



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

ALINE KAROLINE CAMPELO DE SOUZA

**ELABORAÇÃO FILMES DE QUITOSANA E ALGINATO CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE MELALEUCA VISANDO APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DA
ACNE VULGAR**

Recife

2024

ALINE KAROLINE CAMPELO DE SOUZA

**ELABORAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA E ALGINATO CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE MELALEUCA VISANDO APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DA
ACNE VULGAR**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador(a): Dra. Rosa Valéria da
Silva Amorim

Coorientador: Msc. Abrãao Ítalo Lima
dos Santos

Recife

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Souza, Aline Karoline Campelo de .

Elaboração de filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca visando aplicação no tratamento da acne vulgar. / Aline Karoline Campelo de Souza. - Recife, 2024.

46p. : il., tab.

Orientador(a): Rosa Valéria da Silva Amorim

Coorientador(a): Abraão Italo Lima dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Filmes. 2. Quitosana. 3. Acne vulgar. 4. Óleo essencial de melaleuca. 5. Alginato. I. Amorim, Rosa Valéria da Silva. (Orientação). II. Santos, Abraão Italo Lima dos. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

ALINE KAROLINE CAMPELO DE SOUZA

**ELABORAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA E ALGINATO CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE MELALEUCA VISANDO FUTURA APLICAÇÃO NO
TRATAMENTO DA ACNE VULGAR**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à obtenção
do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 25/08/2024

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dra. Rosa Valéria da Silva Amorim
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Histologia e Embriologia (DHE)/
CCS- UFPE

Prof. Dr. Ricardo Yara
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Engenharia Biomédica
(DEBM)/CTG-UFPE

Prof. Dra. Luciana Silva Regueira
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Histologia e Embriologia (DHE)/
CCS- UFPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me sustentado em todas as etapas, pois o vi em cada momento desses quatro anos, me ajudando, fazendo o que eu não podia fazer, me dando forças para suportar os momentos difíceis e sendo minha fonte de alegria diária. Porque em cada detalhe estudado em todas as disciplinas tive maior certeza da sua grandeza, domínio e criatividade em criar todas as coisas de maneira tão perfeitamente elaborada. Porque minha fé foi fortalecida.

A minha mamãe e meu papai, Ana e Antônio, por não medirem esforços para me ajudar em tudo que era possível, por tornarem esses anos consideravelmente mais leves e por todos os dias de joelhos dobrados orando por mim. Deus escutou suas orações.

Ao meu querido Jesimiel, por seus ouvidos atentos, suas orações, atenção, compreensão, ajuda e amor. Por me fazer feliz.

A Alice, Ana Luiza, Júlia, Laís, Mari, Mayara, Mayza, Thamires e Vivian por me fazerem chorar de rir, pela parceria, ajuda e amizade sincera.

À professora Rosa, que me acompanha desde o primeiro período e que me deu a honra de ser sua orientanda, por suas portas abertas, apoio, compreensão e ensinios.

À Abraão, por tirar todas as minhas dúvidas, mesmo que fossem as mais bestas possíveis, pela paciência e apoio, pela rapidez em responder meus e-mails, por aceitar ser meu coorientador.

Ao céu na terra- UFPE, que foi um lugar de refúgio semanal, onde encontrei pessoas que me ajudaram a estar mais firme na fé em Jesus. Por me dar a chance de ser útil para o Reino nos lugares mais improváveis, por marcar minha história para sempre.

Gostaria de agradecer também as pessoas que contribuíram para que esse trabalho pudesse ser feito. À Roberta, por correr para conseguir o que precisávamos, por sempre conhecer alguém que podia nos ajudar. À Karine e Layza por serem tão prestativas e me ajudarem de forma tão solícita. Ao seu Lielson por sua receptividade e amor por seu trabalho refletido na sua forma de falar e servir. À Eliane, Diego, Catarina, tia Ceça pelo apoio.

À minha família, amigos e igreja, que me apoiaram nesses anos e me ajudaram em oração. Sou grata a Deus por vocês.

Ora, àquele que é poderoso para fazer tudo muito mais abundantemente além daquilo que pedimos ou pensamos, segundo o poder que em nós opera. A esse glória na igreja, por Jesus Cristo, em todas as gerações, para todo o sempre. Amém.

Efésios 3:20-21

SOUZA, Aline. **Elaboração de filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca visando futura aplicação no tratamento da acne vulgar**. 2024. 48 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

A acne vulgar é uma doença mundial, causada pela maior produção de sebo, hiperqueratinização e aumento da colonização de bactérias, sendo as principais *Cutibacterium acnes* e *Staphylococcus epidermidis*. Visando aplicação no tratamento desta doença, o presente trabalho buscou desenvolver filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca capazes de agir contra bactérias e promover um ambiente adequado para a regeneração tecidual onde ocorreu a lesão. Para isso foram feitos testes morfológicos-estruturais. Foi observada que o aumento da concentração do óleo tornou os filmes mais opacos. As melhores taxas de absorção de água se deram em pH ácido e neutro, atingindo um máximo de 383%. A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier demonstrou uma boa interação entre os polímeros e o óleo nos filmes, por apresentar os picos característicos de cada material. Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura os filmes apresentaram estrutura rugosa e irregular. A concentração mínima inibitória do óleo contra *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* mostrou inibição de 73,4% e 53,18%, respectivamente, nas maiores concentrações testadas. No teste de difusão em ágar, os filmes não mostraram atividade antimicrobiana. Assim, o presente estudo demonstra bom potencial dos filmes de quitosana e alginato com óleo essencial de melaleuca para futura aplicação na acne vulgar, embora sejam necessários mais estudos na formulação dos filmes para melhorar o potencial antimicrobiano destes.

Palavras-chave: Filmes. Quitosana. Acne vulgar. Óleo essencial de melaleuca.

SOUZA, Aline Karoline Campelo. **Development of chitosan and alginate films containing tea tree essential oil for application in the treatment of acne vulgaris**. 2024. 48 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

Acne vulgaris is a global disease caused by increased sebum production, hyperkeratinization, and increased bacterial colonization, with *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* being the main culprits. Aiming for application in the treatment of this disease, the present study sought to develop chitosan and alginate films containing tea tree essential oil capable of acting against bacteria and promoting a suitable environment for tissue regeneration where the lesion occurred. Morphological-structural tests were conducted. It was observed that increasing the concentration of the oil made the films more opaque. The best water absorption rates were found in acidic and neutral pH, reaching a maximum of 383%. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) demonstrated good interaction between the polymers and the oil in the films, as indicated by the characteristic peaks of each material. Scanning Electron Microscopy (SEM) images showed that the films had a rough and irregular structure. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the oil against *S. epidermidis* and *P. aeruginosa* showed inhibition rates of 73.4% and 53.18%, respectively, at the highest concentrations tested. In the agar diffusion test, the films did not show antimicrobial activity. Thus, this study demonstrates the good potential of chitosan and alginate films with tea tree essential oil for future application in acne vulgaris, although further studies on film formulation are needed to improve their antimicrobial potential.

Key words: Films. Chitosan. Acne vulgar. Tea tree essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química da quitosana

Figura 2 – Imagem das folhas da árvore de *Melaleuca alternifolia*

Figura 3 – Aparência macroscópica dos filmes e hidrogéis produzidos

Figura 4 – Intumescimento dos filmes de quitosana e alginato com 1% de OEM.

Figura 5 – Intumescimento dos filmes de quitosana e alginato com 3% de OEM.

Figura 6 – Intumescimento dos filmes de quitosana e alginato.

Figura 7 – Espectros de FTIR referente ao filme de quitosana e alginato com 3% de OEM.

Figura 8- Eletromicrografias de Varredura (MEV) de (A) filme de quitosana e alginato, (B) filme de quitosana e alginato com 1% de OEM e (C) filme de quitosana e alginato com 3% de OEM.

Figura 9- Atividade antibacteriana dos filmes. Em A teste de difusão contra *Staphylococcus epidermidis* com filmes de quitosana e alginato contendo OEM a 1% e 3% e filme sem óleo. Em B teste de difusão contra *Pseudomonas aeruginosa* com filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca a 1% e 3% e filme sem óleo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Biopolímeros e suas aplicações na indústria cosmética	03
Tabela 2 – Efeito antimicrobiano do OEM frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Qs	Quitosana
Alg	Alginato
OE/ OEs	Óleo essencial/ Óleos essenciais
OEM	Óleo essencial de melaleuca
FQA	Filme de quitosana e alginato
IGF-1	fator de crescimento semelhante à insulina
FOX-1	Forkhead O1
mTORC-1	Complexo rapamicina 1 em mamíferos
CAMP	Christie–Atkins–Munch–Petersen
TRLs	Receptores Toll-like
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MH	Agar Muller-Hintn

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Filmes	14
2.1.1. Biopolímeros	14
2.2. Quitosana	16
2.2.1. Química da quitosana	16
2.2.2. Propriedades biológicas	16
2.2.2.1. Biodegradação	16
2.2.2.2. Biocompatibilidad	17
2.2.2.3. Atividade antimicrobiana	17
2.2.2.4. Cicatrização	18
2.2.3. Filmes de quitosana	19
2.3. Óleo essencial de melaleuca.....	19
2.3.1. Óleos essenciais: uma visão geral.....	19
2.3.2. O óleo essencial de melaleuca	20
2.3.3. Aplicações do OEM	21
2.4. Acne.....	21
2.4.1. Epidemiologia	21
2.4.2. Fisiopatologia	21
2.4.3. Influência da microbiota da pele na patogênese da acne.....	22
2.4.3.1. Cutibacterium acnes	22
2.4.3.2. Interação entre Cutibacterium acnes e S. epidermidis.....	23
2.4.4. Óleos essenciais para o tratamento da acne vulgar	24
3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo Geral.....	25
3.2. Objetivos específicos	25
4. METODOLOGIA	26
4.1. Materiais	26
4.2. Preparo dos filmes.....	26
4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	26
4.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	26
4.5. Teste de intumescimento	27
4.6. Atividade antimicrobiana	27
4.6.1. Concentração mínima inibitória (CMI)	27

4.6.2.	Teste de difusão em ágar	27
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1.	Características macroscópicas dos filmes.....	28
5.2.	Capacidade de absorção de água	28
5.3.	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).	30
5.4.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	31
5.5.	Concentração mínima inibitória	33
5.6.	Teste de difusão em ágar	34
6.	CONCLUSÃO	34
7.	REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

Biopolímeros são constituídos de monômeros sintéticos ou naturais ligados covalentemente para formação de macromoléculas. Alguns como alginato (Alg), quitosana (Qs), goma xantana e gelatina são utilizados em diversas aplicações como engenharia de tecidos com implantes médicos, produtos farmacêuticos, como carreadores de medicamentos; na indústria agrícola e alimentícia, como também na área biomédica e cosmética (Baranwal *et al.*, 2022). Dentre essas áreas, destaca-se o mercado cosmético, que utiliza da quitosana, biopolímero proveniente da desacetilação da quitina para formular produtos de cuidados com a pele, cabelos e unhas (Alves *et al.*, 2020).

