investigação do mecanismo da atividade antifúngica de monoterpenos frente a cepas de *Trichophyton rubrum*, UFPB, 2012. 181 f. **Tese** (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012. Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/6745?locale=pt_BR. Acesso em 14 ago 2019.

PERES, N. T. D. A.; MARANHÃO, F. C. A.; ROSSI, A.; Martinez-Rossi, N. M. Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos”. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n 5, p. 657-667, 2010.

PIRES, A. L.; BIERHALZ, A.C.K; MORAES, A.M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n.7, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>. Acesso em: 20 jan 2022

PIERI, F. A.; MUSSI M. C., MOREIRA, M. A. S. Óleo de Copaíba (*copaifera sp.*): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais **Rev. Bras.. Plantas Medicinai**s. v 11, n. 4, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/54wyKL9fqFpDcfSpshDVv5G/?lang=pt>. Acesso, 07 nov 2021.

QUEMEL, G. K. C. Medical properties of *Copaifera Langsdorfii* oil: an integrative literature review. **Brazilian Journal of Health Review.**, Curitiba, v.4, n.3, p. 10490-10508. 2021 Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/29721/23446>. Acesso em: 10 jan 2022.

RAHMATI, A.; MILLS, D. K.; URBANSKA, A. M.; MOHAMMAD, R. S.; JAYARAMA, R.

V.; RAMAKRISHNA, S.; Electrospinning for tissue engineering applications. **Science Progress in Materials**. V. 117. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079642520300852>. Acesso em: 11 jan 2022.

RAMOS, B. C . Efeitos de antibióticos em biofilmes de enterococcus faecalis e enterococcus faecium: uma revisão sistemática. **Rev Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**. v 1, n. 2020. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rema/article/view/153>. /acesso em 20 jan 2021.

ROCHA, D. R.; FERREIRA, V. F. Contribuições da Química para Economia de Baixo Contato na Época da COVID-19. **Rev. Virtual Quim.**, v. 12, n. 6, 2020,. Disponível em: <https://rvq-sub.sbg.org.br/index.php/rvq/article/view/4012>. ISSN 1984-6835.

ROSSIN, A. R.; OLIVEIRA, E. L.; MORAES, F. A. P.; S. JÚNIOR, R. R; SCHEIDT, T.; CAETANO, W.; HIOKA. N.; DRANGUNSKI,. D.C. Terapia Fotodinâmica em Eletrofiação: Revisão De Técnicas E Aplicações. **Quim. Nova**, V. 43, n. 5, p.613-622, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170524>. Acesso em 12 fev 2022.

RODRIGUEZ, L. S. M. G; BEJARANO, R. C. Análisis de los materiales para la fabricación de mascarillas: el reto de hacer frente a la escasez de equipos de protección individual. **Enfermería Clínica**. v. 31, Supplement 1, p. S73-S77, fevereiro de 2021.

SAMPAIO, M.C.Nanoemulsões de óleo de Copaíba:Desenvolvimento e Análise da sua propriedade anti-inflamatória. UNB. 115 f. 2022.**Tese** (Doutorado em Nanociência e Nanobiotecnologia). Universidade de Brasília. Brasilia- DF. 2022. Disponível em : https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/44962/1/2022_MarinaCarvalhoSampaio.pdf. Acesso em 05 out 2022

SANTANA, B. B; MELO, G.; M; KATHERY, B.; REZENDE, C.; KOZUSNY-ANDREANI, D.; DEMELO, W. J. Ação antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) frente ao agente da mastite bovina: *Staphylococcus aureus* ação antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) frente ao agente da mastite bovina: *Staphylococcus aureus*. 2020. p. 1-388–416. In book: **Produção e Controle de Produtos Naturais** v. p.1-12) Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/340567118>.

SANTOS,P.M.;CARDOSO,M.A.G.;KHOURI,S.;PAULAJÚNIOR,A.R.;UEAHRA,M.;SA KANE, K.K; Utilização da microespectroscopia infravermelha (FT-IR) para teste de algoritmos estatísticos na diferenciação dos micro-organismos *Candida albicans*,

Candida dubliniensis e *Candida parapsilosis*. Rev. Bras. Eng. Biom., v. 28, n. 4, p. 398-409, dez. 2012 Braz. J. Biom. Eng., 28(4), 398-409, Dec. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeb/a/9kxF7SCvZVDsZQG4wLSrFTL/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 24 out 2022

SCHMITZ, T. C.; E.; CRISPIM, J. F.; FABRA, G. T.; LEVISAG, C.; LE MAITRE, C.; ITO, SCHMITZ. Characterization of biomaterials intended for use in the nucleus pulposus of degenerated intervertebral discs. **Elsevier. Acta Biomaterialia**. v 114, p 1-1, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32771592>. Acesso: 05.Jan.2021.

