

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

**POMADA À BASE DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB) E BIOATIVO
NATURAL – ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA – VISANDO APLICAÇÃO
EM FERIDAS CUTÂNEAS**

Pedro Henrique Medeiros Nicácio

Prof.^a Dr.^a Itamara Farias Leite
Orientadora

João Pessoa – PB
Setembro, 2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

N582p Nicacio, Pedro Henrique Medeiros.

POMADA À BASE DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB) E
BIOATIVO NATURAL - ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA -
VISANDO APLICAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS / Pedro Henrique
Medeiros Nicacio. - João Pessoa, 2019.

49 f. : il.

Monografia (Graduação) - UFPB/CT.

1. Pomada; Atividade Antimicrobiana; Cicatrização. I.
Título

UFPB/BC

Pedro Henrique Medeiros Nicácio

**POMADA À BASE DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB) E BIOATIVO
NATURAL – ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA – VISANDO APLICAÇÃO
EM FERIDAS CUTÂNEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do
Curso de Engenharia de Materiais,
do Centro de Tecnologia da
Universidade Federal da Paraíba,
para apreciação da banca
examinadora como parte dos
requisitos para a obtenção do grau
de bacharel em Engenharia de
Materiais.

Prof.^a Dr.^a Itamara Farias Leite
Orientadora
DEMAT/CT/UFPB

João Pessoa – PB
Setembro, 2019

Pedro Henrique Medeiros Nicácio

POMADA À BASE DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB) E BIOATIVO NATURAL –
ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA – VISANDO APLICAÇÃO EM FERIDAS
CUTÂNEAS

Data de defesa: 13 de setembro de 2019

Período: 2019.1

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora:



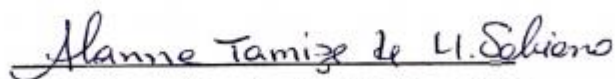
Profª. Drª. Itamara Farias Leite

DEMAT/CT/UFPB



Profª. Drª. Fabiana de Carvalho Fim

DEMAT/CT/UFPB



Profª. Msª. Alanne Tamize de Medeiros Salviano

IFPE – Campus– Afogados da Ingazeira

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todo jovem LGBT+, em especial as travestis e transexuais, que terminam por abandonar seus estudos em consequência a LGBTfobia sofrida na escola advinda de toda comunidade acadêmica, de aluno à direção. A conquista da conclusão desse trabalho é nossa, uma vez que é devido nossa luta, principalmente das manas afeminadas, que hoje, um garoto gay se torna Engenheiro de Materiais, em um ambiente ainda machista e patriarcal, mas que aos poucos vamos ganhando espaço e quebrando os preconceitos, pregando amor e conhecimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Ele ser quem Ele é, me carregando em seus braços nos momentos em que eu penso que não consigo mais caminhar sozinho.

A minha mãe, Moema Ayala, por me apoiar nas minhas decisões, me incentivar e batalhar, dando tudo de melhor de si para que eu pudesse ter e ser o melhor de mim. Essa conquista também é da senhora, mainha.

Ao meu pai, agradeço o apoio financeiro ao longo dessa jornada.

Aos meus familiares, em especial as minhas tias, Alba Lúcia, Jussara Lúcia, Maria do Socorro, Ainda Fabiola e Jussiara Juliana, agradeço por sempre me acolherem quando precisei.

Aos meus primos e primas, em especial Wilnara Juliêta, por me proporcionarem os melhores momentos de lazer ao longo dessa loucura que é a vida acadêmica, sem eles eu tenho certeza que enlouqueceria.

Aos professores que, além de cumprirem suas atividades transmitindo conhecimento acadêmico foram amigos, ensinando que a vida não é fácil, mas que a vitória sempre é alcançada quando se há persistência, em especial a professora Itamara Farias, pela confiança em meu trabalho ao longo de três anos consecutivos nas pesquisas de iniciação científica. Agradeço também aqueles que cumpriram nada mais que seu papel de professor, transmitindo o seu conhecimento para que hoje eu seja um profissional competente. Agradeço ainda aqueles que não souberam nem ao menos serem professores, pois me ensinaram a não ser como eles e que devemos ter empatia com o próximo.

Agradeço por fim aos amigos, que tiveram papel fundamental nesse período que está se concluindo, pois foram muitas noites perdidas de sono dando aquele “gás” nos estudos, além de muitos choros compartilhados, mas sempre com palavras de conforto e apoio para ninguém desistir, vocês são uma verdadeira família que encontramos nessa caminhada. Quero destacar aqui Amanda Severo, pois esta sofreu um pouco nesses últimos meses junto comigo, afinal estamos concluindo o curso e compartilhamos dos mesmos desesperos, além de sempre tirarmos aquela velha dúvida um do outro.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
2.1.Objetivo Geral.....	15
2.2.Objetivos Específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1.Pele e Tratamento de Feridas	17
3.2.Biomateriais e Poli(3-hidroxibutirato) (PHB)	19
3.3.Bioativos Naturais	21
3.4.Óleo de Cravo da Índia	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1.Materiais	24
4.2.Metodologia	25
4.2.1. Preparação do filme de PHB	25
4.2.2. Preparação da pomada de PHB com óleo essencial de cravo da Índia	25
4.3.Caracterização	25
4.3.1. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas CG/EM	25
4.3.2. Atividade antimicrobiana <i>in Vitro</i>	26
4.3.3. Análise visual da pomada PHB/óleo de cravo	26
4.3.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1.Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas do óleo essencial de cravo da Índia	27
5.2.Aspecto visual da pomada PHB/óleo de cravo	31
5.3.Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	32
5.4.Atividade antimicrobiana do óleo de cravo e da pomada PHB/óleo de cravo	35
6. CONCLUSÕES	37
7. REFERÊNCIAS	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais estruturas e camadas da pele	18
Figura 2. Polihidroxicanoatos, estrutura geral e seus derivados mais importantes	20
Figura 3. Fórmulas estruturais (a) Eugenol e (b) β -Cariofileno	22
Figura 4. Materiais utilizados para preparação do filme de PHB e da pomada PHB/óleo de cravo (a) poli(3-hidroxibutirato) (PHB), (b) óleo essencial de cravo da Índia e (c) clorofórmio	24
Figura 5. Cromatograma do óleo essencial de cravo da Índia realizado em triplicata (a) 1, (b) 2 e (c) 3	28
Figura 6. Espectogramas de massa (a) Eugenol e (b) β -cariofileno	29
Figura 7. Aspecto visual da pomada PHB + OC no período de 0, 15, 30, 60 e 90 dias	32
Figura 8. Espectros de FTIR do óleo de cravo (OC), PHB e da pomada PHB/óleo de cravo	34
Figura 9. Espectros de FTIR ampliados na faixa de 1800 a 600 cm^{-1} do óleo de cravo (OC), PHB e pomada PHB/óleo de cravo	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem dos componentes do óleo de cravo	22
Tabela 2. Compostos majoritários presentes no óleo de cravo da Índia	30
Tabela 3. Halos de inibição obtidos para o óleo de cravo e para pomada PHB/óleo de cravo	35

LISTA DE ABREVIACÕES

PHB – Poli(3-hidroxibutirato)

PHAs – Polihidroxiálcanoatos

OC – Óleo essencial de Cravo da Índia

CG/EM – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

FTIR – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

RESUMO

A pele é o principal órgão do corpo humano que age como barreira, ficando sujeita a cortes, lesões e queimaduras. O PHB, por se tratar de um polímero de origem natural, renovável e com características biodegradáveis e biocompatíveis e, o óleo essencial de cravo da Índia além de ser natural, apresentar amplo espectro de ação biológica, faz dessa combinação, um potencial candidato, despertando o interesse de investigação desse trabalho, tornando possível a obtenção de uma pomada, obtida por meio da solubilização desses materiais de um solvente em comum, seguido de sua evaporação a temperatura ambiente, onde foi analisado os metabólicos presentes no óleo de cravo da Índia, sua miscibilidade com o PHB, textura da pomada, interação entre suas bandas de ligação e atividade antimicrobiana de ambos. A partir dos resultados obtidos pela cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, pode-se observar a presença majoritária dos metabólitos secundários no óleo essencial de cravo da Índia como β -cariofileno e o Eugenol, essenciais no desenvolvimento da ação inibidora contra a proliferação de bactérias nas feridas em tratamento. A atividade antimicrobiana do óleo de cravo da Índia foi comprovada para várias cepas em estudo assim como para a pomada frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, cujos halos de inibição foram acima de 50% dos obtidos para o óleo essencial puro, confirmando a atividade antimicrobiana na formulação da pomada em estudo. De modo geral, pode-se inferir que a pomada com atividade antimicrobiana foi obtida com sucesso, apresentando textura e consistência macia assim como coloração clara à luz visível, sem indícios de amarelamento até os 30 dias de análise, ficando apta a aplicação.

Palavras chaves: Poli(3-hidroxibutirato); Óleo Essencial de Cravo da Índia; Pomada; Atividade Antimicrobiana; Cicatrização.

1. INTRODUÇÃO

A pele envolve processos físico-químicos bastante elaborados, principalmente quando é submetida à ação de agressores externos, uma vez que esta é um dos principais órgãos do corpo que atua como interface protetora entre o organismo vivo e o meio externo, tornando-se bastante susceptível a cortes, lesões e queimaduras (Williams e Kupper, 1996; Oliveira et al., 2012). A etapa da cicatrização torna-se então de suma importância, devendo ocorrer de forma mais rápida e segura, pois assim, menor será o tempo de exposição do organismo a uma série de patógenos (Sperandio, 2009).

O tratamento de feridas cutâneas é dinâmico e depende a cada momento, da evolução das fases de cicatrização. Contudo, as pomadas podem ser usadas para este fim, devido estas, serem formas farmacêuticas interessantes em estado semissólido, para aplicação na pele ou em membranas mucosas, podendo consistir da solução ou dispersão de um ou mais princípios ativos em baixas proporções em uma base adequada, usualmente não aquosa (Pianetti e Albuquerque, 2012). Trata-se de uma forma de tratamento dessas feridas e sua escolha, depende de fatores intrínsecos e extrínsecos, pois a trajetória entre os estágios de inflamação, remoção de tecidos desvitalizados e reparo de uma ferida são perspicazes e, os elementos celulares alteram de acordo com o tipo de ferida, conduzindo ao processo de cicatrização (Boriskin, 1994; Morgan, 1994; Swaim e Henderson, 1998; Santos, 1999; Broughton et al., 2006).

O uso de pomadas é datado desde 2500 a.C a 1500 a.C.. Tratava-se de medicamentos pastosos, produzidos a base de gorduras de origem animal e eram classificados de acordo com sua resistência e/ou capacidade de amolecimento ao entrar em contato com a pele (Cabral e Pita, 2015). De acordo com Galletto (2006), na mesopotâmia, foi encontrada a **Tábua de Nipur**, que hoje é tida como o mais antigo texto médico-farmacêutico (3.000 a.C.), onde contém receitas médicas e referem-se as drogas de origem vegetal, animal e mineral, e que nesta época já utilizavam medicamentos em forma de soluções, pomadas, pílulas e medicação para uso retal e vaginal, dos quais vinhos, cervejas e óleos eram usados como veículos para as preparações medicamentosas.

A busca por maior bem-estar de pessoas que sofreram traumas ou patologias exige a necessidade de alternativas para uma rápida e eficiente cicatrização de lesões. A bioengenharia tecidual trata-se de um campo multidisciplinar envolvendo princípios e métodos da engenharia e das ciências da saúde para assistir e acelerar a regeneração e o reparo de tecidos lesionados. O uso de biomateriais vem adquirindo grande destaque nesse

contexto, principalmente quando se faz uso de bioativos naturais com propriedades biológicas e cicatrizantes que facilitam e aceleram o reparo e a cicatrização de lesões cutâneas (Tabata, 2009; Williams, 2009).

