

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ
CAMPUS PROFESSOR ARISTON DIAS LIMA
SAVANA SANTOS DAMASCENO

HIDROGEL DE QUITOSANA/COLÁGENO PARA A LIBERAÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM PIMENTA (*Lippia sidoides* Cham.)

SÃO RAIMUNDO NONATO - PI

2025

SAVANA SANTOS DAMASCENO

HIDROGEL DE QUITOSANA/COLÁGENO PARA A LIBERAÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM PIMENTA (*Lippia sidoides* Cham.)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Licenciatura Plena em Ciências
Biológicas da Universidade Estadual do Piauí,
Campus Professor Ariston Dias Lima como
parte dos requisitos para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Dra. Solranny Carla
Cavalcante Costa e Silva.

SÃO RAIMUNDO NONATO - PI

2025

D155h Damasceno, Savana Santos.

Hidrogel de quitosana/colágeno para a liberação do óleo
essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) / Savana
Santos Damasceno. - 2025.

42f.: il.

Monografia (graduação) - Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas, Universidade Estadual do Piauí, 2025.

"Orientador: Prof.^a Dr.^a Solranny Carla Cavalcante Costa e
Silva".

1. Biomaterial. 2. Fenóis. 3. Matriz Polimérica. I. Silva,
Solranny Carla Cavalcante Costa e . II. Título.

CDD 570

SAVANA SANTOS DAMASCENO

HIDROGEL DE QUITOSANA/COLÁGENO PARA A LIBERAÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM PIMENTA (*Lippia sidoides* Cham.)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Licenciatura Plena em Ciências
Biológicas da Universidade Estadual do Piauí,
Campus Professor Ariston Dias Lima como
parte dos requisitos para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Orientador(a): Dra. Solranny Carla Cavalcante Costa e Silva
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

Examinador(a): Dr. Idglan Sá de Lima
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Examinador(a): Elton Marks de Araujo Braz
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

SÃO RAIMUNDO NONATO - PI

2025

À minha avó, Isabel Rodrigues (*in memoriam*), que me criou com amor, incentivou meus sonhos e foi exemplo de força e humildade.

Ao meu pai, Martinho Rodrigues Damasceno, que me criou com amor, luta, dignidade, caráter e dedicação para que eu pudesse estudar e seguir minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por cuidar de mim, proteger e abrir caminhos por meio das bênçãos que surgiram em minha vida.

À minha família, por acreditar em mim em todos os momentos, especialmente à minha avó, Isabel Rodrigues (*in memoriam*), pelo amor, cuidado, carinho, generosidade e incentivo aos estudos. Ao meu pai, Martinho Rodrigues Damasceno, pelo amor, cuidado e por tudo o que fez por mim e por meu irmão.

Ao meu irmão Daniel Santos Damasceno, pelo amor, carinho, amizade e apoio durante todo esse período.

Ao Marcos Vinicius de Sousa Silva, pelo amor, compreensão, companheirismo e apoio.

À Vanice Ferreira de Sousa Silva, pelo amor, carinho, amizade e apoio constante.

À Júlia e à Ysma, meus amores e companheiras em todos os momentos.

À Edilene Negreiros Damasceno, pela amizade, carinho, generosidade e apoio.

À Dra. Solranny Carla Cavalcante Costa e Silva, pela generosidade, carinho, amizade, dedicação, compreensão, apoio, oportunidades, orientações e ensinamentos durante minha formação.

Aos meus professores, que fazem parte desta conquista pela dedicação, competência e ensinamentos.

À Universidade Estadual do Piauí (UESPI), *Campus* Ariston Dias Lima, em São Raimundo Nonato-PI, pela formação superior e oportunidades ao longo do curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, e disponibilidade do Laboratório de Biologia para o desenvolvimento da pesquisa.

À Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do *Campus* Ariston Dias Lima, em São Raimundo Nonato-PI, pelo apoio oferecido durante a realização dos projetos das bolsas de iniciação científica (PIBIC).

Ao Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), *Campus* Ministro Petrônio Portella, em Teresina-PI, pela colaboração nos experimentos durante esses dois anos, especialmente aos técnicos de laboratório e pesquisadores que contribuíram.

Agradeço também ao PIBIC-UESPI pelas bolsas concedidas.

"Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele, e ele agir ".

Salmos 37:5

RESUMO

Os hidrogéis são redes poliméricas reticuladas, naturais ou sintéticas, que possuem alta capacidade de intumescimento em meio aquoso. Biopolímeros naturais, como a quitosana, que é biodegradável, biocompatível e com propriedades cicatrizantes, e o colágeno, que confere resistência mecânica e hidrofilicidade, são utilizados na síntese de hidrogéis. A combinação desses polímeros não só potencializa a proliferação celular para reparação tecidual, mas também é crucial para a liberação controlada de compostos bioativos, como aqueles presentes em óleos essenciais. O óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (LS), popularmente conhecida como alecrim pimenta, possui atividade antimicrobiana e antileishmania, devido ao seu constituinte majoritário, o timol. O objetivo desta pesquisa foi sintetizar e caracterizar hidrogéis de quitosana e colágeno com LS, utilizando um método de síntese simples, no qual a quitosana foi solubilizada em ácido acético 1%, depois adicionado o colágeno e o tween com o LS. Foram sintetizados três hidrogéis, um contendo apenas quitosana e colágeno (na concentração de 3% de quitosana e 3% de colágeno), que foi denominado HQC, e outros dois com as mesmas quantidades dos polímeros, mas contendo o LS, sendo um a 0,5% e outro a 1% de LS, denominados HQCL0,5 e HQCL1, respectivamente. Os resultados de análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) mostraram que os hidrogéis carregados com o LS apresentaram alterações na intensidade dos picos térmicos, sugerindo um possível efeito estabilizador do óleo na matriz polimérica. Além disso, os hidrogéis HQCL0,5 e HQCL1 apresentaram uma capacidade de carga (CC%) do óleo de 2,68% e 3,02%, respectivamente. No ensaio de liberação *in vitro*, HQCL0,5 demonstrou ter um perfil de liberação mais controlado devido a menor predominância de picos quando comparado ao HQCL1. No entanto, os hidrogéis contendo o LS apresentaram moderada toxicidade em *Artemia salina*, o que torna necessário avanços nos estudos a fim de diminuir essa toxicidade, permitindo o seu uso futuro como carreador deste óleo essencial.

