



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ – UFOPA  
INSTITUTO DE SAÚDE COLETIVA – ISCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE -  
PPGCSA**

**HERMAN ASCENÇÃO SILVA NUNES**

**ÓLEO ESSENCIAL NANOESTRUTURADO DE *Pectis elongata* Kunth:  
POTENCIAL ANTIMICROBIANO, ANTI-INFLAMATÓRIO E ESTIMULANTE DO  
REPARO TECIDUAL DE FERIDAS CUTÂNEAS**

**SANTARÉM – PA  
2022**

**HERMAN ASCENÇÃO SILVA NUNES**

**ÓLEO ESSENCIAL NANOESTRUTURADO DE *Pectis elongata* Kunth:  
POTENCIAL ANTIMICROBIANO, ANTI-INFLAMATÓRIO E ESTIMULANTE DO  
REPARO TECIDUAL DE FERIDAS CUTÂNEAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, pela Universidade Federal do Oeste do Pará.

Orientadora: Dra. Sandra Layse Ferreira Sarrazin

**SANTARÉM – PA  
2022**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

N972o Nunes, Herman Ascensão Silva  
Óleo essencial nano estruturado de *Pectis elongata Kunth*: potencial antimicrobiano, anti-inflamatório e estimulante do reparo tecidual de feridas cutâneas./ Herman Ascensão Silva Nunes. – Santarém, 2022.  
76 p. : il.  
Inclui bibliografias.

Orientador: Sandra Layse Ferreira Sarrazin.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação Tecnológica, Instituto de Saúde Coletiva. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Óleo essencial. 2. Nanopartículas. 3. Cicatrização. 4. Antimicrobiano. I. Sarrazin, Sandra Layse Ferreira, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 615.321

---

Bibliotecária - Documentalista: Cátia Alvarez – CRB/2 843

**HERMAN ASCENÇÃO SILVA NUNES**

**ÓLEO ESSENCIAL NANOESTRUTURADO DE *Pectis elongata* Kunth:  
POTENCIAL ANTIMICROBIANO, ANTI-INFLAMATÓRIO E ESTIMULANTE DO  
REPARO TECIDUAL DE FERIDAS CUTÂNEAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, pela Universidade Federal do Oeste do Pará.

Orientadora: Dra. Sandra Layse Ferreira Sarrazin

Conceito:

Data de Aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Dra. Sandra Layse Ferreira Sarrazin  
Orientadora – Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

---

Dr. Tiago Santos Silveira  
Universidade do Estado do Pará (UEPA)

---

Dra. Leomara Andrade da Silva  
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

---

Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira  
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

## **AGRADECIMENTOS**

A jornada acadêmica de um mestrado pode ser longa e dura, porém sou muito grato pela minha trajetória no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde ter sido tranquila, apesar de algumas dificuldades. Sou grato a mim por nunca ter desistido deste objetivo, mas também sou grato a algumas pessoas importantes para que eu tenha conseguido terminar esta grande etapa em minha vida.

Agradeço imensamente a minha irmã Lenise Nunes, por toda ajuda e apoio mútuo que temos durante toda nossa jornada acadêmica e de vida, sem o apoio dela minha vida teria sido muito mais difícil e com menos brilho. E a minha namorada, Andressa Hora, por todo carinho, apoio e companheirismo, que me ajudou a tornar esta etapa muito mais fácil de ser vivida. Agradeço também a meus pais, por terem investido em meus estudos, me incentivando para que eu pudesse alcançar os objetivos que tracei em minha vida.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório na UEPA e UFOPA, Luís Fernando Printes, Raissa Nalanda, Joyce Dergan, Stephanie Silva, prof. Dr. Tiago Silveira, Deise dos Anjos e Patrícia Pires, que contribuíram imensamente em diferentes etapas do mestrado, seja durante as pesquisas ou durante momentos de descontração, me ajudando a ser um profissional, pesquisador e pessoa melhor, serei sempre grato.

Por fim agradeço muitíssimo a minha orientadora prof. Dra. Sandra Sarrazin, sem sua orientação esse trabalho jamais poderia ser executado e trabalhado com tanta leveza e facilidade, se tornando um grande exemplo para mim como professora e principalmente como orientadora.

*“No fundo, todos temos a necessidade de dizer quem somos e o que é que estamos a fazer e a necessidade de deixar algo feito, porque esta vida não é eterna e deixar as coisas feitas pode ser uma forma de eternidade”*

**José Saramago**

## Resumo

*Pectis elongata* Kunth, é uma planta herbácea, conhecida no Norte do Brasil como "cuminho-bravo", "alecrim limão" ou "alecrim-bravo". É uma espécie rica em óleo essencial, que apresenta como constituinte majoritário o citral; substância com reconhecidas propriedades farmacológicas. No entanto, sabe-se que óleos essenciais apresentam baixa solubilidade e alta volatilidade, limitando o uso como agente terapêutico. Dessa forma, a inserção de óleos essenciais em sistemas nanoestruturados, tais como nanoemulsões, pode configurar uma alternativa promissora para contornar as limitações relacionadas à ampliação de seu uso. No presente estudo, nossa proposta foi avaliar a eficiência do processo de nanoemulsificação do óleo essencial de *P. elongata* sobre a retenção de seus principais constituintes voláteis, bem como sobre suas propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória e estimulante do processo cicatricial de feridas cutâneas. Para isso, na primeira etapa, após a obtenção do óleo essencial por hidrodestilação, realizou-se o processo de nanoemulsificação utilizando o método de baixo aporte de energia e Tween80 como surfactante, resultando em partículas com tamanho nanométrico ( $109,7 \pm 1,4$  nm), baixo índice de polidispersão ( $0,182 \pm 0,00$ ) e potencial Zeta negativo ( $-32,3 \pm 1,2$  mV), estes resultados garantem sua estabilidade física. Para investigar a proteção exercida pelo sistema nanoestruturado, determinamos a composição química do óleo livre e nanoemulsificado, utilizando técnicas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Nesta etapa, as amostras foram analisadas nos tempos 0, 7, 15, 60 e 360 dias pós-preparo. Os resultados apontaram o citral como constituinte majoritário para todas as amostras analisadas onde, no óleo livre, a concentração deste composto foi determinada em 92,5%; e no sistema nanoestruturado, nos tempos pós-preparo citados, a concentração de citral foi determinada em 92,8%, 92,6%, 90,8,0%, 95,7% e 78,9%, respectivamente. Na etapa seguinte, utilizamos o método de microdiluição em caldo para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial nanoestruturado, frente às bactérias de interesse em saúde pública, que interferem no processo de cicatrização de feridas cutâneas. As cepas padrões selecionadas para estudo foram: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*. Neste teste, optou-se por avaliar o potencial antimicrobiano de nanoemulsões estocadas a 25°C, nos tempos iniciais e finais do período de armazenamento (0 e 360 dias, respectivamente). Verificou-se não haver perdas significativas de seu potencial antimicrobiano após 360 dias de armazenamento. Por fim, a atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo teste de edema de pata induzido por carragenina, e o potencial estimulante do processo cicatricial foi avaliado sobre feridas cutâneas induzidas por incisão cirúrgica. A atividade anti-inflamatória da nanoemulsão foi observada somente para a dose de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ , apresentando redução significativa do edema, quando comparado ao controle negativo (água destilada). Já nos resultados da cicatrização, não foram observados nenhum aumento significativo no percentual de contração de feridas, quando comparadas ao controle negativo (solução salina estéril). A partir destes resultados, é possível sugerir que o processo de nanoestruturação do óleo essencial de *P. Elongata*, utilizando a técnica de baixo aporte de energia, foi capaz de produzir uma nanoemulsão fisicamente estável, apresentando eficácia tanto em manter suas propriedades químicas, quanto em preservar suas propriedades biológicas, inibindo o crescimento de microrganismos e modulando a resposta inflamatória induzida por carragenina. Por outro lado, nas concentrações avaliadas, a nanoemulsão não foi capaz de acelerar o processo de contração de feridas cutâneas.

Palavras-chave: Óleo Essencial. Nanopartículas. Cicatrização. Antimicrobiano.

## Abstract

*Pectis elongata* Kunth, it's an herbaceous plant, knowledge on the Northern Brazil like "cuminho-bravo", "alecrim limão" or "alecrim-bravo". It's a species rich in essential oil, which present as majority constituent, the citral, component with recognized pharmacological properties. Nevertheless, it is known that essential oils present low solubility and high volatility, limiting its use as a therapeutic agent. In such a way, the insertion of essential oils in nanostructured systems, such as nanoemulsions, may be a promising alternative to circumvent the limitations related to its use. In the present study, our proposal was to evaluate the efficiency of the process of nanoemulsification of *P. elongata* essential oil about the retention of its main volatile constituents, as well as on its antimicrobial properties, anti-inflammatory and stimulating the healing process of cutaneous wounds. For this, in the first step, after obtaining the essential oil by hydrodistillation, the nanoemulsification process was performed using the low energy method and Tween80 as surfactant, resulting in particles with nanometric size ( $109.7 \pm 1.4$  nm), low polydispersity index ( $0.182 \pm 0.00$ ) and negative zeta potential ( $-32.3 \pm 1.2$  mV). These results characterize it as a nanoemulsion with uniform size distribution and repulsion forces strong enough to prevent coalescence between particles; properties that ensure its physical stability. To investigate the protection exercised by the nanostructured system against volatilization of the main components present in the essential oil of *P. elongata*, we determined the chemical composition of the free and nanoemulsified oil, using techniques of gas chromatography coupled to mass spectrometry. In this stage, the samples were stored under temperature of 25°C, during the period of 12 months, being the chemical analyses of the nanoemulsions performed at 0, 7-, 15-, 60- and 360-days post-preparation. The results showed citral as the major constituent for all samples analyzed where, in the free oil, the concentration of this compound was determined in 92.5%; and in the nanostructured system, in the post-preparation times quoted, the concentration of citral was determined in 92.8%, 92.6%, 90.8.0%, 95.7% and 78.9%, respectively. In the next step, we used the broth microdilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the nanostructured essential oil, in the face of bacteria of interest in public health, which interfere in the process of cutaneous wound healing. The standard strains selected for study were *Streptococcus pyogenes* S012, *Staphylococcus epidermidis* S010 and *Staphylococcus aureus* S008. In this test, it was decided to evaluate the antimicrobial potential of nanoemulsions stored at 25°C, at the initial and final times of the storage period (0 and 360 days, respectively). It was verified that there was no significant loss of its antimicrobial potential after 360 days of storage. Finally, the anti-inflammatory activity was evaluated by the carrageenan-induced paw edema test, and the stimulating potential of the cicatricial process was evaluated on skin wounds induced by surgical incision. The anti-inflammatory activity of the nanoemulsion was observed only for the dose of 10 mg mL<sup>-1</sup>, presenting significant results when compared to the negative control (distilled water). In the healing results, no significant increase in the percentage of wound contraction was observed when compared to the negative control (sterile saline solution). From these results, it is possible to suggest that the process of nanostructuring the essential oil of *P. Elongata*, using the technique of low energy input, was able to produce a physically stable nanoemulsion, showing effectiveness both in maintaining its chemical properties and in preserve its biological properties, inhibiting the growth of microorganisms and modulating the inflammatory response induced by carrageenan. On the other hand, at the concentrations evaluated, the nanoemulsion was not able to accelerate the contraction process of skin wounds.

Keywords: Essential Oil, Nanoparticles, Healing, Antimicrobial.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01.....	30
Figura 02.....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 .....	39
Tabela 02 .....	43
Tabela 03 .....	51
Tabela 04 .....	53

## LISTA DE SIGLAS

AINE .....	Anti-inflamatório Não Esteroide
ANVISA .....	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CBM .....	Concentração Bactericida Mínima
CEUA .....	Comitê de Ética de Uso de Animais
CG/EM .....	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CIM .....	Concentração Inibitória Mínima
CNPq .....	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COFEN .....	Conselho Federal de Enfermagem
COX .....	Ciclooxigenase
EUA .....	Estados Unidos da América
IL-1 .....	Interleucinas
NANOFARM/UFPA .....	Laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica
OELivre .....	Óleo Essencial de <i>Pectis elongata</i> Livre
OEPe .....	Óleo Essencial de <i>Pectis elongata</i>
OMS .....	Organização Mundial da Saúde
PG .....	Prostaglandinas
PPGCSA .....	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
RENOFITO .....	Rede Norte e Nordeste de Fitoterápicos
T0 .....	Tempo Inicial
T1 .....	Tempo de 1 hora
T2 .....	Tempo de 2 horas
T3 .....	Tempo de 3 horas
T4 .....	Tempo de 4 horas
T24 .....	Tempo de 24 horas
T360 .....	Tempo de 360 dias
UEPA .....	Universidade do Estado do Pará
UFOPA .....	Universidade Federal do Oeste do Pará
UFPA .....	Universidade Federal do Pará

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	12
1.	OBJETIVOS.....	14
1.1.	Geral: .....	14
1.2.	Específicos: .....	14
2.	HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	15
3.	REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
3.1.	Pele .....	15
3.2.	Feridas e processo de cicatrização .....	16
3.3.	Inflamação.....	19
3.4.	Ferida Infectada.....	21
3.5.	Plantas Medicinais .....	22
3.6.	<i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> e <i>S. epidermidis</i> associados a infecções de feridas cutâneas .....	28
3.7.	Biotecnologias aplicadas para dar estabilidade a formulações à base de óleos essenciais.....	29
3.8.	<i>Pectis elongata</i> Kunth (Asteraceae) .....	30
4.	MATERIAL E MÉTODOS .....	31
4.1.	Tipo de Estudo.....	31
4.2.	Material vegetal.....	32
4.3.	Extração do óleo essencial e determinação do rendimento.....	32
4.4.	Preparo da nanoemulsão pelo método de baixo aporte de energia .	33
4.5.	Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta (espectroscopia de correlação de fótons). .....	33
4.6.	Determinação da composição química do óleo essencial livre e nanoestruturado, analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). .....	33
4.7.	Determinação do potencial antimicrobiano .....	34
4.8.	Atividades anti-inflamatória e cicatrizante - Animais utilizados no estudo .....	35
4.9.	Análise Estatística.....	39
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
5.1.	Rendimento e composição química do óleo essencial livre e nanoestruturado.....	39
5.2.	Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta (espectroscopia de correlação de fótons) .....	42

<b>5.3.</b>	<b>Determinação do potencial antimicrobiano .....</b>	<b>44</b>
<b>5.4.</b>	<b>Potencial anti-inflamatório .....</b>	<b>46</b>
<b>5.5.</b>	<b>Potencial Cicatrizante .....</b>	<b>50</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>7.</b>	<b>FINANCIAMENTO .....</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>56</b>
	<b>ANEXO I.....</b>	<b>75</b>

## 1. Introdução

Feridas cutâneas são lesões físicas decorrentes da abertura ou rompimento da pele, causando perturbações em sua anatomia e função (NGUYEN et al., 2017). Podem gerar um grande impacto na vida de um indivíduo, principalmente quando estão relacionadas a doenças crônicas não transmissíveis, tais como comprometimento vasculares, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e neuropatias periféricas (BRASIL, 2013).

O processo fisiológico de cicatrização de feridas é complexo, sendo caracterizado por diferentes estágios interdependentes e sobrepostos, incluindo hemostasia, inflamação, proliferação (formação celular de tecido de granulação) e remodelação (formação de cicatriz com todos os eventos que requerem a interação de diferentes tipos de células) (NGUYEN et al., 2017). Já o processo inflamatório é a resposta do organismo, com caráter defensivo, seja local ou sistêmica à ação de um agente externo, que pode ser físico, químico ou biológico. Desta forma, a inflamação também pode ser uma resposta a uma infecção (ODA et al., 2014). Por sua vez, o processo infeccioso geralmente acontece devido a mudanças que ocorrem na microbiota tegumentar, ou a partir de uma ação oportunista de alguma destas bactérias, acometendo regiões com algum tipo de lesão (TOSTES et al., 2021).

Se a resposta inflamatória for alongada ou exacerbada, isso leva a um atraso nas fases subsequentes de cicatrização adequada da ferida e formação de cicatriz (NGUYEN et al., 2017). Da mesma forma, o processo infeccioso é também responsável por atrasos no processo de cicatrização (KHEZRI, et al., 2019). Estes fatores podem resultar em dificuldades no tratamento de feridas, principalmente quando se tem dificuldades de acesso à serviços de saúde, ou quando medicamentos de uso corrente no mercado possuem alto custo, fazendo com que os pacientes recorram a tratamentos alternativos, tais como o uso de plantas com propriedades medicinais.

As maneiras de se utilizar as plantas medicinais variam conforme a via de administração e intenção terapêutica; devendo haver um preparo e cuidado para assim poder usá-las. A infusão é a forma mais utilizada, contudo também podemos utilizar plantas medicinais por meio de unguentos, pós, tinturas, compressas, xaropes

e óleos essenciais (VILAR et al. 2019). Estes últimos são compostos voláteis, lipossolúveis, provenientes do metabolismo secundário de plantas aromáticas que, na natureza, atuam como importantes agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirais e inseticidas (GUSHIKEN et al., 2016).

No entanto, na prática, o uso de óleos essenciais é frequentemente limitado por vários inconvenientes que podem ocorrer durante seu manuseio ou armazenamento, estando suscetíveis a reações de degradação, tais como oxidação, isomerização, polimerização e rearranjo, que são principalmente dependentes de parâmetros ambientais como temperatura, luz e oxigênio atmosférico; fatores que podem resultar em perda significativa de eficácia. Além disso, são compostos insolúveis em água, apresentam alta volatilidade, tornando-os de difícil manuseio e uso (TUREK et al., 2013).

Para transpor este cenário, a nanotecnologia vem sendo usada no desenvolvimento de diferentes formulações que são classificadas de acordo com seu estado físico ou composição. Dentre estas destacam-se as nanoemulsões, caracterizadas como sistemas dispersos, formados por dois líquidos imiscíveis e estabilizados por um agente tensoativo. Apresentam na fase interna gotículas de tamanho nanométrico, na faixa de 20-200nm (TADROS et al., 2004). O destaque para nanoemulsões se dá devido à sua facilidade de formulação e manuseio, além de serem obtidas a baixo custo (PAVONI, et al., 2020).