Os biomateriais podem ser de origem sintética ou natural, idealizadas para substituir matéria viva que deixou de ter função e que sejam biocompatíveis, reprodutíveis, acessíveis e biodegradáveis em situações específicas (Guastaldi e Aparecida, 2010). O uso de materiais sintéticos pode originar resíduos que dificultam a recuperação da lesão. Pode-se reduzir essa limitação pelo uso de dispositivos produzidos a partir de diversos tipos de compostos poliméricos naturais, já que estes, geralmente são biocompatíveis e biodegradáveis e, podem através de um amplo espectro de ação biológica favorecer no processo de cicatrização do tecido cutâneo lesionado de forma mais eficiente (Dallan, 2005; Bueno e Moraes, 2011; Sionkowska, 2011). A escolha por biopolímeros vem sendo também apontada na área da engenharia de tecidos, por possuírem propriedades capazes de manter um microambiente controlado no tecido lesionado.

Derivado da família dos PHAs (polihidroxialconoatos), pesquisas sobre poliésteres alifáticos como o poli(3-hidroxibutirato) (PHB) vem crescendo exponencialmente em aplicações biomédicas (Reis et al., 2008; Zhang et al., 2010; Bhattacharjee et al., 2016). De origem natural, renovável e produzido por bactérias a partir de diversas fontes renováveis, sendo mais difundida sua produção a partir da cana-de-açúcar, trata-se de um poliéster termoplástico biodegradável que tem se difundido como importante biopolímero nos estudos de preparação de materiais biomiméticos (Börner e Schlaad, 2007; Carmigan, 2008). De acordo com Castellano et al. (2017) a estrutura do PHB torna-o atraente para uma maior exploração nos procedimentos de reconstrução da pele, provavelmente devido apresentar propriedades angiogênicas (formação de vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes) e de polarização de macrófagos do tipo M2 (liberação de citocinas anti-inflamatórias que pode promover o reparo tecidual). Em seu estudo, Castellano et al. (2017) relataram um compósito à base de dermo-epidérmicos da pele humana com PHB, sendo aplicado como implante em um modelo de xenoenxerto em camundongo, resultando em um enxerto acompanhado de um aumento na angiogênese promovendo a sobrevivência do enxerto humano utilizado como base pro compósito em seu estudo.

Estudos de compostos bioativos tem despertado e inspirado o conceito de seu uso fitoterápico, uma vez que muitos destes materiais apresentam propriedades analgésicas, anti-inflamatória, bactericida e cicatrizante, tornando esses materiais ótimos aditivos em produtos que tem por finalidade o reparo e cicatrização de feridas. Nascimento et al. (2000) estudaram

a atividade antibacteriana de extratos de plantas e fitoquímicos em bactérias resistentes a antibióticos, onde os extratos de *Caryophyllus aromaticus* e *Syzygium joabolanum*, inibiram 64,2 e 57,1% dos microrganismos testados, respectivamente. Oussalah et al. (2007), relata o estudo de 28 óleos essenciais de plantas de acordo com seus efeitos inibitórios no crescimento de quatro bactérias patogênicas: *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, onde os óleos *Corydothymus capitatus*, *Cinnamomum cassia*, *Origanum heracleoticum*, *Satureja montana* e *Cinnamomum verum* (casca), estudados, apresentaram 60,05% e que o *Eugenia caryophyllus* apresenta atividade antimicrobiana de 60,04% de concentração mínima inibitória para todas as bactérias testadas. Estudos na literatura comprovam o potencial antimicrobiano dos mais diversos bioativos naturais, dentre eles o óleo de cravo (Chaieb et al., 2007; Affonso et al., 2012).

O *Syzygium aromaticum*, popularmente conhecido como cravo e/ou cravo da Índia, possui, atualmente, como principais produtos disponíveis no mercado o seu próprio botão floral seco e o óleo essencial (Lorenzi e Matos, 2002; Paoli et al., 2007). Espécies dessa família são comumente utilizadas para diversos fins médicos, como o tratamento gastrointestinal, devido ao aumento do ácido clorídrico no estômago e à melhora do peristaltismo (Kumari, 1991), distúrbios circulatórios (Saeed e Gilani, 1994) e agente anticancerígeno (Banerjee et al., 2006), além de ser abundantemente utilizado na odontologia como antisséptico e analgésico, devido sua atividade contra bactérias orais associadas a cárie dentária e doença periodontal, onde o óleo não diluído pode ser esfregado nas gengivas para tratar a dor de dente (Cai e Wu, 1996). Devido seu óleo apresentar compostos fenólicos como o Eugenol e o β -cariofileno, apresenta grande poder bactericida, antimicrobiano, anti-inflamatório, analgésico e diversas outras propriedades (Shimizu et al., 1990; Veiga Jr. e Pinto, 2002; Chaieb et al., 2007; Pramod et al., 2010; Affonso et al., 2012) que chamam atenção para seu uso direto em aplicações médicas e fitoterápicas, além de sua utilização como aditivo nos biopolímeros, potencializando os efeitos de reparo e cicatrização tecidual das mais diversas lesões.

Com base nos dados reportados da literatura, surge o interesse de incorporar o óleo essencial de cravo como bioativo natural no poli(3-hidroxibutirato), de modo a produzir uma pomada com propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e anti-microbiana que auxilie no reparo e cicatrização de feridas, uma vez que o PHB tem-se apresentado como potencial candidato no tratamento de lesões tissulares devido suas propriedades angiogênica e de proliferação de macrófagos do tipo M2.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Esse trabalho tem como finalidade a preparação e caracterização de uma formulação à base de poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e óleo essencial de cravo da Índia com amplo espectro de ação biológica, de modo a ser testada e usada como pomada no tratamento de feridas cutâneas.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Solubilizar o PHB em clorofórmio para obtenção de um filme, por meio de evaporação de solvente;
- ✓ Determinar os metabólitos secundários do óleo essencial de cravo da Índia por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM);
- ✓ Verificar atividade antimicrobiana no óleo essencial de cravo da Índia contra as cepas gram-positivas, gram-negativas e fungos;
- ✓ Promover a incorporação do óleo essencial de cravo da Índia na solução de PHB para obtenção de uma pomada por meio da evaporação de solvente;
- ✓ Avaliar o aspecto visual da pomada PHB/óleo de cravo em função do tempo, levando em consideração sua cor, consistência e odor;
- ✓ Caracterizar por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier o óleo essencial de cravo da Índia, a pomada PHB/óleo de cravo e o filme de PHB;
- ✓ Verificar atividade antimicrobiana na pomada PHB/óleo de cravo contra as cepas gram-positivas, gram-negativas e fungos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Pele e tratamento de feridas

O maior órgão do corpo humano é a pele, recobrendo uma superfície de aproximadamente 2m² em um corpo adulto, representando aproximadamente 15% do peso corporal, logo, a pele é a principal barreira física contra o meio externo (Cestari, 2012). Essa função já havia sido afirmada por Virchow em meados do século XIX, descrevendo a pele como um envoltório que reveste e protege órgãos mais complexos (Virchow, 1860). No entanto, nas últimas décadas, diversos estudos apontam a pele como um órgão funcionalmente complexo e de estrutura própria, devido caracterizar-se por diversos tecidos, tipos celulares e estruturas especializadas, distribuído em camadas interdependentes, onde suas interações celulares e moleculares são das mais diversas possíveis, possibilitando a ocorrência de renovação e reparo de seus componentes a todo momento (Barbosa, 2011; Cestari, 2012).

Desde tempos imemoráveis há uma exploração de forma padrão nos estudos da pele decorrente de lesões que esta pode sofrer. Visando uma melhoria no processo de tratamento das feridas, desde então, a pele é dividida nas seguintes camadas: **epiderme** que trata-se de um epitélio com a função de revestimento encontrado firmemente acoplada a **derme**, a qual trata-se de tecido conjuntivo subadjacente que serve de suporte a epiderme e por fim, tem-se a **hipoderme**, camada mais profunda da pele que une a derme aos tecidos e órgãos subjacentes. Pode-se visualizar a estrutura e camadas da pele na Figura 1 (Van de Graaff, 2003; Weller et al., 2008).

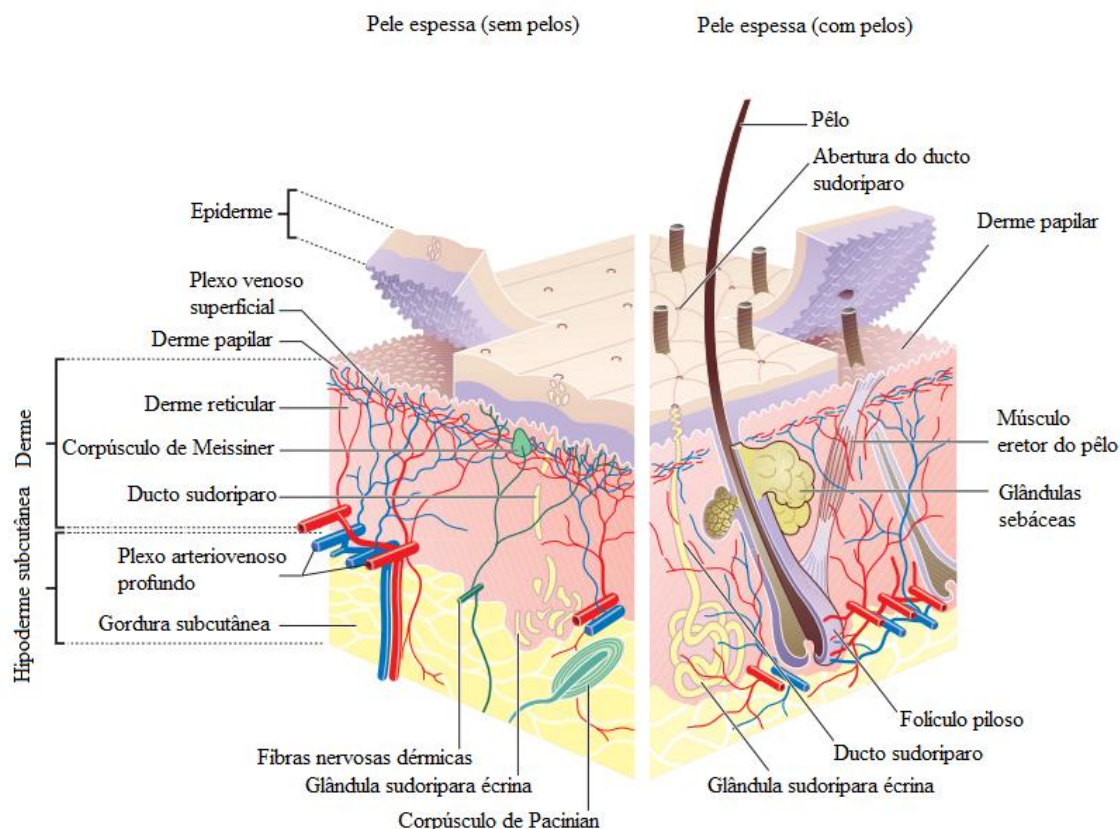


Figura 1. Principais estruturas e camadas da pele.

Fonte: Weller et al., 2008.

Pode-se descrever ferida como qualquer alteração da integridade anatômica da pele, podendo atingir da camada mais fina, epiderme, até estruturas mais profundas como fáscia (planos de tecido conjuntivo), músculos, aponeuroses (membranas achatadas de constituição semelhante à dos tendões) e órgãos (Declair, 2002).

As feridas podem ser classificadas segundo diversos parâmetros, que auxiliam no diagnóstico, evolução e definição do tipo de tratamento. De modo geral, dependendo do seu tempo de existência, elas podem ser agudas, apresentando respostas rápidas ao tratamento, ou crônicas, possuindo cicatrização branda e de extensa duração, podendo apresentar complicações no tratamento (Oliveira et al., 2006).

As formas farmacêuticas comumente utilizadas para o processo de cicatrização incluem pomadas, cremes, géis e pastas como formulações semi-sólidas e as soluções e suspensões, como formulações líquidas (Kulkarni, 2010).