Palavras - chave: biomaterial; fenóis; matriz polimérica.

ABSTRACT

Hydrogels are cross-linked polymeric networks, natural or synthetic, that possess a high capacity for swelling in aqueous media. Natural biopolymers, such as chitosan, which is biodegradable, biocompatible, and has healing properties, and collagen, which provides mechanical resistance and hydrophilicity, are used in the synthesis of hydrogels. The combination of these polymers not only enhances cell proliferation for tissue repair but is also crucial for the controlled release of bioactive compounds, such as those present in essential oils. The essential oil of *Lippia sidoides* Cham. (LS), popularly known as rosemary pepper, has antimicrobial and antileishmanial activity due to its major constituent, thymol. The objective of this research was to synthesize and characterize chitosan and collagen hydrogels with LS, using a simple synthesis method in which chitosan was solubilized in 1% acetic acid, then collagen and Tween were added along with LS. Three hydrogels were synthesized: one containing only chitosan and collagen (at a concentration of 3% chitosan and 3% collagen), named HQC, and two others with the same amounts of polymers but containing LS, one at 0.5% and the other at 1% LS, named HQCL0.5 and HQCL1, respectively. Differential Scanning Calorimetry (DSC) thermal analysis results showed that the hydrogels loaded with LS exhibited changes in the intensity of thermal peaks, suggesting a possible stabilizing effect of the oil on the polymeric matrix. Furthermore, the HQCL0.5 and HQCL1 hydrogels showed an oil loading capacity (CC%) of 2.68% and 3.02%, respectively. In the *in vitro* release assay, HQCL0.5 demonstrated a more controlled release profile due to a lower predominance of peaks compared to HQCL1. However, hydrogels containing LS showed moderate toxicity in *Artemia salina*, which makes it necessary to advance studies in order to reduce this toxicity, allowing its future use as a carrier for this essential oil.

Keywords: biomaterials; phenols; polymeric matrix.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	10
2.1	Objetivo Geral	10
2.2	Objetivos Específicos	11
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
3.1	Hidrogéis	11
3.1.1	Hidrogéis de quitosana	13
3.1.2	Hidrogéis de colágeno	15
3.1.3	Hidrogéis de quitosana e colágeno	16
3.2	Óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham.	17
3.3	Liberação controlada de óleos essenciais	20
4	METODOLOGIA	23
4.1	Síntese dos hidrogéis	23
4.2	Caracterização dos hidrogéis por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	24
4.3	Capacidade de carga do óleo essencial nos hidrogéis	24
4.4	Ensaio de liberação <i>in vitro</i>	25
4.5	Toxicidade aguda em <i>Artemia salina</i>	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais formados por matrizes poliméricas podem ser utilizados em sistemas de liberação controlada de fármacos, com o objetivo de promover um efeito terapêutico prolongado e manter concentrações adequadas do fármaco de forma mais constante no organismo. Esses sistemas apresentam vantagens em relação às formas convencionais de administração, uma vez que podem reduzir picos de concentração plasmática decorrentes de doses repetidas, minimizando efeitos colaterais, além de serem considerados eficientes e economicamente viáveis (Lyra *et al.*, 2007; Rodrigues, 2012). Os hidrogéis fazem parte dessa categoria de biomateriais e apresentam diversas propriedades que viabilizam sua aplicação tópica (Liu *et al.*, 2008).

De modo geral, os hidrogéis são definidos como redes de cadeias poliméricas hidrofílicas reticuladas, formadas de polímeros naturais, sintéticos ou por uma combinação de ambos, que facilmente intumescem em meio aquoso quando interagem com grupos funcionais polares, mantendo sua integridade estrutural por causa das ligações cruzadas entre as cadeias, sendo que a fração volumétrica de água é maior que a do polímero, o que confere flexibilidade semelhante aos tecidos biológicos (Ahmed, 2015). Dentre as diversas formas nas quais os hidrogéis podem ser utilizados, a forma de curativo para feridas tem demonstrado ser bastante promissora, uma vez que permite associar suas propriedades intrínsecas à capacidade de liberação controlada de princípios ativos (Alven; Peter; Aderibigbe, 2022).

Os curativos são materiais utilizados para cobrir a pele lesionada, de modo a evitar co-infecção por bactérias ou fungos e promover condições favoráveis para a reparação tecidual. Nesse contexto, os hidrogéis apresentam potencial para atuar como curativos capazes de interagir de forma ativa com a ferida, fornecendo uma camada protetora, permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio, hidratação do leito da ferida, absorção de secreções e liberação controlada de substâncias com propriedades farmacológicas (Yang *et al.*, 2024). Além disso, diversos polímeros naturais podem ser utilizados na síntese de hidrogéis, destacando-se a quitosana e o colágeno, os quais, além de formarem matrizes hidrofílicas, apresentam propriedades biológicas que favorecem o processo de cicatrização das feridas (Ahmadi *et al.*, 2015; Gomes, 2021; Wang *et al.*, 2021).

No que se refere à quitosana, trata-se de um polissacarídeo derivado da quitina, extraída principalmente do exoesqueleto de artrópodes, destacando-se por sua abundância, baixo custo e por possuir vários mecanismos de ação, como estimulação de leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e fibroblastos, do mesmo modo que possui propriedades

antileishmania, antimicrobianas, além de sua aplicabilidade como carreador de fármacos (Abdollahimajd *et al.*, 2019).

O colágeno, por sua vez, é uma proteína de origem animal que corresponde a aproximadamente 30% das proteínas presentes no corpo humano, desempenhando papel fundamental na resistência e integridade estrutural dos tecidos, sendo amplamente encontrado na matriz extracelular, além disso, possui biocompatibilidade, biodegradabilidade e é atóxico, o que o torna viável para várias aplicações biomédicas, incluindo sistemas de liberação de substâncias bioativas (Papaiordanou *et al.*, 2022).