A quitosana é um polissacarídeo composto por unidades repetitivas de β -(1–4) N-acetil glucosamina e D-glucosamina, um polímero policatiônico, com grupos amina e hidroxila livres que possui propriedades biológicas atrativas como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, capacidade antimicrobiana, cicatrizante, antioxidante e anti-inflamatória (Aranaz *et al.*, 2021). Os óleos essenciais (OE) também têm sido utilizados de forma abrangente no tratamento de doenças. O óleo essencial de melaleuca (OEM), por exemplo, possui componentes capazes de gerar respostas anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes (Nogueira *et al.*, 2014; Sharmeen *et al.*, 2021).

A acne vulgar é uma das doenças mais diagnosticadas do mundo. Consiste em uma patologia na unidade pilossebácea causada por maior produção de sebo, hiper queratinização folicular, liberação de mediadores inflamatórios pela colonização de *Cutibacterium acnes* e outras bactérias, mecanismos endócrinos e genéticos (Reynolds *et al.*, 2024). Por isso, visando o sinergismo das características dos dois compostos citados acima, o presente trabalho busca formular filmes de quitosana e alginato (FQA) contendo óleo essencial de melaleuca visando futura aplicação no tratamento da acne vulgar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Filmes

2.1.1. Biopolímeros

Biopolímeros são constituídos de unidades repetitivas (monômeros) ligados covalentemente para formação de macromoléculas. Estes podem ser classificados como sintéticos ou naturais. Aqueles classificados como naturais são derivados de fontes renováveis ou biológicas, enquanto os classificados como polímeros sintéticos são fabricados quimicamente (Balaji *et al.*, 2018; Sampath *et al.*, 2016).

Os biopolímeros naturais são polímeros derivados de materiais como vegetais, microrganismos e animais, com moléculas estruturadas de forma linear ou ramificadas. Com a crescente preocupação com a redução dos impactos ambientais causados por plásticos e sua fabricação com recursos não renováveis, os biopolímeros chamam atenção para atender as demandas em diversas áreas como bioplásticos, produtos de aplicação médica, materiais comestíveis e outros, com objetivo de contribuir para o desenvolvimento sustentável de produtos (Balart *et al.*, 2021; George *et al.*, 2020). Biopolímeros naturais vem sendo utilizados em diversas aplicações em detrimento dos polímeros sintéticos por serem provenientes de recursos naturais e biodegradáveis. Estes podem ser classificados a depender de sua fonte e síntese (Darbasi *et al.*, 2017; Vieira *et al.*, 2011).

Estudos mostram que os biopolímeros têm sido utilizados na engenharia de tecidos; na fabricação de produtos farmacêuticos, seja como o próprio agente terapêutico ou como carreador de medicamentos; na indústria agrícola, alimentícia, biomédica e cosmética (Gupta *et al.*, 2022; Kaliva *et al.*, 2020; Lungu *et al.*, 2022; Tanwar; Gupta; Rani, 2024). Dentre essas áreas de aplicação, destaca-se o mercado cosmético, que tem crescido rapidamente, com uma previsão de alcance de U\$ 864,6 bilhões até 2032 de acordo com pesquisas de mercado.

Os principais biopolímeros usados em formulações cosméticas são polissacarídeos como amido, goma xantana, goma guar, carragenina, alginato, pectina, gelatina, ágar, colágeno e ácido hialurônico e quitosana (Alves *et al.*, 2020). A tabela 1 mostra algumas pesquisas que utilizaram alguns desses biopolímeros em preparações cosméticas.

Tabela 1: Biopolímeros e suas aplicações na indústria cosmética.

Biopolímero	Aplicações	Referência
Amido e alginato	Micropartículas de amido e alginato como agente abrasivo para remoção de células mortas em esfoliante.	(Kozłowska; Prus; Stachowiak, 2019)
Goma xantana	Lipossomas contendo vitamina C, revestidos com goma xantana para efeito clareador da pele.	(Lv; Wu; Qi, 2022)
Carragenina	Protetor solar que tem carragenina como estabilizante, espessante e emulsificante.	(Purwaningsih; Salamah; Adnin, 2015)
Alginato e gelatina	Filmes à base de alginato de sódio, gelatina e glicerol carregadas com extrato da flor de <i>Calendula officinalis</i> , com potencial aplicação em máscaras cosméticas.	(Prus-Walendziak; Kozłowska, 2021)
Pectina	Filme de pectina e amido para aplicação cosmética como máscara.	(Agostinho; Rocha-Filho, 2024)
Quitosana, colágeno e ácido hialurônico	Blenda polimérica de quitosana, colágeno e ácido hialurônico como condicionador para cabelo.	(Sionkowska <i>et al.</i> , 2017)

Dentre essa variedade, destaca-se a quitosana, biopolímero usado em cuidados com a pele, cabelos e unhas, além de ser um ótimo agente hidratante para pele e lábios (Alves *et al.*, 2020). Suas propriedades específicas como ação bacteriostática, fungistática, capacidade de formação de filme, retenção de umidade e liberação controlada de outros agentes biológicos fazem deste polissacarídeo um ótimo cosmeceútico (Morin-Crini *et al.*, 2019).

Outro biopolímero bastante utilizado na indústria alimentícia, têxtil e em aplicações biomédicas e cosméticas é o alginato. Este polissacarídeo extraído de algas e bactérias também possui propriedades favoráveis como biodegradação, biocompatibilidade e baixa toxicidade, úteis para o processo de regeneração tecidual. Além de ser usado para melhorar estabilidade de compostos, apresentar efeito hidratante e protetor para a pele (Łętocha; Miastkowska; Sikora, 2022).

O alginato é um polissacarídeo aniônico composto por ácido α -L-Gulurônico (unidade G) e ácido β -D-Manurônico (unidade M), que estão ligados por ligações β -1,4-glicosídicas. A quitosana catiônica e o alginato aniônico formam um complexo polieletrólito por interações eletrostáticas. As propriedades mecânicas instáveis dos polímeros isolados são melhoradas por essa interação e conferem ao complexo uma melhor resistência estrutural, aumento das taxas

de intumescimento e mantêm as suas características biológicas naturais (Ahmad Raus; Wan Nawawi; Nasaruddin, 2021).

2.2. Quitosana

2.2.1. Química da quitosana

A quitosana é um polissacarídeo proveniente da desacetilação química ou enzimática da quitina, pertencente à primeira categoria de classificação citada acima. Composta por unidades repetitivas de β -(1–4) N-acetil glucosamina e D-glucosamina, a quitosana é um polímero policatiônico, com grupos amina e hidroxila livres que a torna solúvel em soluções ácidas, capaz de reagir com proteínas, fosfolipídios, ácidos graxos e outros polissacarídeos aniônicos (Desai *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2023).

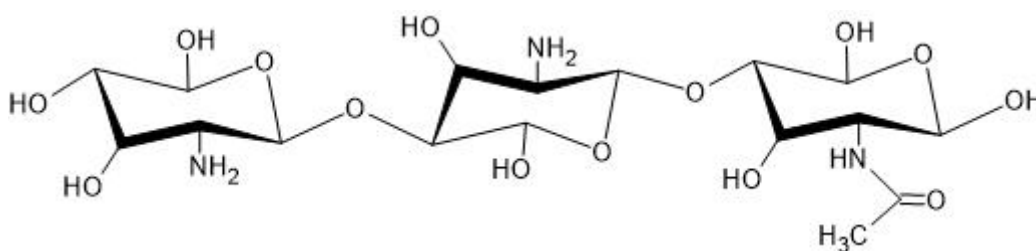


Figura 1: Estrutura química da quitosana.

Fonte: Adaptado de Jeferník et al. (2023).

2.2.2. Propriedades biológicas

Esse polímero tem sido amplamente utilizado em aplicações biomédicas e farmacêuticas por suas propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, capacidade antimicrobiana, cicatrizante e anti-inflamatória (Limocon *et al.*, 2021).

2.2.2.1. Biodegradação

Para que um sistema de liberação de fármacos seja aceito pelas agências reguladoras, é extremamente importante que o material proposto possua as características de ser biodegradável e biocompatível (Rodrigues *et al.*, 2012). Enzimas proteolíticas mostram ação sobre a quitosana, sendo a principal delas a lisozima, que através da hidrólise dos resíduos acetilados da quitosana participa do processo de degradação *in vivo* (Baldrick, 2010).

Estudos sobre os produtos da degradação da quitosana demonstraram que são formados oligômeros e monômeros a partir da metabolização da quitosana por lisozimas e N-acetilglicosaminidases; através de injeção intraperitoneal de quitosana marcada com

isotiocianato de fluoresceína em camundongos, o material marcado foi excretado na urina em produtos de baixo peso molecular (Muzzarelli *et al.*, 1999; Onishi; Machida, 1999).

Um estudo feito por Gull *et al.*, (2020) avaliou a biodegradação de hidrogéis reticulados à base de quitosana para obter um desempenho de biodegradabilidade específico para uso na liberação controlada de fármacos encapsulados. Os resultados mostraram que os hidrogéis reticulados tiveram uma melhor estabilidade, possibilitando uma degradação ajustada para a liberação eficaz do medicamento.

Na engenharia de tecidos, os materiais biodegradáveis são formulados de forma a serem posteriormente substituídos pelo tecido próprio do indivíduo. Para aplicabilidade na engenharia de tecido ósseo, foi fabricado um filme de quitosana com poliácido láctico, visando maior estabilidade mecânica. Utilizando a quitosana, as taxas de deterioração podem ser ajustadas para atender às exigências do tecido (Jurak *et al.*, 2021; Kaliva *et al.*, 2020).

2.2.2.2. Biocompatibilidade

A biocompatibilidade é um parâmetro crucial no desenvolvimento de materiais para aplicações na área da saúde. Refere-se à capacidade de um material funcionar de maneira apropriada, considerando a resposta do organismo a esse material que deve ser não tóxico e pode ser ou não inerte (Duncan; Izzo, 2005; Jurak *et al.*, 2021).