A incessável busca para melhorar a qualidade de vida de pessoas que sofreram lesões e/ou traumas patológicos, torna necessário estudos cada vez mais minuciosos a respeito do reparo e cicatrização de feridas cutâneas, que possibilitem a produção de materiais de baixo

custo a partir de matérias-primas de fonte renovável e abundantes na natureza. Contudo, a produção de biomateriais com base em materiais poliméricos biodegradáveis em conjunto com óleos essenciais vem ganhando destaque nesse âmbito, devido apresentar amplo espectro de propriedades biológicas e cicatrizantes que facilitam e aceleram o reparo e a cicatrização de lesões cutâneas (Tabata, 2009; Williams, 2009).

3.2. Biomateriais e Poli(3-hidroxibutirato) (PHB)

O uso de biomateriais para reparar, restaurar ou até mesmo substituir um tecido, órgão ou membro do corpo, além dos mais diversos tipos de problemas relacionados a saúde humana, remonta a antiguidade (Ratner, 2005). De acordo com Lyman e Seare (1974) o primeiro registro do uso de biomateriais é mencionado por Edwin Smith, há quase 4000 anos de idade, descrevendo o uso de suturas no reparo de feridas, e que a escrita médica hindu, egípcia e grega, descrevem o transplante de ossos de animais para seres humanos, o que hoje é denominado xenoenxerto. E assim os biomateriais podem ser definidos como toda e qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais e/ou sintéticas, utilizadas em aplicações biomédicas, que interagem com sistemas biológicos (Williams, 1976; Von Recum e Laberge, 1995; Gil e Ferreira, 2006; Pires et al., 2015).

O poli(3-hidroxibutirato) (PHB) trata-se de um polímero derivado da família dos polihidroxialcanoatos (PHAs), uma classe de poliésteres naturais, alifáticos e biodegradáveis, produzidos pela fermentação bacteriana a partir de fontes renováveis, tais como os açúcares, amido e ácidos graxos (Reis et al. 2008; Künkel et al., 2016). Apresentam propriedades biocompatíveis, chamando atenção dos pesquisadores da área biomédica devido apresentarem-se adequados para uso como endoprótese expansível temporária, placa óssea, adesivo, pregos e parafusos, além disso, nos últimos anos, tem mostrado biocompatibilidade para várias linhas celulares, incluindo osteoblásticos, células epiteliais e condrócitos ovinos (Miller e Williams, 1987; Malm et al., 1992; Boeree et al., 1993; Peng et al., 1996; Rivard et al., 1996; Nebe et al., 2001; Freier, 2006). Na Figura 2 pode-se observar a estrutura geral dos PHAs bem como seus derivados mais importantes.

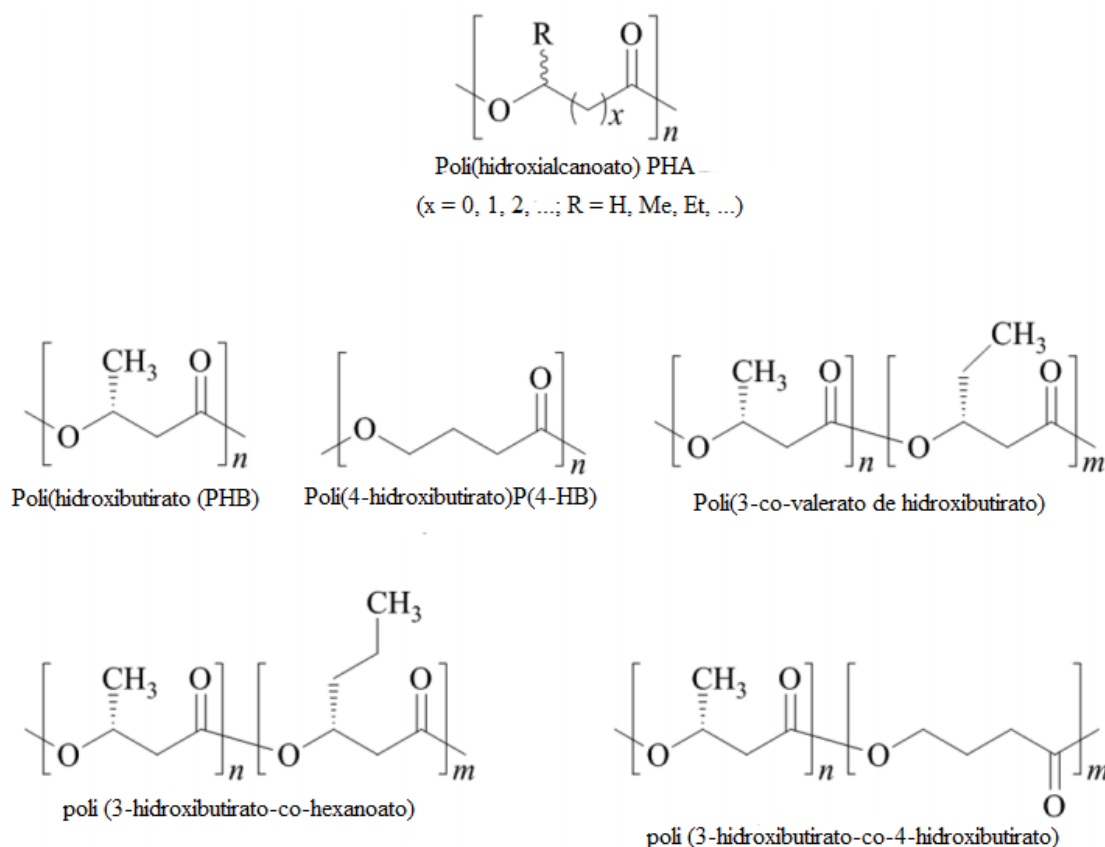


Figura 2. Polihidroxiálcanoatos, estrutura geral e seus derivados mais importantes.

Fonte: Künkel et al., 2016.

O PHB pode ser degradado por uma vasta gama de microrganismos nos mais diversos ambientes (Chiellini e Solaro, 2003). Por apresentar excelentes propriedades inerentes de biodegradabilidade e biocompatibilidade, tem chamado a atenção da indústria e pesquisadores, levando a estudos que demonstram esse polímero como um bom candidato para aplicação na engenharia de tecidos, podendo ser usado na forma de membranas de fibras ultrafinas eletrofiadas, possibilitando a proliferação celular de forma contínua, similar ao observado em esponjas de colágeno por até 35 dias de cultura, caráter esse que favorece a regeneração tecidual, surgindo como alternativa promissora para substituir técnicas de xenoenxerto e autoenxerto, por exemplo (Rivard et al., 1996; Lee et al., 2002; Williams e Mart, 2002; Sombatmankhong et al., 2006; Jiang et al., 2012; Castellano et al., 2017; Salvatore et al., 2018).

3.3. Bioativos Naturais

Desde a existência da raça humana, os homens buscam na natureza recursos para melhorar suas próprias condições de vida, garantindo sua sobrevivência. Daí evidencia-se fortemente a relação entre seres humanos e plantas, pois o uso de recursos vegetais são dos mais diversos e importantes, como é o caso da alimentação e das finalidades medicinais (Balick e Cox 1997).

Nos últimos anos ocorreu um crescimento no número de registros de produtos conhecidos como bioativos naturais, fazendo-os adquirir um valor estratégico sobre os seus possíveis usos industriais e econômicos nos mais diversos segmentos, em especial seu uso medicinal, o que leva a Organização Mundial de Saúde (OMS), a relatar considerações sobre o uso popular de espécies potencialmente importantes e a recomendação para o desenvolvimento de pesquisas que visem à utilização de plantas com finalidades terapêuticas (Almeida e Scheffer, 2012).

De acordo com Gonçalves (2007) os principais grupos de compostos, com propriedades antibacterianas, extraídos de plantas são: substâncias fenólicas e polifenóis (fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonóis, flavonoides, taninos e cumarinas); terpenóides e óleos essenciais; alcalóides; lectinas e polipeptídios; e poliacetilenos.

3.4. Óleo de Cravo da Índia

Em português, o nome cravo é derivado do latim, *clavus* (prego), devido sua aparência física (Kiple et al., 1999). O craveiro da Índia, *Syzygium aromaticum*, trata-se de uma árvore nativa das ilhas Molucas, na Indonésia, sendo uma planta de porte arbóreo com copa alongada característica, que pode atingir de 8 a 10 m de altura. Apesar de possuir propriedades terapêuticas ainda desvalorizadas, a medicina popular vem fazendo uso do cravo da Índia no tratamento de diversas doenças, atraindo dessa forma o interesse de muitos pesquisadores que terminam por comprovar cientificamente suas propriedades biológicas nas aplicações terapêuticas, como por exemplo anestésico local na odontologia e efeito cicatrizante em feridas (Lorenzi et al., 2002; Paoli et al., 2007; Pramod, et al. 2010).

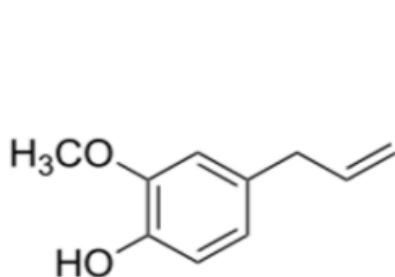
A concentração dos constituintes presentes no óleo de cravo da índia varia tanto quanto da porção/parte do vegetal analisada quanto da região na qual a planta foi cultivada (Tabela 1) (Affonso et al., 2012). De acordo com a literatura, possui como componentes majoritários em sua composição molecular o eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) e o β -cariofileno ($C_{15}H_{24}$), sendo o primeiro em maior concentração, cujas fórmulas estruturais estão apresentadas na Figura 3 (Prashar et al. 2006, Santoro et al. 2007, Pereira et al. 2008, Scherer et al., 2009).

Tabela 1. Porcentagem dos componentes do óleo de cravo.

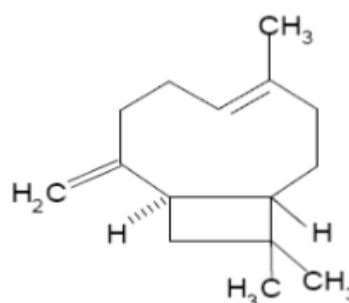
Componentes	Área (%)				
	FF*	FSS*	FSE*	PEN*	BFS*
Eugenol	82,47	87,07	82,69	90,41	88,38
β-Cariofileno	10,78	8,29	10,45	3,61	0,64
α-Humuleno	1,44	1,08	1,63	0,60	-
Acetato de eugenila	1,89	-	-	3,76	10,98
Óxido de cariofileno	0,47	-	0,51	-	-

*FF: Folhas frescas; FSS: Folhas secas ao sol; FSE: Folhas secas em estufa, PEN: Pedúnculos e BFS: Botões florais secos de *S. aromaticum*

Fonte: Oliveira et al., 2009.



(a) Fonte: Oliveira et al., 2009.



(b) Fonte: Coutinho et al., 2015.

Figura 3. Fórmulas estruturais (a) Eugenol e (b) β -Cariofileno.

Segundo Oliveira et al. (2009) atividades analgésica, anti-inflamatória e antioxidante encontradas no óleo essencial de cravo é de responsabilidade do eugenol. Alguns autores como Mytle et al. (2006), Pinto et al. (2009), Scherer et al. (2009) e Affonso et al. (2012) estudaram a atividade antimicrobiana contra as cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e o fungo *Candida albicans*, ao eugenol. Ogunwande et al. (2005) descobriram

que o óleo essencial da fruta exibia forte atividade antibacteriana contra o *Staphylococcus aureus*, enquanto o óleo da folha inibia fortemente o crescimento de *Bacillus cereus*.