O processo de nanoemulsificação é capaz de fornecer alta estabilidade aos componentes químicos presentes no óleo essencial, aumentando seu potencial biológico e diminuindo possíveis efeitos colaterais (ASSIS et al. 2012). Em adição, este processo pode melhorar as propriedades físico-químicas dos óleos essenciais, permitindo sua dispersão em água, reduzindo sua volatilidade e protegendo-os da interação com o meio ambiente (PAVONI, et al., 2020).

*Pectis elongata* é uma espécie rica em óleo essencial, que apresenta como constituinte majoritário o citral, componente com reconhecidas propriedades biológicas, tais como antifúngica (CAI et al., 2019), anti-inflamatória (LEE et al., 2008), antibacteriana (ZHANG et al., 2020), entre outras. Dessa forma, a utilização de agentes antimicrobianos e anti-inflamatórios naturais, incluindo óleos essenciais obtidos de plantas, pode ser uma estratégia adequada para prevenir o crescimento bacteriano, modular a resposta inflamatória e promover o processo de cicatrização de

feridas.

A partir do exposto, enfatiza-se a necessidade de se descobrir novos princípios ativos, com potencial de se tornarem medicamentos à base de óleos essenciais, que sejam eficazes na inibição de processos inflamatórios e infecciosos, contribuindo para promover o processo de cicatrização de feridas, de maneira mais rápida e eficiente, e com custo reduzido, principalmente para pacientes que portam de feridas de difícil cicatrização. Desta maneira, é importante a realização de novas pesquisas sobre a temática, buscando baratear e ampliar o acesso a medicamentos eficazes na cicatrização de feridas cutâneas.

## 1. Objetivos

### 1.1. Geral:

Avaliar a eficiência da nanoemulsificação do óleo essencial de *P. elongata* (OEPe) sobre suas propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória e estimulante do processo cicatricial de feridas cutâneas.

### 1.2. Específicos:

- ✓ Determinar a composição química do OEPe;
- ✓ Avaliar a estabilidade física das nanoemulsões, em relação ao diâmetro médio de gotículas, índice de polidispersão e potencial Zeta;
- ✓ Determinar a eficiência do processo de nanoemulsificação sobre a retenção de seus principais compostos voláteis;
- ✓ Avaliar se o OEPe nanoestruturado possui potencial antimicrobiano frente à microrganismos associados a infecções de feridas, e a eficácia de acordo com o tempo de armazenamento;
- ✓ Avaliar se o OEPe nanoestruturado possui efeito anti-inflamatório;
- ✓ Avaliar o efeito do OEPe nanoestruturado sobre o processo cicatricial de feridas cutâneas.

## 2. Hipótese Científica

O processo de nanoemulsificação é capaz de reter os principais constituintes voláteis presentes no óleo essencial de *P. elongata* (OEPe); apresenta propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória e estimulante do processo cicatricial de feridas cutâneas.

## 3. Referencial Teórico

### 3.1. Pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, representando cerca de 7% do peso corpóreo de um ser humano adulto. Representa o principal órgão do sistema tegumentar, contribuindo para a homeostase e ajudando a proteger o corpo de microrganismos e traumas, além de auxiliar na regulação da temperatura corpórea. Constitui-se como o principal órgão de contato entre o organismo e o ambiente externo, possibilitando a percepção de estímulos mecânicos e térmicos (TORTORA, 2016; SIVIERI et al., 2021).

O tegumento vive em constante transformação. Conforme o avanço do tempo, a pele sofre mudanças, alterando significativamente suas funções fisiológicas e estruturais. Ainda na fase embrionária, são formadas o ectoderma, mesoderma e endoderma, folhetos embrionários que dão origem a diferentes sistemas do organismo. O ectoderma e mesoderma, são responsáveis pela origem da pele e anexos (BERNARDO et al., 2019).

Este órgão é composto pela epiderme, que é a camada mais externa, fina, e rica em tecido epitelial, esta camada não possui vascularização. A segunda camada é a derme, espessa, e composta por tecido conjuntivo, é altamente vascularizada. É na derme que também estão inseridos as glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículos pilosos e nervos (TORTORA, 2016; SIVIERI et al., 2021).

A termorregulação é uma das funções da pele, este mecanismo de homeostase é realizado através da liberação de suor na superfície, ajustando também

a circulação de sangue na derme. Outra função da pele é proteção, que se manifesta de diversas maneiras. O sebo produzido pelas glândulas sebáceas evita que a pele e pêlos ressequem, além de possuir pequena ação antimicrobiana, o Ph ácido do suor também ajuda a evitar o crescimento de microrganismos e a melanina ajuda a proteger o corpo da ação dos raios ultravioletas (TORTORA, 2016).

A pele também participa do sistema sensorial, através do tato. Diversas terminações nervosas estão espalhadas pela derme e epiderme, permitindo que sejam captadas diversas sensações, como calor, frio, vibração, toque, pressão e dor (GUYTON, et al., 2011; LAMAS; PAÚL, 2013).

### 3.2. Feridas e processo de cicatrização

Feridas são definidas como a interrupção na continuidade do sistema tegumentar, representadas não somente pela ruptura da pele e do tecido celular subcutâneo; em alguns casos podem também atingir músculos, tendões e ossos (SMANIOTTO et al., 2010). Diversas podem ser as origens das feridas, tais como traumas, queimaduras, doenças crônicas, procedimentos cirúrgicos e muitos outros. (CAMPOS et al. 2016).

De acordo com o tempo de reparação, as feridas podem ser classificadas como agudas ou crônicas. As feridas agudas são lesões teciduais que geralmente cicatrizam completamente, com cicatriz mínima, em período aproximado de 8 a 12 semanas. Por outro lado, feridas crônicas são provenientes de lesões teciduais que cicatrizam lentamente, com tempo superior a 12 semanas, podendo ser recorrente. A dificuldade da cicatrização relaciona-se a repetidas injúrias teciduais ou condições fisiológicas subjacentes, tais como infecções persistentes, diabetes, tratamento primário ruim e outros fatores relacionados ao paciente (BOATENG et al., 2008; COSTA et al., 2022).

As feridas podem também ser classificadas de acordo com a profundidade (número de camadas da pele) ou área da pele afetada. Lesões que afetam apenas a epiderme, são classificadas como feridas superficiais, enquanto lesões envolvendo tanto a epiderme quanto a derme, incluindo os vasos sanguíneos, glândulas e folículos pilosos, são consideradas como feridas espessas. Quando atingem o tecido subcutâneo subjacente ou tecidos mais profundos, são classificadas como feridas de

espessura total (BOATENG et al., 2008; SOUSA et al., 2020).

Para reparação das lesões cutâneas, é necessário que ocorra a cicatrização. O processo de cicatrização é fisiológico, dinâmico e complexo, sendo dividido em etapas que são: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelagem (CAMPOS et al. 2016). Qualquer fator que cause interrupção, alteração, ou prolongamento desse processo pode desencadear o prolongamento da cicatrização ou resultar em uma ferida crônica sem capacidade de cicatrizar (LEAL e CARVALHO, 2014).

### 3.2.1. Fase inflamatória

A fase inflamatória é a primeira que compõe o processo de cicatrização. Inicia-se imediatamente após a lesão tecidual, com a liberação de substâncias vasoconstritoras, principalmente tromboxana A<sub>2</sub> e prostaglandinas, pelas membranas celulares (CAMPOS et al. 2007). Uma vez lesionado, o endotélio e plaquetas estimulam a cascata da coagulação, com consequente liberação de grânulos que contém fator de crescimento de transformação beta - TGF- $\beta$ , fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF) e fator de crescimento epidérmico (EGF) (LEAL e CARVALHO, 2014).

Nesta fase há liberação local de histamina, serotonina e bradicinina, que causam vasodilatação e aumento de fluxo sanguíneo no local e, conseqüentemente, sinais clássicos da inflamação, tais como eritema, edema, calor e dor. Esta é a fase em que os pacientes mais reclamam da ferida, justamente pelo desconforto causado pela inflamação (CAMPOS et al. 2016). As prostaglandinas constituem um dos mediadores mais importantes no processo de cicatrização, pois além de favorecer a exsudação vascular, estimula a mitose celular e a quimiotaxia de leucócitos (LEAL e CARVALHO, 2014), tais como linfócitos, monócitos e neutrófilos (OLIVEIRA e DIAS, 2012).

Os neutrófilos são responsáveis por defender a ferida de bactérias e removem restos de tecidos mortos; isto ocorre devido à liberação de vários tipos de enzimas proteolíticas que fragmentam bactérias. A ação dos neutrófilos pode durar até 48h, e após este período, sofrem apoptose ou são fagocitados pelos macrófagos (MEDEIROS, 2016).

Os macrófagos, por sua vez, migram para a ferida após 48 - 96 horas da lesão, antecedendo-se ao processo de replicação de fibroblastos. Macrófagos do tipo M1, denominados pró-inflamatórios, são responsáveis pela secreção de fatores de crescimento e citocinas; estas últimas promovem a resposta inflamatória, recrutando e ativando leucócitos adicionais. Além disso, contribuem na angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos), fibroplasia (produção de colágeno pelos fibroblastos) e síntese de matriz extracelular. Estes macrófagos são designados de reparadores, ou M2, e promovem a transição para a fase proliferativa da cura da ferida (CAMPOS et al. 2007; LEAL e CARVALHO, 2014).

### 3.2.2. Fase proliferativa

A segunda etapa do processo cicatricial é a fase proliferativa, também chamada de granulação. É constituída por quatro etapas fundamentais: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Esta fase tem início ao redor do 4º dia após a lesão e se estende até o final da segunda semana (CAMPOS et al., 2007). Este novo tecido possui coloração vermelha, brilhante e de aspecto granuloso, permitindo a proliferação e migração os fibroblastos que são responsáveis pela síntese de colágeno. Por fim ocorre a epitelização, fase em que ocorre o fechamento da superfície da lesão pela multiplicação das células epiteliais da borda, reduzindo o tamanho da ferida (CAMPOS et al. 2016).

### 3.2.3. Fase de remodelagem

A última etapa, também chamada de fase de maturação, caracteriza a reorganização das fibras de colágeno, e na redução da vascularização. Estes processos resultam em uma ferida mais plana, com coloração rosada ou branca. Nesta fase começa a ser notada a força tênsil da nova pele, que se torna mais forte com o passar dos dias, entretanto ela só alcança até 70% da força tênsil da pele sadia original (OLIVEIRA e DIAS, 2012; CAMPOS et al. 2016).

### 3.2.4. Tratamento convencional de feridas

O tratamento convencional de feridas varia conforme o tipo de lesão a ser tratada, e cada tipo de lesão precisa de cuidados específicos para melhor tratamento, cicatrização e qualidade de vida para o paciente (CAMPOS et al. 2016). Segundo a Resolução nº 567/2018 do Conselho Federal de Enfermagem – COFEN, compete ao enfermeiro avaliar, prescrever e executar curativos em todos os tipos de feridas, além de supervisionar equipe de enfermagem e na prevenção e cuidado de feridas.

As feridas podem ter as mais diversas origens, dessa maneira, para realização de um tratamento, deve ocorrer avaliação não apenas da ferida, mas também do paciente, seu histórico de saúde, condições de nutrição, além de condições socioeconômicas. A partir disso, é preconizado que a ferida deve ser avaliada diariamente durante a realização do curativo, pois pode ser necessário mudar o método terapêutico empregado, por exemplo, uma ferida simples, pode ser tratada apenas com soro fisiológico a 0,9 %, porém, caso apresente sinais de infecção, pode ser utilizado um curativo de carvão ativado com prata. O uso de fitoterápicos tem se mostrado cada vez mais eficazes para tratamento de feridas, a exemplo da papaína a 10%, eficaz para o tratamento de feridas necróticas (CAMPOS et al. 2016; LUCENA et al. 2020).

### 3.3. Inflamação

A inflamação é uma resposta protetora que envolve células, vasos sanguíneos, proteínas e outros mediadores, e é destinada a eliminar a causa inicial de estresse celular, bem como as células e tecidos necróticos que resultam da lesão original e iniciar o processo de reparo. Os estímulos nocivos podem ser de diversas etiologias, como infecções causadas por microrganismos e traumas, e tais estímulos irão desencadear alterações vasculares e celulares (KUMAR, et al., 2013).

O principal evento vascular envolvido é a vasodilatação causada por mediadores químicos, como a histamina, que causa a criação de lacunas inter-endoteliais, de maneira a permitir a entrada de leucócitos e proteínas plasmáticas nos locais de lesão do tecido. A intensa atividade celular causa eritema e estase do fluxo sanguíneo, portanto, o líquido que extravasa dos vasos sanguíneos para os tecidos lesionados resulta no edema (KUMAR, et al., 2013).

Por sua vez, o principal evento celular é o recrutamento de leucócitos, que saem da corrente sanguínea em direção aos tecidos afetados. Tal processo envolve as seguintes etapas: aderência transitória e rolagem no endotélio vascular, mediado por selectinas; aderência firme a parede do vaso, mediado por integrinas e, por fim, a migração entre os espaços interendoteliais. Os neutrófilos predominam no infiltrado inflamatório inicial e são posteriormente substituídos pelos macrófagos. É importante ressaltar que a destruição dos patógenos é causada por radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio, e tais compostos também são capazes de lesar tecidos saudáveis, quando a inflamação persiste além do tempo adequado (OLIVEIRA e DIAS, 2012).

### 3.3.1. Edema de pata induzido por Carragenina - modelo experimental de compostos com ação anti-inflamatória

A carragenina é um polissacarídeo sulfatado aniônico de ocorrência natural, presente em diferentes espécies de algas vermelhas pertencentes à família *Rhodophyceae*. É considerada um agente flogístico capaz de permitir a determinação do papel de vários mediadores importantes, bem como a identificação de drogas potencialmente anti-inflamatórias (PRAJAPATI et al., 2014). O modelo de ação inflamatória induzida por carragenina foi originalmente proposto por Winter et al. (1962) por indução de edema de pata em ratos. Posteriormente, Levy (1969) demonstrou que a carragenina também causa edema de pata em camundongos.

O desenvolvimento de edema induzido pela injeção de carragenina causa uma resposta inflamatória aguda e local, que ocorre em três fases distintas, de acordo com os mediadores envolvidos (DI ROSA et al., 1971). Nos primeiros 90 minutos, ocorre a liberação de histamina e serotonina (5HT), substâncias responsáveis pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular no início do processo inflamatório. A segunda fase ocorre entre 90 e 150 minutos, e é caracterizada pela liberação de cininas, notadamente a bradiginina, que além de promover o aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos, estimulam a biossíntese de prostaciclina e outros autacoides participantes do processo inflamatório.

Por fim, a terceira fase tem início após 150 minutos, quando ocorre aumento

da síntese de prostaglandinas (PGs) e leucotrienos no tecido inflamado, com um pico máximo na terceira hora. Nesta fase ocorre uma infiltração de leucócitos polimorfonucleares, principalmente neutrófilos (DI ROSA et al., 1971; UENO et al., 2000; QUINTANS-JUNIOR, et al., 2010; BATISTA et al., 2016). As PGs são eicosanoides derivados do ácido aracdônico, via ação de enzimas cicloxigenase (COX). A inibição destas enzimas configura o mecanismo de ação de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), utilizados no tratamento da dor e inflamação (MORRIS, 2003).

### 3.4. Ferida Infectada

O tratamento de feridas visa reduzir a dor e a proliferação de microrganismos, garantindo a segurança e o conforto do paciente. O protocolo básico de um curativo envolve a limpeza, o desbridamento (caso haja a presença de necrose) e cobertura, objetivando a proteção da ferida e a prevenção de infecção (CAMPOS et al, 2016).

Quando ocorre o manuseio inadequado do ferimento, uso de técnica incorreta de assepsia, proteção incorreta do leito da lesão ou ausência de proteção, pode-se suceder a contaminação da ferida por microrganismos patogênicos, sendo os mais comuns: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus Pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (BUZZI, et al., 2015; BORGES et al., 2022; LÜTZKENDORF et al., 2022).

A contaminação por microrganismos gera a formação de biofilmes bacterianos no leito das lesões, sendo extremamente nociva para o tecido e é um dos principais responsáveis para o estabelecimento da condição crônica de lesões, ao prolongar demasiadamente o período inflamatório da ferida. Essa situação se agrava ainda mais com o aparecimento de bactérias multirresistentes, em resposta ao uso indiscriminado de antibióticos, prática comum entre significativa parcela da população brasileira (BUZZI et al., 2015; JARA et.al., 2017). Apesar do desenvolvimento de novas classes de antibióticos, o surgimento de cepas bacterianas multirresistentes ocorre em um ritmo bastante acelerado, fazendo com que a busca por novos agentes antimicrobianos seja constante. Nesse contexto destacam-se as plantas medicinais, caracterizadas como fontes de substâncias químicas seguras e eficazes no combate à microrganismos (SILVA e NOGUEIRA, 2021).

### 3.5. Plantas Medicinais

O uso de plantas para fins medicinais, perpassa toda a história da humanidade, pois através de chás, pomadas, extratos, óleos e várias outras formas que pudessem ser utilizados, os curandeiros, boticários e primeiros médicos começaram a tratar seus doentes e enfermos, muitas vezes conseguindo curá-los, ou pelo menos aumentando sua expectativa e qualidade de vida (MONTEIRO & BRANDELLI, 2017). Mesmo que nem todas as plantas apresentem comprovação científica quanto à sua eficácia curativa, isso não diminui seu uso de forma empírica.

Acredita-se que aproximadamente 80% da população mundial faz uso de produtos naturais para cuidados de saúde. Este conhecimento, com registros antigos datando de 3000 a.C. na China, ainda se mantém no cotidiano, sendo amplamente utilizado por pessoas com baixas condições socioeconômicas, que são geralmente pessoas com dificuldades de acesso aos serviços de saúde (STAROSTA & ANJOS, 2020).

No Brasil, o uso de plantas medicinais é estimulado pelo Ministério da Saúde desde 2006, quando foi implementado a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813 em de 22 de junho de 2006, sendo que em 2009 foi publicado que 9 plantas já haviam sido aprovadas pela ANVISA para uso farmacêutico. Isso demonstra que as plantas medicinais são um caminho seguro para as práticas integrativas em saúde (CASTRO & FIGUEIREDO, 2019).