Para avaliar a compatibilidade biológica de biomateriais, deve-se fazer vários testes, *in vitro* e *in vivo*, especificados por normas internacionais como de citocompatibilidade, toxicidade, sensibilidade, irritação, e outros, de modo a garantir a segurança do material (Huzum *et al.*, 2021).

Um estudo de biocompatibilidade utilizando microgel de quitosana, avaliou sua capacidade de lisar hemácias e de citotoxicidade celular em fibroblastos L929. Como resultado, observou que os géis foram hemocompatíveis e não tóxicos às células em até uma concentração específica (Sahiner *et al.*, 2023).

Pesquisas recentes desenvolveram hidrogéis de quitosana carregados com fármacos para cicatrização de feridas, e avaliaram sua citotoxicidade contra fibroblastos humanos. Estes demonstraram ausência de toxicidade contra fibroblastos humanos (Lungu *et al.*, 2022; Morgado *et al.*, 2017).

2.2.2.3. Atividade antimicrobiana

Um dos maiores problemas de saúde pública é a resistência dos microrganismos a antibióticos, levando ao desenvolvimento de doenças e até a morte em alguns casos. Por isso,

a quitosana torna-se uma alternativa para superar esse impasse, pois estudos demonstram a capacidade antimicrobiana contra bactérias, fungos filamentosos e leveduras (Darby *et al.*, 2024; Perinelli *et al.*, 2018).

O mecanismo de ação da quitosana contra microrganismos não é completamente compreendido. Em bactérias, estudos sugerem que, com grupos amino carregados positivamente, a quitosana pode interagir com grupos aniônicos da superfície celular do microrganismo e aumentar a permeabilidade das membranas, levando à lise celular. Pode também formar uma barreira polimérica, impedindo a troca de nutrientes e oxigênio, que inibe o crescimento de bactérias aeróbicas (Hosseinnejad; Jafari, 2016; Wang; Zhuang, 2022).

Quanto a atividade antifúngica, estudos demonstraram que a quitosana interage com membranas de leveduras e fungos filamentosos, causando o extravasamento de vesículas lipídicas. Um estudo com *Aspergillus ochraceus* mostrou que a quitosana inibe significativamente a germinação de esporos e o crescimento de micélios, além de induzir a mudanças na morfologia das células fúngicas (Meng *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2008).

2.2.2.4. Cicatrização

A cicatrização de feridas é um problema mundial que tem proporcionado custos significativos para os sistemas de saúde. Visa restaurar a integridade e função do tecido lesado através de diversos mecanismos que envolvem células como fibroblastos, queratinócitos, células imunes, fatores de crescimento e citocinas (Dong; Guo, 2021; Tottoli *et al.*, 2020).

A restauração do tecido epitelial possui várias fases nas quais há ativação de vias bioquímicas de processo inflamatório e de hemostasia, participação do sistema complemento, ativação de células fagocíticas e secreção de fatores de crescimento para fibroblastos e células epiteliais. A formação de novos tecidos inicia-se de dois a dez dias, podendo a fase de remodelação do tecido já regenerado durar até um ano (Tottoli *et al.*, 2020).

Durante a hemostasia a cascata de coagulação é ativada para o controle da perda sanguínea. No estágio de inflamação, as células necróticas e microrganismos são removidos por células inflamatórias. A etapa de proliferação consiste na migração e multiplicação das células epiteliais além da formação do tecido de granulação, seguido da fase final de remodelação, finalizando o reparo tecidual (Feng *et al.*, 2021).

A quitosana é capaz de ajudar em principalmente três dessas etapas: na fase de hemostasia, aumentando a expressão da glicoproteína GPIIb-IIIa nas membranas das plaquetas,

e ao interagir com substâncias aniônicas na superfície plaquetária, promovendo sua agregação (Lord *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2019); atua como agente antimicrobiano contra infecções com mecanismos acima citados; e ainda promove a formação do tecido de granulação através da atuação sobre macrófagos, e indução de secreção de fatores de crescimento e citocinas, que induzem a proliferação celular (Escárcega-Galaz *et al.*, 2018).

2.2.3. Filmes de quitosana

A quitosana é um biopolímero derivado da quitina, e possui diversas características biológicas e estruturais importantes para a formação de filmes. Com grupos funcionais que permitem modificações químicas, é possível adaptar suas propriedades físico-químicas para funções adequadas à aplicação desejada (Mujtaba *et al.*, 2019).

Filmes sintetizados com quitosana mostram-se eficazes em muitas aplicações. Hidrogéis de quitosana e gelatina com lupeol foram utilizados para um estudo visando a utilização de filmes na cicatrização de feridas. Os resultados foram promissores, mostrando que o filme obteve características morfológicas favoráveis a um curativo, além de comprovar a capacidade antimicrobiana e antioxidante contra *Pseudomonas aeruginosa* e não toxicidade contra fibroblastos (Patel *et al.*, 2018). Meyer *et al.*, (2016), desenvolveu filmes de quitosana para serem aplicados na regeneração do nervo ciático em ratos. O filme levou a regeneração e recuperação funcional em lesões causadas em ratos saudáveis, e foi benéfico na utilização em ratos diabéticos.

2.3. Óleo essencial de melaleuca

2.3.1. Óleos essenciais: uma visão geral

Os óleos essenciais (OEs) derivados de plantas aromáticas, possuem diversas funções por suas atividades biológicas e fragrância. Diversos OEs são utilizados no tratamento de doenças por sua capacidade antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antiviral e inseticida já conhecidos. Estes são extraídos através técnicas de destilação a vapor, hidro destilação, sublimação, destilação seca assistida por micro-ondas, ultrassom, ou combinação de micro-ondas e ultrassom, escolhidas com base no vegetal específico (Jain *et al.*, 2022; Sadgrove *et al.*, 2022).

Frente à resistência de patógenos a fármacos, os óleos extraídos de plantas medicinais tornam-se alternativas por suas propriedades antimicrobianas. Dentre eles destaca-se o óleo

essencial de melaleuca, extraído de *Melaleuca alternifolia*, utilizado na medicina, em cosméticos, na agricultura e outros (Brun *et al.*, 2019).

2.3.2. O óleo essencial de melaleuca

A *Melaleuca alternifolia* é uma árvore australiana, geralmente chamada de árvore do chá, planta utilizada para extração do OEM, composto principalmente por terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, e seus álcoois correspondentes (Sadekuzzaman *et al.*, 2018). Obtido através de destilação a vapor da folhagem e galhos terminais da árvore, possui uma composição química complexa com mais de 100 componentes, que tem os terpenoides por compostos principais como o terpineno-4-ol, 1,8 cineol, alfa-terpineno e terpinoleno (Groot *et al.*, 2016).



Figura 2: Imagem das folhas da árvore de *Melaleuca alternifolia*.

Fonte: <https://www.australianoutbackplants.com/our-plant-list/melaleuca-alternifolia-medicinal-tea-tree-oil>. Acesso em 04/05/2024

Dentre esses, o terpineno-4-ol destaca-se como principal componente do OEM, responsável pelas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias. Como anti-inflamatório, o OEM atua contra a produção de espécies reativas de oxigênio além de inibir mediadores inflamatórios como IL-1 β , TNF- α e outras citocinas (Nogueira *et al.*, 2014). Estudos sugerem que seu mecanismo contra microrganismos acontece através da penetração do óleo por sua lipofilicidade na parede celular e membrana bacteriana e fúngica, alterando a morfologia da

membrana celular, que resulta na perda citoplasmática e danificação de organelas (Li *et al.*, 2016).

2.3.3. Aplicações do OEM

Estudos mostram a eficácia do OEM em diversas aplicabilidades. Um estudo conduzido com OEM contra cepas clínicas multirresistentes demonstrou uma potente atividade bactericida contra todas as bactérias testadas (Oliva *et al.*, 2018). Além disso, a capacidade antitumoral do óleo de melaleuca foi demonstrada em células de câncer de pulmão e em células de melanoma, reduzindo sua viabilidade, sem induzir efeitos tóxicos a fibroblastos humanos (Martile *et al.*, 2021).

Para o tratamento da acne, o OEM foi testado contra as principais bactérias envolvidas na patogênese da acne: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Cutibacterium acnes*, e foi considerado uma ótima opção para substituição de antibióticos na terapia da acne (Esmael *et al.*, 2020). Um estudo piloto para avaliar a capacidade do óleo de melaleuca na cicatrização de feridas mostrou que feridas de longa data começaram a cicatrizar e reduziram de tamanho após tratamento com OEM (Edmondson *et al.*, 2011).

2.4. Acne

2.4.1. Epidemiologia

A acne vulgar é uma doença inflamatória da pele que acomete pessoas em todo o mundo, considerada a oitava doença de pele mais comum, com prevalência global de 9,38% para as faixas etárias, com pico de prevalência em pessoas com idade entre 15 e 20 anos (Layton; Ravenscroft, 2023; Vos *et al.*, 2012). Está relacionada a fatores como histórico familiar, idade, tipo de pele, obesidade, estado hormonal e estresse que levam ao desequilíbrio da microbiota cutânea (Vasam; Korutla; Bohara, 2023). A acne pode ocorrer em diversas partes do corpo que contêm muitas glândulas sebáceas, sendo as principais a face e o tronco, podendo causar consequências clínicas e psicológicas que afetam a qualidade de vida do indivíduo (Tan *et al.*, 2021).

2.4.2. Fisiopatologia

Acne é uma doença da unidade pilossebácea (pelo e glândula sebácea) dos folículos capilares da pele. Sua patogênese está relacionada a hiperqueratinização folicular, obstrução do ducto sebáceo, maior produção de sebo guiada por hormônios andrógenos, maior

colonização de *Cutibacterium acnes* e outras bactérias e liberação de mediadores inflamatórios (Barros et al., 2020).

Dentre as principais lesões na acne estão comedões (abertos ou fechados) e lesões inflamatórias como pápulas, pústulas e nódulos (Zaengllein, 2018). A hiperseborreia juntamente com a proliferação de queratinócitos forma um tampão queratósico que obstrui os ductos sebáceos resultando na formação de microcomedões, tais condições favorecem o crescimento bacteriano que ocasiona inflamação (Cong et al., 2019).

Estudos relacionam a dieta ocidental como agravante da acne, pela alta ingestão de carboidratos hiperglicêmicos, leites, derivados insulíntricos e gorduras saturadas (Adebamowo et al., 2008; Dreno et al., 2020; Pontes et al., 2013). Pois esse tipo de alimentação aumenta os níveis de IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina), que possui papel primário na patogênese da acne pois inibe a regulação gênica mediada por FOX-1 (Forkhead O1) (Agamia et al., 2016).