De acordo com Martin et al. (1993) o cariofileno trata-se de um sesquiterpenóide de ocorrência comum em muitos óleos essenciais e, em especial, no óleo de cravo na sua forma isômera (β -cariofileno). Ocorre na natureza como mistura de isômeros: isocariofileno, α -cariofileno (humuleno) e β -cariofileno. Algumas dessas substâncias apresentam atividades biológicas, destacando o β -cariofileno que apresenta efeitos espasmolítico, anestésico local e anti-inflamatório.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

Os materiais utilizados (Figura 4) na preparação do filme de PHB e da pomada PHB/óleo de cravo foram: o poli(3-hidroxibutirato) (PHB), fornecido sob a forma de pó pela PHB INDUSTRIAL S/A, localizada em Serrana-SP, com índice de fluidez de 16 g/10 min e densidade de 1,22 g/cm³. O óleo essencial de cravo da Índia (*Eugenia caryophyllata* ou *Syzygium aromaticum*) usado como bioativo natural, 100% puro da *Phytoterápica*, adquirido no Mundo Verde/Rio de Janeiro-RJ. O clorofórmio de massa molar 119,38 g/mol foi fornecido pela Quimex sob forma líquida e usado como recebido.



(a)



(b)



(c)

Figura 4. Materiais utilizados para preparação do filme de PHB e da pomada PHB/óleo de cravo (a) poli(3-hidroxibutirato) (PHB), (b) óleo essencial de cravo da Índia e (c) clorofórmio.

4.2. Metodologia

4.2.1. Preparação do filme de PHB

A solução de PHB a 1% (m/V) de concentração foi preparada através da dissolução de 0,5 g de pó do polímero em 50mL de clorofórmio, ficando em repouso por um período de 24h. Passada as 24h, foi adicionado mais clorofórmio, até completar o volume de 50 mL, compensando a quantidade de solvente evaporada no repouso. Em seguida, a solução foi submetida a 45°C sob agitação magnética por 40min. Por fim, a solução polimérica foi filtrada usando gaze e vertida em placa Petri de 12 cm para formação do filme por meio de evaporação de solvente à temperatura ambiente.

4.2.2. Preparação da pomada de PHB com óleo essencial de cravo da Índia

A preparação da solução polimérica de PHB seguiu o mesmo procedimento descrito no Item 4.2.1. Em seguida, fez-se a adição de 3mL de óleo de cravo, representando 6% em relação ao volume total da amostra, permanecendo por mais 20min sob agitação magnética a 45°C. Por fim, a solução foi filtrada usando gaze e vertida em placa Petri de 12 cm para formação da pomada por meio de evaporação de solvente à temperatura ambiente.

4.3. Caracterização

4.3.1. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas CG/EM

A identificação e quantificação dos constituintes do óleo essencial de cravo da Índia foram realizadas via Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) da Shimadzu, modelo GCMS-QP2010 Plus. O óleo obtido foi concentrado em um rota-evaporador a $40 \pm 1^\circ\text{C}$. Em seguida, a amostra foi injetada numa coluna cromatográfica do

equipamento CG-EM e uma curva de calibração na faixa de concentração de 1 a 100 µg/L, foi utilizada na determinação dos principais metabólitos secundários presentes no óleo essencial.

4.3.2. Atividade antimicrobiana *in Vitro*

Foi utilizado o método de difusão em ágar descrito por Altherthum e Carvalho (1999). Dependendo da atividade presente no antimicrobiano em relação a bactéria, halos de inibição podem ser formados no meio em torno do disco, pedaço de papel filtro impregnado de antimicrobiano, indicando o não crescimento microbiano. O diâmetro do halo varia de acordo com a velocidade de difusão do antimicrobiano testado e com a sensibilidade da bactéria.

As amostras do óleo essencial de cravo e da pomada PHB/óleo de cravo foram manipuladas em ambiente estéril, utilizando a cabine de segurança biológica da marca Quimis, modelo Q216F21RA1. Para o ensaio foi utilizado meio de cultura *Mueller Hinton Broth* (Caldo Mueller Hinton- Kasvi - Italy). As amostras foram testadas frente às cepas bacterianas de interesse clínico: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans*.

4.3.3. Análise visual da pomada PHB/óleo de cravo

A avaliação visual foi realizada levando em consideração a miscibilidade ainda em solução, textura e coloração ao longo do tempo, sendo registradas fotografias da pomada PHB/óleo de cravo por 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias.

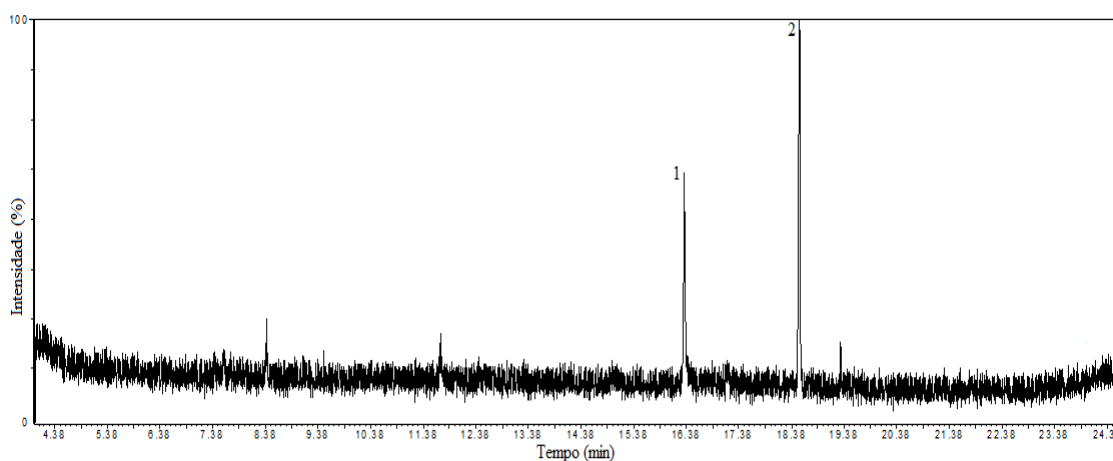
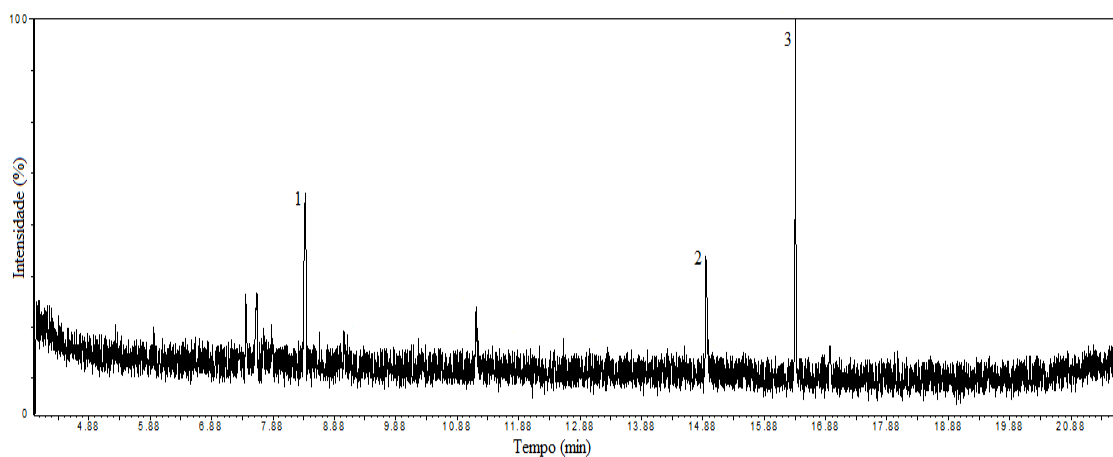
4.3.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR do óleo essencial de cravo da Índia e da pomada PHB/óleo de cravo foram analisados em um equipamento da PerkinElmer precisely, Spectrum 400, FTIR/FT-NIR Spectrometer com ATR (reflectância total atenuada), cristal de diamante/ZnSe na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹ usando 20 varreduras.

5. Resultados e Discussão

5.1. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas do óleo essencial de cravo da Índia

Por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa, realizado em triplicata, foi possível observar a presença de dois constituintes majoritários no óleo essencial de cravo da Índia, os quais são apresentados na Figura 5 (a) 1, (b) 2 e (c) 3.



(a)

(b)

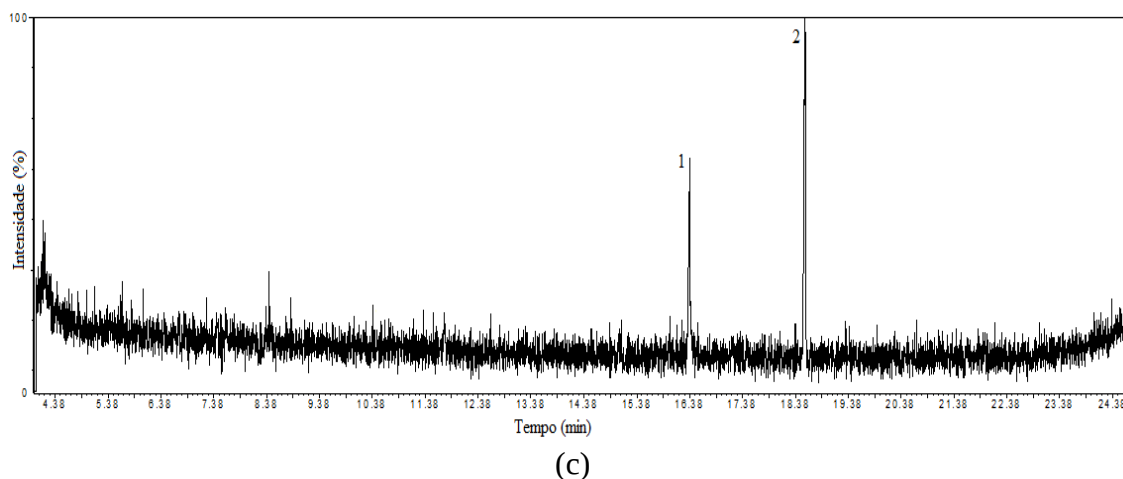
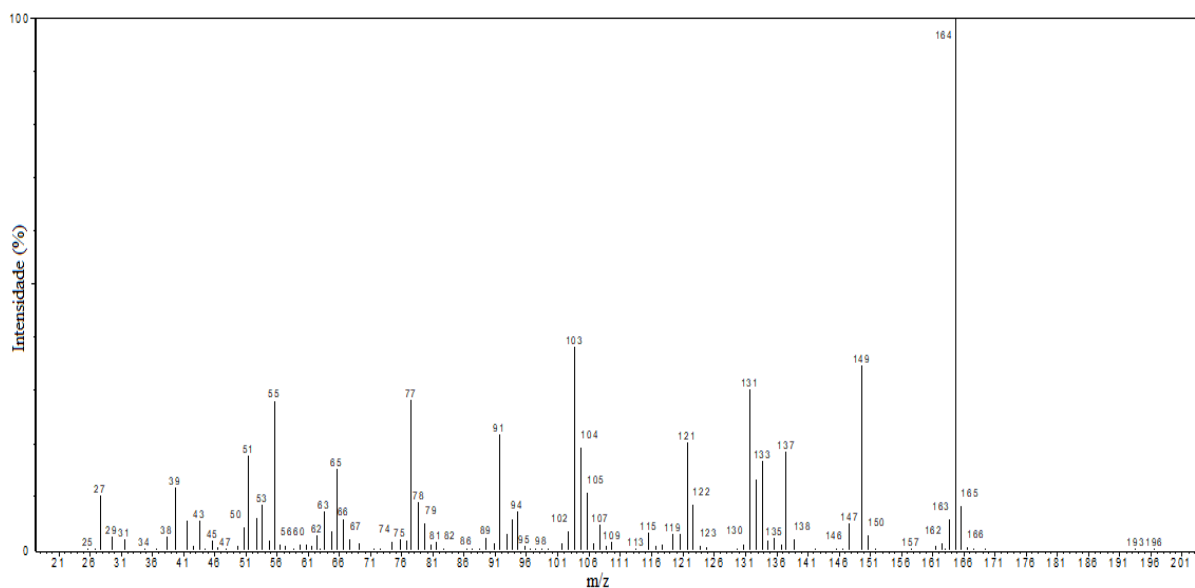