Nos últimos anos, mais de 10.000 artigos foram publicados a respeito do potencial fitoterápico de plantas medicinais, contudo, poucos estudos avaliam a toxicologia destes produtos extraídos das plantas, além de existir baixo incentivo da indústria farmacêutica para o desenvolvimento de fitoterápicos (SANTOS, 2018). Entretanto, estudos a respeito de plantas medicinais são importantes, visto que existe um grande uso empírico das mesmas, e ainda existem muitas espécies que não tiveram seu potencial descoberto, cabendo as universidades que fomentam a pesquisa, estudar e levar este produto até a população, seja através de projetos, ou de parcerias com empresas farmacêuticas (DUTRA et al., 2016).

Na região amazônica, o uso das plantas medicinais é cultural, e isso se deve, em parte, à impossibilidade de acesso à medicamentos de uso convencional, seja pelo preço, que muitas pessoas não têm condições de pagar, ou devido às grandes

distâncias que precisam ser percorridas para se chegar a um centro urbano com atendimento médico e/ou farmácias, fazendo com que a população prefira utilizar plantas que muitas vezes estão em seus quintais, do que percorrer uma estrada ou rios em busca de atendimento especializado (MESQUITA & TAVARES-MARTINS, 2018).

Além disso, ao visitar as grandes feiras na região amazônica, como o Ver-o-Peso em Belém – PA, o Mercado 2000 em Santarém – PA, ou o Mercado Adolpho Lisboa em Manaus – AM, é possível encontrar feirantes especializados na venda de remédios à base de plantas medicinais para todos os tipos de tratamento, que são frequentemente utilizados pela população. Contudo, mesmo que o uso empírico de plantas medicinais se mostre eficiente, ainda é necessária comprovação científica para uso seguro e constatando todas as possibilidades terapêuticas que os medicamentos à base de plantas medicinais podem nos oferecer.

### 3.5.1. Óleos essenciais

Óleos essenciais são produtos derivados do metabolismo secundário das plantas, podem estar presentes em qualquer parte de sua estrutura, tais como raízes, folhas, frutos, cascas e sementes. Entre suas funções para a planta estão a proteção, que pode ser repelindo predadores, ou com ação contra microrganismos, além de proteger a planta contra a perda de água e excesso de temperatura. Os óleos essenciais também possuem aroma forte e característico da planta, isto também contribui para que a planta atraia insetos que atuam na dispersão do pólen e sementes (SILVA et al., 2019).

Cada planta possui uma variação própria de substâncias químicas, sendo constituída principalmente por terpenos. Por apresentarem diferentes funções biológicas, dentre elas as funções antiviral, antibacteriana, anti-inflamatória, antisséptica, dentre outras, os óleos essenciais são amplamente utilizados na fitoterapia (SALVIANO et al., 2017, BEZERRA FILHO et.al., 2020).

Pesquisas tem demonstrado que o uso óleos essenciais de diversas plantas, é um caminho seguro para a solução de diversos agravos. Os óleos essenciais, dependendo da planta selecionada, já demonstram que podem ser utilizados em várias situações, como uso antimicrobiano para conservação de alimentos,

atividade antioxidante, sedativo ou na cicatrização de um ferimento (MANOHARAN, et.al., 2017; ALMEIDA et al., 2018; CUTRIM et al., 2019).

#### 3.5.1.1. Métodos de extração

Na indústria, o método de extração dos óleos essenciais mais utilizado é o de destilação por arraste de vapor. Entretanto, existem outros métodos capazes de extraí-los. Dentre eles podemos citar a hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, enfloração e prensagem a frio. O método selecionado para extração do óleo essencial depende da finalidade de uso, e a escolha do método pode influenciar em seu potencial biológico (SILVEIRA et al. 2012).

A destilação por arraste à vapor utiliza um conjunto de equipamentos interligados, na qual em um balão se coloca água, e em outro o vegetal que irá extrair o óleo, o calor do vapor faz com que as paredes das células da planta se abram, liberando o óleo que evapora junto com a água, sendo levado para um condensador, que deve estar acoplado no balão de destilação. Devido ao óleo não se misturar na água, o mesmo fica concentrado sobre a camada de água, desta maneira pode ser separado por um funil de separação (TRANCOSO, 2013).

A extração por solventes orgânicos é utilizada em alguns casos específicos, quando comprovado que o óleo é instável em temperaturas altas, neste caso utiliza-se compostos orgânicos como etanol, benzeno e hexano, tendo cuidado com as especificidades de cada óleo, evitando uma possível reação secundária (SILVEIRA et al. 2012). A enfloração é um método utilizado a muitos séculos; entretanto, seu uso acaba sendo mais restrito na área cosmética, para obtenção de aroma das flores, que possuem óleos muito instáveis para serem extraídos em outros métodos (SILVEIRA et al. 2012).

A prensagem a frio é mais utilizada para extração de óleo essencial de frutas cítricas, tais como laranja e tangerina. O método utiliza uma prensa hidráulica e a fruta é comprimida extraindo suco e óleo, sendo o óleo separado posteriormente através de decantação e centrifugação (SILVEIRA et al. 2012; BUSATO et al., 2014).

O método de hidrodestilação também é bastante utilizado, devido sua praticidade. Consiste em colocar partes da planta ou fruto em contato direto com a água fervente, o óleo é liberado junto com o vapor de água e capturado em um

condensador (SILVEIRA et al. 2012; BUSATO et al., 2014).

#### 3.5.1.2. Composição química

Os óleos essenciais possuem uma composição química complexa que apresentam alta volatilidade, contendo diversos hidrocarbonetos como aldeídos, álcoois, éteres, ésteres, cetonas, fenóis e fenilpropanóides (SILVA et al., 2019a). Porém, dentre estas substâncias, as que são mais presentes são os terpenos, estruturas químicas muito exploradas pela humanidade, através de seu uso em essências, para perfumaria, bem como pela indústria alimentícia, por contribuir para a melhora sensorial dos alimentos (FELIPE & BICAS, 2017).

Os terpenos são considerados alcenos naturais, devido a dupla ligação entre as moléculas de carbono, o que lhe classifica como hidrocarboneto insaturado. A principal característica dos terpenos são o fato de serem a substâncias que proporcionam o aroma das plantas; entretanto também possuem outras atividades biológicas (FELIPE; BICAS, 2017).

#### 3.5.1.3. Potencial biológico

Os óleos essenciais apresentam variados potenciais biológicos, isso depende da qualidade de extração do óleo, tipo de vegetal, área da planta utilizada, dentre outros. Podem trazer inúmeros benefícios para a saúde e bem-estar, pois podem ser implementados em diversas áreas de atuação como saúde, estética, agronomia e veterinária (MACHADO & JUNIOR, 2011).

A ação antimicrobiana de óleos essenciais, por exemplo, é fonte para inúmeras pesquisas, sendo altamente empregadas na agroindústria, pois apresentam grande potencial para conservação de alimentos, evitando a proliferação de bactérias, desta maneira excluindo a necessidade do uso de conservantes industriais (SILVA et al., 2020b).

Estudos já demonstram potencial larvicida de óleos essenciais contra larvas de mosquitos vetores de doenças (SILVA et al, 2019b); potencial antifúngico contra fungos fitopatogênicos (FONTANA et al., 2020; MENEZES FILHO et al. 2020).

Os óleos essenciais de *Carum carvi* e *Citrus lemon* apresentam potencial

contra problemas gastrintestinais; em relação ao sistema respiratório os óleos de *Eucalyptus globulus* e *Cinnamomum camphora* destacam-se com ação estimulante. Em relação a ação anti-inflamatória e antioxidante, os óleos de *Origanum vulgare* e *Satureja cuneifolia* merecem destaque. Os óleos essenciais também já demonstram potencial anticarcinogênico, com resultados satisfatórios em testes *in vitro* e *in vivo*, entretanto ainda não se conhece seus efeitos em seres humanos (FERREIRA, 2014). Também apresentam ação relaxante, através da aromaterapia e massagens (GNATTA et al., 2016; MONTIBELER et al. 2018).

### 3.5.2. Óleos essenciais e suas atividades em processos cicatriciais

O efeito cicatrizante de óleos essenciais e seus constituintes majoritários têm sido relatados (CAVALCANTI et al., 2012; RIELLA et al., 2012; TUMEN et al., 2013). O uso do óleo essencial de *Mentha piperita*, por via tópica, por exemplo, ajuda na redução da fase inflamatória, acelerando o processo de cicatrização (MODARRESI et al., 2019). O óleo essencial obtido da *Calendula officinalis* também demonstrou potencial cicatrizante em feridas cutâneas de ratos Wistar (VIVEIROS, 2018).

O potencial cicatrizante de óleos essenciais sobre feridas de pacientes diabéticos, foi demonstrado no estudo de Carvalho et al. (2016), incluindo sua eficácia no alívio da dor. O óleo de *Caryocar brasiliense* demonstra grande potencial cicatrizante, diminuindo a inflamação e acelerando o reparo tecidual (BEZERRA et al. 2015). Os óleos essenciais de *Cedrus libani* e *Abies cicilica* induziram a cicatrização de feridas e apresentam atividade anti-inflamatória em modelos de incisão e excisão de feridas experimentais em ratos (TUMEN et al., 2011). Riella et al. (2012) demonstraram que o monoterpene timol apresentou efeito anti-inflamatório e que a incorporação desse monoterpene em curativos, proporcionou melhoras no processo de cicatrização de feridas. Perches et al., (2015), utilizaram um colírio a base do óleo essencial de *Citrus lemon*, para o tratamento de úlceras corneais induzidas em coelhos.

### 3.5.3. Óleos essenciais e suas atividades em processos anti-inflamatórios

O uso dos óleos essenciais também se mostra efetivo para o tratamento de

processos inflamatórios. Ramos (2014), demonstrou que o óleo essencial de *Mangifera indica* apresentou potencial anti-inflamatório relacionado à inibição da migração celular além de diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias. O óleo essencial de *Cyperus articulatus* também apresentou grande potencial anti-inflamatório em testes *in vitro* (FERREIRA, 2018). O uso tópico do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* apresentou grande potencial anti-inflamatório em experimento realizado com camundongos (BRANDENBURG, 2020).

#### 3.5.4. Óleos essenciais com potencial antimicrobiano.

O potencial antimicrobiano é o mais conhecido das atividades biológicas atribuídas à óleos essenciais, sendo amplamente estudado e utilizado na indústria farmacêutica e principalmente a indústria alimentícia, para conservação alimentos, sem proporcionar risco para a saúde da população que os consumir (ALMEIDA et al., 2020).

Óleos essenciais de *Tagetes minuta* L., por exemplo, apresentam efeito antimicrobiano frente à *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, bactérias de grande atenção da saúde pública, pois são responsáveis por diversos tipos de infecções (SPERANDIO et al., 2019). O óleo essencial extraído da flor de *Lavandula dentata* L. e *Ocimum basilicum* apresenta efeito antibacteriano contra *Pseudomonas aeruginosa* (ULSENHEIMER et al., 2020). Óleo essencial de *Lippia origanoides*, conhecido também como alecrim-pimenta, é efetivo na inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*, além de apresentar efeito antifúngico contra *Candida albicans* (ALMEIDA et al., 2016; QUEIROZ et al., 2014).

Infecções causadas por fungos e bactérias são geralmente tratadas com antibióticos, mas em alguns casos verifica-se que algumas cepas são resistentes a esta classe de medicamentos (EKAWATI et al., 2020). Ao se tratar de infecções de feridas, a resistência antimicrobiana tem sido tema de interesse global, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como as dez principais ameaças à saúde humana (PUCA et al., 2021).

Por esse motivo, inúmeras pesquisas têm sido voltadas para a descoberta de novos compostos com potencial antimicrobiano, principalmente compostos não

sintéticos, de origem natural; na expectativa de que estes compostos, além de eficazes, apresentem efeitos colaterais reduzidos, e sejam viáveis do ponto de vista econômico.

Nesse contexto, os óleos essenciais podem representar uma nova abordagem terapêutica antimicrobiana, mesmo contra microrganismos resistentes à maioria dos antimicrobianos convencionais (RIBEIRO e SIMÕES, 2019). Vale ressaltar que os óleos essenciais são constituídos por diferentes compostos químicos, portanto, seu mecanismo de ação depende de sua diversidade química e da quantidade de cada composto individual; dessa forma, sua atividade antimicrobiana não é atribuível a um único mecanismo, mas sim uma cascata de reações envolvendo toda a célula bacteriana (BURT, 2004; NAZZARO et al., 2013).

Bakkali e colaboradores (2008), descrevem que, devido à característica lipofílica, os óleos essenciais podem, por exemplo, atravessar a membrana citoplasmática, desestruturar suas diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolípidios e torná-los mais permeáveis, de modo que a citotoxicidade parece incluir tais danos à membrana.

### 3.6. *S. aureus*, *S. pyogenes* e *S. epidermidis* associados a infecções de feridas cutâneas

*S. aureus*, *S. pyogenes* e *S. epidermidis* fazem parte do grupo de bactérias piogênicas frequentemente associadas às infecções de feridas, onde podem causar desde simples infecções, com a presença de pus, a infecções necrosantes graves (EKAWATI et al., 2020).

Na fase inicial das infecções, primeira semana, bactérias Gram-positivas, especialmente *S. aureus*, parecem ser os colonizadores mais frequentes (PUCA et al., 2021). Quando presentes em lesões na epiderme, *S. aureus* podem desencadear infecções na camada superficial de queratina (impetigo), na camada superficial da epiderme (erisipela) e no tecido subcutâneo (celulite), além de desencadear foliculite, abscessos (EKAWATI et al., 2020), eritema e separação de pele promovida por toxinas esfoliativas, incluindo enzimas epidermolíticas A e B (LOWY, 1998). *Streptococcus pyogenes* também pode causar impetigo, erisipela, celulite, além de infecções na fáscia (fasciíte necrosante) ou o músculo (miosite e mionecrose). É

também o agente etiológico da escarlatina e da síndrome do choque tóxico estreptocócico (STEVENS et al., 2016). Por sua vez, *S. epidermidis*, embora seja considerado como um microrganismo comensal simbiote, há evidências de que a colonização da pele por cepas específicas desse microrganismo pode ser prejudicial ao hospedeiro, onde a simples ruptura do tecido epitelial altera drasticamente o comportamento de *S. epidermidis* de benigno a patogênico (BROWN e HORSWILL, 2020).

### 3.7. Biotecnologias aplicadas para dar estabilidade a formulações à base de óleos essenciais

Os óleos essenciais são elementos instáveis e, por esse motivo, é necessário que se produzam formulações que tornem seus componentes estáveis e que possam prolongar seu efeito terapêutico (SILVA et al., 2015). Uma forma de buscar estabilidade para os óleos essenciais é através de cremes, método comumente utilizado na área de cosmética. Utiliza uma emulsão com mais de um princípio ativo dissolvido em uma base apropriada, criando uma estrutura estável que proporciona melhor absorção pela pele.

Existe também a possibilidade de utilizar géis, que são sistemas semissólidos que possuem pequenas moléculas inorgânicas dispersas em grande quantidade de líquido, outra característica é que existe uma maior concentração de água em relação a quantidade de óleo no componente final (COELHO, 2014). Contudo, nos últimos anos, a utilização de nanotecnologia tem sido cada vez mais utilizada.

Nanocarreadores coloidais submicrométricos, tais como lipossomos, nanopartículas, microemulsões e nanoemulsões por exemplo, são considerados sistemas promissores no setor farmacêutico, apresentando numerosas vantagens sobre as formulações tradicionais, tais como: liberação controlada do elemento ativo; solubilização de moléculas lipofílicas, proteção contra degradação química e enzimática de moléculas lábeis; redução da volatilização, dose e efeitos colaterais (BAJERSKI et al., 2016). Recentemente, atenção especial tem sido dada para formulações que usam a fase oleosa como núcleo de preparação de nanoemulsões.

### 3.7.1. Nanoemulsão

As nanoemulsões são sistemas cineticamente estáveis, podendo ser de óleo/água (O/A), quando gotículas de óleo estão dispersos na fase aquosa contínua, ou água/óleo (A/O), quando gotículas de água estão dispersas na fase oleosa contínua. As partículas contidas em nanoemulsões possuem o tamanho entre 20 e 500nm, podendo ser translúcida quando apresentar tamanho menor que 200nm e opalescentes com tamanho superior a 500nm (CAMARGO, 2008).

A relação dos tamanhos das partículas influencia na eficácia do fármaco; quanto menor o tamanho da partícula mais eficaz será sua ação e melhor será sua estabilidade, fazendo com que a nanoemulsão seja eficiente no transporte de fármacos ativos, melhorando as propriedades físicas, químicas e biológicas do material em que forem aplicadas (PIRES, 2016).

As nanoemulsões não podem ser formadas espontaneamente, sendo necessário fornecimento de energia ao sistema. Assim, podem ser preparadas por métodos que utilizam alta ou baixa energia de emulsificação (BAJERSKI et al., 2016). As técnicas que utilizam alta energia, utilizam energia mecânica por meio de alta tensão de cisalhamento, geralmente por uso de homogeneizadores de alta pressão ou geradores de ultrassom, capazes de induzir, devido às forças de cisalhamento intensas, a ruptura de estruturas micrométricas e levar a formação de partículas nanométricas (KOURNIATIS et al, 2010; LIU et al., 2019).

Já a técnica que utiliza baixa energia de emulsificação utilizam as propriedades físico-químicas dos sistemas para obterem emulsões com gotas muito pequenas (TADROS et al., 2004). As técnicas de baixa energia mais utilizadas são Emulsão Espontânea e Inversão de Fase de Emulsão, que inclui Inversão da Composição das Fases e Temperatura de Inversão de Fase (LIU et al., 2019). Em ambos ocorre a inversão de fase da emulsão de água/óleo para óleo/água ou vice e versa (MCCLEMENTS & RAO, 2011). Nas abordagens de baixa energia, a formação das partículas ocorre de maneira espontânea, quando a solução (como a velocidade de agitação, a taxa e a ordem de adição), ou as condições ambientais (como temperatura e pH) são alteradas.

### 3.8. *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae)

A espécie *Pectis elongata* Kunth [syn. *P. elongata* var. *divaricata* Hieron; *P. elongata* var. *fasciculiflora* (DC.) D. J. Keil; *P. elongata* var. *floribunda* (A. Rich.) D. J. Keil; *P. elongata* var. *oerstediana* (Rydb.) D. J. Keil; *P. elongata* var. *schottii* Fernald (International Plant names index) (figura 01), é encontrada em várias regiões das América Central e América do Sul. Apresenta porte herbáceo, podendo atingir aproximadamente 40cm de altura. Nos estados do Pará e Amapá, esta espécie é conhecida como “cuminho”, devido ao cheiro lembrar o tempero popularmente usado em diversas receitas. Na Guiana Francesa é utilizada comumente em chás ou como tempero culinário (SILVA et al., 2005).