O FOX-01 é um regulador negativo do mTORC-1 (complexo rapamicina 1 em mamíferos), sua depleção aumenta a atividade do receptor de andrógeno e do mTORC-1, que é uma serina/trionina quinase, responsável por estimular a proliferação e diferenciação de queratinócitos, além de estimular a síntese de lipídeos nas glândulas sebáceas (González-Mondragón et al., 2022; Maarouf; Platto; Shi, 2019).

2.4.3. Influência da microbiota da pele na patogênese da acne

O tecido cutâneo é sítio de uma diversidade de bactérias incluindo *Cutibacterium acnes* e *Staphylococcus epidermidis*, as duas principais bactérias comensais da pele, que podem se tornar um patógeno oportunista em caso de disbiose ou rompimento da barreira da pele (Christensen et al., 2016).

2.4.3.1. Cutibacterium acnes

Cutibacterium acnes é uma bactéria gram-positiva, anaeróbica aerotolerante e não formadora de esporos. Reside principalmente em locais ricos em lipídeos e com pouca disponibilidade de oxigênio, como as unidades pilosebáceas da face e das costas. Possui enzimas como a lipase triacilglicerol e lisofosfolipase, que degradam os lipídeos sebáceos e lhe fornecem energia (Platsidaki; Dessinioti, 2018; Rozas et al., 2021).

Apesar de ser considerada uma bactéria de baixa virulência, está associada a infecções na pele e em implantes. Sua colonização no folículo piloso está diretamente associada a patogênese da acne, que dentre seus seis filótipos (IA1, IA2, IB, IC, II, e III), AI1 está predominante envolvido com acne moderada a grave (Dréno *et al.*, 2018).

A *C. acnes* secreta fatores de virulência que levam a inflamação e lesão do tecido, como o fator Christie–Atkins–Munch–Petersen (CAMP), lipases, proteases e hialuronidases. O fator CAMP atua como uma toxina formadora de poros, capaz de degradar queratinócitos e macrófagos; as porfirinas produzidas por *C. acnes*, geram espécies reativas de oxigênio; hialuronidases degradam ácido hialurônico e outros componentes da matriz extracelular. Todos esses eventos culminam em exacerbada inflamação (Cong *et al.*, 2019; Dréno *et al.*, 2018; Rozas *et al.*, 2021).

Há uma interação complexa entre essa bactéria e a imunidade inata e adaptativa. Na imunidade inata há a interação entre *Cutibacterium acnes* e receptores Toll-like (TRLs) e receptores ativados por proteases (PARs). Essa interação produz sinais que levam a produção de moléculas pró-inflamatórias como IL-1 α/β , IL-6 e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). Cepas que promovem a acne também ativam respostas Th1 e Th17, que aumentam a expressão de citocinas como IL-12, INF- γ (interferon gama) e TNF- α (fator de necrose tumoral alfa), fazendo-a capaz de induzir a inflamação através de várias vias de sinalização (Mayslich; Grange; Dupin, 2021; Platsidaki; Dessinioti, 2018).

2.4.3.2. Interação entre Cutibacterium acnes e S. epidermidis

Cutibacterium acnes e *Staphylococcus epidermidis* atuam na pele mantendo sua homeostase através da manutenção e prevenção do desequilíbrio da microbiota normal. São capazes de inibir o crescimento de outros microrganismos patogênicos por inibição direta, através da competição por nutrientes e nicho ecológico, além de estimularem as células através de peptídeo antimicrobianos (AMPs), por exemplo, a produzirem toxinas contra esses microrganismos. Entretanto, podem tornar-se patógenos oportunistas em caso de desequilíbrio e aumento de uma das populações (Fournière *et al.*, 2020; Sanford; Gallo, 2013).

Pesquisas mostram que essas duas espécies podem se autorregular através de alguns mecanismos. De acordo com Nakamura *et al.*, (2020), ao fermentar glicerol, fonte de carbono, *C. acnes* produz ácidos graxos de cadeia curta agem contra a formação de biofilmes de *S.*

epidermidis. Além disso, foi relatado que *S. epidermidis* é capaz de inibir a inflamação induzida por *C. acnes* através da liberação de ácido succínico, que suprime os receptores TLRs em queratinócitos e reduz a liberação de citocinas inflamatórias (Claudel *et al.*, 2019). Por isso, ativos produzidos para a pele visam restaurar o equilíbrio entre essas espécies.

2.4.4. Óleos essenciais para o tratamento da acne vulgar

Antibióticos são comumente utilizados no tratamento da acne vulgar e de outras doenças, e seu uso tem causado danos a microbiota da pele além de possível resistência das bactérias aos antibióticos. Para superar esse impasse, antimicrobianos naturais têm sido estudados para combate da acne vulgar. O óleo essencial de tomilho foi utilizado em pesquisa contra *C. acnes* e *S. epidermidis*, e se mostrou eficiente pois reduziu a formação de biofilme dessas bactérias, como também teve efeito cicatrizante ao reduzir as lesões de comedões (Abdelhamed *et al.*, 2022).

O óleo essencial de orégano mostrou atividade antimicrobiana e cicatrizante melhor contra bactérias causadoras de acne quando comparado aos antibióticos referência eritromicina e clindamicina (Taleb *et al.*, 2018). Um estudo com vinte pacientes com acne leve a moderada, utilizando óleo essencial de *Trachyspermum ammi*, uma erva indiana, obteve redução de lesões inflamatórias, de manchas, eritema, sebo, e nenhum efeito adverso grave (Talebi *et al.*, 2020).

Óleo essencial de palmarosa foi sugerido como tratamento tópico para acne, obteve efeito antimicrobiano contra *C. acnes* além de reduzir níveis de citocinas de TNF- α , IL-12 e IL-8 (Mahant; Sahajpal; Nanda, 2021). Óleo de alecrim foi usado em um grupo de indivíduos com acne vulgar por quatro semanas e estes obtiveram redução das lesões de acne e melhora geral da pele (Hussein *et al.*, 2023).

O óleo essencial de melaleuca também foi considerado uma ótima opção de tratamento para acne em diversos estudos (Borotová *et al.*, 2022; Esmael *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2013). Por isso, o presente estudo busca avaliar os efeitos sinérgicos do OEM e quitosana contra bactérias causadoras da acne, com objetivo de futura aplicação no tratamento tópico para acne.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar físico-quimicamente filmes à base de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca, e avaliar a capacidade antimicrobiana visando futura aplicação no tratamento de *acne vulgaris*.

3.2. Objetivos específicos

- Desenvolver filmes utilizando quitosana, alginato e óleo essencial de melaleuca.
- Caracterizar as interações químicas dos filmes por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).
- Caracterizar as propriedades morfológicas, por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- Caracterizar a propriedade física de absorção de água através de ensaios de intumescimento.
- Avaliar a capacidade antimicrobiana dos filmes desenvolvidos contra *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais

Quitosana de baixo peso molecular e alginato de sódio foram obtidos da Sigma-Aldrich Aldrich (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA). Óleo essencial de melaleuca em frascos de 5ml, 100% natural e puro obtidos da Phytoterápica, meio líquido e sólido Muller Hilton e outros solventes e produtos químicos de grau analítico. Cepas bacterianas de *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus pyogenes* foram fornecidas pelo Laboratório de Lipídeos do departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco.

4.2. Preparo dos filmes

Filmes à base de quitosana foram produzidos de acordo com o método descrito por Severo; Fook; Leite, (2022) com adaptações. A solução de quitosana (1% w/v) foi obtida através da dissolução do polímero em ácido acético a 1%. A solução de alginato (1% w/v) foi feita pela dissolução do pó do polímero alginato em água destilada. As duas soluções foram preparadas sob agitação magnética por aproximadamente 12 horas. A solução de quitosana foi filtrada em papel filtro. Para formação do filme, utilizou-se uma proporção de 0,8:1,2 (quitosana:alginato). Na solução de quitosana foi adicionado o óleo essencial de melaleuca para concentração final de 1% ou 3%. Em seguida, Tween 80 foi adicionado como emulsificante na proporção de 1,5%, e então foi adicionada a solução de alginato que foi homogeneizado em agitação magnética por cerca de três horas. As soluções foram vertidas em placas de Petri e colocadas em estufa a 37°C por 24 horas para formação dos filmes.

4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

Os filmes foram levados à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Foi utilizado o microscópio MIRA 3 (Tescan) operado a 5kV, no Departamento de Engenharia de Materiais (UFPE). O material foi cortado em fragmentos de 1 mm de espessura e 5 mm de altura e largura e coberto com uma fina camada de ouro-paládio, conforme metodologia descrita por (Crusca et al., 2014).

4.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada utilizando o espectômetro Agilent Cary 630 FTIR, na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} , com uma resolução de 4 e 8 cm^{-1} .

4.5. Teste de intumescimento

O intumescimento dos filmes foi realizado em triplicata, depositando-os em Erlenmeyer com 4mL de tampão fosfato de sódio (pH 6, 7 e 8), todos à temperatura de 37°C. Foram avaliados os pesos após de 30 minutos, uma hora, uma hora e meia, duas horas e a cada 24 horas seguintes até um máximo de 48 horas. Para calcular o percentual de absorção da água foi usada a equação:

$$W_{sw} = \frac{w_1 - w_0}{w_0} \times 100$$

Onde Wsw é a porcentagem de absorção da água, W1 é o peso do arcabouço após o intumescimento e W0 é o peso do arcabouço seco (Huglin; Liu; Velada, 1997).

4.6. Atividade antimicrobiana

4.6.1. Concentração mínima inibitória (CMI)

Para avaliar a ação antimicrobiana do OEM foi determinada a concentração mínima inibitória. Foram utilizadas cepas bacterianas de *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*, que foram mantidas em Agar Muller-Hinton (MH) a 4 °C. Os inóculos foram obtidos a partir de culturas overnight em MH a 37°C e diluídas em salina estéril para obter concentração final de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL), ajustado a 0,5 da escala McFarland. Meio MH foi adicionado em cada poço junto com o microrganismo previamente preparado e diferentes concentrações de OEM (5- 0,312 mg/ml). Os poços contendo microrganismo em ausência do óleo corresponderam ao controle do crescimento. As placas foram incubadas a 37°C durante 24h. Após a incubação, a leitura foi realizada com o auxílio de um leitor de ELISA, medindo a absorbância em 570 nm para determinar o crescimento bacteriano e a inibição do crescimento nos poços contendo o óleo essencial.