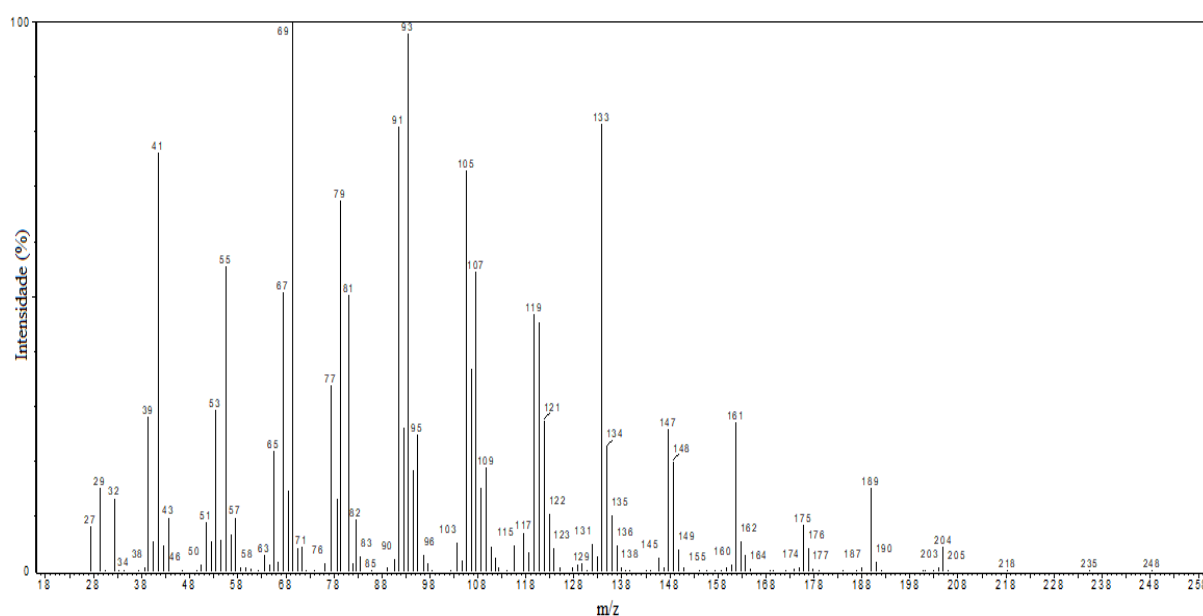
Figura 5. Cromatograma do óleo essencial de cravo da Índia realizado em triplicata (a) 1, (b) 2 e (c) 3.

Os cromatogramas (b) e (c) mostram um pico mais intenso, com tempo de retenção em 18,55 min (pico 2), correspondendo ao β -cariofileno, seguido pelo segundo pico de maior intensidade que se refere ao eugenol com tempo de retenção em 16,37 min (pico 1), ambos confirmados pelos seus respectivos espectros de massas, Figura 6 (a) e (b), comportamento esse também observada por Pawar e Thaker (2006) que encontraram isômeros do cariofileno com tempo de retenção entre 16,732 a 18,896 min e do Eugenol em 16,182 min.

O cromatograma (a) difere dos outros cromatogramas, (b) e (c), ao apresentar três picos mais intensos, onde os dois primeiros estão com tempo de retenção em 8,4 e 14,93 min, e não se apresentam nos outros cromatogramas, e o terceiro pico possui tempo de retenção em 16,38 min, tornando-o condizente com o pico de menor intensidade dos outros cromatogramas, os quais se referem ao Eugenol.



(a) Eugenol.

(b) β -cariofileno.Figura 6. Espectogramas de massas (a) Eugenol e (b) β -cariofileno.

Os espectros de massas encontrados para o Eugenol e para o β -cariofileno, referem-se ao cromatograma (c) e estão de acordo com a literatura, onde, apesar do pico que representa a massa do β -cariofileno não está para 100% de sua presença no composto, isso procede devido a formação de diversos íons, em decorrência da energia incidida sob o material no momento da análise, ser suficiente para romper as ligações do β -cariofileno, como por exemplo a

ligação do grupo metila que se desprende da molécula do β -cariofileno, formando um carbocáion terciário, que pode originar novos fragmentos através da clivagem dos carbonos da fase endocíclica do β -cariofileno (Ribeiro, 2009; Ribeiro, 2015).

Na Tabela 2, encontra-se os metabólicos presentes no óleo de cravo (OC) de acordo com o tempo de retenção e suas respectivas porcentagens de concentração no óleo, quantificadas pelo cálculo de integral da área de seus respectivos picos. Nota-se que o β -cariofileno aparece em maior quantidade (67,28%), caracterizando ser o componente majoritário no óleo essencial de cravo da Índia. Esses resultados são condizentes com Pawar e Thaker (2006), que reportaram a existência de uma maior concentração do β -cariofileno, apresentando-se como óxido de cariofileno e cariofileno, na CG/EM. Esses compostos também foram reportados por diversos autores, porém apresentando o eugenol como composto majoritário do OC (Prashar et al., 2006; Oussalah et al., 2007; Santoro et al., 2007; Affonso et al., 2012).

Tabela 2. Compostos majoritários presentes no óleo de cravo da Índia.

Pico	TR* (min)	Substância identificada	Teor (%)	DP*	CV* (%)	Fórmula Molecular
1	16,34	Eugenol	32,72	4,04	12,36	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
2	18,55	β -cariofileno	67,28	4,04	6,01	C ₁₅ H ₂₄

*TR: tempo de retenção; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação

O β -cariofileno é um sesquiterpenoide bicíclico que pode ser encontrado nos óleos essenciais de maconha (*Cannabis sativa*), cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*). Vem sendo utilizado em tratamentos de inflamação, dor, osteoporose e aterosclerose (Gertsch et al., 2008). Segundo Ghelardini (2001) trata-se de um componente do cravo da Índia, utilizado na medicina herbária para tratar a dor apresentando atividade anestésica.

O Eugenol é um fenilpropanóide e segundo diversos autores é responsável pelas propriedades farmacológicas que o óleo de cravo da Índia apresenta como anestésico, anti-inflamatório, antibacteriana e antifúngica (Chaieb, 2007; Paoli, 2007; Velisek, 2011). Esse composto também é encontrado nos óleos essenciais da pimenta da Jamaica (*Pimenta dioica*), Caneleira-verdadeira (*Cinnamomum zeylanicum*), canela chinesa (*Cinnamomum cassia*) e diversos outros óleos como reportado por Pawar e Thaker (2006).

De acordo com essa análise, pode-se observar a presença majoritária dos metabólitos secundários do tipo β -cariofileno e eugenol no óleo essencial de cravo da Índia, apresentando ação anti-inflamatória e antimicrobiana, essenciais no reparo e tratamento de feridas cutâneas. Por esta razão, esse óleo essencial foi escolhido como bioativo natural na produção da pomada à base de PHB neste trabalho.

5.2. Aspecto visual da pomada PHB/óleo de cravo

Inicialmente, a pomada apresenta-se pastosa, homogênea e com forte odor característico do cravo da Índia, sendo adequada para uso no tratamento de feridas, uma vez que, nos primeiros 30 dias, apresenta consistência de fácil manuseio para aplicação, possibilitando fácil espalhamento e cobertura da ferida. Mas, passados 60 dias, apresenta textura ressecada e acompanhada de intensa coloração amarelada como pode ser visualizada na Figura 7. Em decorrência desse aspecto, sua aplicação pode ser dificultada e causar desconforto no espalhamento sobre a região da ferida. Sugere-se que esta característica de ressecamento da pomada com o tempo esteja associada à volatilização dos compostos fenólicos presentes no óleo essencial de cravo da Índia. Visando solucionar o aspecto de sua textura e, conseqüentemente, aumentar a vida útil da pomada em prateleira, garantindo fácil aplicação, a incorporação de plastificantes como poli(etilenoglicol) (PEG), glicerol e/ou vasilina é recomendada.

Macroscopicamente, observa-se na Figura 7, o aspecto visual da pomada de PHB/óleo de cravo ao longo de 90 dias, onde é notório o amarelamento da pomada, que começa a apresentar-se levemente nos primeiros 15 dias, tornando-se mais intensa a partir de 60 dias. Esse aspecto estar associado à baixa estabilidade do óleo na presença de luz, calor, ar e umidade. Pois o eugenol apresenta capacidade inibitória da peroxidação lipídica, capturando o O_2 ativo e, ao ser metabolizado em um dímero (dieugenol), inibe a peroxidação, além dos grupos como anel aromático (C_6H_5) e da ligação $C=O$ capazes da absorção de luz na região do espectro, conferindo uma coloração amarelada intensa em função do tempo (Mihara e Shibamoto, 1982; Ogata, 2000; Atsumi et al., 2001; Affonso et al., 2012). Mesmo tendo o cuidado de envolver a amostra com papel alumínio, com o intuito de eliminar/evitar seu contato direto com a luz, não foi possível evitar alteração na coloração da amostra ao longo do tempo. O uso de aditivos como antioxidante e/ou estabilizante visa solucionar este aspecto.

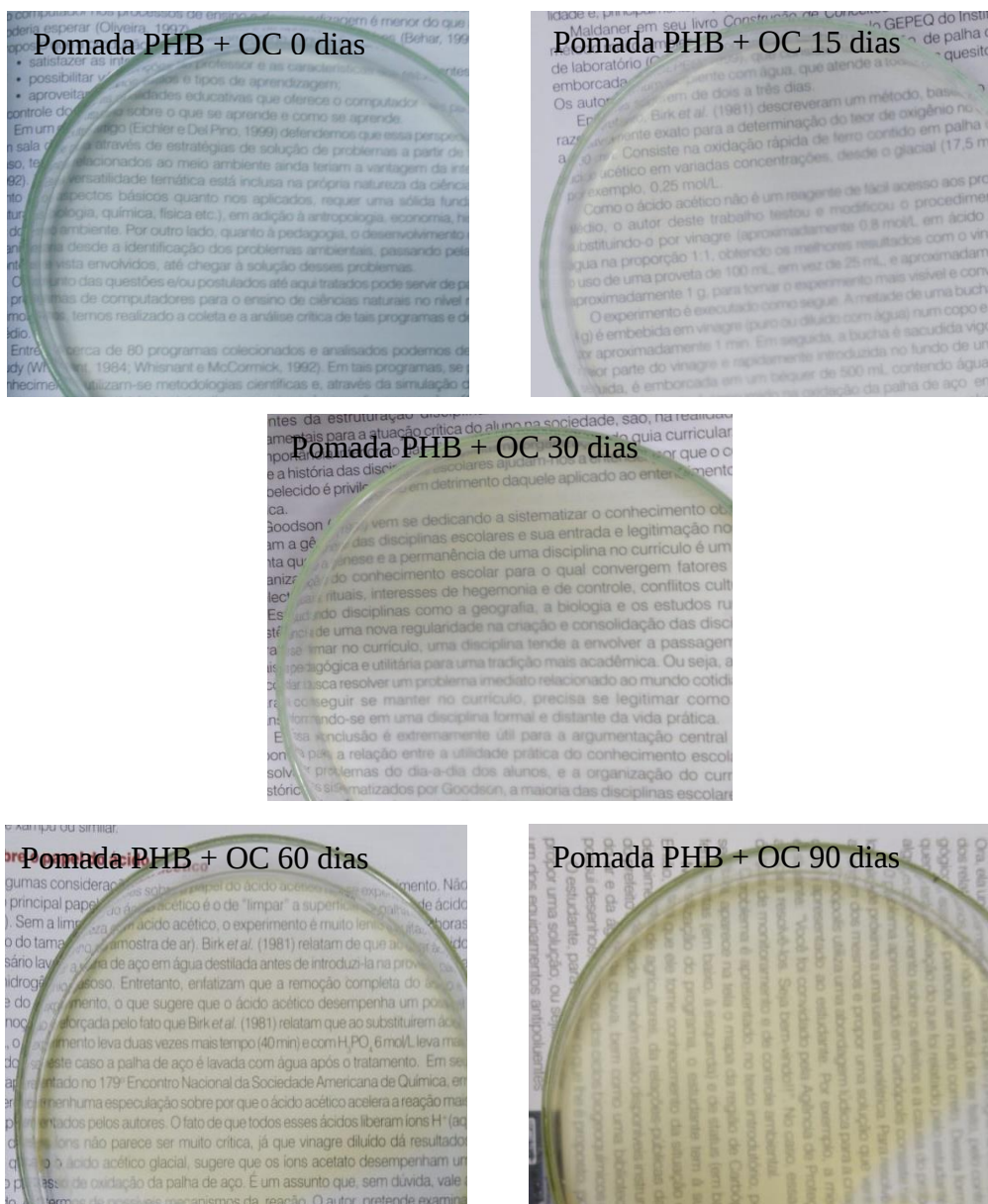


Figura 7. Aspecto visual da pomada PHB + OC no período de 0, 15, 30, 60 e 90 dias.