Figura 01 – (A) a espécie *Pectis elongata*, (B) detalhe da flor, (C) detalhe das glândulas de óleo

O óleo essencial é extraído a partir de suas folhas, que possuem glândulas de óleo em suas bordas, sendo responsáveis pelo seu aroma típico de limão e erva-doce (MASSING et al, 2021). Já foram encontrados dois quimiotipos distintos para esta espécie: citral e aldeído perila (SILVA et al., 2005; MASSING et al, 2021).

Em relação ao potencial biológico do óleo essencial de *Pectis elongata*, poucos dados científicos existem atualmente, porém já se comprovou sua atividade antimicrobiana contra *Candida albicans*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. (SILVA et al., 2021).

## 4. Material e Métodos

### 4.1. Tipo de Estudo

Trata-se de uma Pesquisa Experimental, de caráter prospectivo, longitudinal, quantitativo e intervencional.

#### 4.2. Material vegetal

O material vegetal foi coletado na cidade de Santarém, estado do Pará, em área de cultivo localizada sob as seguintes coordenadas geográficas: 2°27.8'143" S/ 54°41,31'646" W. A coleta foi realizada em fevereiro de 2021, no período da manhã (9:00h). A identificação botânica foi realizada pela professora MsC. Chieno Suemitsu, e exemplares encontram-se depositados no Herbário da Universidade Federal do Oeste do Pará, sob número de registro HSTM-003432.

#### 4.3. Extração do óleo essencial e determinação do rendimento

Folhas e ramos finos de *P. elongata* foram secos à temperatura ambiente, durante o período de 4 dias. Após secagem, o material vegetal foi submetido ao processo de extração do óleo essencial, pela técnica de hidrodestilação, utilizando aparelho tipo Clevenger (100g, 3h). O óleo obtido foi seco em sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), e o seu rendimento foi calculado com base no peso seco da planta, a partir da relação entre o volume de óleo obtido e a biomassa vegetal livre de umidade (% v/p) (SANTOS et al., 2004), segundo a fórmula descrita abaixo:

$$T_0 = \frac{V_0}{B_m - \left(\frac{B_m \times U}{100}\right)} \times 10$$

Onde:

$T_0$  = teor de óleo (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%);

$V_0$  = volume de óleo extraído (ml), lido diretamente na escala do tubo separador.

$B_m$  = biomassa aérea vegetal (folhas e ramos finos), medida em gramas.

$\frac{B_m \times U}{100}$  = quantidade de umidade ou água presente na biomassa.

$B_m - \left(\frac{B_m \times U}{100}\right)$  = quantidade de biomassa seca, isenta de água ou livre de umidade.

100 = fator de conversão para porcentagem.

Os procedimentos foram realizados em triplicata.

#### 4.4. Preparo da nanoemulsão pelo método de baixo aporte de energia

A nanoemulsão, à base de óleo essencial de *P. elongata*, foi preparada pelo método de baixo aporte de energia, segundo metodologia descrita por Pereira et al., 2021, com modificações. Para isso, 0,03g de Polissorbato 80 (Tween80 - surfactante não iônico) foram misturados à 0,03g de óleo essencial, com posterior agitação vigorosa durante 1 min, em agitador tipo vórtex. Posteriormente, adicionou-se água, lentamente, gota a gota, até obtenção de massa final de 3,0g. A nanoemulsão resultante foi armazenada em frascos de vidro transparente, sob temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e protegida da luz até o momento de uso.

#### 4.5. Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta (espectroscopia de correlação de fótons).

Para determinação do diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial Zeta do sistema nanoestruturado, utilizou-se o equipamento Zetasizer Nano SZ (Malvern Instruments Inc. USA). Para isso, a amostra foi inicialmente preparada diluindo-se 10 $\mu\text{L}$  da nanoemulsão em 990  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, transferida para cubeta de poliestireno e introduzida no equipamento para a leitura do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão, por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz. A mesma diluição foi utilizada para conferir o potencial Zeta, sendo a leitura realizada em cubeta específica (DST1061), utilizando-se a técnica de microeletroforese doppler a laser. As análises foram realizadas no Laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica - NANOFARM/UFGA, em temperatura de  $25^\circ\text{C}$ , em um período de 14 dias após o processo de nanoemulsificação.

#### 4.6. Determinação da composição química do óleo essencial livre e

nanoestruturado, analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).

A identificação dos constituintes químicos presentes no óleo essencial livre e nanoestruturado foi realizada por GC-EM, usando o equipamento QP-2010-Plus (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), com auxílio do software MS Solution e de bibliotecas-padrões (ADAMS, 2007; NIST, 2011). Para esta análise, utilizou-se uma coluna capilar de sílica (Rtx-5ms, 30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m). As condições de análise foram as seguintes: temperatura do injetor 250°C; programação de temperatura do forno 60°C (5 min), gradiente de 3°C/min até 240°C; gás de arraste hélio (1,0 mL min<sup>-1</sup>); injeção tipo split de 1,0 $\mu$ L da amostra; ionização por impacto eletrônico (70eV); temperatura da fonte de íon e linha de transferência de 200°C e 250°C, respectivamente. Os compostos foram identificados pelo tempo de retenção dos padrões e por comparação dos seus respectivos espectros de massas com aqueles das bibliotecas citadas acima. Para análise cromatográfica dos constituintes químicos retidos na nanoemulsão, inicialmente foi realizada a partição líquido-líquido da amostra. Para isso, 500 $\mu$ L da nanoemulsão foram diluídos em 1500 $\mu$ L de hexano.

#### 4.7. Determinação do potencial antimicrobiano

##### 4.7.1. Microrganismos e condições de cultivo

Para análise do potencial antimicrobiano do óleo essencial nanoestruturado, foram utilizadas bactérias de interesse em saúde pública, que frequentemente interferem no processo de cicatrização de feridas cutâneas. As cepas padrões selecionadas (*Streptococcus pyogenes* S012, *Staphylococcus epidermidis* S010 e *Staphylococcus aureus* S008) foram adquiridas comercialmente na forma liofilizada, da empresa Cefar Diagnóstica. Os microrganismos foram inicialmente hidratados em caldo Mueller Hinton (MHA) a 37  $\pm$  2 °C, durante 24 h. Sequencialmente alíquotas foram transferidas para placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton e incubados sob as mesmas condições descritas acima. Os inóculos foram preparados através da inoculação direta de colônias em 1 mL de solução salina estéril, e ajustados ao padrão 0,5 na escala de McFarland, correspondendo a 1,5 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (NCCLS/CLSI,

2006).

4.7.2. Método de microdiluição em caldo - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) (NCCLS, 2004).

Neste método, a concentração inicial de ensaio foi de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ . (nanoemulsão não diluída). A partir desta solução, as demais concentrações foram igualmente preparadas por diluição em série (fator de diluição 1:1) usando Caldo Mueller-Hinton (MHB) como diluente. O inóculo bacteriano foi inicialmente ajustado ao padrão 0,5 da escala de McFarland, com posterior diluição em solução salina estéril (fator de diluição de 1:10), para obtenção da concentração final de  $1,5 \times 10^4 \text{ UFC mL}^{-1}$ . Os testes foram realizados em placas de 96 poços, onde cada poço recebeu  $90 \mu\text{L}$  da concentração específica da nanoemulsão,  $90 \mu\text{L}$  de MHB estéril e  $10 \mu\text{L}$  do inóculo. Ampicilina foi diluída em solução tampão fosfato de sódio, para obtenção de concentrações variando de 2 a  $256 \mu\text{g mL}^{-1}$ . O controle de viabilidade das cepas, o controle de esterilidade do meio e o controle de atividade do solvente, foram realizados simultaneamente. Cada poço comportou volume final de  $100 \mu\text{L}$ . As placas foram encubadas em estufa bacteriológica, com temperatura de  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ , por 24h. Transcorrido o período de incubação, a inibição do crescimento dos microrganismos foi revelada por adição de solução aquosa de resazurina ( $20 \mu\text{L}$ , 0,02%, p/v) e re-incubação por mais 3h. A CIM, definida como a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir o crescimento de microrganismos, foi determinada pela permanência de coloração azul nos poços. A mudança da cor azul para rosa (devido à redução da resazurina à refazurina) indica o crescimento de células viáveis. Os poços que não mostraram crescimento aparente foram selecionados para avaliar a CBM, determinada pela ausência de crescimento microbiano após subcultura em placas contendo MHA. Os testes foram realizados em triplicata.

4.8. Atividades anti-inflamatória e cicatrizante - Animais utilizados no estudo

Para o teste de edema de pata induzido por  $\lambda$ -carragenina, foram utilizados

36 (trinta e seis) *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, machos, com idade aproximada de 2 meses e peso entre 150 e 200 g. Para o experimento de cicatrização, foram utilizados 72 (setenta e dois) camundongos, da linhagem Swiss, com idade aproximada de 2 meses, e peso entre 40 e 50 g. Todos os animais são provenientes do Biotério da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA e da Universidade do Estado do Pará – UEPA, Campus XII, onde são mantidos em estantes ventiladas, temperatura de  $24 \pm 2$  °C, fotoperíodo com ciclo de 12h claro/escuro e recebendo água e ração *ad libitum*.

#### 4.8.1. Princípios Éticos da Pesquisa

Todo o manejo dos animais utilizados na pesquisa seguiu o Art. 225, Lei nº 6.638/1979, Lei Arouca nº11.794/2008, Decreto 6.899/2009 e as Resoluções Normativas 30/2016 e 37/2018. Esse estudo foi submetido e aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFOPA, e encontra-se aprovado sob número de protocolo 0820210124 (ANEXO I).

#### 4.8.2. Avaliação do potencial anti-inflamatório - Teste de edema de Pata induzido por carragenina

##### 4.8.2.1. Delineamento experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em 06 (seis) grupos, contendo 06 (seis) animais cada, sendo:

- ✓ Grupo controle do solvente (n=6) - receberam, via oral, 300 µL da solução solvente da nanoemulsão (Tween 80 a 1%);
- ✓ Grupo controle negativo (n=6) - receberam, via oral, 300 µL de água destilada;
- ✓ Grupo controle positivo (n=6) - receberam, via oral, solução de indometacina, na dose final de 10 mg Kg<sup>-1</sup>;
- ✓ Grupo tratamento 1 (n=6) - receberam, via oral, nanoemulsão contendo óleo essencial, na dose final de 10 mg Kg<sup>-1</sup>;
- ✓ Grupo tratamento 2 (n=6) receberam, via oral, nanoemulsão contendo óleo

essencial, na dose final de 5 mg Kg<sup>-1</sup>;

✓ Grupo tratamento 3 (n=6) receberam, via oral, nanoemulsão contendo óleo essencial, na dose final de 2,5 mg Kg<sup>-1</sup>.

#### 4.8.2.2. Procedimentos

Os tratamentos foram administrados 45 minutos antes da indução do edema, pela administração subplantar de  $\lambda$ -carragenina (1%) - Sigma Aldridh (20 $\mu$ L/pata), na pata posterior esquerda, seguindo o descrito por WINTER *et al.*, (1962) e HENRIQUES *et al.*, (1987). Volume semelhante de salina (NaCl 0,9%) foi injetado na pata contralateral. O edema foi registrado nos tempos 0, 4 e 24h após a administração dos tratamentos.

O volume do edema, em mililitros (mL), foi registrado com auxílio de um pletismômetro (Insight, Brasil). Para isso, a pata posterior esquerda do animal é submersa até a junção tíbio-tarsal, na câmara de leitura do aparelho. O volume de líquido deslocado é registrado digitalmente e corresponde ao volume da pata. Os resultados foram expressos como a diferença de volume (mL) entre a pata que recebeu  $\lambda$ -carragenina e a pata contralateral, que recebeu solução salina.

#### 4.8.3. Avaliação do potencial cicatrizante

##### 4.8.3.1. Delineamento experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em 6 (seis) grupos, contendo 06 (seis) animais cada, sendo:

- ✓ Grupo controle positivo (n=06) - receberam, via tópica, 50  $\mu$ L de óleo de girassol comercial (Dersani);
- ✓ Grupo controle do solvente (n=06) - receberam, via tópica, 50  $\mu$ L da solução de preparo da nanoemulsão (Tween 80 a 1%);
- ✓ Grupo controle negativo (n=06) - receberam, via tópica, 50  $\mu$ L de solução salina;
- ✓ Grupo tratamento 1 (n=06) - receberam, via tópica, 50  $\mu$ L da nanoemulsão

- contendo óleo essencial de *Pectis elongata*, na concentração final de 10mg/mL;
- ✓ Grupo tratamento 2 (n=06) - receberam, via tópica, 50 µL da nanoemulsão contendo óleo essencial de *Pectis elongata*, na concentração final de 5mg/mL;
- ✓ Grupo tratamento 3 (n=06) - receberam, via tópica, 50 µL da nanoemulsão contendo óleo essencial de *Pectis elongata*, na concentração final de 2,5mg/mL.

#### 4.8.3.2. Procedimentos

Os testes foram realizados segundo metodologia descrita por BEHEREGARAY et al. 2017. Os animais foram inicialmente anestesiados com injeção intraperitoneal da associação de ketamina 100 mg kg<sup>-1</sup> e Xilazina 10 mg kg<sup>-1</sup>, seguida de injeção subcutânea local com lidocaína (0,5% - 3 ml Kg<sup>-1</sup>). Após a anestesia, foram realizados os procedimentos de tricotomia elétrica, assepsia (iodo ativo a 1%) e incisão cirúrgica da região dorsal, utilizando *Punch* de biópsia nº 5.

Posteriormente à incisão cirúrgica, e logo após a recuperação da anestesia, os animais de cada grupo receberam os respectivos tratamentos: controle positivo, controle do solvente, controle negativo e grupos teste, com três diferentes concentrações do óleo essencial de *Pectis elongata* nanoemulsificado. A administração dos tratamentos (via tópica) foi realizada com auxílio de micropipetas, utilizando ponteiras estéreis.

Cada grupo foi avaliado em dois momentos: o primeiro, com duração de 7 dias de cicatrização, e o segundo com duração de 14 dias, a contar do procedimento de incisão da ferida.

Para verificação do processo de cicatrização, todas as incisões foram inicialmente medidas com auxílio de paquímetro digital e posteriormente registradas por fotografia. Após 7 dias de tratamento, 6 (seis) animais de cada grupo foram eutanasiados para medição e registro fotográfico do local da incisão. Os 6 (seis) animais restantes de cada grupo foram observados por mais 7 (sete) dias, totalizando 14 (quatorze) dias consecutivos de tratamento, quando então foram eutanasiados, para medida e registro fotográfico das incisões.

#### 4.8.3.3. Análise Macroscópica

Ao término da cirurgia, as lesões foram fotografadas, com altura de 10cm de distância entre a câmera e o animal, sendo as fotografias realizadas nos tempos 7 e 14 dias após o ferimento. Foram registrados o grupo de tratamento ao qual o animal pertence, o tempo de tratamento (0, 7 ou 14 dias) e número do animal por grupo (1, 2, 3, 4, 5 e 6).

As feridas fotografadas tiveram suas áreas medidas com auxílio do programa ImageJ<sup>®</sup> (NIH, EUA), que avalia a lesão graficamente pela medida do diâmetro (WEBER & SANTOS, 2019). O percentual de contração das feridas foi calculado utilizando a seguinte fórmula (TONG *et al.*, 2008):

$$\% \text{ de contração} = \frac{(\text{área inicial} - \text{área final})}{\text{área inicial}} \times 100$$

Durante o período de tratamento, foram também observadas possíveis alterações nos animais, tais como: sinais de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia e alterações na pele, pêlos, olhos e mucosas.

Para alívio de dor e melhor bem-estar dos animais durante o período de experimentação, os animais receberam diariamente dosagem adequada de Paracetamol (10 mg kg<sup>-1</sup>).

#### 4.9. Análise Estatística

Os resultados das análises do potencial antimicrobiano, foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão, e submetidos à análise de variância, seguido do teste de Turkey, os resultados do potencial anti-inflamatório e cicatrizante foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão, e submetidos à análise de múltipla comparação de Dunnett, as diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p \leq 0,05$ . O intervalo de confiança foi estabelecido em 95%. As análises foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prisma 7.0.

## 5. Resultados e discussão

### 5.1. Rendimento e composição química do óleo essencial livre e

nanoestruturado

O rendimento do óleo essencial de *P. elongata* foi determinado em 1%. Após análise dos constituintes químicos do óleo essencial livre e nanoestruturado (tempos 0, 7, 15, 60 e 360 dias), evidenciou-se o citral (neral + geranial), como constituinte majoritário, seguido de outros terpenos, em baixas concentrações (Tabela 01).

**Tabela 01.** Compostos químicos majoritários presentes no óleo essencial de *Pectis elongata* livre (OElivre) e nanoestruturado (tempos 0, 7, 15, 60 e 360 dias pós-produção).

CONSTITUINTES QUÍMICOS	OE livre	Nanoemulsão (%)				
		T 0	T 7	T 15	T 60	T 360
p-Menta-1,5-dien-8-ol	-	-	-	-	-	1,0
2-Acetoxihexano	1,13	0,3	0,2	0,2	0,2	0,8
6-metil-5-hepten-2-ona	0,84	0,8	0,9	1,0	0,3	0,6
Cis-Piperitol	-	-	-	-	0,1	0,7
Limoneno	0,73	0,4	0,5	0,6	0,1	-
Linalol	0,41	0,4	0,4	0,5	0,2	0,4
Nerol	1,64	1,4	1,5	1,5	0,2	-
<b>Neral</b>	<b>37,20</b>	<b>39,1</b>	<b>38,5</b>	<b>36,3</b>	<b>34,0</b>	<b>25,2</b>
Geraniol	2,84	2,5	2,7	2,6	0,6	-
<b>Geranial</b>	<b>54,11</b>	<b>53,8</b>	<b>54,1</b>	<b>54,5</b>	<b>61,7</b>	<b>53,7</b>
Citronelal	0,05	-	-	-	-	3,1
Hidroxi citronelal	-	-	0,2	0,6	0,4	2
3-Undecanol	-	-	0,2	0,7	0,5	-
Ácido gerânico	-	-	-	0,6	0,4	2,7
<b>TOTAL DE COMPOSTOS</b>	<b>98,95</b>	<b>98,8</b>	<b>99,3</b>	<b>99,0</b>	<b>98,5</b>	<b>90,2</b>

IR<sub>C</sub> = Índice de Retenção Calculado (Rxi-5ms column), IR<sub>L</sub> = Índice de Retenção da Literatura. T = tempo em dias. OE = óleo essencial.