Hidrogéis à base de quitosana e colágeno podem ser utilizados para encapsular e promover a liberação controlada de substâncias com baixa estabilidade, como os óleos essenciais, os quais apresentam elevada volatilidade. Essa estratégia possibilita a ampliação do leque de aplicações desses hidrogéis por meio da associação entre as propriedades físico-químicas da matriz polimérica e as atividades biológicas dos óleos essenciais. Neste contexto, considera-se relevante a associação do hidrogel de quitosana e colágeno com o óleo essencial obtido das partes aéreas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae), planta nativa do Nordeste brasileiro, rica em timol e reconhecida por apresentar diversas atividades biológicas, incluindo ação antifúngica, antibacteriana, anti-helmíntica, antileishmania e larvicida (Ahmady *et al.*, 2022; Camurça-Vasconcelos *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2005; Lemos *et al.*, 1990; Youssefi *et al.*, 2019). Dessa forma, torna-se relevante investigar o comportamento do óleo essencial na matriz polimérica em termos de liberação, considerando-se que essa associação pode proporcionar benefícios adicionais para o tratamento de feridas.

Em vista disso, o principal objetivo deste trabalho foi desenvolver hidrogel à base de quitosana e colágeno para atuar como sistema de liberação controlada de óleo essencial de *Lippia sidoides*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar hidrogel à base de quitosana e colágeno contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* (LS).

2.2 Objetivos Específicos

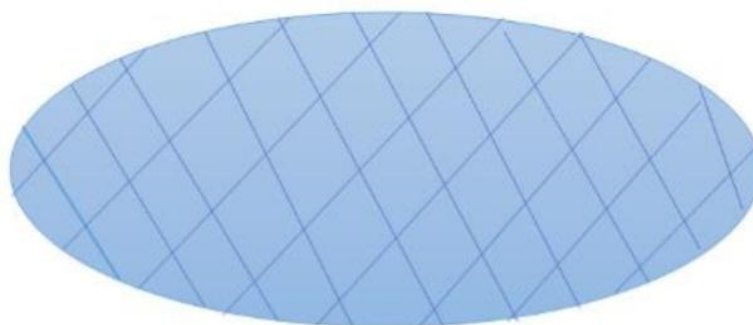
- Realizar a síntese de hidrogéis à base de quitosana, colágeno e LS em diferentes concentrações;
- Caracterizar os hidrogéis sintetizados por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);
- Determinar a capacidade de carga (CC%) do LS nos hidrogéis sintetizados;
- Investigar o perfil de liberação *in vitro* do LS a partir da matriz dos hidrogéis sintetizados;
- Determinar a toxicidade aguda dos hidrogéis formulados frente aos náuplios de *Artemia salina*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Hidrogéis

Os hidrogéis são biomateriais feitos de polímeros que criam redes tridimensionais reticuladas, como mostrado na Figura 1, sendo classificados de várias maneiras: quanto à cadeia principal, se formada por homopolímeros ou copolímeros; a carga catiônica, aniônica e neutra; a estrutura e propriedades amorfas, semicristalinas ou hidrocoloidais; a matéria-prima: natural, sintética ou híbrida; e ao tipo de interação intermolecular, como permanentes, ou químicos por ligações covalentes, ou físicos por interações iônicas e ligações de hidrogênio; podendo ainda serem convencionais ou responsivos a estímulos do ambiente externo (Botaro; Senna, 2022; Pal; Banthia; Majumdar, 2009).

Figura 1 - Representação da rede tridimensional de um hidrogel.



Fonte: Adaptado de Alven; Peter; Aderibigbe (2022).

Os polímeros naturais como polissacarídeos (quitosana, alginato, goma xantana) e proteínas (colágeno, gelatina, pectina) possuem biocompatibilidade e biodegradabilidade para a síntese de hidrogéis aplicáveis no corpo humano, sem causar toxicidade e imunogenicidade. Já os polímeros sintéticos, como Poli(álcool vinílico) (PVA), Poli(etilenoglicol) (PEG) e Poli(óxido de etileno) (PEO), mostram-se mais resistentes que os polímeros naturais e com degradação mais lenta, podendo ser utilizados na síntese de hidrogéis híbridos como alternativa para melhorar as propriedades físico-químicas (Ahmadi *et al.*, 2015; Alven; Peter; Aderibigbe, 2022).

Os hidrogéis formados de biopolímeros assemelham-se com os tecidos do corpo devido à alta hidrofiliabilidade, que está relacionada com a biocompatibilidade, e à sua consistência suave. O intumescimento ocorre em contato com meio aquoso e de fluidos biológicos quando os absorvem e os retém, sendo que a entrada de grandes quantidades de água acontece pela interação com grupos polares do polímero, e as ligações cruzadas químicas ou físicas são as responsáveis por manter a estrutura e integridade da rede (Peppas *et al.*, 2000). Contudo, deve-se ter um equilíbrio nas reticulações entre as cadeias poliméricas para conferir resistência mecânica sem comprometer a elasticidade (Pal, Banthia; Majumdar, 2009).

A estrutura do hidrogel é definida pela fração volumétrica dos polímeros e o grau de reticulação entre as cadeias poliméricas. Além disso, a compatibilidade termodinâmica com a água e elasticidade que promovem equilíbrio de inchaço, sendo a difusão o principal mecanismo de liberação controlada, depende do tamanho dos poros e moléculas, da interação entre o fármaco e o polímero, da reticulação, temperatura, pH e força iônica. Desse modo, os hidrogéis podem liberar fármacos nas mucosas oral e retal, trato gastrointestinal, superfície ocular e pele (Peppas *et al.*, 2000).

Os hidrogéis são utilizados como curativos para o tratamento de feridas pela capacidade de viabilizar a absorção de exsudato do leito da ferida, proporcionar trocas gasosas, manter umidade adequada, atuar como uma barreira física contra microrganismos e ainda servir como veículos de liberação de substâncias, como os óleos essenciais, que possuem propriedades biomédicas regenerativas, anti-inflamatórias, antialérgicas, antimicrobianas e antioxidantes que vão agir no processo cicatrizante (Alven; Peter; Aderibigbe, 2022).