4.6.2. Teste de difusão em ágar

A atividade antimicrobiana dos filmes de quitosana e alginato, contendo óleo essencial de melaleuca a 1% e 3%, bem como do filme controle sem óleo, foi avaliada utilizando o método de difusão em ágar, conforme descrito por Balouiri et al. (2016). As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram utilizadas como modelos microbianos. As placas de ágar nutriente foram inoculadas espalhando uma suspensão bacteriana ativa, ajustada para uma densidade de 1×10^8 UFC/mL. Discos de filme com

aproximadamente 6 mm de diâmetro foram cortados e esterilizados sob luz UV por uma hora antes de serem posicionados na placa. Em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características macroscópicas dos filmes

Na caracterização macroscópica dos filmes foi observado que a presença do OEM altera a aparência do filme de tal modo que o aumento da concentração do óleo torna o filme mais opaco. A figura 3 apresenta os filmes e hidrogéis produzidos.

Observou-se que o hidrogel contendo apenas quitosana e alginato apresentou coloração translúcida. No entanto, quando adicionado o óleo nas concentrações de 1 e 3%, estes hidrogéis apresentaram aparência esbranquiçada. Os filmes seguiram o mesmo padrão, onde aqueles compostos apenas dos biopolímeros mostraram uma coloração amarelada e mais translúcida, enquanto os filmes contendo o óleo tiveram aspecto mais branco e opaco. Também foi possível observar precipitados nos filmes com OEM a 3%.

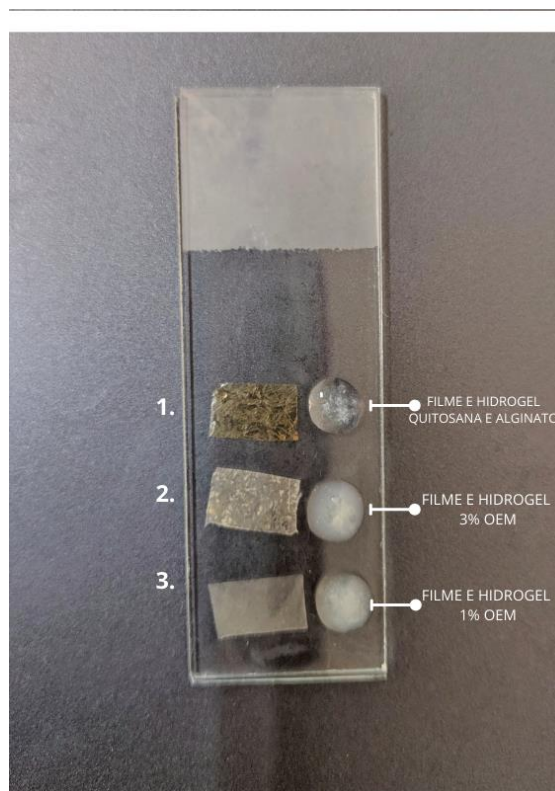


Figura 3: Aparência macroscópica dos filmes e hidrogéis produzidos. Filme e hidrogel de Qs e Alg (1). Filme e hidrogel com 3% de OEM (2). Filme e hidrogel com 1% de OEM (3).

5.2. Capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água é necessária para um filme de aplicação cutânea pois auxilia na propriedade de bioadesão desse material, captação de exsudato e para manter o ambiente úmido para a regeneração tecidual pós-lesão (Nozari *et al.*, 2021). Por isso, a capacidade de retenção de água dos filmes foi avaliada durante 48 horas e os dados estão apresentados nas figuras 4 a 6.

A cinética de intumescimento mostrou que os filmes nas soluções de pH 6 e 7 obtiveram as melhores taxas de intumescimento. O valor máximo de absorção de água dos filmes com 1% de OEM atingido em 24 horas foi de 383%, e nos filmes a 3%, o valor máximo de inchamento foi de 269%. Valores descritos como ideais para absorção de exsudato e mantimento da umidade no local de lesão (Hubner *et al.*, 2020). As membranas em pH ácido obtiveram menor taxa de retenção de líquido hubem relação as amostras em pH neutro, e isso é favorável a aplicação proposta pois a pele possui pH ácido, e estudos demonstram que quanto menor a porcentagem de absorção de água, é mais facilmente liberado o óleo essencial. Além de que uma absorção excessiva de água leva ao comprometimento da resistência do filme (Cruz Sánchez *et al.*, 2023).

O aumento da quantidade de OEM nos filmes de alginato e quitosana reduziram os índices de inchaço, resultado consistente com (Liu et al., 2020) que tiveram diminuição da absorção de água ao adicionarem uma nanoemulsão de óleo essencial de erva doce e hortelã pimenta em sua matriz polimérica de quitosana. No entanto, embora sirvam como barreira para interação da água com os polímeros, as gotículas de óleo participam do controle de absorção, o que contribui para evitar excessos de umidade no local da lesão. Fato que auxilia no processo de regeneração celular e prevenção de infecção por microrganismos (Oliveira e Silva Guerrero et al. 2024.)

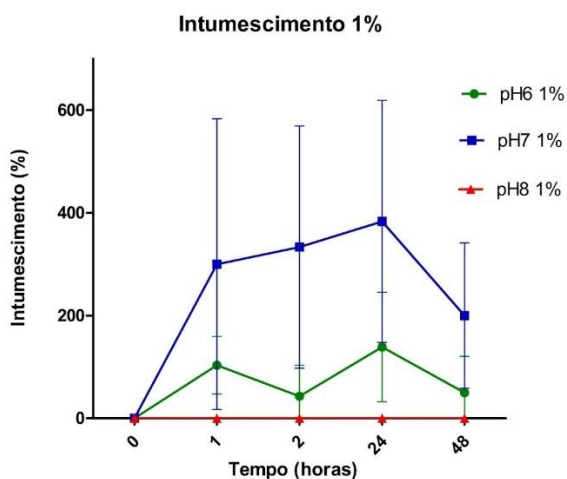


Figura 4: Intumescimento dos FQA com 1% de OEM.

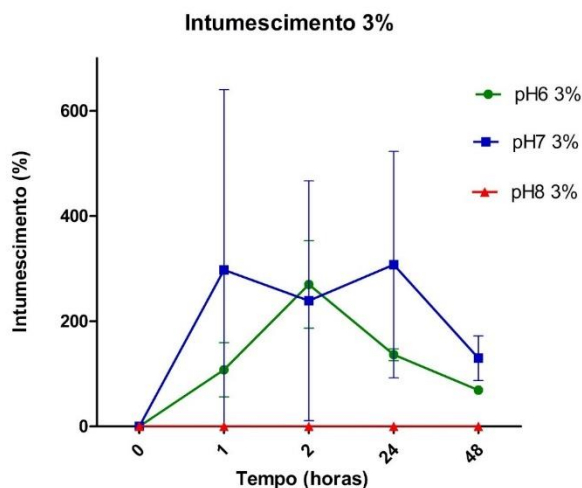


Figura 5: Intumescimento dos FQA com 3% de OEM.

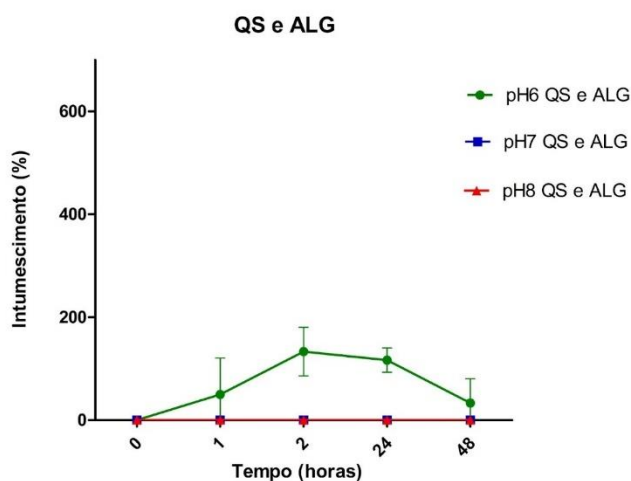


Figura 6: Intumescimento dos FQA.

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

Para identificar os grupamentos químicos característicos dos dois polímeros e do OEM usados nos filmes utilizou-se o FTIR. Na figura 7, referente ao filme de quitosana e alginato, ao filme de quitosana, alginato e OEM, e apenas OEM foi possível observar a presença de bandas em 3360 cm^{-1} , que representam a ligação O-H, presente tanto na estrutura da quitosana quanto nos derivados terpênicos do óleo essencial de melaleuca (Sathiyaseelan et al., 2021). A banda em 1653 cm^{-1} relacionada às vibrações da amida I (N-H) diminuiu com a incorporação do OEM, um resultado também obtido na pesquisa de Pereira dos Santos et al., (2019). Quanto

ao alginato, os sinais em 1074 e 1036 cm^{-1} representam os grupos manurônico e gulurônico da cadeia do polissacarídeo, respectivamente (Kim; Baek; Song, 2018). Os espectros coletados revelaram vários de picos devido a multimoléculas que geralmente caracterizam os óleos. Quanto aos picos característicos do OEM puro e no filme (figura 7), houve aparecimento em 1721 cm^{-1} da banda referente dos grupos carbonila $\text{C}=\text{O}$, em 1590 cm^{-1} o pico devido ao grupo funcional alceno, além das bandas 1420 e 1338 cm^{-1} correspondentes ao $(\text{C}-\text{H})$ 4-ol terpineno e outros derivados terpênicos presentes no OTT. Em 1274 cm^{-1} , vibrações correspondentes às ligações $\text{C}-\text{O}$ do composto 1,8 cineol existente no MEO foram observadas nos espectros. A vibração de estiramento do alquil $\text{C}-\text{H}$ foi encontrada entre 2960 e 2880 cm^{-1} (Gallart-Mateu et al., 2018; Pereira dos Santos et al., 2019; Sánchez-Navarro et al., 2011; Sathiyaseelan et al., 2021).

Os espectros dos filmes de quitosana e alginato com OEM mostraram os picos característicos dos filmes de Qs e Alg e OEM com ligeiros deslocamentos (Figura 7). Estas mudanças provavelmente se deram devido à formação de novas ligações de hidrogênio entre os grupos $-\text{OH}$ do OEM (principalmente de terpinen-4-ol) e o $-\text{NH}_3^+$ e $-\text{OH}$ da quitosana, o que demonstra interação entre os componentes (Cazón et al., 2021).