Existem fatores que podem influenciar na composição química de óleos essenciais. Estes podem ser divididos em fatores biológicos, representados por organismos vivos presentes no solo, e os que habitam a própria planta; e não biológicos, tais como o clima, o pH e o nível de hidratação do solo (DE MATOS et al., 2019; FOKOU et al., 2020).

Como a composição química pode variar, diferentes quimiotipos podem ser reconhecidos para uma mesma espécie, portanto é relevante comparar os principais compostos químicos encontrado nos óleos essenciais de *Pectis elongata* coletado em diferentes localidades. Há pesquisas identificando os compostos químicos da *Pectis*

*elongata* em outros países, tais como em Porto Rico, nos EUA, e na ilha Martinica, nas Índias Ocidentais, destacando citral (geranial - 40,15% e neral - 27,47%) como constituinte majoritário (ARRILLAGA, 1943; PRUDENT et al, 1995).

No Brasil, há catalogadas amostras dos estados do Pará, na cidade de Santarém, e em Boa Vista, Roraima, onde o citral representa o composto majoritário (MASSING et al., 2021; SILVA et al., 2021, PEREIRA et al., 2021).

Por outro lado, o óleo essencial extraído de espécimes coletados nas cidades de Belém e Bujaru (Pará, Brasil), e Ferreira Gomes (Amapá, Brasil), os compostos predominantes foram aldeído perila e limoneno (SILVA et al., 2005). A variabilidade presente nos óleos essenciais de diferentes localidades possibilitou que fossem catalogados 2 quimiotipos diferentes para a mesma espécie de *P. elongata* (MASSING et al, 2021).

No presente estudo, o óleo essencial de *P. elongata*, em sua forma livre, apresentou citral (91,31%) (neral + geranial) como constituinte majoritário. Da mesma forma, no sistema nanoestruturado, em amostras avaliadas nos tempos 0, 7, 15, 60 e 360 dias pós-preparo, os valores (%) de citral foram determinados em 92,8; 92,6; 90,8; 95,7 e 78,9, respectivamente. Analisando os dados apresentados da Tabela 01, foi possível verificar que nos tempos 0, 7, 15 e 60 dias pós-preparo, a concentração de citral manteve-se estável no sistema nanoestruturado, quando comparado ao óleo livre.

No presente estudo, a nanoemulsão foi obtida utilizando-se o método de baixo aporte de energia e Tween80 como surfactante não-iônico. Segundo KOMAIKO & MCCLEMENTS (2016), nanoemulsões preparadas por este método são eficientes em reduzir o processo de degradação de compostos bioativos presentes em óleos essenciais, o que corrobora com os resultados encontrados.

Observou-se ainda não haver perda significativa de citral no sistema nanoestruturado, mesmo após um longo período de armazenamento (360 dias). Após este período, o valor de citral no sistema nanoestruturado representou 86,41% de seus valores iniciais (tempo zero), confirmando estabilidade química da nanoemulsão durante todo o período avaliado. Estudo semelhante foi realizado por Pereira e colaboradores (2021), onde o processo de nanoemulsificação do óleo essencial de *Pectis elongata* não afetou seu perfil químico geral.

Vale ressaltar que o citral foi citado como sendo o componente responsável

por diferentes propriedades farmacológicas já descritas na literatura para esta espécie, incluindo seu potencial antibacteriano e antifúngico (PRUDENT, et al., 1995, MASSING et al., 2021, SILVA et al., 2021).

## 5.2. Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta (espectroscopia de correlação de fótons)

As leituras do diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão e do potencial Zeta da nanoemulsão, foram realizadas em equipamento Zetasizer modelo Nano ZS. Os resultados mostraram partículas em tamanho nanométrico ( $109,7 \pm 1,4$  nm), baixo índice de polidispersão ( $0,182 \pm 0,00$ ) e elevado valor de potencial Zeta ( $-32,3 \pm 1,2$  mV). Estes resultados caracterizam-na como uma nanoemulsão com distribuição uniforme de tamanhos e forças de repulsão forte o suficiente para impedir a coalescência entre partículas, propriedades que garantem sua estabilidade física.

Utilizando um sistema de emulsão múltipla (polissorbato 80 e trioleato de sorbitan) e tecnologia de baixo aporte de energia, Pereira e colaboradores (2021) produziram nanoemulsões contendo óleo essencial de *P. elongata* quimiotipo citral, com características de tamanho, índice de polidispersão e potencial Zeta, semelhantes às encontradas no presente estudo, quando comparados o mesmo período de armazenamento das amostras, até o momento das análises (14 dias).

O processo de encapsulamento dos compostos químicos está relacionado ao tamanho das gotículas da emulsão. Ou seja, quanto menor o tamanho da gotícula nanoemulsificada, maior é o índice de retenção dos compostos químicos do óleo (LU et al., 2018). Além disso, nanoemulsões com tamanhos de gotículas  $<200$  nm são consideradas cineticamente estáveis (KOMAIKO e MCCLEMENTS, 2016; LIU et al., 2019), e quanto menor o tamanho das partículas, mais eficientes elas serão no que diz respeito à ação e transporte de fármacos ativos, por exemplo (PIRES, 2016).

Já o índice de polidispersão é usado para descrever a variação no tamanho das partículas da nanoemulsão e seus valores podem variar entre 0 e 1. Valores próximos de zero indicam homogeneidade da dispersão, enquanto valores que se aproximam de 1 indicam alta heterogeneidade (YUAN et al., 2006; CAMARA, et al., 2021).

A composição quali-quantitativa, o método, e as condições operacionais de

preparação dos nanocompostos, são fatores determinantes do diâmetro médio e da polidispersão das partículas (SCHAFFAZICK et al., 2003). O controle do tamanho das partículas é importante, pois impede variações nas características físico-químicas da solução. Desta forma, ao manter o padrão de índice de polidispersão e tamanho dos compostos encapsulados, é possível conseguir que a liberação do fármaco seja feita de forma gradual e homogênea (COSTA et al., 2015).

Os valores do potencial Zeta são indicativos da estabilidade dos sistemas coloidais, determinando a mobilidade eletrosmótica das partículas e estando associado as medidas das superfícies de nanopartículas (HACKER, 2018). Valores inferiores a -30 mV e superiores a +30 mV, são considerados bons, pois indicam alta estabilidade, porém, valores intermediários, ou mais próximos de zero, indicam baixa instabilidade da solução (CÂMARA et al., 2021). Quando o potencial Zeta apresenta valores altos significa que as gotículas presentes nas nanoemulsões possuem força de repulsão capaz de impedir coalescência, mantendo estabilidade (PIRES e MOURA, 2017).

No presente estudo, o valor negativo do potencial Zeta (carga superficial negativa sobre as gotículas da nanoemulsão), pode ser resultante da adsorção de íons hidroxila na interface óleo/água, provenientes das ligações de hidrogênio da água com os grupamentos químicos presentes tanto no Tween 80 quanto nos compostos presentes no óleo essencial (PIRES e MOURA, 2017).

Para obtenção de uma nanoemulsão tem sido cada vez mais explorado as técnicas de baixo aporte energético, visto que é possível obtenção de emulsões estáveis com a utilização de surfactantes, permitindo que seja possível a obtenção de nanoemulsões de forma mais rápida (KOMAIKO; MCCLEMENTS, 2016).

O fato de gerar uma emulsão de forma espontânea, faz com que a obtenção de uma nanoemulsão através de técnicas de baixo aporte energético seja cada vez mais utilizadas pela indústria, em decorrência de terem um custo mais baixo, e obtenção mais rápida em comparação a técnicas de alto aporte energético, que utilizam energia mecânica ou geradores de ultrassom (CONTENTE et al., 2015; LI et al., 2020).

Portanto, a nanoemulsão produzida a partir de baixos níveis de energia, e Tween 80 como surfactante, confere ao óleo essencial de *P. elongata* nanoestruturado, características de sustentabilidade, economia e eficiência, o que pode caracterizar vantagens para diferentes setores industriais.

### 5.3. Determinação do potencial antimicrobiano

Para este teste, optou-se por avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial nanoestruturado, nos tempos iniciais e finais do período de armazenamento (0 e 360 dias, respectivamente). O objetivo foi verificar se possíveis alterações/reduções na concentração dos principais constituintes voláteis, associadas ao tempo de armazenamento das nanoemulsões, poderiam influenciar sobre sua estabilidade farmacológica frente aos microrganismos ensaiados. Para validação do experimento, Ampicilina foi utilizada como antimicrobiano padrão. Os resultados são mostrados na TABELA 02.

**TABELA 02** - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) de nanoemulsões contendo óleo essencial de *Pectis elongata*. Tempo inicial (T0) e após 360 dias (T360) de armazenamento.

MICROORGANISMOS	Nanoemulsão T0 mg mL <sup>-1</sup>		Nanoemulsão T360 mg mL <sup>-1</sup>		Ampicilina mg mL <sup>-1</sup>
	MIC	CBM	MIC	CBM	MIC
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	2,5	>5	2,5	>5	0,016
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	0,62	1,25	1,25	2,5	0,008
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	2,5	>5	2,5	>5	0,032

Quando avaliadas nos tempos inicial e final de armazenamento (T0 e T360), as nanoemulsões contendo o óleo essencial de *Pectis elongata* apresentaram resultados semelhantes frente às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis*, com CIM de 2,5 mg mL<sup>-1</sup> e CBM de >5 mg mL<sup>-1</sup> para ambos os patógenos, respectivamente.

Frente à *S. pyogenes*, a nanoemulsão, no T0, promoveu CIM na concentração de 0,62 mg mL<sup>-1</sup> e CBM na concentração de 1,25 mg mL<sup>-1</sup>. Em relação à T360, as concentrações foram dobradas quando comparados aos valores apresentados pela nanoemulsão avaliada em T0. Segundo Hammer e colaboradores (1999), os mecanismos de ação antimicrobiana de óleos essenciais podem ser diferentes contra cada tipo de microrganismo, uma vez que existem mais de um componente químico em sua composição, onde cada um pode agir de maneira diferente, ou agir sinergicamente contra células microbianas. Dessa forma, os resultados de CIM e CBM aumentados em T360, frente à *S. pyogenes*, podem ser atribuídos à redução da concentração do citral durante o período de armazenamento da nanoemulsão (de 92,8%, em T0, para 78,9%, em T360).

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *P. elongata* foi relatada anteriormente por Prudent et al., (1995) e Silva et al., (2021), frente a bactérias e fungos patogênicos. Ambos os autores atribuíram o potencial antimicrobiano ao citral, componente que, no presente estudo, representa 91,31% do total de compostos identificados no OEPe livre. Este composto, com fórmula molecular C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O (3,7-dimetil-2,6-octadienal), é o nome dado a uma mistura natural de dois aldeídos monoterpênicos acíclicos isoméricos: geranial (trans -citral, citral A) e neral (cis -citral, citral B) (SADDIQ e KHAYYAT, 2010).

O potencial antimicrobiano do citral contra alguns importantes microrganismos patogênicos foi descrita anteriormente por diferentes autores. O óleo essencial de *Lippia alba*, por exemplo, rico em citral, demonstrou potencial antimicrobiano contra *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* e *S. typhimurium* (COUTO et al., 2021). Citral isolado também apresentou potencial antimicrobiano contra *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* (SOUZA et al., 2021). O citral é capaz de causar lesão na membrana celular das bactérias de maneira irreversível. Este componente interage com a membrana celular dos microrganismos, causando aumento do efluxo de íons de potássio de forma letal para bactérias, além de ocasionar o aumento significativo da liberação de ácidos nucleicos, decorrente do extravasamento de material citoplasmático (TEIXEIRA, 2015).

Entretanto, semelhante a outros óleos essenciais, o citral é um composto hidrofóbico instável em condições normais de armazenamento, e pode facilmente perder sua atividade antimicrobiana. Dessa forma, sistemas nanoestruturados, tais como nanoemulsões, constituem uma maneira de hidrofilar e proteger este composto (LU et al., 2018), além de potencializar suas aplicabilidades, uma vez que são eficientes em aumentar a bioeficácia do OE, devido à capacidade de absorção por células, e por sua permeabilidade através de membranas e barreiras biológicas (DE MATOS et al., 2018).

Dessa forma, o processo de nanoemulsificação de óleos essenciais pode ser considerado como uma estratégia para melhorar o potencial antimicrobiano destes compostos. A CIM e CBM de nanoemulsões podem ser iguais ou menores que os apresentados pelos óleos puros, pois o sistema de liberação dos compostos é mais eficiente, devido o diâmetro fino das gotículas, resultando no aumento das atividades bactericida e bacteriostática (DONSI et al., 2012; ZIANI et al., 2011).

A capacidade de nanoemulsões em potencializar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais, pode estar relacionada à melhor estabilidade e dispersão das gotículas (SALVIA-TRUJILLO et al., 2014). O aumento da área de superfície e o transporte passivo através da membrana celular, melhoram a interação com a membrana citoplasmática. Além disso, a fusão de gotículas de emulsificantes com bicamadas fosfolipídicas de membranas celulares, pode facilitar a liberação direcionada de óleos essenciais em locais desejados.

A partir disso, a liberação sustentada de óleos essenciais das gotículas da nanoemulsão ao longo do tempo, estende a atividade dos óleos essenciais, impulsionada pela partição entre as gotículas de óleo e a fase aquosa. Dessa forma, as nanoemulsões são capazes de aumentar os mecanismos de absorção celular com consequente aumento da atividade antimicrobiana (LU et al., 2018). Em adição, o processo de aquisição de resistência antimicrobiana à nanoemulsões contendo óleos essenciais é dificultado pelo fato de estas substâncias atuarem diretamente na ruptura inespecífica de membranas celulares bacterianas (PANDYA, 2015).

#### 5.4. Potencial anti-inflamatório

Nesta etapa, avaliamos o potencial anti-inflamatório do óleo essencial de *Pectis elongata* nanoestruturado, administrado por via oral, objetivando comprovar sua ação anti-edematogênica em modelo de edema de pata induzido por  $\lambda$  - carragenina. Este modelo experimental é considerado como padrão de inflamação aguda, uma vez que apresenta um alto grau de reprodutibilidade, e seu agente flogístico não apresenta propriedades antigênicas, além de ser desprovido de efeitos sistêmicos (HÄDRICH, 2015). Os resultados podem ser visualizados na Figura 02 (n=6 animais/grupo).

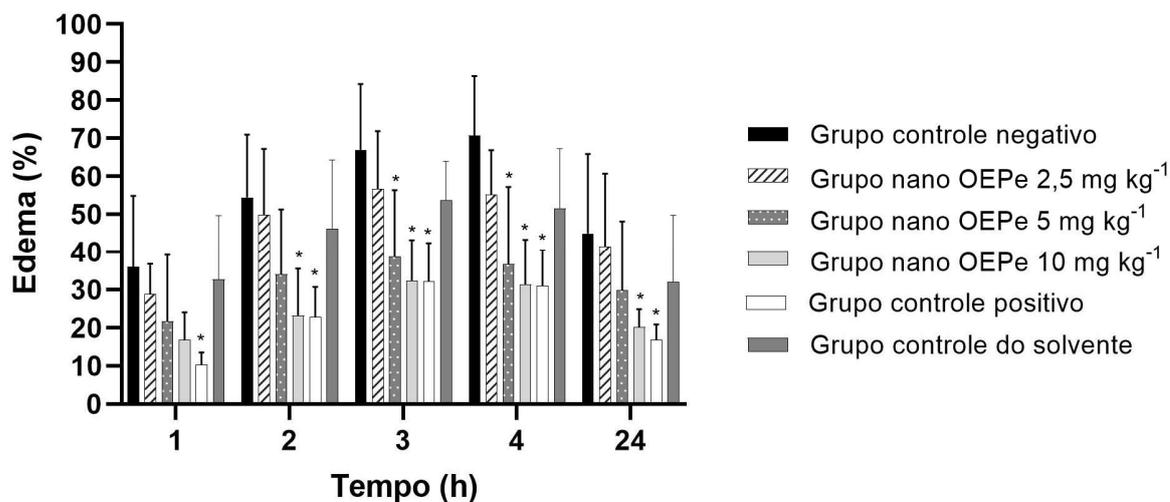


Figura 02 - Efeito do óleo essencial de *Pectis elongata* nanoestruturado (OEPE) sobre o edema de pata induzido por carragenina. As colunas representam média  $\pm$  desvio padrão da média (n=6). \* $P \leq 0,05$  indica diferença significativa entre o grupo controle negativo (solução salina 0,9%) e demais grupos tratados (grupos nano 10, 5 e 2,5 mg kg<sup>-1</sup> OEPE; grupo controle positivo – Indometacina 10 mg kg<sup>-1</sup> e grupo controle do solvente - Tween80 a 1%).

Para o grupo controle negativo, o edema de pata foi rapidamente induzido após injeção de carragenina, iniciando em T1 (36,03%), momento em que ocorre liberação simultânea de aminas vasoativas (histamina e serotonina), e atingindo volume máximo em T4 (70,7%), período em que ocorre a síntese de PGs e leucotrienos e a liberação de leucócitos polimorfonucleados. Estes resultados foram comparados aos valores de edema mensurados nas patas contralaterais, onde injetou-se apenas veículo, confirmando, dessa forma, o processo inflamatório promovido pelo agente flogístico (Figura 01).

Indometacina, fármaco padrão utilizado como controle positivo, administrado via oral (10 mg Kg<sup>-1</sup>), inibiu o edema a partir de T1 (71,4%) e continuou o processo de inibição até T24 (62,6%), apresentando redução significativa do edema, quando comparado ao controle negativo.

Na primeira hora de avaliação (T1), não foram observadas diferenças significativas entre o edema de pata mensurado no grupo controle negativo e o edema dos grupos tratados com o óleo essencial de *P. elongata* nanoestruturado, indicando que a substância teste, nas doses avaliadas, não apresenta efeito anti-histamínico, e não atua como antagonista de serotonina, substâncias liberadas simultaneamente nas primeiras horas do processo inflamatório induzido por

carragenina (DI ROSA, 1971).