Os hidrogéis imitam a matriz extracelular e servem para o cultivo de células na engenharia de tecidos e medicina regenerativa, podendo ser modificados quanto à

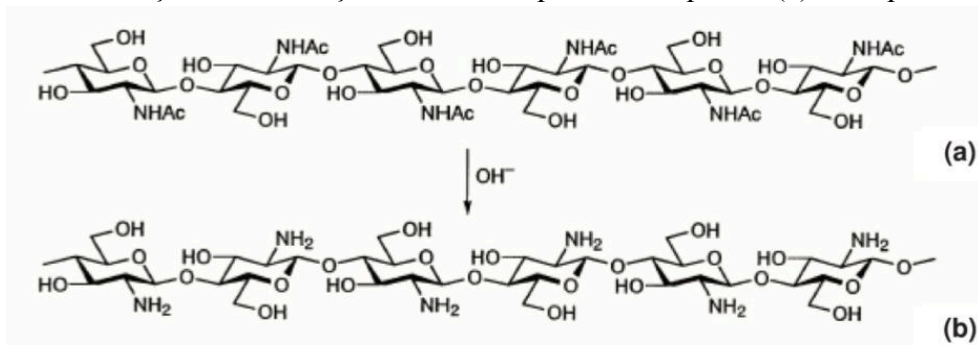
viscoelasticidade, degradação, difusão, adesão celular e fatores de crescimento, para tornarem hidrogéis promotores que fornecem sinais bioquímicos e mecânicos que controlam o comportamento celular, como adesão, proliferação e diferenciação (Tibbitt; Anseth, 2009).

Diante disto, as pesquisas brasileiras de pós-graduação de 2017 a 2021, desenvolveram hidrogéis em grande maioria para a liberação controlada de fármacos, engenharia de tecidos e tratamento de feridas (Alves *et al.*, 2021), por causa das propriedades e características específicas que promovem uma variedade de aplicações.

3.1.1 Hidrogéis de quitosana

A quitosana é um polissacarídeo composto de unidades D-glicosamina e N-acetil-D-glicosamina unidas por ligações glicosídicas β -(1-4), que possui um grupo amino e dois grupos hidroxila, sendo obtida por métodos químicos ou enzimáticos a partir da desacetilação da quitina, o segundo polímero natural mais abundante depois da celulose, que é extraída dos exoesqueletos de artrópodes e parede celular de fungos, onde fornece integridade estrutural (Pillai; Paul; Sharma, 2009; Regattieri; Sena; Silva Filho, 2016). O grau médio de desacetilação (GD), que é a porcentagem de grupos amino livres (NH_2), deve estar acima de 50% ou 60% para ser considerada quitosana (Sánchez-Machado *et al.*, 2019). A Figura 2 ilustra as diferenças estruturais nas moléculas de quitina e quitosana.

Figura 2 - Ilustração da diferença da estrutura química da quitina (a) e da quitosana (b).



Fonte: Dallan (2005).

A solubilidade da quitosana em meio ácido e sua reatividade química a distingue da sua precursora, sendo adquiridas pelas unidades D-glicosamina que contém grupos aminos livres (NH_2). A protonação dos grupos amino livres em soluções ácidas de $\text{pH} < 6,5$, como o ácido acético 1%, formando o cátion $-\text{NH}_3^+$, torna a quitosana um polieletrólito de carga positiva por unidade de glicosamina, fazendo com que interaja com as proteínas, polissacarídeos aniônicos, ácidos nucleicos e ácidos graxos, que possuem superfície com

carga negativa, e também atue como quelante de íons metálicos (Dallan, 2005), mas a sulfatação pode transformar a quitosana em aniônica e solúvel em água (Suh; Matthew, 2000).

As propriedades químicas e biológicas da quitosana estão relacionadas com o grau médio de desacetilação e peso molecular, que variam com as condições de desacetilação, sendo entre 50 a 95% e 10.000 a 1.000.000 Da, respectivamente (Brixner *et al.*, 2022; Dash *et al.*, 2011; Pillai; Paul; Sharma, 2009), podendo ser melhoradas, com a junção de polímeros naturais e sintéticos ou agentes reticulantes, e os grupos amino e hidroxila reativos podem promover modificações químicas para aplicações em membranas, hidrogéis, esponjas, micropartículas, bandagens, nanofibras e emulsões (Costa Júnior, 2008; Regattieri; Sena; Silva Filho, 2016).

Os curativos à base de quitosana formam uma estrutura que possui potencial para serem utilizados em feridas, especialmente as cirúrgicas, pelo efeito pró coagulante e também por não causar citotoxicidade em fibroblastos humanos, bem como a inibição do crescimento de bactérias patogênicas e a preservação da flora bacteriana, impedindo o surgimento de infecções (Wang *et al.*, 2021).

Ademais, a quitosana possui capacidade de formar hidrogéis por ligações de hidrogênio em meio ácido (Suh; Matthew, 2000), se comportando como um pseudoplástico que diminui a viscosidade com elevação da taxa de cisalhamento. A viscosidade aumenta com a elevação da concentração e do grau de desacetilação e queda de temperatura (Dash *et al.*, 2011; Gérentes *et al.*, 2002). Os hidrogéis de quitosana podem ser feitos de duas maneiras: a química, por ligações covalentes irreversíveis com reticulantes, ou a física por várias ligações reversíveis, como interações iônicas em complexos polieletrólitos (Berger *et al.*, 2004).

Hidrogéis de quitosana e PVA Poli(álcoolvinílico) incorporados com óleo de melaleuca demonstraram potencial para serem utilizados como curativos pela capacidade de intumescimento rápido, estabilidade estrutural, hidrofílica e de espessura entre 20,60 e 83,35 µm, e aspecto visual translúcido a luz visível, o que conferem absorção de exsudato, umidade, aderência e monitoramento do leito de feridas durante a cicatrização (Severo, 2019).