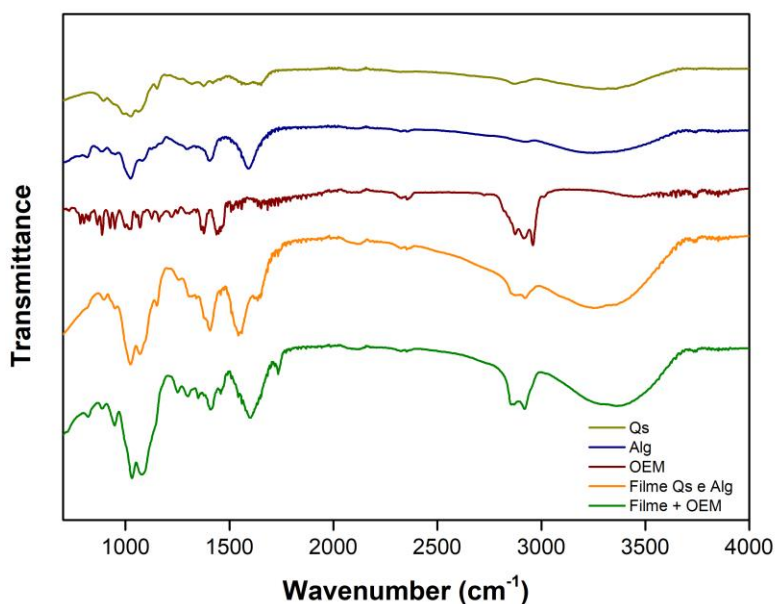


Figura 7: Espectros de FTIR referente a quitosana, alginato, óleo essencial de melaleuca (OEM), filme de quitosana e alginato (Filme Qs e Alg) e filme de quitosana e alginato com OEM.

5.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na figura 8, as micrografias revelam a microestrutura dos filmes obtidos. Foi observado que a superfície dos filmes apresenta estrutura rugosa e irregular, com presença de espaçados poros. Conforme estudos feitos por Hosseini; Razavi; Mousavi, (2009) e López-Mata et al., (2013), áreas heterogêneas podem ser atribuídas a gotículas de óleo aprisionados à matriz polimérica, que interrompem a continuidade da estrutura, ou ainda pode-se associar ao uso de Tween-80, pois a quitosana catiônica é capaz de ligar-se à superfície de gotículas de Tween-80 que são carregadas negativamente, formando agregados.

É visto que o aumento da concentração de óleo influencia na estrutura dos filmes, tornando-os mais irregulares à medida que a concentração do OEM aumenta. Perdones et al., (2014) observou uma microestrutura grosseira em filme de quitosana a medida que maior teor de óleo essencial de canela foi utilizado. Priyadarshi et al., (2018) obteve resultados parecidos, pois a uniformidade topográfica dos filmes foi comprometida à medida que a concentração de óleo essencial de caroço de damasco aumentou.

O filme contendo 3% de OEM apresentou diversas rachaduras e pequenas vesículas em sua estrutura. Esse comportamento pode ser atribuído a coalescência das gotículas de óleo, ou seja, gotas de óleo dispersas na matriz polimérica se fundiram, formando gotas maiores que posteriormente formam vesículas ou buracos. Ou ainda por uma instabilidade na emulsão do óleo aos polímeros, que durante a secagem pode ter levado a uma separação das gotículas de óleo resultando na formação de rachaduras (Kavita Sharma *et al.*, 2023). Resultados semelhantes foram observados no estudo feito por Pereira dos Santos et al., (2019) utilizando quitosana e óleo essencial de cravo e melaleuca.

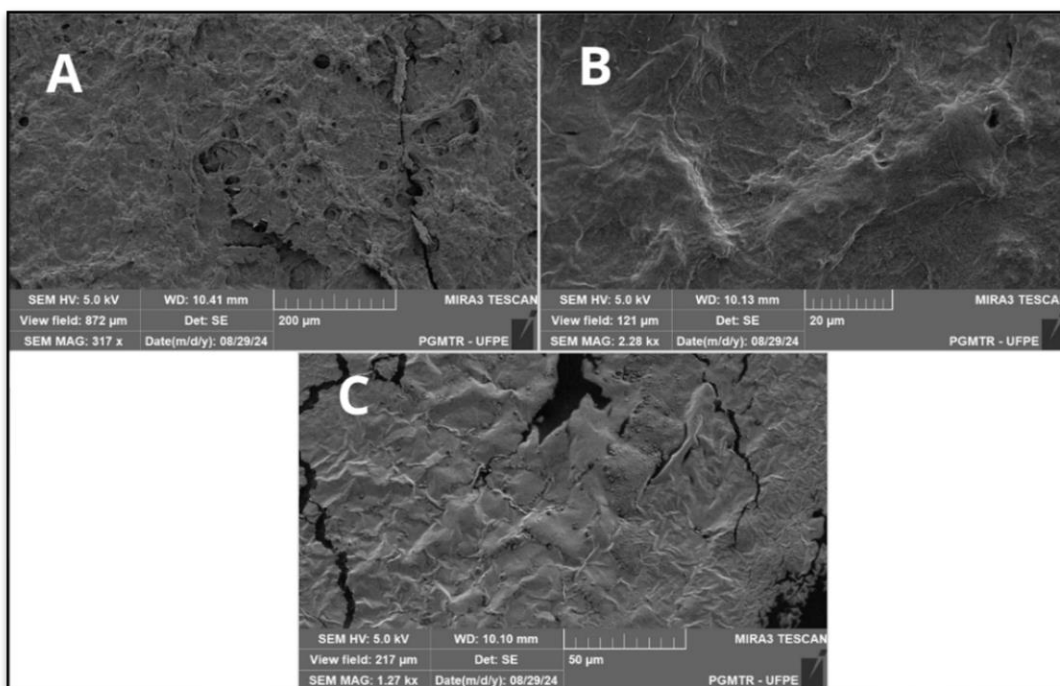


Figura 8. Eletromicrografias de Varredura (MEV) de (A) filme de quitosana e alginato, (B) filme de quitosana e alginato com 1% de OEMe (C) filme de quitosana e alginato com 3% de OEM.

5.5. Concentração mínima inibitória

O óleo essencial de melaleuca apresentou diferentes porcentagens de inibição de crescimento bacteriano conforme a concentração utilizada para os diferentes microrganismos. A tabela 2 mostra que a inibição de *S. epidermidis* foi de 73,4%, na concentração de 5000 μg/ml, seguido de 55,01%, 28,89%, 5,03 e 8,74, nas concentrações de 2500 μg/ml, 1250 μg/ml, 625 μg/ml e 312,5 μg/ml, respectivamente. A inibição de *P. aeruginosa* foi de 53,18% na maior concentração, seguida de 33,6% e 32,27% nas concentrações de 1250 μg/ml, 625 μg/ml. A concentração de 312, μg/ml não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano.

Resultados similares foram obtidos em estudo feito com OEM contra *S. epidermidis*, que demonstrou efeito bactericida com CMI de 78mg/L ou 780μg/ml (Esmael *et al.*, 2020),. Ainda, Corona-Gómez et al., (2022) obteve CMI para as bactérias gram-positivas *S. aureus* e *S. epidermidis* de 3,13 a 25 mg/ml. Quanto a *P. aeruginosa*, em pesquisa feita por Burt, (2004) utilizando OEM disponíveis comercialmente mostrou resultados semelhantes, com inibição de 67% das bactérias na concentração de 4500 μg/ml. Em estudo de citotoxicidade do OEM em células epiteliais humanas, concentrações entre 100 e 1000 ug/mL foram capazes de manter a viabilidade celular >65%. São necessários estudos de citotoxicidade com maiores concentrações deste óleo para avaliar possíveis danos a pele (Abdellatif *et al.*, 2021).

Tabela 2. Efeito antimicrobiano do OEM frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas

Concentração (µg/ml)	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
	% de inibição	
5000 µg/ml	73,4	53,18
2500 µg/ml	55,01	36,35
1250 µg/ml	28,89	33,6
625 µg/ml	5,03	32,27
312,5 µg/ml	8,74	NA

NA- Não apresentou atividade

5.6. Teste de difusão em ágar

Os filmes obtidos não apresentaram atividade no teste de difusão em ágar contra *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* apesar dos resultados positivos da CMI. Pesquisas mostraram que uma matriz pode limitar a difusão do óleo essencial em ágar, o que interfere em sua ação inibitória pois a atividade antibacteriana é dependente de concentração (Burt, 2004). Em filme produzido com hidrogel de goma gelana e OEM ,Mahmood et al., (2021) também obteve uma redução da zona de inibição contra *E. coli* limitada pela difusão ou solubilidade do óleo em ágar.

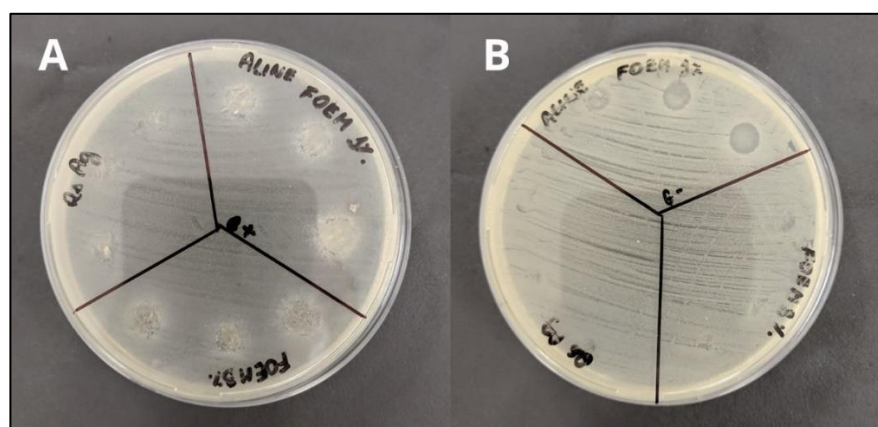


Figura 9. Atividade antibacteriana dos filmes. Em A teste de difusão contra *Staphylococcus epidermidis* com filmes de quitosana e alginato contendo OEM a 1% e 3% e filme sem óleo. Em B teste de difusão contra *Pseudomonas aeruginosa* com filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca a 1% e 3% e filme sem óleo.

6. CONCLUSÃO

Os filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca apresentaram em análise macroscópica estrutura opaca e esbranquiçada, e em análise microscópica, estrutura rugosa e irregular. A capacidade de absorção de água dos filmes produzidos se mostrou eficiente, com valores ideais para absorção de exsudato, e

mantimento de umidade adequada no local de lesões. A caracterização por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier apresentou os picos característicos de cada componente com sutis deslocamentos, demonstrando boa interação entre eles. A atividade antimicrobiana do óleo avaliada através da concentração mínima inibitória mostrou inibição de 73,4% e 54,18% para bactéria *Staphylococcus epidermidis* (gram positiva) e *Pseudomonas aeruginosa* (gram negativa), respectivamente. Apesar dos resultados satisfatórios da concentração mínima inibitória do óleo essencial de melaleuca, os filmes testados contra as mesmas bactérias através do ensaio de difusão em ágar não mostraram atividade por provável dificuldade de difusão do óleo no meio. Os resultados obtidos demonstram a necessidade de mais estudos para confirmação da atividade antimicrobiana do óleo associado aos filmes.