De T2 à T24, após indução do edema pelo agente flogístico, pôde-se observar efeito anti-edematogênico significativo ( $p \leq 0,05$ ) da nanoemulsão na dose de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , quando comparada ao controle negativo, com pico de redução calculado em T3 (58,7%). De maneira semelhante, na dose de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , a nanoemulsão foi eficiente em reduzir o edema nos tempos T3 (42,3 %) e T4 (48,2%). Por outro lado, de T1 a T24, a dose de  $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$  não reduziu o edema promovido por carragenina (Figura 01).

Segundo Batista e colaboradores (2016), T3 (correspondente a 180 minutos) é o momento em que ocorre aumento da síntese de prostaglandinas, que pode ser bloqueada via inibição de COX; mecanismo de ação de anti-inflamatórios não esteroidais, tais como a Indometacina (MORRIS, 2003). Durante o experimento o T3 a dosagem de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  apresentou resultados muito semelhantes ao tratamento do grupo controle positivo.

Nos tempos T2 a T24, quando analisamos os valores de inibição do edema promovido pelo OEPE nanoestruturado, nas doses de  $10$  e  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , verificou-se não haver diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) em relação aos valores conferidos ao padrão Indometacina. Portanto, considerando os picos de redução do edema promovido pelo OEPE nanoestruturado nas doses de  $10$  e  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  (T3 e T4, respectivamente), é possível sugerir que, nestas doses, a nanoemulsão pode atuar de maneira semelhante ao anti-inflamatório padrão.

Dos muitos medicamentos disponíveis para prevenir ou minimizar o processo inflamatório, destacam-se os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e corticosteroides, porém, estes primeiros, por exemplo, podem desencadear alguns efeitos colaterais secundários, principalmente distúrbios gastrointestinais (KUMMER et al, 2002).

Em contrapartida, produtos de origem natural, utilizados na medicina tradicional, surgem como uma interessante alternativa ao desenvolvimento de novos medicamentos. Nesse contexto, um número crescente de estudos tem demonstrado que os óleos essenciais, derivados de plantas, exibem uma variedade de propriedades biológicas, destacando-se como uma importante fonte de compostos bioativos que podem atuar no tratamento de doenças de origem inflamatória (PÉREZ et al., 2011).

Monoterpenos são os principais componentes desses óleos essenciais e os efeitos biológicos de muitas espécies vegetais com propriedades medicinais, têm sido atribuídos a eles. A atividade anti-inflamatória do citral, monoterpeneo identificado como principal componente do óleo essencial de *P. elongata*, foi previamente estudada em diferentes modelos experimentais. Quintans-Júnior e colaboradores (2011), por exemplo, concluíram que o pré-tratamento com citral, nas doses de 100 e 200 mg kg<sup>-1</sup>, reduziu significativamente o edema de pata induzido por carragenina, em ratos. Os autores sugeriram que, nas doses avaliadas, o citral isolado pode atuar tanto na primeira fase do edema, inibindo a liberação de histamina e/ou serotonina, quanto na inibição significativa do edema na segunda e terceira fase, com inibição de 5-lipoxigenase e/ou cicloxigenase, ambas as enzimas envolvidas na formação de prostaglandinas e leucotrienos.

O citral também apresentou forte atividade anti-inflamatória no ensaio de edema de orelha induzido por óleo de cróton, em camundongos, nas doses de 0,1 e 0,3 mg por orelha, reduzindo a inflamação em 22% e 83%, respectivamente (LIN et al., 2008). Os exatos mecanismos de ação pelos quais o citral exerce sua atividade anti-inflamatória continuam a ser estudados. Porém, pesquisas apontam a possibilidade deste composto monoterpênico agir principalmente sobre a cascata do ácido araquidônico, e/ou regulando a produção de moléculas envolvidas em processos pró-inflamatórios (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011). Katsukawa e colaboradores (2010) sugeriram que o citral é capaz de suprimir a expressão de COX2, via ativação de Proliferadores de Peroxissoma do tipo Alfa e Gama (PPAR  $\alpha$  e  $\gamma$  - são fatores de transcrição nucleares responsáveis por regular a inflamação). Vale ressaltar que a enzima cicloxigenase (COX), enzima chave para a biossíntese de prostaglandinas, tem duas isoformas homólogas, COX1 (constitutiva) e COX2 (indutiva). COX1 é sintetizada por muitos tipos celulares, e sua expressão aumenta apenas em 3 a 4 vezes mediante quadros inflamatórios, enquanto COX2, que em condições normais apresenta-se em níveis muito baixos, quase indetectáveis, é largamente sintetizada mediante a presença de estímulos inflamatórios, quando sua expressão é aumentada cerca de 20 vezes ou mais, sugerindo que esta isoforma constitui a chave do processo inflamatório (KUMMER et al., 2002).

Estudos sobre o potencial anti-inflamatório de nanoemulsões contendo óleos essenciais ricos em citral, ou mesmo citral em sua forma isolada, são escassos na

literatura, sendo a presente pesquisa uma das primeiras a avaliar tal atividade.

Ao compararmos o potencial anti-edematogênico do óleo essencial de *P. elongata* nanoestruturado, nas doses de 5 e 10 mg kg<sup>-1</sup>, avaliadas no presente estudo, aos resultados de estudos realizados por Quintans-Júnior e colaboradores (2011), utilizando tratamento com citral, nas doses de 100 e 200 mg kg<sup>-1</sup>, frente ao edema de pata induzido por carragenina, verifica-se que formulações nanoestruturadas requerem concentrações cerca de 20 vezes menores para atingir o efeito desejado.

Segundo Borges e colaboradores (2018), nanoemulsões têm o potencial de aumentar a penetração de substâncias lipofílicas através das membranas celulares, aumentando sua biodisponibilidade e melhorando seu efeito anti-inflamatório. Portanto, nanoemulsões contendo o óleo essencial de *Pectis elongata*, rico em citral, podem configurar uma interessante alternativa no desenvolvimento de novos fármacos com propriedades anti-inflamatórias.

#### 5.5. Potencial Cicatrizante

Ao analisarmos a evolução temporal da reparação tecidual de lesões dos animais dos grupos testes, comparadas ao grupo controle negativo (solução salina estéril), verificou-se que, no 7º dia pós-cirúrgico, as áreas das feridas diminuíram em todos grupos, quando comparadas ao tamanho inicial, mas não foram observadas diferenças significativas relacionadas ao percentual de contração de feridas entre os grupos avaliados. Porém, neste período, pôde-se observar a tendência de que, quanto mais concentrada a nanoemulsão, menor sua eficácia como agente cicatrizante, no que se refere ao potencial de contração (redução da área da ferida).

Em estudos conduzidos por Kobayashi e colaboradores (2015) ao avaliar o potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de *Lippia ferrea*, os autores concluíram que a maior concentração avaliada (50%) retardou o processo de contração da ferida, quando comparado ao tratamento com NaCl 0,9% e resultou em menor grau de reepitelização, quando comparado ao grupo tratado com *L. Ferrea* com baixas concentrações (12,5%).

De Oliveira e colaboradores (2014), observaram que o óleo essencial de *Lippia sidoides*, em altas concentrações, pode desencadear efeitos irritantes sobre a

pele de camundongos, demonstrados pelo aumento da espessura cutânea, formação de edema e eritema, e perda de hidratação e elasticidade da pele. Por outro lado, em baixas concentrações, o efeito irritante sobre a pele de camundongos, após sete dias de tratamento, limitava-se a eritema e edema discretos, sendo considerados como sinais de irritação leve. Os autores sugeriram que a concentração de óleos essenciais deve ser controlada quando utilizada para uso tópico.

No presente estudo, ao final de 14 dias de tratamento, uma vez que a reparação tecidual se caracteriza como um processo sistêmico, todas as lesões estavam completamente reepitelizadas. Ao final deste período, não foram encontradas diferenças entre os grupos, em relação ao percentual de contração das feridas, por inexistência de lesão, restando apenas a cicatriz do tecido lesionado (TABELAS 03 e 04).

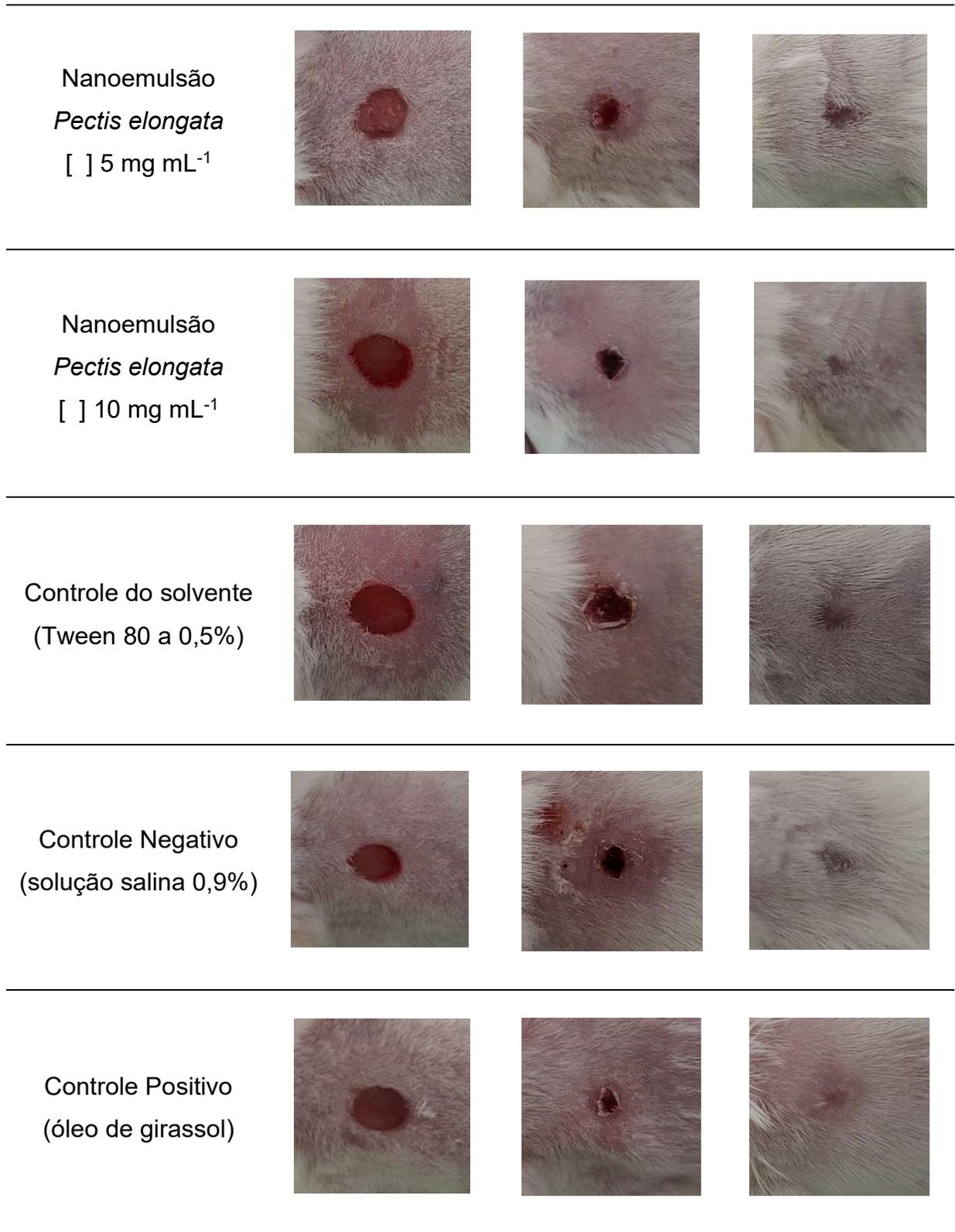
**Tabela 03** - Análise Morfométrica da reparação tecidual da lesão nos animais experimentais e controles no 7° e 14° dias pós-cirúrgico. Os valores estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão dos percentuais de contração das feridas.

Tempo (Dias)	TRATAMENTOS					
	Grupo controle negativo	*Grupo controle positivo	Grupo controle do solvente	Grupo nano 2,5 mg/mL	Grupo nano 5 mg/mL	Grupo nano 10 mg/mL
7°	84,8 $\pm$ 6,8	91,7 $\pm$ 5,9	73,5 $\pm$ 8,5	83,9 $\pm$ 5,0	82,3 $\pm$ 9,6	71,3 $\pm$ 9,9
14°	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0

Os valores representam a média  $\pm$  DP (n=6). Não houve diferença significativa entre grupo controle negativo (tratado com solução salina estéril) e grupos teste. Anova, One-way, teste de múltipla comparação de Dunnett. \*Óleo de girassol (Dersani)

**Tabela 04.** Evolução da área das feridas nos diferentes grupos, durante 14 dias de tratamento

Tratamento	Dia 0	Dia 7	Dia 14
Nanoemulsão <i>Pectis elongata</i> [ ] 2,5 mg mL <sup>-1</sup>			



Durante a execução do experimento, embora não tenhamos observado redução no percentual de contração de feridas, a partir do 3° dia, observou-se a

formação de crosta seca no local onde procedeu-se a incisão cirúrgica, sem presença de exsudato e sem sinais de processos infecciosos ou inflamatórios, mantendo as crostas até aproximadamente o 10º dia pós-cirúrgico.

Vale ressaltar que, além do reparo tecidual, decorrente do estímulo à proliferação celular, um agente cicatrizante deve possuir outros atributos que possam influenciar positivamente o processo cicatricial, tais como potencial antimicrobiano e anti-inflamatório. Dessa forma, acentua-se a busca por tratamentos que associem propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e cicatrizantes, em um mesmo produto.

Segundo Barreto e colaboradores (2014), no processo de cicatrização de feridas, o provável mecanismo de ação de monoterpenos pode ser atribuído ao potencial antimicrobiano (promovendo alteração na permeabilidade da membrana citoplasmática, inibindo a síntese de ácidos nucleicos ou a biossíntese de proteína), anti-inflamatório (inibindo a síntese de interleucinas em mastócitos, retardando a liberação de leucotrienos ou atuando sobre a liberação de tromboxano) e antioxidante (inibindo a produção de radicais livres).

Ao atuar diretamente sobre microrganismos, compostos antimicrobianos podem minimizar os riscos de infecção, impedindo que estes possam se instalar no local da ferida. Por sua vez, agentes com propriedades anti-inflamatórias, além de contribuir para remoção de microrganismos contaminantes no local da lesão, por meio do estímulo à migração neutrófilos, cuja função, dentre outras, é eliminar microrganismos invasores; podem ainda estimular a migração de macrófagos, que apresentam funções múltiplas no processo cicatricial, tais como indução e retirada de células em apoptose (incluindo neutrófilos), promoção da regeneração do tecido lesionado, por meio do estímulo à produção de queratinócitos e fibroblastos, bem como o estímulo à angiogênese (LEAL e CARVALHO, 2014).

Uma vez que não ocorra um processo de descontaminação eficaz, a inflamação é prolongada, pois os microrganismos presentes no local da ferida podem estimular a síntese de citocinas pró-inflamatórias, tais como a interleucina-1 (IL-1) e o TNF- $\alpha$ , prolongando a fase inflamatória, e conseqüentemente retardando o processo de cicatrização, o que pode desencadear uma ferida crônica sem capacidade de cicatrizar (LEAL e CARVALHO, 2014).

O potencial anti-inflamatório do citral isolado (QUINTANS-JÚNIOR et al.,

2011), e o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *P. elongata*, rico em citral, já haviam sido descritos anteriormente (SILVA et al., 2021). No presente estudo, além de apresentar potencial anti-inflamatório na maior dose ensaiada (10 mg kg<sup>-1</sup>), o óleo essencial de *Pectis elongata* nanoestruturado também apresentou ação antimicrobiana contra bactérias comumente envolvidas em infecções de pele, o que pode ter contribuído para que, durante o experimento de cicatrização, não tenha ocorrido nenhum tipo de sinal de inflamação ou infecção nas lesões.

Em outros estudos, o citral, encapsulado em emulsão Pickering (tipo de emulsão, na qual se utiliza dispersões de dois líquidos imiscíveis estabilizadas através de partículas sólidas que podem ser tanto de origem orgânica como inorgânica), já apresentou ação cicatrizante, atuando tanto na proliferação de células de fibroblastos (principais células envolvidas no processo de cicatrização), quanto na inibição de processos infecciosos (TEIXEIRA, 2015; LI et al., 2022).

Juntamente com as células endoteliais, os fibroblastos correspondem às principais células da fase proliferativa. Porém, para sair de seu estado de quiescência e migrar de tecidos vizinhos para a área da ferida, os fibroblastos precisam primeiramente ser ativados. O fator de crescimento mais importante na proliferação e ativação dos fibroblastos é o PDGF (BROUGHTON, 2006). Em seguida é liberado o TGF- $\beta$ , que estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I e a transformarem-se em miofibroblastos, que promovem a contração da ferida (CAMPOS et al., 2007).

Sob nossas condições experimentais, o óleo essencial de *P. elongata* nanoestruturado ajudou no processo de reparo tecidual, embora não tenha acelerado o processo de contração das feridas, ressaltamos que, principalmente em situações onde há comprometimento do sistema de defesa do organismo, é necessário favorecer condições locais, através de terapia tópica adequada, objetivando favorecer o processo fisiológico de cicatrização.

Nessa perspectiva, destaca-se a importância de estudos experimentais, envolvendo o uso de substâncias naturais como agente estimulante do processo cicatricial, que possam auxiliar a cascata de eventos celulares e moleculares que atuam na reepitelização e reconstituição do tecido lesionado, prevenir infecções na ferida, bem como evitar episódios frequentes de exacerbação do quadro inflamatório, com conseqüente aparecimento de dor e desconforto local (CAVALCANTI et al., 2012; PISTORE et al., 2014).

Em relação ao uso de solução salina como controle negativo, ressaltamos que é uma solução tradicionalmente utilizada nos serviços de saúde para realizar a limpeza do leito da ferida, porém esta solução não proporciona melhora no processo cicatricial além de limpeza da sujidade, desta forma não interfere nos tratamentos utilizados (CAMPOS et al., 2016; SOUSA et al., 2020).