Fonte própria.

5.3. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectro de FTIR do óleo de cravo, observado na Figura 8, apresenta uma banda em 3504 cm^{-1} associada ao estiramento da ligação de hidroxila (OH) referentes as ligações presentes no eugenol, o qual foi confirmado na análise CG/EM representando 32,72% na composição do óleo de cravo. Em 3066 cm^{-1} observa-se a banda referente a ligação $=\text{CH}$ e em 2931 cm^{-1} tem-se a banda referente ao estiramento CH e deformação axial dos grupos CH_2 e

CH₃. Em 1638-1606 cm⁻¹ nota-se a deformação axial fraca referente ao grupo C=C, associada a ligação dupla endocíclica encontrada no β-cariofileno; composto esse também confirmado como constituinte majoritário no óleo de cravo através da análise de CG/EM. Em 1511 cm⁻¹ tem-se a deformação C=C referente ao anel aromático característico do eugenol, além da banda em 1430 cm⁻¹ associada ao estiramento CH₂ do grupo vinil. Entre 1266 e 1029 cm⁻¹ estão as bandas atribuídas ao estiramento da ligação C-O do grupo éster e álcool primário. As bandas presentes entre 996-743 cm⁻¹ estão atribuídas a deformação angular do grupo RCH=CH₂ fora do plano característico do eugenol (Silverstein et al., 2007.; Chen et al., 2015; Faria, 2017).

No espectro de FTIR do filme de PHB, também observado na Figura 8, verifica-se a presença de uma banda 1753-1713 cm⁻¹ atribuída as vibrações de estiramento de carbonila (CO) do grupo éster do polímero. Em 1377 cm⁻¹, tem-se a banda que corresponde ao estiramento assimétrico dos grupos CH₂. Entre 1311-1103 cm⁻¹ tem-se as bandas referentes ao alongamento simétrico e assimétrico do grupamento COC. As faixas entre 1274-1226 cm⁻¹ assim como 1261-1180 cm⁻¹ pertencem às fases cristalinas e amorfas do PHB, respectivamente (Gonzalez et al. 2005; Ong et al., 2011; Heitmann et al., 2016; Giaquinto et al., 2017).

No espectro da pomada, PHB/óleo de cravo, ainda na Figura 8, observa-se a presença de bandas referente a ambos os compostos, como já era de se esperar. As bandas 3482, 2974, 2839 cm⁻¹ na pomada PHB/óleo de cravo, são referentes as ligações OH, CH, CH₂ e CH₃, características do óleo de cravo, já que essas bandas não se apresentavam no filme de PHB. Ampliando os espectros, na faixa de 1800 a 600 cm⁻¹, Figura 9, observa-se que a elevada intensidade da banda 1721 cm⁻¹ trata-se da influência mútua das ligações CO e C=C do PHB e do óleo de cravo, respectivamente, além da forte interação apresentada pela banda 1261 cm⁻¹, onde o pico, inicialmente em 1376 cm⁻¹ referente a ligação CH₂ do PHB, se desloca em direção as bandas 1266 cm⁻¹ das ligações C-O do óleo de cravo. Dessa forma, conclui-se a presença do óleo de cravo na composição da pomada à base de PHB.

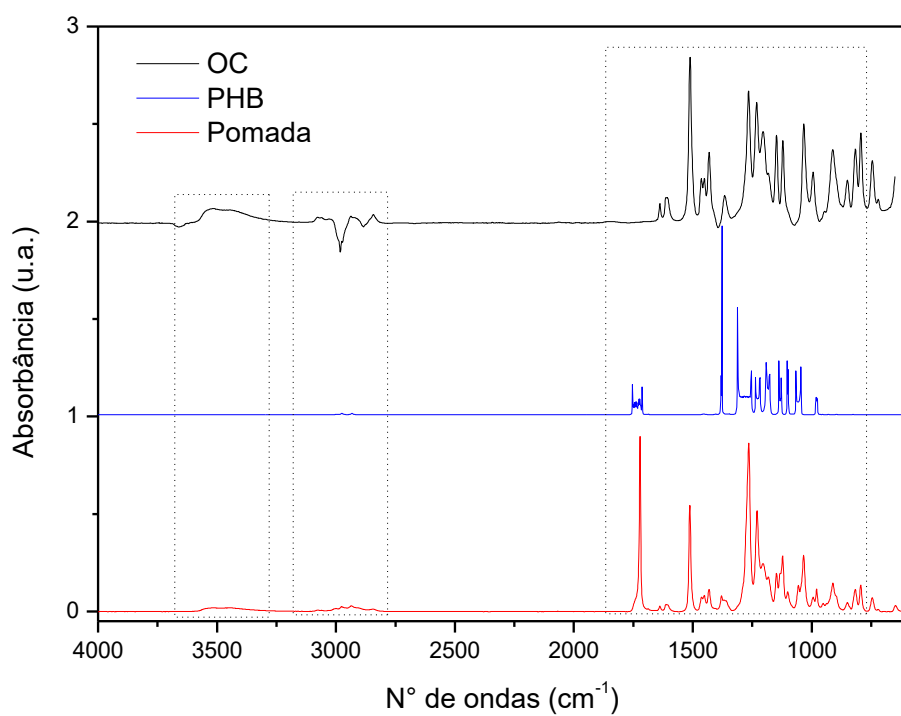


Figura 8. Espectros de FTIR do óleo de cravo (OC), PHB e da pomada PHB/óleo de cravo.

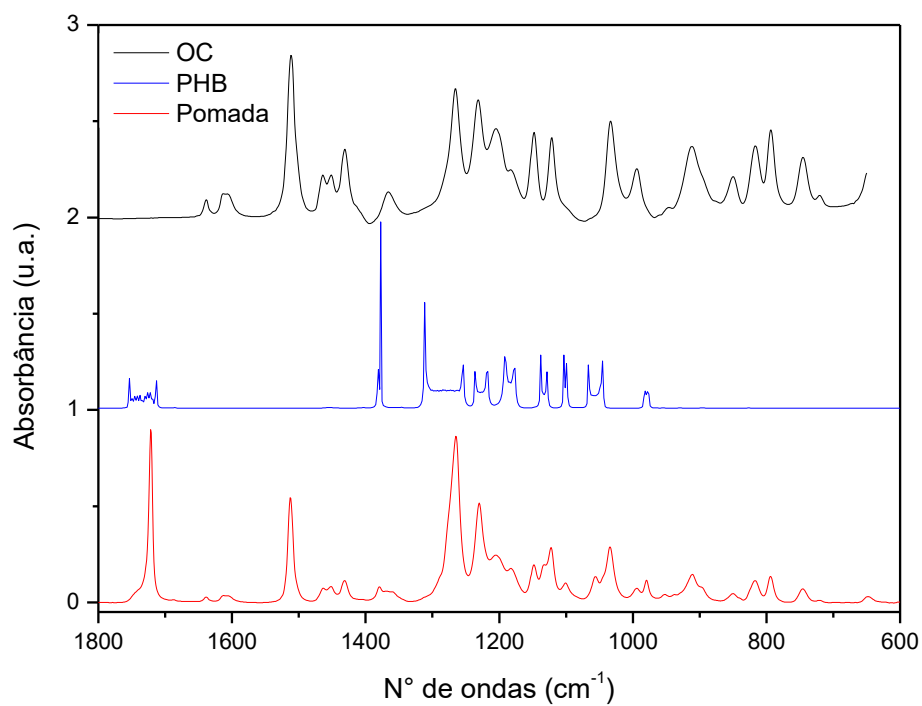


Figura 9. Espectros de FTIR ampliados na faixa de 1800 a 600 cm^{-1} do óleo de cravo (OC), PHB e pomada PHB/óleo de cravo

5.4. Atividade antimicrobiana do óleo de cravo da Índia e da pomada PHB/óleo de cravo

O óleo de cravo foi investigado através do meio de cultura Mueller Hinton Broth para avaliar a atividade antimicrobiana frente às cepas bacterianas de interesse clínico *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e o fungo *Candida albicans*, já a pomada, investigada pelo mesmo meio de cultura, teve sua avaliação antimicrobiana frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, que são mais comumente utilizadas em estudos que tratam de cicatrização de feridas (Affonso et al., 2012). Pode-se analisar os halos de inibição da amostra para essas cepas na Tabela 3.

Tabela 3. Halos de inibição obtidos para o óleo de cravo e pomada PHB/óleo de cravo

Amostra	Diâmetro do halo de inibição (mm)				
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
OC	5	5	4	2	10
Pomada PHB/óleo de cravo	13	-	12	-	-

O óleo cravo apresenta uma baixa resposta, atingindo um halo de inibição de 10 mm, para o fungo *Candida albicans*, e de maior resistência a cepa *Pseudomonas aeruginosa*, com um halo de inibição de 2 mm. Esses valores são bastante inferiores aos encontrados na literatura para as mesmas cepas bacterianas utilizadas na verificação da atividade antimicrobiana. Essa discrepância pode estar associada além da composição do óleo de cravo, que pode variar, como no caso do óleo que está sendo utilizado nesse estudo possuir mais β -cariofileno do que Eugenol, como já discutidos no item 5.1; do tipo de metodologia utilizada, bem como do manuseio do operador durante a análise. Muller (2013), por exemplo, encontrou valores de $31,5 \pm 0,7$ mm frente a *Staphylococcus aureus* e $17,0 \pm 0,0$ mm frente a *Escherichia coli* para o óleo de cravo, através do método de difusão em ágar. Já Guimarães et al. (2017) utiliza dois métodos diferentes, difusão em disco (método Kirby & Bauer, com alterações) e difusão em poços, com adaptações (Moody et al. 2004, Okeke et al. 2001), para análise da atividade antimicrobiana do óleo de cravo frente as bactérias *Escherichia coli* e

Staphylococcus aureus, encontrando halos variando até 8 mm de diâmetro para a mesma bactéria.

De um modo geral, pode-se observar que o óleo de cravo da Índia apresentou discretos halos de inibição para a maioria das cepas testadas, com exceção da *C. albicans* que apresentou valor considerável de inibição de crescimento microbiano. Dessa forma, fica viável o uso desse bioativo natural na produção da pomada à base de PHB para ser usada no tratamento de feridas cutâneas.