7. REFERÊNCIAS

- ABDELHAMED, Farah M. *et al.* Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of Thymus vulgaris Essential Oil Nanoemulsion on Acne Vulgaris. **Microorganisms**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 1874, 2022.
- ABDELLATIF, Menna M. *et al.* Formulation and characterization of propolis and tea tree oil nanoemulsion loaded with clindamycin hydrochloride for wound healing: In-vitro and in-vivo wound healing assessment. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [s. l.], v. 29, n. 11, p. 1238–1249, 2021.
- ADEBAMOWO, Clement A. *et al.* Milk consumption and acne in teenaged boys. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s. l.], v. 58, n. 5, p. 787–793, 2008.
- AGAMIA, N.F. *et al.* Skin expression of mammalian target of rapamycin and forkhead box transcription factor O1, and serum insulin-like growth factor-1 in patients with acne vulgaris and their relationship with diet. **British Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 174, n. 6, p. 1299–1307, 2016.
- AGOSTINHO, Luciana; ROCHA-FILHO, Pedro. Preparation and Characterization of a Topical Delivery System for Nanoemulsions Using a Composite Film of Pectin and Tapioca. **Cosmetics**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 63, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-9284/11/2/63>.

AHMAD RAUS, Raha; WAN NAWAWI, Wan Mohd Fazli; NASARUDDIN, Ricca Rahman. Alginate and alginate composites for biomedical applications. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 280–306, 2021.

ALVES, Thais F. R. *et al.* Applications of Natural, Semi-Synthetic, and Synthetic Polymers in Cosmetic Formulations. **Cosmetics**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 75, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-9284/7/4/75>.

ARANAZ, Inmaculada *et al.* Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. **Polymers**, [s. l.], v. 13, n. 19, p. 3256, 2021.

BALAJI, Anand B. *et al.* Natural and synthetic biocompatible and biodegradable polymers. In: **BIODEGRADABLE AND BIOCOMPATIBLE POLYMER COMPOSITES**. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 3–32. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081009703000018>.

BALART, Rafael *et al.* Biopolymers from Natural Resources. **Polymers**, [s. l.], v. 13, n. 15, p. 2532, 2021.

BALDRICK, Paul. The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 290–299, 2010.

BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 71–79, 2016.

BARANWAL, Jaya *et al.* Biopolymer: A Sustainable Material for Food and Medical Applications. **Polymers**, [s. l.], v. 14, n. 5, p. 983, 2022.

BEATRIZ DE BARROS, Amanda *et al.* Acne vulgar: aspectos gerais e atualizações no protocolo de tratamento. **BWS Journal. 2020 Outubro**, São Paulo, v. 3, p. 1–13, Disponível em: <https://bwsjournal.emnuvens.com.br/bwsj/article/view/125>. Acesso at: 23 Apr. 2024.

BOROTOVÁ, Petra *et al.* Chemical and Biological Characterization of *Melaleuca alternifolia* Essential Oil. **Plants**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 558, 2022.

BRUN, Paola *et al.* In Vitro Antimicrobial Activities of Commercially Available Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) Essential Oils. **Current Microbiology**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 108–116, 2019.

BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

CHRISTENSEN, Gitte J M *et al.* Antagonism between *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes* and its genomic basis. **BMC genomics**, [s. l.], v. 17, p. 152, 2016.

CLAUDEL, Jean-Paul *et al.* **Staphylococcus epidermidis**: A Potential New Player in the Physiopathology of Acne?. **Dermatology**, [s. l.], v. 235, n. 4, p. 287–294, 2019.

CONG, Tian-Xin *et al.* From pathogenesis of acne vulgaris to anti-acne agents. **Archives of Dermatological Research**, [s. l.], v. 311, n. 5, p. 337–349, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00403-019-01908-x>.

CORONA-GÓMEZ, Lysett *et al.* In vitro antimicrobial effect of essential tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*), thymol, and carvacrol on microorganisms isolated from cases of bovine clinical mastitis. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 72–79, 2022.

CRUZ SÁNCHEZ, Encarnación *et al.* Alginate–Chitosan Membranes for the Encapsulation of Lavender Essential Oil and Development of Biomedical Applications Related to Wound Healing. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 9, p. 3689, 2023.

DARBASI, Masoud *et al.* Development of chitosan based extended-release antioxidant films by control of fabrication variables. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 104, p. 303–310, 2017.

DARBY, Elizabeth M. *et al.* Author Correction: Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 255–255, 2024.

DE GROOT, Anton C.; SCHMIDT, Erich. Tea tree oil: contact allergy and chemical composition. **Contact Dermatitis**, [s. l.], v. 75, n. 3, p. 129–143, 2016.

DE OLIVEIRA E SILVA GUERRERO, Adriana *et al.* Chitosan-based films filled with nanoencapsulated essential oil: Physical-chemical characterization and enhanced wound healing activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 261, p. 129049, 2024.

DESAI, Nimeet *et al.* Chitosan: A Potential Biopolymer in Drug Delivery and Biomedical Applications. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 1313, 2023.

DI MARTILE, Marta *et al.* Antitumor effect of Melaleuca alternifolia essential oil and its main component terpinen-4-ol in combination with target therapy in melanoma models. **Cell Death Discovery**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 127, 2021.

DONG, Ruonan; GUO, Baolin. Smart wound dressings for wound healing. **Nano Today**, [s. l.], v. 41, p. 101290, 2021.

DRÉNO, B. *et al.* *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, [s. l.], v. 32, n. S2, p. 5–14, 2018.

DRENO, B *et al.* The role of exposome in acne: results from an international patient survey. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 1057–1064, 2020.

DUNCAN, R; IZZO, L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 57, n. 15, p. 2215–2237, 2005.

EDMONDSON, Margaret *et al.* Uncontrolled, open-label, pilot study of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil solution in the decolonisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* positive wounds and its influence on wound healing. **International Wound Journal**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 375–384, 2011.

ESCÁRCEGA-GALAZ, Ana Aglahe *et al.* Chitosan treatment for skin ulcers associated with diabetes. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 130–135, 2018.

ESMAEL, Ahmed *et al.* Antimicrobial activity of certain natural-based plant oils against the antibiotic-resistant acne bacteria. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 448–455, 2020.

FENG, Peipei *et al.* Chitosan-Based Functional Materials for Skin Wound Repair: Mechanisms and Applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [s. l.], v. 9, 2021.

FOURNIÈRE, Mathilde *et al.* *Staphylococcus epidermidis* and *Cutibacterium acnes*: Two Major Sentinels of Skin Microbiota and the Influence of Cosmetics. **Microorganisms**, [s. l.], v. 8, n. 11, p. 1752, 2020.

GEORGE, Ashish *et al.* A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 154, p. 329–338, 2020.

GONZÁLEZ-MONDRAGÓN, Edgar A. *et al.* Acne and diet: a review of pathogenic mechanisms. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México**, [s. l.], v. 79, n. 2, 2022.

GULL, Nafisa *et al.* Designing of biocompatible and biodegradable chitosan based crosslinked hydrogel for in vitro release of encapsulated povidone-iodine: A clinical translation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 164, p. 4370–4380, 2020.

GUPTA, Shreya *et al.* Biopolymers from waste biomass and its applications in the cosmetic industry: A review. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], v. 68, p. 873–879, 2022. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785322044406>.

HOSSEINI, M.H.; RAZAVI, S.H.; MOUSAVI, M.A. ANTIMICROBIAL, PHYSICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF CHITOSAN-BASED FILMS INCORPORATED WITH THYME, CLOVE AND CINNAMON ESSENTIAL OILS. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 33, n. 6, p. 727–743, 2009.

HOSSEINNEJAD, Mahmoud; JAFARI, Seid Mahdi. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 85, p. 467–475, 2016.

HUBNER, Patricia *et al.* Gelatin-based films containing clinoptilolite-Ag for application as wound dressing. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 107, p. 110215, 2020.

HUGLIN, Malcolm B.; LIU, Yan; VELADA, JoséL. Thermoreversible swelling behaviour of hydrogels based on N-isopropylacrylamide with acidic comonomers. **Polymer**, [s. l.], v. 38, n. 23, p. 5785–5791, 1997.

HUSSEIN, Bassel *et al.* Formulation and evaluation of a topical gel containing Rosemary oil for the treatment of acne vulgaris. **International Journal of Herbal Medicine**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 23–30, 2023.

HUZUM, Bogdan *et al.* Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, [s. l.], v. 22, n. 5, p. 1315, 2021.

J. S. CRUSCA *et al.* AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE ESPONJA DE COLÁGENO E QUITOSANA. **Canal 6**, [s. l.], p. 1693–1696, 2014.

JAFERNIK, Karolina *et al.* Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems—A review. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 1963, 2023.

JAIN, Preeti L. B.; PATEL, Sanjaykumar R.; DESAI, Meghal A. Patchouli oil: an overview on extraction method, composition and biological activities. **Journal of Essential Oil Research**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 1–11, 2022.

JURAK, Małgorzata *et al.* What affects the biocompatibility of polymers?. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 294, p. 102451, 2021.

KALIVA, Maria *et al.* Biodegradable Chitosan-graft-Poly(l-lactide) Copolymers For Bone Tissue Engineering. **Polymers**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 316, 2020.

KAVITA SHARMA *et al.* Eucalyptus citriodora and Melaleuca bracteata Essential Oils Encapsulated Chitosan Hydrogels Embedded in Corn Starch Films for Improving the Shelf Life of Plums. **Trends In Carbohydrate Research**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 1–11, 2023.

KOZLOWSKA, Justyna; PRUS, Weronika; STACHOWIAK, Natalia. Microparticles based on natural and synthetic polymers for cosmetic applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 129, p. 952–956, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813019305914>.

LAYTON, Alison M; RAVENSCROFT, Jane. Adolescent acne vulgaris: current and emerging treatments. **The Lancet Child & Adolescent Health**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 136–144, 2023.

LEE, Chia-Jung *et al.* Correlations of the components of tea tree oil with its antibacterial effects and skin irritation. **Journal of Food and Drug Analysis**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 169–176, 2013.

ŁĘTOCHA, Anna; MIASTKOWSKA, Małgorzata; SIKORA, Elżbieta. Preparation and Characteristics of Alginate Microparticles for Food, Pharmaceutical and Cosmetic Applications. **Polymers**, [s. l.], v. 14, n. 18, p. 3834, 2022.