Ácidos graxos, como o Óleo de Girassol (*Helianthus annuus L.*), utilizado no teste de cicatrização como controle positivo, vem sendo utilizado como uma ferramenta importante para o tratamento e prevenção de feridas (CAMPOS et al., 2016; TORRES et al., 2021). O baixo custo e fácil acesso permite que os ácidos graxos sejam considerados tratamento padrão para diversos tipos de feridas (ROSA et al., 2021). Estas substâncias permitem que o leito da ferida permaneça úmido, evitando a desidratação do tecido, diminuindo a ocorrência de traumas durante a execução de curativos, e aumentando a atividade pró-inflamatória. Além disso, o óleo de girassol também contribui para a nutrição celular, dessa forma acelerando o reparo tecidual (HATANAKA e CURI, 2007; ROSA et al., 2021; TORRES et al., 2021).

## 6. Conclusão

Citral foi caracterizado como componente majoritário do OEPe, seguido de outros compostos em baixas concentrações. O processo de nanoemulsificação do OEPe, *utilizando* a técnica de baixo aporte de energia, foi capaz de produzir uma nanoemulsão fisicamente estável, apresentando eficácia tanto em manter suas propriedades químicas, quanto em preservar suas propriedades biológicas, inibindo o crescimento de microrganismos mesmo após 360 dias de armazenamento, e modulando a resposta inflamatória. A nanoemulsão de OEPe contribuiu para o processo de cicatrização nas concentrações avaliadas, minimizando riscos de infecção e prolongamento de inflamação, todavia a nanoemulsão não foi capaz de acelerar o processo de contração de feridas cutâneas. Contudo ainda se torna necessário realização de novos estudos com maior abordagem ao tema referido, para maior enriquecimento de conhecimento etnocientífico na Amazônia que podem ser empregadas para a construção de uma prática baseada em evidência de forma segura, adequada e eficaz.

## 7. Financiamento

A dissertação foi financiada pelo projeto Rede Norte e Nordeste de Fitoterápicos - RENOFITO/CNPq (processo nº 465536/2014-0) e pelo edital pro-dissertação 2021/PPGCSA/UFOPA.

### Referências Bibliográficas

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. **Allured Publishing Corporation**, Carol Stream, Illinois, EUA, 2007.

ALBANO, Mariana et al. Antibacterial and anti-staphylococcal enterotoxin activities of phenolic compounds. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 83-90, 2016.

ALMEIDA, A.C.; MORÃO, R.P.; MARTINS, E.R.; FONSECA, F.S.A.; SOUZA, C.N.; PRATES J.B.P.; OLIVEIRA, F.D.; SILVA, L.M.V. Antiseptic activity of the essential oil of *Lippia origanoides* in the presence of bovine milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 905-911, 2016.

ALMEIDA, Ana Paula Gottlieb et al. Óleos essenciais e eugenol como anestésico para *Serrasalmus rhombeus*. **Boletim Do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 1, p. 44-50, 2018.

ALMEIDA, J.C.; ALMEIDA, P.P.; GHERARDI, S.R.M. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Nutritime Revista Eletrônica**, v.17, n.1, p.8623-8633, 2020.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, vol. 48, Suppl. S1, p.5 -16, 2001.

ARRILLAGA, N.G. New essential oils from Puerto Rico. Properties of *Lippia micromeria*, *Eugenia buxifolia* and *Pectis elongata*. The **American Perfumer Essential Oil Review**, vol 45, p. 27-29, 1943.

ASSIS, L.M.; ZAVAREZE, E.R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L.A. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos.

**Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

BAJERSKI, L.; MICHELS, L.R.; COLOMÉ, L.M.; BENDER, E.A.; FREDDO, R.J.; BRUXEL, F.; HAAS, S.E. The use of brazilian vegetable oils in nanoemulsions: an update on preparation and biological applications. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, p. 347-363, 2016.

BAKKALI, Fadil et al. Biological effects of essential oils – a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARRETO, R.S.S; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R.L.C; ARAÚJO, A.A.S.; ALMEIDA, J.R.G.S.; SANTOS, M.R.V.; BARRETO, A.S.; DESANTANA, J.M.; SIQUEIRA-LIMA, P.S. QUINTANS, J.S.S; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. A Systematic Review of the Wound-Healing Effects of Monoterpenes and Iridoid Derivatives. **Molecules**, v.19, p. 846-862, 2014.

BATISTA, E. K. F. et al. Atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 433-441, 2016.

BEHEREGARAY, K.W.; GIANOTII, G.C.; OLIVEIRA, F.; TERRACIANO, P.; BIANCHI, S.; VIDOR, S.; MARCOLAN, C.F.; CONTESINI, E.A.; CIRNE-LIMA, E.O. Células- tronco mesenquimais aplicadas nas fases inflamatória e proliferativa da cicatrização de feridas cutâneas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1591-1600, 2017.

BERNARDO, A.F.C.; DOS SANTOS, K.; DA SILVA, D.P. Pele: Alterações Anatômicas e Fisiológicas do Nascimento à Maturidade. **Revista Saúde em Foco**, Ed. 11, 2019.

BEZERRA, N.K.M.S.; BARROS, T.L.; COELHO, N.P.M.F. A ação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no processo cicatricial de lesões cutâneas em ratos. **Revista brasileira de plantas mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 875-880, 2015.

BEZERRA FILHO, C.M.; DA SILVA, L.C.N.; SILVA, M.V.; LØBNER-OLESEN, A.; STRUVE, C.; KROGFELT, K.A.; CORREIA, M.T.S.; OLIVA, M.L.V. Antimicrobial and antivirulence action of *Eugenia brejoensis* essential oil *in vitro* and *in vivo* invertebrate

models. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 424, 2020.

BORGES, R.S.; KEITA, H.; ORTIZ, B.L.S. *et al.* Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: *in vitro* and in zebrafish studies. **Inflammopharmacol.** Vol. 26, p.1057-1080, 2018.

BOATENG, J. S., MATTHEWS, K. H., STEVENS, H. N. E., & ECCLESTON, G. M. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 97, n. 8, p. 2892-2923, 2008.

BORGES, Eline Lima *et al.* Formação do biofilme em ferida cutânea e seu comportamento diante das intervenções: revisão integrativa. **Rev Rene**, v. 23, p. 18, 2022.

BRANDENBURG, M.M. Atividade antiInflamatória tópica do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) em modelos de inflamação de pele. **UFPR**, Curitiba, 2020.

BRASIL, M. S. Diretrizes de atenção à pessoa amputada. **Ministério da Saúde, Brasília-DF**, v. 1, p. 36, 2013.

BROUGHTON, George I. I.; JANIS, Jeffrey E.; ATTINGER, Christopher E. Wound healing: an overview. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 117, n. 7S, 2006.

BROWN, Morgan M.; HORSWILL, Alexander R. *Staphylococcus epidermidis* - Skin friend or foe?. **PLoS pathogens**, v. 16, n. 11, 2020.

BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BUSATO, N.V.; SILVEIRA, J.C.; DA COSTA, A.O.S.; COSTA JUNIOR, E.L. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1574-1582, 2014.

BUZZI, M.; FREITAS, F.; WINTER, M.B. Cicatrização de úlceras por pressão com extrato Plenusdermax de *Calendula officinalis* L. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 69, n. 2, p. 250-257, 2015.

CAI, R., HU, M., ZHANG, Y., NIU, C., YUE, T., YUAN, Y., WANG, Z. Antifungal activity and mechanism of citral, limonene and eugenol against *Zygosaccharomyces rouxii*. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - LWT**, 106, 50–56, 2019.

CÂMARA, N.L.A. da S.; VIANA, D. dos S.F.; VIANA, V.G.F. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizada em extrato de *Struthanthus Flexicaulis* Mart. (Erva-de-Passarinho). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, 2021.

CAMARGO, M.F.P. Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá (*Passiflora edulis*) e óleo essencial de lavanda (*Lavandula officinalis*) e avaliação da atividade anti-inflamatória tópica. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**, 2008.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, vol. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CAMPOS, M.G.C.A.; SOUSA, A.T.O.; VASCONCELOS, J.M.B.; LUCENA, S.A.P.; GOMES, S.K.A. Feridas complexas e estomias. João Pessoa, **Ideia**, 2016.

CARVALHO, A.F.M.; FEITOSA, M.C.P.; COELHO, N.P.M.F.; REBÊLO, V.C.N.; CASTRO, J.G.; SOUSA, P.R.G.; FEITOSA, V.C.; ARISAWA, E.A.L.S. Low-level laser therapy and *Calendula officinalis* in repairing diabetic foot ulcers. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 4, p. 628-634, 2016.

CASTRO, M.R.; FIGUEIREDO, F.F. Saberes tradicionais, biodiversidade, práticas integrativas e complementares: o uso de plantas medicinais no SUS. **Hygeia-Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 15, n. 31, p. 56-70, 2019.

CAVALCANTI, J.M.; LEAL-CARDOSO, J.H.; DINIZ, L.R.L.; PORTELLA, V.G.; COSTA, C.O.; LINARD, C.F.B.M.; ALVES, K.; ROCHA, M.V.A.P.; LIMA, C.C.; CECATTO, V.M.; DE-SOUZA, A.N.C. The essential oil of *Croton zehntneri* and trans-anethole improves cutaneous wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, vol.

144, n. 2, p. 240-247, 2012.

CLARKR, A.F.: Wound repair. In: Kumar, Robbins, Cotran: Pathologic Basis of Disease, 7th ed., **Ed. Saunders**, p.112, 2005.

COELHO, L.G. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade de emulsões com propriedades repelentes naturais**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014.

COFEN – Conselho Federal de Enfermagem, **Resolução nº 567/2018**, 2018.

CONTENTE, Denise Maria Loureiro et al. **Obtenção e caracterização de nanoemulsão óleo em água a partir de óleo de açai (*Euterpe oleracea M.*)**. Dissertação. UFPA, 2015.

COSTA, Julia Aparecida Silveira da et al. Conhecimento dos Enfermeiros sobre Tratamento de Feridas Crônicas na Atenção Primária à Saúde. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 96, n. 37, 2022.

COSTA, Mayre Aparecida Borges da et al. Development, characterization and evaluation of the dissolution profile of sulfasalazine suspensions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 449-459, 2015.

COUTO, HGSA, BARBOSA, AAT, NIZIO, DAC, NOGUEIRA, PCL, ARRIGONI-BLANK MF, PINTO, JAO, ALVES, MF, PINTO VS, FITZGERALD BLANK A. Antibacterial activity of *Lippia alba*, *Myrcia lundiana* and *Ocimum basilicum* essential oils against six food - spoiling pathogenic microorganisms, **Boletim Latinoamericano Y del Caribe de Plantas Medicinales Aromáticas**, v. 20, n.3, p. 260-269, 2021.

CUTRIM, E. S. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019.

DA SILVA, R.S.; DE OLIVEIRA, M.M.G.; MELO, J.O.; BLANK, A.F.; CORRÊA, C.B.; SCHER, R.; FERNANDES, R.P.M. Antimicrobial activity of *Lippia gracilis* essential oils on the plant pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and their effect on membrane integrity. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 160, p. 40-48, 2019.

DE MATOS, S.P. LUCCA, L. G.; KOESTER, L.S. Essential oils in nanostructured systems: Challenges in preparation and analytical methods. **Talanta**, vol 195, p.204-214, 2019.

DE OLIVEIRA, M.L.M.; BEZERRA, B.M.O.; LEITE, L.O; GIRÃO, V.C.C.; NUNES-PINHEIRO, D.C.S. Topical continuous use of *Lippia sidoides* Cham. essential oil induces cutaneous inflammatory response, but does not delay wound healing process. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, p. 283-289, 2014.

DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; AND WILLOUGHBY, D.A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **Journal of Pathology**, vol. 104, p.15-29, 1971.

DONSÌ, Francesco et al. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1908-1914, 2011.

DUTRA, Rafael C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges, and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

EKAWATI, E. R.; DARMANTO, W.; WAHYUNINGSIH, S. P. A. Detection of *Staphylococcus aureus* in wound infection on the skin surface. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2020.

FELIPE, L.O., BICAS, J.L., Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERREIRA, A.R.A. **Uso de óleos essenciais como agentes terapêuticos**. Dissertação. [sn], 2014.

FERREIRA, J. C. C. **Avaliação in vitro da atividade antiinflamatória do óleo essencial de *Cyperus articulatus* L. em macrófagos**. 2018. Tese de Doutorado, UFOPA, Brasil, 2018.

FONTANA, D.C.; SCHMIDT, D.; KULCZYNSKI, S.M.; CARON, B.O.; PRETTO, M.M.; MARIOTTO, A.B.; DOS SANTOS, J.; HOLZ, E. Fungicidal potential of essential oils in

control of *Fusarium* spp. and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020.

FOKOU J. B. H., DONGMO P. M. J., BOYOM F. F. Essential oil's chemical composition and pharmacological properties. In: Essential oils – oils of nature. **Intech Open Publishers**, U.K., p. 1-23, 2020.

GNATTA, J.R.; KUREBAYASHI, L. F. S.; TURRINI, N. R.T.; SILVA, M. J. P. Aromaterapia e Enfermagem: concepção histórico-teórica. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 1, p. 127-133, 2016.

GUSHIKEN, L.F.S., VIEIRA, A.J.; ROZZA, A.L.; PEREIRA, F. Essential oils and their use in skin wound healing. **Natural Products: Research Reviews**, v. 3, p. 501-513, 2016.

GUYTON, ARTHUR C.; HALL, JOHN E. Tratado de Fisiologia médica. 12a edição. Rio de Janeiro, Ed. **Elsevier**, 2011.

HACKER, Sibylle Sophie. Polissacarídeo capsular do *Streptococcus agalactiae* como antígeno vacinal: desenvolvimento de um modelo vacinal para mucosas com Nanopartícula de quitosana. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 2018.

HÄDRICH, G.; VAZ, G.R.; MAIDANA, M.; KRATZ, J.M.; LOCH-NECKEL, G.; FAVARIN, D.C., DORA, C.L. Anti-inflammatory Effect and Toxicology Analysis of Oral Delivery Quercetin Nanosized Emulsion in Rats. **Pharmaceutical Research**, vol. 33, n. 4, p. 983–993, 2015.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Influence of organic matter, cations and surfactants on the antimicrobial activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in vitro. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, n. 3, p. 446-452, 1999.

HATANAKA, Elaine; CURI, Rui. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 88, n. 2, p. 53-8, 2007.

HENRIQUES, M.G.M.O.; MARTINS, M.A.; FLORES, C.A.; CUNHA, F.Q.; FILHO, J.A.; CORDEIRO, R.S.B. Mouse paw edema. A new model for inflammation? **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, vol. 20, p. 243-249, 1987.

INTERNATIONAL PLAN NAMES INDEX. Accessed October 2022. Available: <https://www.ipni.org/>

JARA, C.P.; SILVA, J.L.G.; ZANCHETTA, F.C.; ROJO, T.; LIMA, M.H.M. Biofilme e feridas crônicas: reflexões para o cuidado de enfermagem. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 81, n. 19, 2017.

KATSUKAWA, M.; NAKATA, R.; TAKIZAWA, Y.; HORI, K.; TAKAHASHI, S. & INOUE, H. Citral, a component of lemongrass oil, activates PPAR $\alpha$  and  $\gamma$  and suppresses COX-2 expression. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, vol.1801, n.11, p. 1214-1220, 2010.

KHEZRI, K.; FARAHPOUR, M.R.; MOUNESI, R.; SHOKOOFEH. Accelerated infected wound healing by topical application of encapsulated Rosemary essential oil into nanostructured lipid carriers. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, vol. 47, n. 1, 980-988, 2019.

KOBAYASHI, Y.T DA S.; ALMEIDA, V.T.; BANDEIRA, T.; ALCÂNTARA, B.N.; SILVA, A.S.B.; BARBOSA, W.L.R.; SILVA, P.B; MONTEIRO, M.V.B; ALMEIDA, M.B. Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol. 52, n. 1, p.34-40, 2015.

KOMAIKO, J.S. & MCCLEMENTS, D.J. Formation of Food-Grade Nanoemulsions Using Low-Energy Preparation Methods: A Review of Available Methods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 15, n. 2, p. 331–352, 2016.

KOURNIATIS, L.R.; SPINELLI, L.S.; MANSUR, C.R.E.; GONZÁLEZ, G. Nanoemulsões óleo de laranja/água preparadas em homogeneizador de alta pressão. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 295-300, 2010.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K; ASTER, J.C.– **Patologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

KUMMER, C. L., & COELHO, T.C.R.B. Antiinflamatórios não esteroides inibidores da

ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, vol. 52, n. 4, p. 498-512, 2002.

LAMAS, Maria Ceu; PAUL, Constança. O envelhecimento do sistema sensorial: implicações na funcionalidade e qualidade de vida. In: **Actas de Gerontologia-Congresso Português de Avaliação e Intervenção em Gerontologia Social**. 2013. p. 1-11.

LEAL, E.C. and CARVALHO, E. Cicatrização de Feridas: O Fisiológico e o Patológico Wound Healing: The Physiologic and the Pathologic. **Revista Portuguesa de Diabetes**. vol. 9, n 3, p.133-143, 2014.

LEE, H.J., JEONG, H.S., KIM, D.J., NOH, Y.H., YUK, D.Y., HONG, J.T. Inhibitory effect of citral on NO production by suppression of iNOS expression and NF- $\kappa$ B activation in RAW264.7 cells. **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, p. 342-349, 2008.

LEVY, L. Carrageenan paw edema in the mouse. **Life Science**, Oxford, v. 8, n. 11, p. 601-606, jun. 1969.

LI, Chengpeng et al. Carboxymethyl chitosan-based electrospun nanofibers with high citral-loading for potential anti-infection wound dressings. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 209, p. 344-355, 2022.

LI, Z.; XU, D.; YUAN, Y.; WU, H.; HOU, J.; KANG, W.; BAI, B. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 277, 102-119, 2020.

LIN, C.T.; Chen, C.J.; Lin, T.Y.; Tung, J.C. & Wang, S.Y. Anti-inflammation activity of fruit essential oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata. **Bioresource Technology**, vol. 99, n.18, p. 8783-8787, 2008.

LIU, Q.; HUANG, H.; CHEN, H.; LIN, J.; WANG, Q. Food-grade nanoemulsions: Preparation, stability and application in encapsulation of bioactive compounds. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 1-37, 2019.

LOWY, Franklin D. *Staphylococcus aureus* infections. **New England journal of medicine**, v. 339, n. 8, p. 520-532, 1998.

LU, Wen-Chien et al. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. **Journal of food and drug analysis**, v. 26, n. 1, p. 82-89, 2018.