Vale ressaltar o aumento dos halos de inibição exibidos na pomada PHB/óleo de cravo quando comparado aos do óleo de cravo da Índia (Tabela 3), aumentando em mais de 100% o diâmetro dos halos de inibição, que passaram de 5 para 13 mm e de 4 para 12 mm frente as cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, respectivamente, comprovando a atividade antimicrobiana nessa formulação. O aspecto microbiológico da pomada é advindo do óleo de cravo e a melhoria da atividade antimicrobiana, da pomada em relação ao óleo puro, frente a estas cepas, pode ser atribuída a uma boa interação polímero/óleo de cravo, já discutida nos espectros de FTIR, uma vez que na literatura não foi encontrado relatos de atividade antimicrobiana referente ao PHB. Esse resultado sugere a pomada como forte candidata ao tratamento de feridas cutâneas, uma vez que o PHB auxilia na regeneração tecidual por meio de suas propriedades angiogênicas e polarização de macrófagos tipo M2 (Nebe et al., 2001; Freier, 2006; Castellano et al. 2017), e o óleo de cravo atua como analgésico, antibacteriano e antifúngico com amplo espectro de ação biológica (Shimizu et al., 1990; Veiga Jr. e Pinto, 2002; Ogunwande et al. 2005; Chaieb et al., 2007; Pramod et al., 2010; Affonso et al., 2012).

De acordo com Karaman et al. (2003), há três formas diferentes de classificar a atividade antimicrobiana em relação ao halo de inibição correspondente a determinadas bactérias, sendo elas: sensíveis, quando o halo é igual ou maior que 3mm de diâmetro em relação ao controle positivo; moderadamente sensível, quando o halo se encontra entre 2 e 3mm de diâmetro; e resistente, quando o halo é igual ou inferior a 2mm de diâmetro. Com base nessa classificação, o óleo de cravo da Índia apresentou-se sensível à maioria das cepas estudadas, com exceção da *P. aeruginosa*, que apresentou halo de inibição de 2mm, ver Tabela 3. Já a pomada PHB/óleo de cravo, de acordo com essa classificação, apresenta excelentes halos frente as cepas estudadas, apresentando halos com diâmetros de até 4 vezes maior do que é considerado como sensível para atividade antimicrobiana, logo a pomada de PHB/óleo de cravo obtida nesse estudo atinge os objetivos de pesquisa.

6. CONCLUSÕES

O óleo de cravo da Índia apresentou o β -cariofileno e o Eugenol como componentes majoritários em sua composição, além de apresentar halos de inibição frente a todas as cepas e fungos investigados neste trabalho.

Foi obtida uma pomada com sucesso quando incorporado o óleo de cravo como bioativo natural no PHB, apresentando boa textura em seus primeiros 30 dias, de fácil aplicação e recobrimento da ferida, além de translúcida e incolor a luz visível em seus primeiros dias, atingindo uma coloração de amarelo intensa a partir de 60 dias, mas ainda mostrando-se translúcida.

Foi comprovada a atividade antimicrobiana na pomada por meio dos halos de inibição, atingindo valores acima de 100%, superiores aos encontrados para o óleo essencial de cravo da Índia puro, frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Sugerindo seu uso como potencial candidato no tratamento de lesões cutâneas.

7. REFERÊNCIAS

AFFONSO, R. S.; RENNO, M. N.; SLANA, G. B. C. A. e FRANÇA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. *Revista Virtual de Química*, v.4, n.2, p.146-161. 2012.

ALMEIDA, R. B. e SCHEFFER, T. P. Estudo sobre a utilização de recursos vegetais com potencial terapêutico. *Revista de Saúde Pública de Santa Catarina, Florianópolis*, v.5, n.1, p.59-71. 2012.

ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu., p.1-578. 1999.

ATSUMI T.; IWAKURA I.; FUJISAWA S. e UEHA T. Reactive oxygen species generation and photo-cytotoxicity of eugenol in solutions of various pH. *Biomaterials*, v.22, n.12, p.1459-1466. 2001.

BALICK, M.J. e COX, P.A.; Analgesic Activities of Methanol Extract of *Terminalia chebula* Fruit. *Plants, people and culture*. New York: Scientific American Library, Pharmacology & Pharmacy, v.6, n.12. p.1-24. 1997.

BANERJEE, S.; PANDA, C. K. e DAS, S. Clove (*Syzygium aromaticum* L.), A potential chemopreventive agent for lung cancer. *Carcinogenesis*, v.27, n.8 p.1645-1654. 2006.

BARBOSA, F. S. Modelo de Impedância de Ordem Fracional para a Resposta Inflamatória Cutânea. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, COPPE – Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ – 2011.

BHATTACHARJEE, A.; KUMAR, K.; ARORA, A. e KATTI, D. S. “Fabrication and characterization of Pluronic modified poly (hydroxybutyrate) fibers for potential wound dressing applications”, *Materials Science and Engineering: C*, v.63, p.266–273. 2016.

BOEREE, N. R.; DOVE, J.; COOPER, J. J.; KNOWLES, J. E HASTINGS, G. W. Development of a degradable composite for orthopaedic use: mechanical evaluation of an

hydroxyapatite-polyhydroxybutyrate composite material. *Biomaterials*; v.14, p.793-796. 1993.

BORISKIN, M. I.; Primary care management of wounds. Cleaning, suturing, and infection control. *Nurse Practitioner*.; v.19, n.11, p.38-54. 1994.

BÖRNER, H. G. e SCHLAAD, H. - Bioinspired functional block copolymers. *Soft Matter*, v.3, p.394-408. 2007.

BROUGHTON, G. 2nd.; JANIS J. E. e ATTINGER C. E. The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*; v.117(SUPPLEMENT), p.12S-34S. 2006.

BUENO, C. Z. e MORAES, A. M. “Development of porous lamellar chitosan-alginate membranes: Effect of different surfactants on biomaterial properties”. *Journal of Applied Polymer Science*, v.122, p.624-631. 2011.

BURKE, S. A.; JONES, M. R.; LEE, B. P. e MESSERSMITH, P. B. - Thermal gelation and tissue adhesion of biomimetic hydrogels. *Biomedical Materials*, v.2, n.4, p.203-210. 2007.

CABRAL, C. e PITA, J. R. Ciclo de Exposições: Temas de Saúde, Farmácia e Sociedade. Catálogo. Sub-título: 2. Formas e formatos dos medicamentos – a evolução das formas farmacêuticas. Ed: Centro de Estudos Interdisciplinares do Século XX (CEIS 20) – Grupo de História e Sociologia da Ciência e da Tecnologia. Coimbra. 2015.

CAI, L. e WU, C. D. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of Natural Products* v.59, p.987–990. 1996.

CASTELLANO, D.; SANCHIS, A.; BLANES, M.; PÉREZ DEL CAZ, M. D.; RUIZ-SAURÍ, A.; PIQUER-GIL, M.; PELACHO, B.; MARCO, B.; GARCIA, N.; ONTORIA-OVIEDO, I.; CAMBRA, V.; PROSPER, F. E SEPÚLVEDA, P. Electrospun poly(hydroxybutyrate) scaffolds promote engraftment of human skin equivalents via macrophage M2 polarization and angiogenesis. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v.12, n.2, p.983–994. 2017.

CESTARI, S. C. P. Dermatologia Pediátrica – Noções de anatomia e histologia da pele. ed.: 1ª. Editora: Atheneu – 2012.

CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A. B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K. e BAKHROUF, A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*, v.21, n.6, p.501–506. 2007.

CHEN, H.; ZHANG, Y. e ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein-casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. *Journal of Food Engineering*. v.144, p.93–102. 2015.

CHIELLINI, E. e SOLARO, R. Biodegradable polymers and plastics. Edited by Chiellini and Solaro Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 2003.

COUTINHO, H. D. M.; FREITAS, M. A.; GONDIM, C. N. F. L.; ALBUQUERQUE, R. S.; FERREIRA, J. V. A. e ANDRADE, J. C. Atividade antimicrobiana *in vitro* de Geraniol e Cariofileno sobre *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. v.20, n.1, p.98-105. 2015.

DALLAN, P. R. M. “Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele”; Tese de doutorado; Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas; Campinas – 2005.

DECLAIR, V. Tratamento de úlceras crônicas de difícil cicatrização com ácido linoleico. *Jornal Brasileiro de Medicina* v.82, n.6, p.36-41. 2002.

DROTLEFF, S.; LUNGWITZ, U.; BREUNIG, M.; DENNIS, A. e BLUNK T. Biomimetic polymers in pharmaceutical and biomedical sciences. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.58, p.385-407. 2004.

FARIA, A. C. Valorização dos sesquiterpenóides β -cariofileno e óxido de cariofileno por meio da reação de hidroformilação catalisada por complexos de ródio. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química – 2017.

PIANETTI, G. A. e ALBUQUERQUE, M. M. FNFB – Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira/Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2.ed. p. 224. Brasília: ANVISA, 2012.

FRANCHETTI, S. M. M. e MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. *Química Nova*, v.29, n.4, p.811-816. 2006.

FREIER, T. Biopolyesters in tissue engineering applications. *Polymers for Regenerative Medicine*. v.203, p.1-61. 2006.

GERTSCH, J.; LEONTI, M.; RADUNER, S.; RACZ, I.; CHEN, J.-Z.; XIE, X.-Q.; ALTMANN, K.-H.; KARSAK, M. e ZIMMER, A. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v.105, n.26, p.9099-9104. 2008.

GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; DI CESARE MANNELLI, L.; MAZZANTI, G. e BARTOLINI, A. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. *II Farmaco*. v.56, p.387-389. 2001.

GIAQUINTO, C. D. M.; SOUZA, G. K. M.; CAETANO, V. F. e VINHAS, G. M. Evaluation of the mechanical and thermal properties of PHB/canola oil films. *Polímeros*, v.27, n.3, p.201-207. 2017.

GIL, M. H. e FERREIRA, P. Polissacarídeos como biomateriais. *Química*, v.100, p.72-74. 2006.

GONÇALVES, A. L. Estudo da atividade antimicrobiana de algumas árvores medicinais nativas com potencial de conservação/recuperação de florestas tropicais. 193 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro – 2007.

GONZALEZ, A.; IRUSTA, L.; FERNÁNDEZ-BERRIDI, M. J.; IRIARTE, M. e IRUIN, J. J. Application of pyrolysis/gas chromatography/Fourier transform infrared spectroscopy and TGA techniques in the study of thermal degradation of poly (3-hydroxybutyrate). *Polymer Degradation and Stability*, v.87, n.2, p.347–354. 2005.

GUASTALDI A. C. e APARECIDA, A. H.; Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Revista Química Nova.*; v.33, n.6, p.1352-1358. 2010.

GUIMARÃES, C. C.; FERREIRA, T. C.; OLIVEIRA, R. C. F.; SIMIONI, P. U. e UGRINOVICH, L. A. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Biociência*. Porto Alegre, v.15, n.2, p.83-89. 2017.

HEITMANN, A. P.; PATRÍCIO, P. S. O.; COURA, I. R.; PEDROSO, E. F.; SOUZA, P. P.; MANSUR, H. S.; MANSUR, A.; e OLIVEIRA, L. C. A. Nanostructured niobium oxyhydroxide dispersed Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) films: Highly efficient photocatalysts for degradation methylene blue dye. *Applied Catalysis B: Environmental*, v.189, p.141-150. 2016.

JEDLIŃSKI, Z.; KURCOK, P.; ADAMUS, G. e JUZWA, M. - Biomimetic polyesters and their role in ion transport across cell membranes. *Acta Biochimica Polonica*, v.47 n.1, p.79-85. 2000.

KIPLE, K. F. e ORNELAS, K. C.; *The Cambridge world history of food*, Vol. II, Cambridge University Press: São Paulo. 1999.

KULKARNI, V. S. *Handbook of Non-invasive Drug delivery Systems. Non-Invasive and Minimally-Invasive Drug Delivery Systems for Pharmaceutical and Personal Care Products A volume in Personal Care & Cosmetic Technology USA*. ed.1. p.328. 2010.

KUMARI, M. V. R. Modulatory influences of clove (*Caryophyllus aromaticus*, L) on hepatic detoxification systems and bone marrow genotoxicity in male Swiss albino mice. *Cancer Letters*. v.60, p.67-73. 1991.