LI, Wen-Ru *et al.* The dynamics and mechanism of the antimicrobial activity of tea tree oil against bacteria and fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 100, n. 20, p. 8865–8875, 2016.

LIMOCON, Janela Rose Agpangan *et al.* Small but Terrible: Utilizing Chitosan-Based Nanoparticles as Drug Carriers to Treat Tuberculosis in the Philippines. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 12, 2021.

LIU, Ting *et al.* Development and Characterization of Novel Active Chitosan Films Containing Fennel and Peppermint Essential Oils. **Coatings**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 936, 2020.

LÓPEZ-MATA, Marco *et al.* Physicochemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol. **Molecules**, [s. l.], v. 18, n. 11, p. 13735–13753, 2013.

LORD, Megan S. *et al.* The modulation of platelet adhesion and activation by chitosan through plasma and extracellular matrix proteins. **Biomaterials**, [s. l.], v. 32, n. 28, p. 6655–6662, 2011.

LUNGU, Ramona *et al.* Biocompatible Chitosan-Based Hydrogels for Bioabsorbable Wound Dressings. **Gels**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 107, 2022.

LV, Xuepeng; WU, Zhenghong; QI, Xiaole. High skin permeation, deposition and whitening activity achieved by xanthan gum string vitamin c flexible liposomes for external application. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 628, p. 122290, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517322008456>.

MAAROUF, Melody; PLATTO, Jody F; SHI, Vivian Y. The role of nutrition in inflammatory pilosebaceous disorders: Implication of the skin-gut axis. **Australasian Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 60, n. 2, 2019.

MAHANT, Sheefali; SAHAJPAL, Nikhil S; NANDA, Sanju. Insights into the Mechanism of *Cymbopogon Martinii* Essential Oil in Topical Therapy of Acne Vulgaris. **Future Microbiology**, [s. l.], v. 16, n. 15, p. 1181–1193, 2021.

MAHMOOD, Huma *et al.* In vitro and in vivo evaluation of gellan gum hydrogel films: Assessing the co impact of therapeutic oils and ofloxacin on wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 166, p. 483–495, 2021.

MAYSLICH, Constance; GRANGE, Philippe Alain; DUPIN, Nicolas. Cutibacterium acnes as an Opportunistic Pathogen: An Update of Its Virulence-Associated Factors. **Microorganisms**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 303, 2021.

MENG, Di *et al.* Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 158, p. 1063–1070, 2020.

MEYER, Cora *et al.* Chitosan-film enhanced chitosan nerve guides for long-distance regeneration of peripheral nerves. **Biomaterials**, [s. l.], v. 76, p. 33–51, 2016.

MORGADO, Patrícia I. *et al.* Ibuprofen loaded PVA/chitosan membranes: A highly efficient strategy towards an improved skin wound healing. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 159, p. 136–145, 2017.

MORIN-CRINI, Nadia *et al.* Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. **Environmental Chemistry Letters**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 1667–1692, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10311-019-00904-x>.

MUJTABA, Muhammad *et al.* Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 121, p. 889–904, 2019.

MUZZARELLI, Riccardo A. A. *et al.* Biochemistry, histology and clinical uses of chitins and chitosans in wound healing. *In: CHITIN AND CHITINASES*. Basel: Birkhäuser Basel, 1999. p. 251–264.

NAKAMURA, Kouki *et al.* Short chain fatty acids produced by *Cutibacterium acnes* inhibit biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 21237, 2020.

NOGUEIRA, M. N. M. *et al.* Terpinen-4-ol and alpha-terpineol (tea tree oil components) inhibit the production of IL-1 β , IL-6 and IL-10 on human macrophages. **Inflammation Research**, [s. l.], v. 63, n. 9, p. 769–778, 2014.

NOZARI, Maryam *et al.* Studies on novel chitosan/alginate and chitosan/bentonite flexible films incorporated with ZnO nano particles for accelerating dermal burn healing: In vivo and in vitro evaluation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 184, p. 235–249, 2021.

OLIVA, Alessandra *et al.* High Potency of Melaleuca alternifolia Essential Oil against Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacteria and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 10, p. 2584, 2018.

ONISHI, Hiraku; MACHIDA, Yoshiharu. Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. **Biomaterials**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 175–182, 1999.

PARK, Y. *et al.* Investigation of the antifungal activity and mechanism of action of LMWS-chitosan. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 18, n. 10, p. 1729–1734, 2008.

PATEL, Satish *et al.* Preparation and optimization of chitosan-gelatin films for sustained delivery of lupeol for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 107, p. 1888–1897, 2018.

PERDONES, Ángela *et al.* Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan–cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 36, p. 256–264, 2014.

PEREIRA DOS SANTOS, Elaine *et al.* Chitosan/Essential Oils Formulations for Potential Use as Wound Dressing: Physical and Antimicrobial Properties. **Materials**, [s. l.], v. 12, n. 14, p. 2223, 2019.

PERINELLI, Diego Romano *et al.* Chitosan-based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 117, p. 8–20, 2018.

PLATSIDAKI, Eftychia; DESSINIOTI, Clio. Recent advances in understanding Propionibacterium acnes (Cutibacterium acnes) in acne. **F1000Research**, [s. l.], v. 7, 2018.

PONTES, Thaís de Carvalho *et al.* Incidence of acne vulgaris in young adult users of protein-calorie supplements in the city of João Pessoa - PB. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 88, n. 6, p. 907–912, 2013.

PRIYADARSHI, Ruchir *et al.* Chitosan films incorporated with Apricot (Prunus armeniaca) kernel essential oil as active food packaging material. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 85, p. 158–166, 2018.

PRUS-WALENDZIAK, Weronika; KOZLOWSKA, Justyna. Design of Sodium Alginate/Gelatin-Based Emulsion Film Fused with Polylactide Microparticles Charged with

Plant Extract. **Materials**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 745, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/14/4/745>.

PURWANINGSIH, Sri; SALAMAH, Ella; ADNIN, M. Nur. PHOTOPROTECTIVE EFFECT OF SUNSCREEN CREAM WITH ADDITION OF CARRAGEENAN AND BLACK MANGROVE FRUIT (*Rhizophora mucronata* Lamk.). **Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis**, [s. l.], v. 7, n. 1, 2015. Disponível em: <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jurnalikt/azticle/view/9819>.

REYNOLDS, Rachel V. *et al.* Guidelines of care for the management of acne vulgaris. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s. l.], v. 90, n. 5, p. 1006.e1-1006.e30, 2024.

RODRIGUES, Susana *et al.* Biocompatibility of Chitosan Carriers with Application in Drug Delivery. **Journal of Functional Biomaterials**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 615–641, 2012.

ROZAS, Miquel *et al.* From Dysbiosis to Healthy Skin: Major Contributions of *Cutibacterium acnes* to Skin Homeostasis. **Microorganisms**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 628, 2021.

SADEKUZZAMAN, Mohammad *et al.* Activity of thyme and tea tree essential oils against selected foodborne pathogens in biofilms on abiotic surfaces. **LWT**, [s. l.], v. 89, p. 134–139, 2018.

SADGROVE, Nicholas; PADILLA-GONZÁLEZ, Guillermo; PHUMTHUM, Methee. Fundamental Chemistry of Essential Oils and Volatile Organic Compounds, Methods of Analysis and Authentication. **Plants**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 789, 2022.

SAHINER, Mehtap *et al.* Biocompatible Glycol Chitosan Microgels as Effective Drug Carriers. **Gels**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 398, 2023.

SAMPATH, Udeni *et al.* Fabrication of Porous Materials from Natural/Synthetic Biopolymers and Their Composites. **Materials**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 991, 2016. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1996-1944/9/12/991>.

SANFORD, James A.; GALLO, Richard L. Functions of the skin microbiota in health and disease. **Seminars in Immunology**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 370–377, 2013.

SEVERO, Amanda Maria Cunha; FOOK, Marcus Vinícius Lia; LEITE, Itamara Farias. Hidrogéis de PVA/quitosana funcionalizados com óleo de melaleuca visando aplicação como curativos. **Matéria (Rio de Janeiro)**, [s. l.], v. 27, n. 1, 2022.

SHARMEEN, Jugreet *et al.* Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 666, 2021.

SIONKOWSKA, Alina *et al.* Preparation and characterization of collagen/chitosan/hyaluronic acid thin films for application in hair care cosmetics. **Pure and Applied Chemistry**, [s. l.], v. 89, n. 12, p. 1829–1839, 2017. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/pac-2017-0314/html>.

TALEB, Mohammed *et al.* Origanum vulgare L. Essential Oil as a Potential Anti-Acne Topical Nanoemulsion—In Vitro and In Vivo Study. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 9, p. 2164, 2018.

TALEBI, Ziba *et al.* Potential of Trachyspermum ammi (ajwain) Gel for Treatment of Facial Acne vulgaris: a Pilot Study with Skin Biophysical Profile Assessment and Red Fluorescence Photography. **Research Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], p. 61–69, 2020.

TAN, Jerry *et al.* Impact of facial and truncal acne on quality of life: A multi-country population-based survey. **JAAD International**, [s. l.], v. 3, p. 102–110, 2021.

TANWAR, Meenakshi; GUPTA, Rajinder K.; RANI, Archana. Natural gums and their derivatives based hydrogels: in biomedical, environment, agriculture, and food industry. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 275–301, 2024. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07388551.2022.2157702>.

TOTTOLI, Erika Maria *et al.* Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 735, 2020.

VASAM, Mallikarjun; KORUTLA, Satyanarayana; BOHARA, Raghvendra Ashok. Acne vulgaris: A review of the pathophysiology, treatment, and recent nanotechnology based advances. **Biochemistry and Biophysics Reports**, [s. l.], v. 36, p. 101578, 2023.

VIEIRA, Melissa Gurgel Adeodato *et al.* Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 254–263, 2011.

VOS, Theo *et al.* Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**, [s. l.], v. 380, n. 9859, p. 2163–2196, 2012.

WANG, Yao-Horng *et al.* Evaluation of Chitosan-based Dressings in a Swine Model of Artery-Injury-Related Shock. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 14608, 2019.

WANG, Jianlong; ZHUANG, Shuting. Chitosan-based materials: Preparation, modification and application. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 355, p. 131825, 2022.

YANG, Yadong *et al.* Chitosan nanocarriers containing essential oils as a green strategy to improve the functional properties of chitosan: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 236, p. 123954, 2023.

ZAENGLEIN, Andrea L. Acne Vulgaris. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 379, n. 14, p. 1343–1352, 2018. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMcp1702493>.