SHI, H.; FU, J.; JIANG, W.; WANG, Y.; LIU, B.; LIU, J.; JI, H.; WANG, Y. CHEN, Z . Construction of g-C₃N₄/Bi₄Ti₃O₁₂ hollow nanofibers with highly efficient visible-light-driven photocatalytic performance. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 615. n.126063, April 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927775720316563>. Acesso em 20 dez 2021.

SILVEIRA, A.M.; GUERREIRO, A.C.; GOMES, A.C.L.F.; MATOS, D.J.; CERVELATI, E.P . Estudo da resistência à antimicrobianos pela produção de beta lactamase de espectro estendido e variabilidade genética de *Escherichia coli* isolada de urina humana. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.8, n.2, p.9458-9469 feb.2022. DOI:10.34117/bjdv8n2-069. Acesso em 01.out. 2022

SIQUEIRA, L. B. O., MATOS, A.P.S., CARDOSO, V.S., VILLANOVA, J.C.O., GIUMARÃES, B. C. L.R., SANTOS, E.P.S., VERMELHO, A.B., SANTOS-OLIVEIRA, R., E RICCI JUNIOR, E. Clove oil nanoemulsion showed potent inhibitory effect against *Candida spp*. **Nanotechnology**, v. 30, n. 42, p. 425101, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31290755>. Acesso: 15.out.2021.

SOUZA, C.O; MELO, T.R.B; MELO, C.S.B; MONTEIRO, L.C. et al; ***Escherichia coli* enteropatógena: uma categoria diarreogénica versátil**. Revista Pan-Amazônica de Saúde . v.7 n.2 Ananindeua 2016. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v7n2/2176-6223-rpas-7-02-00079.pdf>.

TORRES, A. S; PERONICO. L. O.; KOCERGINSKY, P. O. Isolamento e Identificação de *Staphylococcus aureus* a partir de Nasofaringe de Profissionais de saúde: uma revisão de literatura. **Temas em Saúde**. v. 17, n. 2, p. 1-6. 2017, ISSN 2447-2131 Disponível em: <https://temasemsaude.com/wp-content/uploads/2017/08/17211.pdf>. Acesso em 20 jan 2020.

TRAVASSOS, R. A. Envolvimento de canais para potássio e de nucleotídeos cíclicos no mecanismo de ação tocolítico do ácido 8(17), 12E, 14-labdatrieno- 18-óico

(labdano-302) em útero isolado de rata. UFPB. 2010.120 f. **Dissertação** (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2010.

ULERY, B. D; NAIR, L.S.; LAURENCIN, C.T. Biomedical Applications of Biodegradable Polymers. **Journal of polymer science part B: polymer physics**, v. 49, p. 832-864, 2011. Disponível em: [https:// onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/polb.22259](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/polb.22259). Acesso em: 20 nov 2019.

VAKILINEZHAD, M.A.; DARA, T. ALIPOUR, S. Methotrexate and curcumin co-encapsulated PLGA nanoparticles as a potential breast câncer therapeutic system: in vitro and in vivo evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointefaces**, S.1, v. 184, p. 110515, 2019.

VIRLAN, M. J. R; MIRICESCU, D; TOTAN, A; GREABU, M; TANASE, M. C; SABLIOV, M.C. CONSTANTIN CARUNTU, C; CALENIC, B. Current Uses of Poly (lactic-co-glycolic acid) in the Dental Field: A Comprehensive Review. **Journal of Chemistry**, v. 751, n. 2, p. 1–12, 2015.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, p. 5897-5909, 2019. Liverpool: Liverpool University Press, 2019, 343 p.

XAVIER JUNIOR, F. H. Emulsões de óleo de copaíba: determinação do equilíbrio Lipofílico hidrofílico crítico, propriedades e estabilidade físico-químicas. UFRN, 2011. 67 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011 .

YAMAGUCHI, M. R; GARCIA, R. F. Óleo de Copaíba e suas propriedades medicinais: Revisão Bibliográfica. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, n. 1, p. 137-146, jan./abr. 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/13333>. Acesso em 22 jun 2020.

ZAMBONIN, F., LIMA, K.; MACIEL J., DIAS, G.. Copaíba (Copaifera sp.): a bibliographic review on its therapeutic properties. **Health and Diversity (Online)**, v.3, p.58-64, 2019

APÊNDICE A**DECLARAÇÃO DE CORREÇÃO GRAMATICAL**

DECLARO para os devidos fins que se fizerem necessários que realizei a correção gramatical da Tese de Doutorado intitulada: Nanofibras Eletrofiadas a partir da Associação de Poli(ácido láctico) e Extrato de Copaíba: Obtenção e Avaliação da Atividade Antimicrobiana. realizada pela acadêmica: Janayna Batista Barbosa de Sousa, da Universidade Brasil- Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Por ser verdade, firmo a presente em duas vias de igual teor.

Teresina- PI, 28 de julho de 2022.

Maria Irineuda Marques Cardozo de Araújo
CPF:004.052.693-31

Professora: Maria Irineuda Marques Cardozo de Araújo
Graduada em Letras Português com Habilitação em Literatura- UFPI
Especialista em Português e Literatura- UVA