KÜNKEL, A., BECKER, J., BÖRGER, L., HAMPRECHT, J., KOLTZENBURG, S., LOOS, R.; SCHICK, M. B.; SCHLEGEL, K.; SINKEL, C.; SKUPIN, G. e YAMAMOTO, M. Polymers, Biodegradable. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, p.1-29. 2016.

LEE, S. J.; LEE, Y. M.; KHANG, G.; KIM, I. Y.; LEE, B. e LEE, H. B. Effect of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) surface with different wettability on fibroblast behavior. *Macromolecular Research*, v.10, n.3, p.150-157. 2002.

LIU, Z.; WANG, Y.; HE, N.; HUANG, J.; ZHU, K.; SHAO, W.; WANG, H.; YUAN, W. e LI, Q. Optimization of polyhydroxybutyrate (PHB) production by excess activated sludge and microbial community analysis. *Journal of Hazardous Materials*, v.185, n.1, p.8–16. 2011.

LORENZI, H. e MATOS, F. J.; Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas, Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA: São Paulo, ed.2. 2002.

LYMAN, D. J. e SEARE, W. J. Biomedical Materials in Surgery. *Annual Review of Materials Science*, v.4, n.1, p.415-433. 1974.

MALM, T.; BOWALD, S.; BYLOCK, A.; SALDEEN, T. e BUSCH, C. Regeneration of Pericardial Tissue on Absorbable Polymer Patches Implanted into the Pericardial Sac: An Immunohistochemical, Ultrastructural and Biochemical Study in the Sheep. *Scandinavian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. v.26, p.15-21. 1992.

MARTIN, S.; PADILLA, E.; OCETE, M. A.; GALVEZ, J.; JIMÉNEZ, J. e ZARZUELO, A. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleurum frutescens*. *Planta Medica*. v.59, n.6, p.533-536. 1993.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica* [online]. v.26, n.2, p.231-238. 2003.

MIHARA, S. e SHIBAMOTO, T. Photochemical reactions of eugenol and related compounds: Synthesis of new flavor chemicals. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v.30, n.6, p.1215-1218. 1982.

MILLER, N. D. e WILLIAMS, D. F. On the biodegradation of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) homopolymer and poly- β -hydroxybutyrate-hydroxyvalerate copolymers. *Biomaterials*; v.8, n.2, p.129-137. 1987.

MOODY, J. O.; ADEBIYI, O. A.; e ADENIYI, B. A. Do Aloe vera and Ageratum conyzoides enhance the anti-microbial activity of traditional medicinal soft soaps (Osedudu)? Journal of Ethnopharmacology, v.92, n.1, p.57-60. 2004.

MORGAN, D. A.; Wound dressings: principals and types of dressings. In: Formulary of Wound Managment Products: a guide for health care staff, 6th ed. Haslemere, Surrey: Euromed Communications; p. 64-73. 1994.

MULLER, L. Incorporação de óleo essencial de cravo em membranas de quitosana e avaliação atividade antimicrobiana e cicatrizante. 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina – 2013.

MYTLE, N.; ANDERSON, G. L.; DOYLE, M. P. e SMITH, M. A. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. Food Control, v.17, p.102-107. 2006.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C. e SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, v.31, n.4, p.247-256. 2000.

NEBE, B.; FORSTER, C.; POMMERENKE, H.; FULDA, G.; BEHREND, D.; BERNEWSKI, U.; SCHMITZ, K.P. e RYCHLY, J. Structural alterations of adhesion mediating components in cells cultured on poly- β -hydroxy butyric acid. Biomaterials; v.22, n.17, p.2425-2434. 2001.

OGATA, M.; HOSHI, M.; URANO, S. e ENDO, T. Antioxidant Activity of Eugenol and Related Monomeric and Dimeric Compounds. CHEMICAL e PHARMACEUTICAL BULLETIN, v.48, n.10, p.1467-1469, 2000.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M. e SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. International Journal of Aromatherapy v.15, n.3, p.147–152. 2005.

OKEKE, M. I., IROEGBU, C. U., EZE, E. N., OKOLI, A. S. e ESIMONE, C. O. Evaluation of extracts of the root of *Landolphiaowerriencefor* antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, v.78, n.3, p.119–27. 2001.

OLIVEIRA, B. G. R. B.; CASTRO, J. B. A. e ANDRADE, N. C. Técnicas para a avaliação do processo cicatricial de feridas, *Nursing*, São Paulo, v.102, n.9, p.1106-1110. 2006.

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

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P. e OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.3, p.771-775. 2009.

ONG, Y. T.; AHMAD, A. L.; ZEIN, S. H. S.; SUDESH, K.; e TAN, S. H. Poly(3-hydroxybutyrate)-functionalised multi-walled carbon nanotubes/chitosan green nanocomposite membranes and their application in pervaporation. *Separation and Purification Technology*, v.76, n.3, p.419-427. 2011.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L. e LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, v.18, n.5, p.414–420. 2007.

PAOLI, S.; GIANI, T. S.; PRESTA, G. A.; PEREIRA, M. O.; FONSECA, A. S.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A. C.; SANTOS-FILHO, S. D. e BERNARDO-FILHO, M. B. Effects of clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of red blood cells. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.50, p.175-182. 2007.

PAWAR, V. C. e THAKER, V. S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Blackwell Publishing Ltd • Mycoses*, v.49, p.316–323. 2006.

PENG, T.; GIBULA, P.; YAO, K-D. e GOOSEN, M. F. A. Role of polymers in improving the results of stenting in coronary arteries. *Biomaterials*. v.17, n.7, p.685-694. 1996.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M. G.; ABREU, L. R.; MORAIS, A. R.; GUIMARÃES, L. G. L. e SALGADO, A. P. S. P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.3, p.887–893. 2008.

PINTO, E.; VALE-SILVA, L.; CAVALEIRO, C. e SALGUEIRO, L. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* (*Eugenia caryophyllus*) on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*., v. 58, p.1454-1462. 2009.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K. e MORAES, Â. M. Biomaterials: Types, Applications, And Market. *Química Nova*., v.38, n7, p.957-971. 2015.

PRAMOD, K.; ANSARI, S. H. e ALI, J. Eugenol: A Natural Compound with Versatile Pharmacological Actions. *Natural Product Communications* v.5, n.12, p.1999-2006. 2010.

PRASHAR, A.; LOCKE, I. C. e EVANS, C. S. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation*, v.39, n.4, p.241-248. 2006.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN F. J. e LEMONS, J. E. An introduction to materials in medicine. *Biomaterials Science*. San Diego: Academic Press, ed.2. 2005.

REIS, C.; PEREIRA, J.; SMITH, C.; CARVALHO, C. W. P.; WELLNER, N. e YAKIMETS, I. “Characterization of polyhydroxybutyrate hydroxyvalerate (PHB-HV)/maize starch blend films,” *Journal of Food Engineering*, v.89, n.4, p.361-369. 2008.

RIBEIRO, J. D. Estudo analítico e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial da espécie *Pimenta dioica* Lindl. Tese de Doutorado – Departamento de Química – Universidade Federal da Paraíba (UFPB). 2009.

RIBEIRO, P. H. S. Óleos essenciais de espécies de eugenia do cerrado: composições químicas sazonais, modificações químicas no β -cariofileno e avaliação da atividade acaricida. Tese de Doutorado – Instituto de Química – Universidade de Brasília (UnB). 2015.

RIVARD, C. H.; CHAPUT, C.; RHALMI, S. e SELMANI, A. Bio-absorbable synthetic polyesters and tissue regeneration. A study of threedimensional proliferation of ovine chondrocytes and osteoblasts. *Annales de Chirurgie*; v.50, n.8, p.651-658. 1996.

SAEED, S. e GILANI, A. H. Antithrombotic activity of clove oil. *Journal of Pakistan Medical Association*. v.44, p.112-115. 1994.

SALVATORE, L.; CAROFIGLIO, V. E.; STUFANO, P.; BONFRATE, V.; CALÒ, E.; SCARLINO, S.; NITTI, P.; CENTRONE, D.; CASCIONE, M.; LEPORATTI, S.; SANNINO, A.; DEMITRI, C. e MADAGHIELE, M. Potential of Electrospun Poly(3-hydroxybutyrate)/Collagen Blends for Tissue Engineering Applications. *Journal of Healthcare Engineering*, v.2018, p.1-13. 2018.

SANTORO, G. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; MENDONÇA, L. Z. e SOARES, M. J. Trypanosoma cruzi: Activity of essential oils from Achillea millefolium L., Syzygium aromaticum L. and Ocimum basilicum L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology*, v.116, n.3, p.283-290. 2007.

SANTOS, C.; A importância do meio úmido na cicatrização de lesões de pele. *Pelle Sana*; v.3, p.10-5. 1999.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T. e GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v.11, n.4, p.442-449. 2009.

SHIMIZU, M.; SHOGAWA, H.; MATSUZAWA, T.; YONEZAWA, S.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M.; MORITA, N.; FERRO, E.; BASUALDO, I. e BERGANZA, L. H. Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs. IV. Constituents and anti-inflammatory effect of Paraguayan crude drug “Alhucema”(Lavandula latifolia Vill.). *Chemical e Pharmaceutical Bulletin*, v.38, n.8, p.2283–2284. 1990.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. e KIEMLE, D. J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 490p. 2007.

SIONKOWSKA, A. “Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review”. *Progress in Polymer Science*, v.36, p.1254-1276, 2011.

SOMBATMANKHONG, K.; SUWANTONG, O.; WALEETORNCHEEPSAWAT, S. e SUPAPHOL, P. Electrospun fiber mats of poly(3-hydroxybutyrate), poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), and their blends. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, v.44, n.19, p.2923–2933. 2006.

SPERANDIO, F. F. “Avaliação da reparação tecidual de incisões realizadas em dorso de ratos submetidas à terapias fotodinâmica com utilização de corante azul de metileno”. Dissertação (Mestrado) – São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP – 2009.

SWAIM, S.F. e HENDERSON Jr., R.A. *Small animal wound management*. 2.ed. Baltimore: Williams e Wilkins. Cap.3: Wound dressing materials and topical medications: p.53-85. 1998.

TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. *Journal of the Royal Society Interface*, v.6, p.S311-S324, 2009.

VAN DE GRAAFF K. M. *Anatomia Humana*. 6. ed. Barueri: Manole, 2003.

VEIGA JR., V. F. e PINTO, A. C. O Gênero *Copaifera* L. *Química Nova*, v.25, n.2, p.273-286. 2002.

VELISEK, J.; STARA, A.; LI, Z.-H.; SILOVSKA, S. e TUREK, J. Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture*, v.310, n.3, p.369-375. 2011.

VIRCHOW, R. L. K. *Cellular Pathology: As Based Upon Physiological and Pathological Histology*, 2 ed., London, John Churchill. 1860.

VON RECUM, A. F. e LABERGE, M. Educational goals for biomaterials science and engineering:perspective view. *Journal of Applied Biomaterials.*, v.6, p.137-144. 1995.

WELLER R. P.J.B.; HUNTER, J. A.A.; SAVIN, J. A. e DAHL M. V. *Clinical Dermatology*, 4 ed. Blackwell Publishing. 2008.

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

WILLIAMS, D.F., Corrosion of Implant Materials, Materials Science, v.6, p.237- 266. 1976.

WILLIAMS, I. R. e KUPPER, T. S. Immunity at the surface: homeostatic mechanisms of the skin immune system. Life Sci., v.58, p.1485-1507. 1996.

WILLIAMS, S. F. e MART, D. P. Applications of PHAs in medicine and pharmacy, in Biopolymers, (eds Y. Doi and A. Steinbüchel), Wiley-VCH, Weinheim, v.4, p.1-38. 2002.

ZHANG, C.; ZHAO, L.; DONG, Y.; ZHANG, X.; LIN, J. e ZHANG, C. “Folate-mediated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyoctanoate) nanoparticles for targeting drug delivery Chan”, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v.76, n.1, p.10-16. 2010.