LUCENA, P.L.C.; COSTA, S.F.G.; PEREIRA, M.A.; LUCENA, C.M.F.; SANTANA, A.P.; DIAS, T.K.C Evidências científicas sobre intervenções para pessoas com feridas em cuidados paliativos: revisão de escopo. **Revista Cuidado é Fundamental**, 2020.

LÜTZKENDORF, Steffen et al. TLC-Ag dressings: a prospective, multicentre study on 728 patients with wounds at risk of or with local infection. **Journal of Wound Care**, v. 31, n. 5, p. 366-378, 2022

MACHADO, B.F.M.T.; JUNIOR, A.F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MANOHARAN, R.K.; LEE, J-H; LEE, J. Antibiofilm and antihyphal activities of cedar leaf essential oil, camphor, and fenchone derivatives against *Candida albicans*. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1476, 2017.

MASSING, L.T. SUEMITSU, C. ; SARRAZIN, S.L.F ; TREMEA, A. MAIA, J.G.M.; MOURÃO, R.H.V. Oils variability of *Pectis elongata* in the Amazon and an overview of the neotropical *Pectis* Species. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 32, p. 37-45, 2021.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 285-330, 2011.

MEDEIROS, A.C.; FILHO, D.; MEDEIROS, A. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical and Clinical Research**, v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016.

MENEZES FILHO, A.C.P; SOUSA, W.C.; CASTRO, C.FS. Atividades antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais de *Cochlospermum regium* frente à *Sclerotinia sclerotiorum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. In: **Colloquium Agrariae**. v. 16, n. 1, p. 109-116, 2020.

MESQUITA, U.O.; TAVARES-MARTINS, A. C.C. Etnobotânica de plantas medicinales

en la comunidad de Caruarú, Isla del Mosqueiro, Belém-PA, Brasil. **Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas**, v. 17, n. 2, p. 130-159, 2018.

MODARRESI, M.; FARAHPOUR, M-R; BARADARAN, B. Topical application of *Mentha piperita* essential oil accelerates wound healing in infected mice model. **Inflammopharmacology**, v. 27, n. 3, p. 531-537, 2019.

MONTEIRO, S.C.; BRANDELLI, C.L.C. Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação. **Artmed Editora**, 2017.

MONTIBELER, J.; DOMINGOS, T.S.; BRAGA, E.M.; GNATTA, J.R.; KUREBAYASHI, L.F.S.; KUREBAYASHI, A.K. Efetividade da massagem com aromaterapia no estresse da equipe de enfermagem do centro cirúrgico: estudo-piloto. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, p. 03348-03348, 2018.

MORRIS, C.J. Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. **Inflammation Protocols**, p. 115-122, 2003.

NAZZARO, Filomena et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 2013.

NERI, Erick Souza et al. Avaliação da terapia fotodinâmica mediada por azul de metileno na cicatrização: estudo experimental in vivo. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 95, n. 36, 2021.

NCCLS/CLSI NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS/CLSI). Reference method for broth dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. **Approved standard, document M7-A6**, 2004.

NCCLS/CLSI NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS/CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. **Approved standard, document M2-A9**, 2006.

NIST (National Institute of Standards and Technology). **Mass Spectral Library** (NIST/EPA/NIH, v.2.0d). The NIST Mass Spectrometry Data Center, Gaithersburg, 2011.

NGUYEN, V.L.; TRUONG, C.T.; NGUYEN, B.C.Q.; VAN V., THANH N.; DAO, T.T.; NGUYEN, V.D.; THI, T., DIEU, T.; HUYNH, H.K.; BUI, C.B. Anti-inflammatory and wound healing activities of calophyllolide isolated from *Calophyllum inophyllum* Linn. **PLoS ONE**, vol.12, n. 10, p. 1-16, 2017.

ODA, J.Y.; GARNÉS, F.L.S.; MARTINS, A.J.; TAKEMURA, O.S. Efeitos da crioterapia vs correntes diadinâmicas na redução do edema de pata em ratas. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 18, n. 2, 2014.

PANDYA, S. Nanoemulsion and their antimicrobial activity. **Researchgate publications**, 2015.

PAVONI, L; PERINELLI, D.R.; BONACUCINA, G.; CESPI, M.; PALMIERI, G.F. Na overview of micro and nanoemulsions as vehicles for essential oils: formulation, preparation and stability. **Nanomaterials**, v.10, n. 135, p. 1-24, 2020.

PERCHES, C.S.; PELLIZZON, C.H.; RANZANI, J.J.T.; PADOVANI, C.R.; MERLINI, N.B.; SERENO, M.G.; FONZAR, J.F.; BRANDÃO, C.V.S. Avaliação histomorfométrica e da proliferação celular em úlceras de córnea superficiais, induzidas em coelhos, após o uso de colírio de *Citrus lemon*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 6, p. 1660-1668, 2015.

PEREIRA, S.F.; BARROSO, A.; MOURÃO, R.H.; FERNANDES, C.P. A low energy approach for the preparation of nanoemulsions with a high citral-content essential oil. **Molecules**, 26, 3666, 2021.

PÉREZ, G.S.; ZAVALA, S.M.; ARIAS, G.L. & RAMOS L.M. Anti-inflammatory Activity of Some Essential Oils. **Journal of Essential Oil Research**, vol. 23, n. 5, p.38-44, 2011.

PIRES, V.G.A. Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo. Dissertação de Mestrado. **Universidade Estadual Paulista**. 2016.

PIRES, V. G. A. E MOURA, M. R. Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como

biomaterial. **Química Nova**, Vol. 40, n. 1, 1-5, 2017.

PISTORE, M. et al. Avaliação do uso tópico do óleo essencial de *Ruta graveolens* L.(arruda) na cicatrização de feridas em ratos. **Revista Perspectiva**, v. 38, n. 141, p. 57-68, 2014.

PRAJAPATI, V.D.; MAHERIYA, P.M.; JANI, G.K.; SOLANKI, H.K. Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 105 p. 97-112, 2014.

PUCA, Valentina et al. Microbial species isolated from infected wounds and antimicrobial resistance analysis: Data emerging from a three-years retrospective study. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, p. 1162, 2021.

OLIVEIRA, I.V.P.M e DIAS, R.V.C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

PRUDENT, D.; PERINEAU, F.; BESSIERE, J.M.; MICHEL, G. Analysis of the essential oil of *Pectis elongata* Kunth from Martinique. Evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. **Journal of Essential Oil Research**, vol. 7, p. 63-68, 1995.

QUEIROZ, M.R.A.; ALMEIDA, A.C.; ANDRADE, V.A.; LIMA, T.S.; MARTINS, E.R.; FIGUEIREDO, L.S.; CARELI, R.T. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus sp.* isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 737-743, 2014.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; GUIMARÃES, A.G.; SANTANA, M.T.; ARAÚJO, B.E.S.; MOREIRA, F.V.; BONJARDIM, L.R.; ARAÚJO, A.A.S.; SIQUEIRA, J.S.; ANTONIOLLI, A.R.; BOTELHO, M.A.; ALMEIDA, J.R.G.S.; SANTO, M.R.V. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.21, n. 3, p. 497-502, 2011.

QUINTANS-JUNIOR, Lucindo J. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Costus spicatus* in experimental animals. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 10, p. 1097-1102, 2010.

RAMOS, E.H.S. Avaliação das atividades biológicas do óleo do látex da *Mangifera indica* L. (var. Espada e Rosa). Recife, 2014.

RAMOS, Lorena Taúsz Tavares et al. Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Byrsonima sericea* em edema de pata induzido por carragenina em camundongos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 48734-48742, 2020.

RIBEIRO, Marta; SIMÕES, Manuel. Antimicrobial activity of essential oils. **Health Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids**, Springer. p. 335-356, 2020.

RIELLA, K R.; MARINHO, R.R.; SANTOS, J.S.; PEREIRA-FILHO, R.N.; CARDOSO, J.C.; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R.L.C.; THOMAZZI, S.M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 656-663, 2012.

ROSA, Luiza Merigo Santa et al. Uso de ácidos graxos como opção original no tratamento de feridas crônicas: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 79331-79350, 2021.

SADDIQ, Amna A.; KHAYYAT, Suzan A. Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: Citral. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 98, n. 1, p. 89-93, 2010.

SALVIA-TRUJILLO, Laura et al. Formulation of antimicrobial edible nanoemulsions with pseudo-ternary phase experimental design. **Food and bioprocess technology**, v. 7, n. 10, p. 3022-3032, 2014.

SALVIANO, L.F.; GEROMEL, M.R.; FAZIO, M.L.S. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de café verde e torrado (*Coffea arabica*), Cacaú (*Theobroma cacao*), casca e folha de canela-do-ceilão (*Cinnamomum zeylanicum*). **Higiene alimentar**, p. 107-111, 2017.

SANTOS, A.S., ALVES, S.M., FIGUEIRÊDO, F.J.C., NETO, O.G.R. Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. **EMBRAPA**, 2004.

SANTOS, Kátia Pereira dos. **Perfil químico e atividades biológicas de *Hyptis Jacq.* seção Peltodon de ocorrência nos domínios fitogeográficos dos Cerrados e Tropical Atlântico.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

SCHAFFAZICK, S.R.E.; SÍLVIA, S.G.; FREITAS, L.L.E.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SILVA, M.H.L.; ANDRADE, E.H. A.; MAIA, J.G.S. The essential oil of *Pectis elongata* Kunth occurring in north Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, vol. 20, p. 462-464. 2005.

SILVA, L.C; CARVALHEDO, L.F; VIEIRA, J.P.C.; SILVA, L.A.C.; MONTEIRO, O.S.; CARMO, L.H.A. Delineamento de formulações cosméticas com óleo essencial de *Lippia gracilis Schum* (Alecrim de Tabuleiro) de origem amazônica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, 2015.

SILVA, S.G.; OLIVEIRA, M.S.; CRUZ, J.N.; de CARVALHO JUNIOR, R.N. Aspectos botânicos dos óleos essenciais. In: DALLAMUTA, João. **Estudos transdisciplinares nas engenharias**, vol. 3, Cap 16, p. 170-182, Ponta Grossa – PR, Ed. Atena, 2019a.

SILVA, F.F.A. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais das folhas, frutos verdes e maduros de *Murraya paniculata* (L) Jack.** Dissertação, IFGO, 2019b.

SILVA, G.R.; NASCIMENTO, L.S.; MELO, J.A; NASCIMENTO, F.C. Identificação dos constituintes químicos e ensaio biológico do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae). **RCT-Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 7, 2021.

SILVEIRA, J.C. BUSATO, N.; COSTA, A.; JUNIOR, E.C. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012.

SILVA, L.O.P e NOGUEIRA, J.M.R. Resistência bacteriana: potencial de plantas medicinais como alternativa para antimicrobianos. **Revista Brasileira de Análises**

**Clínicas**, vol. 53, n1, p.21-27, 2021.

SIVIERI, Katia et al. Microbiota da Pele: Novos Desafios. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 50, n. 1, p. 93-112, 2021.

SMANIOTTO, P.H.S.; GALLI, R.; CARVALHO, V.F.; FERREIRA, M.C. Tratamento clínico das feridas - curativos Clinical treatment of wounds – dressings. **Revista de Medicina - São Paulo**, vol. 89, n. 3/4, p.137-41, 2010.

SOUSA, Márcia Beatriz Viana de et al. Assistência de enfermagem no cuidado de feridas na atenção primária em saúde: revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 48, 2020.

SOUZA, Rafaela Vieira et al. Potencial antifúngico de constituintes de óleos essenciais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, 2021.

SPERANDIO, J. VELEIRINHO, B.; HONORATO, L.A.; CAMPESTRINI, L.H.; KUHNEN, S. In vitro antibacterial and cytotoxicity activities of *Tagetes minuta* L. essential oil towards bovine mastitis treatment. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 4, p. 1251-1259, 2019.

STAROSTA, J.A.; ANJOS, M.C.R. “Cantos e saberes”: processo de construção de um documentário sobre plantas medicinais. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação, Inovação e Saúde**, 2020.

STEVENS, Dennis L.; BRYANT, Amy E. Impetigo, erysipelas and cellulitis. **Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations [Internet]**, 2016.

TEIXEIRA, Andrea Bessa. **Óleo essencial das folhas do Quimiotipo II de *Lippia alba* (MILL.) NE Brown: mecanismo de ação antimicrobiano em *Staphylococcus aureus* e atividade cicatrizante**. Tese de Doutorado UFC. 2015.

TORTORA, G.J. Princípios de Anatomia e Fisiologia – 14ª ed. – Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2016.

TADROS, T., IZQUIERDO, P., ESQUENA, J., SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.108-109, p. 303-318, 2004.

TRANCOSO, M.D. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**, v. 5, n. 9, 2013.

TONG, M.; ZBINDEN, M.M.; HEKKING, I.J.M.; VERMEIJ, M.; BARRITAU, D.N., JOHAN W. RGTA OTR 4120, a heparan sulfate proteoglycan mimetic, increases wound breaking strength and vasodilatory capability in healing rat full-thickness excisional wounds. **Wound Repair and Regeneration**, vol 16, 294-299, 2008.

TORRES, Sabrina Bezerra et al. Sunflower oil (*Helianthus annus L.*) As a wound healer in diabetic elderly people. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 4692-4703, 2021.

TOSTES, L.C.S.; LOYOLA, A.B.A.T.; FRAGA, A, de O; GAZZI, L.A.; DE PAIVA, L.F.; JULIANO, Y.; VEIGA, D.F. Álcool 70% versus solução alcoólica de clorexidina 0,5% na antisepsia da pele para bloqueios do neuroeixo: ensaio clínico randomizado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 48, p. 1-8, 2021.

TUMEN, I.; AKKOL, E.K.; SÜNTAR, I.; KELEŞ, H. Wound repair and anti-inflammatory potential of essential oils from cones of Pinaceae: Preclinical experimental research in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**. vol. 137, n. 3, p. 1212-1220, 2011.

TUMEN, I.; SÜNTAR, I.; ELLER, F. J.; KELEŞ, H.; AKKOL, E.K. Topical Wound-Healing effects and phytochemical composition of heartwood essential oils of *Juniperus virginiana* L., *Juniperus occidentalis* Hook. and *Juniperus ashei* J. Buchholz. **Journal of Medicinal Food**, vol. 16, n.1, p. 48-55, 2013.

TUREK, C. and STINTZING, F.C. Stability of essential oils: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.12, p. 40–53, 2013.

UENO, A.; NARABA, H.; IKEDA, Y.; USHIKUBI, F.; MURATA, T.; NARUMIYA, S., & OH-ISHI, S. Intrinsic prostacyclin contributes to exudation induced by bradykinin or

carrageenin: A study on the paw edema induced in IP-Receptor-deficient mice. **Life Sciences**, vol. 66, n.12, p.155-160, 2000.

ULSENHEIMER, B.C.; DALLA ROSA, S.K.; COLET, C.F.; VIERO, L.M.; MARTINS, L.R.V. Determinação do potencial antimicrobiano de óleos essenciais de lavanda (*Lavandula dentata* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.) sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isolada de leite mastítico bovino. **Revista Contexto & Saúde**, v. 20, n. 40, p. 209-214, 2020.

VILAR, D.A.; VILAR, M.S.A; BRANDÃO, M.P.; ANJOS, C.J.F; SILVA, A.E. **Plantas medicinais: um guia prático**. Aracaju, IFS, 2019.

VIVEIROS, B.M. **Retração cicatricial e atoxidade de membranas de nanocelulose vegetal incorporadas com óleo essencial de *Calendula officinalis* em ratos**. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2018.

WEBER, J.F.; SANTOS, A.L.F. Utilização do software ImageJ para avaliar área de lesão dermonecrotica. **Revista de Saúde Digital e Tecnologias Educacionais**, v. 4, n. 1, p. 120-130, 2019.

WINTER, Charles A.; RISLEY, Edwin A.; NUSS, George W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the society for experimental biology and medicine**, v. 111, n. 3, p. 544-547, 1962.

YUAN, Y.; LI, S.M.; MO, F.K; ZHONG, D.F. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 321, p. 117- 123, 2006.

ZIANI K.; CHANG Y.; MCLANDBOROUGH L.; MCCLEMENTS D.J. Influence of surfactant charge on antimicrobial efficacy of surfactant-stabilizedthly on oil nanoemulsions. **Journal of Agriculture, Food and Chemistry**, v. 59, n.11, p. 6247–6255, 2011.

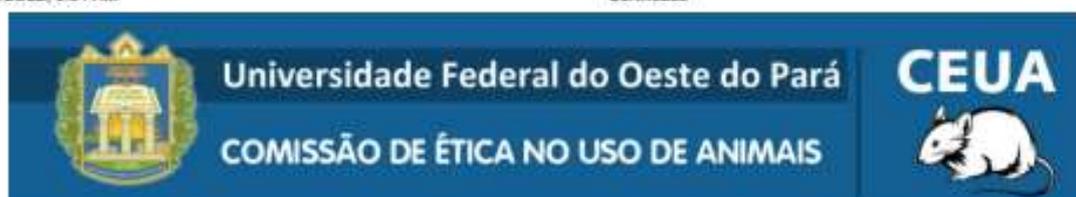
ZHANG, Y., WEI, J., CHEN, H., SONG, Z., GUO, H., YUAN, Y., YUE, T. Antibacterial

activity of essential oils against *Stenotrophomonas maltophilia* and the effect of citral on cell membrane, **LWT**, v. 117, p.1-8, 2020.

## ANEXO I

10/20/22, 9:04 AM

Certificado



## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo Nº **0820210124**, intitulado **NANOEMULSÃO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE Pectis elongata: POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ESTIMULANTE DO PROCESSO CICATRICAL DE FERIDAS CUTÂNEAS**, sob a responsabilidade de **SANDRA LAYSE FERREIRA SARRAZIN**, está de acordo com os Princípios éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA.

## CERTIFICATE

We certify that the protocol Nº **0820210124**, entitled "**NANOEMULSÃO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE Pectis elongata: POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ESTIMULANTE DO PROCESSO CICATRICAL DE FERIDAS CUTÂNEAS**", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This project was approved by the institutional Commission for Ethics in the Use of Animals of Universidade Federal do Oeste do Pará.

Santarém-PA, 20/10/2022

Profª. Dra. Adriana Caroprezo Morini  
Presidente

Verificar a autenticidade do certificado em <http://ufopa.edu.br/validar-certificado>