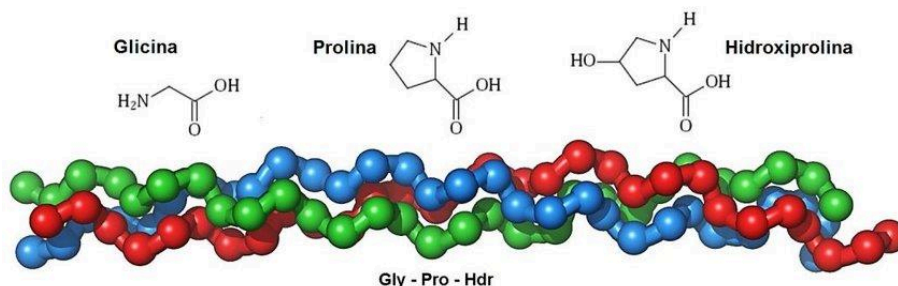
Dessa forma, a incorporação de óleos essenciais em redes tridimensionais de quitosana torna-se uma alternativa promissora para prolongar a atividade biológica e manter uma liberação lenta e controlada (Abreu *et al.*, 2012), podendo contribuir na proteção de componentes voláteis como o timol (Ziaee; Moharramipour; Mohsenifar, 2014).

3.1.2 Hidrogéis de colágeno

O colágeno é uma proteína presente nas estruturas dos animais, existindo cerca de 29 tipos diferentes, dos quais os tipos I, II, III, V e IX são os constituintes principais na matriz extracelular e dos tecidos conjuntivos, conhecidos por formar as fibras, sendo os mais utilizados na produção de biomateriais para aplicações em regeneração de tecidos e liberação de fármacos (Cen *et al.*, 2008; Parenteau-Bareil; Gauvin; Berthod, 2010; Wiegand; Hipler, 2010). A síntese do colágeno ocorre desde a fase embrionária pelos fibroblastos e células como condroblastos e osteoblastos, podendo ser extraído em meio ácido ou alcalino em tecidos animais, como bovinos, suínos e peixes (Araújo; Vieites; Souza, 2012; Andia; Cerri; Spolidorio, 2013; Gomes, 2021).

A estrutura secundária do colágeno difere de outras proteínas, pois a hélice gira no sentido anti-horário e é formada de uma cadeia polipeptídica com três resíduos de aminoácidos. A sequência de aminoácidos é composta por uma repetição tripeptídica com glicina, prolina e hidroxiprolina (Gly-X-Y) (Figura 3), sendo importante para a conformação helicoidal das três cadeias alfa do tropocolágeno, precursor da molécula de colágeno (Nelson; Cox, 2014).

Figura 3 - Representa o filamento de colágeno com a sequência de aminoácidos.



Fonte: Côrrea *et al.* (2017).

O colágeno possui as seguintes propriedades: biocompatibilidade, baixa imunogenicidade, osteocondutoras, osteointegrativas, biomecânicas (Lara-Rico *et al.*, 2020; Wahl; Czernuszka, 2006) e biodegradável pelas enzimas metaloproteinases, como as collagenases 1, 2 e 3 ou gelatinase A (Papaiordanou *et al.*, 2022). Além disso, a depender do tipo de bactéria, como as do gênero *Streptococcus*, pode ter efeito bacteriostático (Carlson *et al.*, 2004). As fibrilas de colágeno funcionam como uma matriz extracelular para os tecidos conjuntivos (Cen *et al.*, 2008), promove deposição de minerais (Martins; Goissis, 2013) e

atração quimiotática, favorecendo o crescimento, adesão celular e modificação da morfologia, migração e diferenciação das células (Parenteau-Bareil; Gauvin; Berthod, 2010; Sachlos *et al.*, 2003).

O hidrogel à base de colágeno é uma inovação na área de engenharia de tecidos para a regeneração óssea, devido às propriedades inerentes do colágeno. Por isso, ao se incorporar diferentes materiais naturais, como a quitosana, ou inorgânicos, como a hidroxiapatita, se aprimoram estas propriedades, incluindo as mecânicas (Lara-Rico *et al.*, 2020; Wahl; Czernuszka, 2006).

Hidrogéis de colágeno podem servir como carreadores de óleos essenciais (OE) que têm alta sensibilidade e volatilidade, como o OE de *Thymus sibthorpii*, o que torna necessário aumentar a estabilidade e controlar a biodegradação e a liberação controlada da rede, por meio do incremento de reticulantes que não causam citotoxicidade ou baixa adesão celular, como o poli(etilenoglicol) succinimidil glutarato (starPEG), ou a síntese de compósito com a quitosana (Moreira, 2014), obtendo a resistência do gel e impedindo a liberação rápida de substâncias antimicrobianas durante o tratamento de tecidos infectados (Ersanli *et al.*, 2025).

Diante disso, o colágeno apresenta propriedades que o tornam promissor para o tratamento de queimaduras, feridas cirúrgicas e crônicas (Santhanam *et al.*, 2020). Os biomateriais com adição deste polímero apresentam atividade cicatrizante, retêm exsudato, estimulam a contração da ferida e promovem barreira mecânica contra as bactérias (Girardi, 2005).

3.1.3 Hidrogéis de quitosana e colágeno

Os hidrogéis de quitosana e colágeno são amplamente utilizados na engenharia de tecidos para regeneração óssea, em razão de sua elevada biocompatibilidade e da capacidade de promover adesão e proliferação celular. Além disso, esses polímeros apresentam boa miscibilidade, uma vez que a quitosana pode interagir com o colágeno por meio de pontes de hidrogênio e, dependendo do pH, da força iônica e das concentrações envolvidas, por interações iônicas, sem formação de precipitado. Essas interações físico-químicas favorecem a obtenção de sistemas poliméricos estáveis e com propriedades mecânicas melhoradas, sendo particularmente relevantes para o desenvolvimento de biomateriais com propriedades aprimoradas (Wang *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2024).

No trabalho de Deepthi *et al.* (2016), foi desenvolvido um hidrogel à base de quitosana e colágeno com aplicação na regeneração do tendão flexor, visando mimetizar o

comportamento funcional dos glicosaminoglicanos (GAGs) presentes na matriz extracelular da bainha tendínea. O biomaterial demonstrou eficiência na adesão e proliferação celular, além de não apresentar citotoxicidade aos tenócitos.

Já na pesquisa de Sánchez-Cid *et al.* (2022), foi demonstrado que a reticulação física de hidrogéis de colágeno e quitosana, em diferentes concentrações, contribui para o desenvolvimento de uma matriz termicamente estável e biocompatível. Nesse sistema, a gelificação da quitosana ocorre por meio de ajuste do pH de aproximadamente 3,0 para 7,0, enquanto a gelificação do colágeno é induzida pela redução da temperatura.

Além disso, a incorporação de quitosana em hidrogel à base de colágeno pode proporcionar integridade estrutural e resistência à enzimas, compressão, degradação e desnaturação, por intermédio dos grupos amino adicionais do polissacarídeo que aumenta a densidade de reticulação, e a degradação pode ser regulada com a proporção de colágeno e quitosana. Ademais, o hidrogel permite maior diferenciação de células endoteliais e angiogênese (Deng *et al.*, 2010).

3.2 Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

O gênero *Lippia* pertence à família Verbenaceae, que é constituída de 200 espécies de arbustos, destacando-se pelo aroma forte característico, com distribuição nativa na América Central, Sul e África tropical (Terblanché; Kornelius, 1996). Dentre as espécies deste gênero, a *Lippia sidoides* é encontrada principalmente na região Nordeste do Brasil, nos municípios do Ceará, mas ocorre também em áreas da região sudeste, como o Norte de Minas Gerais, onde é comumente conhecida como alecrim - pimenta, alecrim e estrepa - cavalo (Leal *et al.*, 2003; Morais *et al.*, 2016).

A espécie *L. sidoides* (Figura 4) é descrita como uma planta arbustiva de até 2 metros de altura, nativa da Caatinga, muito ramificada e aromática, com os ramos hirsutos, mas não candelantes. As folhas crescem opostas e pecioladas, com lâmina ovada, oval-elíptica a oblonga e textura de cartácea, com tricomas glandulares e margem crenada, ciliada. As inflorescências são frondosas, axilares e brácteas tetrásticas, imbricadas. A flor com cálice tubuloso, externamente hirsuto-glanduloso, corola branca, fauce amarela, externamente hirsuto-glandulosa e fruto esquizocarpo (Flora e Funga do Brasil, 2025).

Figura 4 - Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) com flores.

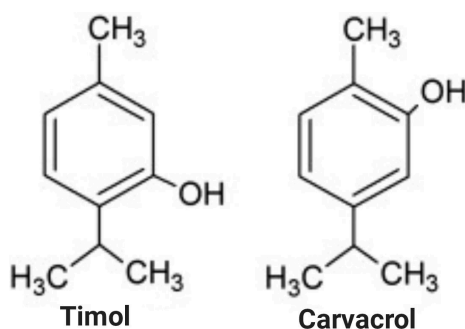


Fonte: USP imagens por Vinícius Botelho e Rita Stella, 2022.

A *Lippia sidoides* é bastante utilizada, especialmente suas partes áreas e folhas secas ou frescas, na medicina tradicional (Santos *et al.*, 2024; Volpe-Fix *et al.*, 2025), como antiséptico por via oral ou tópica para pele e mucosas (Matos *et al.*, 1999), em forma de óleo essencial, chá e tintura, bem como para o tratamento de distúrbios digestivos e respiratórios, além de tempero (Leal *et al.*, 2003; Pascual *et al.*, 2001), e também para febre, cólica infantil e condições do sistema reprodutor feminino (Oliveira, 2004 *apud* Oliveira *et al.*, 2007).

Esses efeitos são atribuídos aos componentes químicos, principalmente os monoterpenos fenólicos, timol e carvacrol (Figura 5), que possuem propriedades medicinais, como anti-inflamatória, antioxidante, gastroprotetora (Monteiro *et al.*, 2007), anti genotóxica (Vicuña; Stashenko; Fuentes, 2010), antiviral (Meneses *et al.*, 2009), larvicida (Carvalho *et al.*, 2003), inseticida (Ziaee; Moharramipour; Mohsenifar, 2014), osteoprotetora (Botelho *et al.*, 2009), antibacteriana (Silva, 2015) e antifúngica (Silva, 2018).

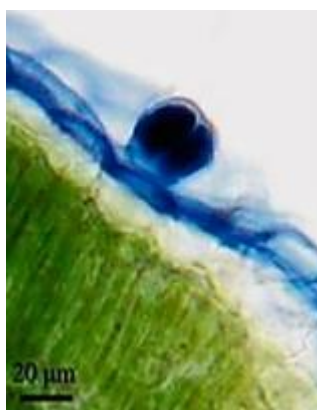
Figura 5 - Estrutura química dos principais constituintes do óleo essencial de *L. sidoides*.



Fonte: Adaptado de Vicuña, Stashenko e Fuentes (2010).

O óleo essencial da planta é sintetizado nos tricomas glandulares (Figura 6) e pode ser extraído por hidrodestilação em aparelho tipo cleverger e ainda assistida por radiação de microondas ou arraste a vapor (Guimarães *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2024; Leal *et al.*, 2003; Zapata *et al.*, 2009). Os componentes voláteis presentes são os monoterpenos e sesquiterpenos, sendo o timol o constituinte majoritário (de 62,05% a 84,95%) (Brito *et al.*, 2015; Sousa *et al.*, 2023; Volpe-Fix *et al.*, 2025). A composição química é variável dependendo da região, já que há a existência de quimiotipos da espécie (Chaves *et al.*, 2008; Moraes *et al.*, 2016).

Figura 6 - Tricoma glandular capitado tipo I com óleo essencial na superfície adaxial da folha de *Lippia sidoides*.



Fonte: adaptado de Guimarães *et al.* (2014).

Além disso, o óleo essencial apresenta propriedade antimicrobiana (Silva *et al.*, 2013), sendo eficiente no controle de bactérias multirresistentes (Pinheiro, 2021), fitopatogênicas (Guimarães *et al.*, 2014), leveduras (Brito *et al.*, 2015) e fungos dermatófitos (Tangarife-Castaño *et al.*, 2012), possuindo ainda atividade cicatrizante (Oliveira *et al.*, 2014) e pró oxidantes seletivas para o combate ao câncer, como o melanoma (Volpe-Fix *et al.*, 2025), anti-inflamatória, antioxidante e gastroprotetora em estudos realizados com camundongos (Monteiro *et al.*, 2007).

No trabalho de Oliveira *et al.* (2014), foi observado o uso do óleo essencial de *L. sidoides* puro, na concentração de 100%, e diluído em óleo mineral em 50%, 25% e 12% em dose única e múltiplas sobre a pele saudável e lesionada de camundongos. Os resultados foram que o óleo a 100%, 50% e 25% causam inflamação na pele intacta e danificada, enquanto que na concentração de 12% houve uma leve irritação. Contudo, nas concentrações

de 12% e 6% ocorreu a cicatrização de feridas, embora tenha sido constatado em alguns grupos inchaço e exsudação nos primeiros dias.

Na pesquisa de Linden (2021), foi observado a biocompatibilidade e a eficiência de suturas revestidas com quitosana contendo o óleo essencial de *L. sidoides* frente às bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* que causam infecções cirúrgicas, em comparação a poliglactina 910 com triclosan (Vicryl® Plus). Além disso, a quitosana reduziu a volatilidade do óleo essencial, mesmo naquelas suturas com armazenamento irregular, em cerca de 125,11 µg/mL, após 60 dias, apresentando atividade antimicrobiana melhor quando combinada com óleo essencial.

Ademais, o óleo essencial de *L. sidoides* demonstrou ter atividade leishmanicida contra promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* (Carvalho, 2011). Em comparação com o timol isolado, foi visto que o óleo essencial de *L. sidoides* é mais eficiente e promissor para o tratamento de leishmaniose cutânea (Medeiros *et al.*, 2011), contudo, foi observado que o óleo essencial rico em carvacrol é mais potente contra os promastigotas de *L. chagasi*, embora o timol também tenha ação leishmanicida contra essa forma evolutiva (Farias-Júnior *et al.*, 2012). A hidroxila fenólica e a estrutura aromática do timol são essenciais para a atividade leishmanicida de compostos naturais (Silva *et al.*, 2017).

3.3 Liberação controlada de óleos essenciais

Os óleos essenciais são substâncias líquidas voláteis compostas, principalmente, por terpenos e obtidas como metabólitos secundários em plantas aromáticas, sendo amplamente utilizados nas áreas de cosméticos, aromatizantes, perfumaria e aromaterapia. As formas de uso incluem, a tópica, diluído em óleo inerte, que age como um carreador para contribuir no espalhamento na pele; a inalação direta ou por difusão e sprays, e a oral por meio de enxaguante bucal, e em alguns casos específicos quando o óleo essencial atua como fitoterápico. Ademais, é indicado administrar os óleos essenciais moderadamente, em pequenas concentrações; sua segurança depende da pureza (Manion; Widder, 2017; Maes; Bouquillon; Fauconnier, 2019).

Os sistemas de liberação controlada transportam os fármacos para onde precisam agir, em quantidades adequadas e gradualmente ao longo de um período, minimizando efeitos colaterais, oferecendo algumas vantagens, conforme pode ser visto na Tabela 1. Dessa maneira, os compostos fitoterápicos ficam ligados à carreadores que melhoram as propriedades físico-químicas, como o efeito bioativo, controlando a absorção e distribuição

nos tecidos e diminuindo a toxicidade, tanto no local de aplicação quanto em outras partes do corpo (Henrique; Falcare; Lopes, 2006; Lyra *et al.*, 2007).

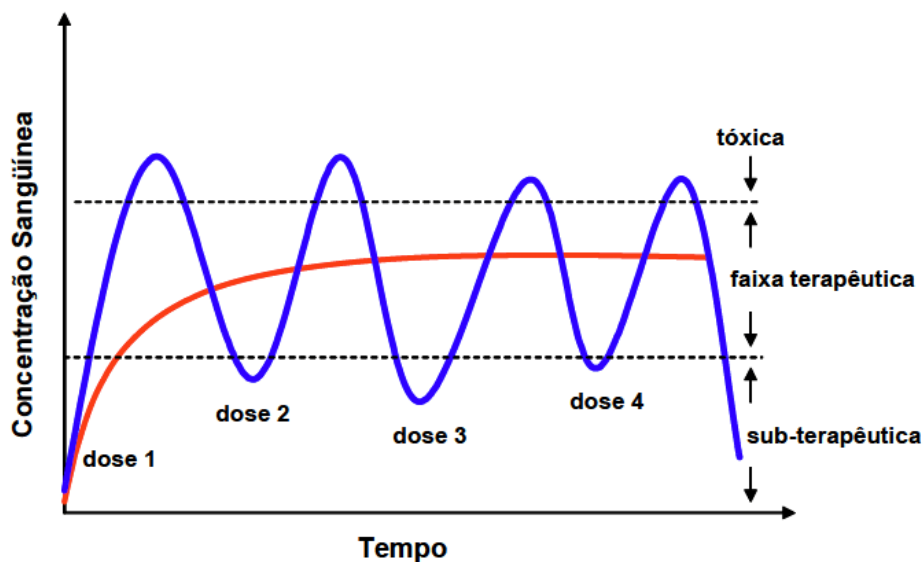
Tabela 1 - Vantagens dos sistemas de liberação controlada.

Tipos	Vantagens
Farmacológica	<p>Manter nível terapêutico com baixa oscilação;</p> <p>Impedir níveis tóxicos e efeitos colaterais locais e sistêmicos;</p> <p>Evitar subníveis terapêuticos;</p> <p>Aumentar concentrações plasmáticas de princípios ativos de meia-vida plasmática relativamente curta;</p> <p>Maior segurança na utilização de alguns fármacos de elevada potência.</p>
Tratamento	<p>Maior comodidade pela diminuição do número de administrações diárias;</p> <p>Facilita adesão do paciente ao tratamento;</p> <p>Administração noturna pode ser evitada;</p> <p>Efeitos indesejados reduzidos.</p>

Fonte: Lyra *et al.* (2007).

Em contrapartida, o sistema de liberação convencional interfere na adesão, pois, dependendo da forma de administração, pode causar picos no sangue, que caem logo em seguida, gerando efeitos colaterais devido à alta dosagem, além de exigir repetidas doses diárias, enquanto os sistemas de liberação controlada mantêm constante ao longo de várias horas uma dose mínima na faixa eficaz. Além disso, os fármacos podem alcançar três faixas de concentração no organismo, como mostrado na Figura 7. A primeira subterapêutica, que não é eficaz pela baixa dose. A segunda terapêutica, que é a ideal para cumprir a atividade biológica esperada, e a terceira tóxica onde a concentração é elevada, por isso causa efeitos graves (Lyra *et al.*, 2007).

Figura 7 - Diferença de concentração de fármacos no sangue ao longo do tempo entre os sistemas convencionais (azul) e de liberação controlada (vermelho).

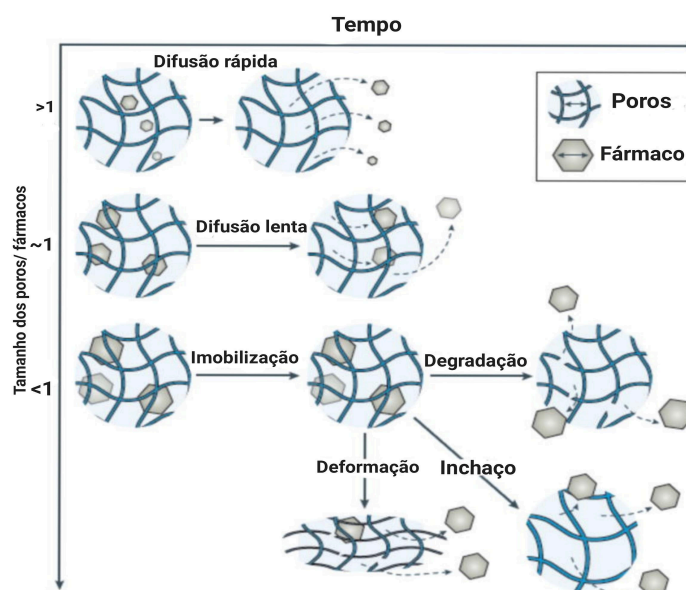


Fonte: Bonan *et al.* (2016).

Hidrogéis com óleos essenciais encapsulados em nanopartículas demonstram que protegem os componentes voláteis bioativos da evaporação, decomposição e diminuem o aroma intenso. Entretanto, o óleo essencial adicionado diretamente na rede polimérica, também mantém a estabilidade à volatilização (Almeida *et al.*, 2018).

Os hidrogéis possuem poros entre as cadeias poliméricas que permitem a liberação, podendo a temperatura, o pH e a quantidade dos polímeros e reticulantes interferirem no tamanho dos poros. Dessa forma, quando os poros são similares ao tamanho do fármaco, a difusão tende a ser lenta, enquanto os poros maiores tendem a uma rápida liberação, e os menores podem imobilizar a substância a ser liberada, sendo necessário que ocorra a degradação dos polímeros ou das ligações cruzadas, ou a erosão da massa polimérica da superfície do hidrogel, para que ocorra a liberação. O inchaço, bem como a deformação mecânica ou induzida da rede, pode aumentar os poros; com isso, a espessura influencia no tempo de liberação do fármaco, conforme mostrado na Figura 8 (Li; Mooney, 2016).

Figura 8 - Mecanismos envolvidos na liberação controlada de fármacos na estrutura de hidrogéis.



Fonte: Adaptado de Li e Mooney (2016).

Na pesquisa de Almeida *et al.* (2018), foi observado que a liberação controlada do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em ambos os hidrogéis, com e sem nanopartículas, é semelhante, com liberação rápida no início e depois de forma lenta e prolongada, porém com as nanopartículas foi conferido um pouco mais de controle, apesar de ter havido influência da inserção na rede polimérica tridimensional de carbopol, em comparação às nanopartículas livres.

Portanto, o hidrogel permite maior estabilidade e adesão para aplicações tópicas de óleos essenciais, oferecendo uma estrutura interna ideal para carrear fármacos (Liu *et al.*, 2008).

4 METODOLOGIA

4.1 Síntese dos hidrogéis

Para a síntese dos hidrogéis, inicialmente solubilizou-se a quitosana em ácido acético a 1%, em seguida acrescentou-se o colágeno aos poucos na solução. Após completa homogeneização, acrescentou-se Tween 80 e o óleo essencial de *Lippia sidoides* (LS), mantendo a agitação magnética por mais 30 min após a inclusão do LS. As soluções foram

preparadas de modo que a concentração de quitosana ficasse a 3% e a concentração de colágeno também ficasse a 3%, pois essa concentração cria uma consistência de gel. Foram sintetizados hidrogéis a 1,0 e a 0,5% de LS, estes hidrogéis receberam as denominações HQCL1 e HQCL0,5, respectivamente. A quantidade de Tween 80 utilizada foi de 1:1 para a quantidade de LS. Utilizando-se a mesma metodologia, também foram sintetizados hidrogéis de quitosana/colágeno com as mesmas concentrações dos biopolímeros, mas sem a adição do LS. Esta formulação foi denominada de HQC. Em seguida, os hidrogéis foram liofilizados. A quitosana utilizada no processo de síntese foi obtida da Polymar, enquanto o colágeno, de origem bovina, foi obtido da Relva Verde Alimentos LTDA (Paraná-Brasil), e o óleo essencial de *Lippia sidoides* foi obtido da Legee Óleos Essenciais e Compostos Ltda.

4.2 Caracterização dos hidrogéis por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Após a síntese, os hidrogéis foram liofilizados, macerados e caracterizados por DSC na faixa de 27 a 500 °C em um DSC-60 Plus da Shimadzu, em placas de platina sob atmosfera de nitrogênio (taxa de fluxo: 50 mL/min), para investigar o comportamento térmico dos materiais.

4.3 Capacidade de carga do óleo essencial nos hidrogéis

O teor de óleo presente nos hidrogéis foi determinado como descrito por Paula *et al.* (2010) com adaptações. Macerou-se cerca de 5 mg dos hidrogéis liofilizados em etanol, e calculou-se a concentração do óleo através de uma curva de calibração feita com o timol, que é o seu principal componente, utilizando-se espectroscopia na região do UV-Vis, no comprimento de onda de 275 nm. Os valores obtidos foram corrigidos pelo branco (hidrogel sem o óleo). A capacidade de carga (CC%) foi, então, calculada em percentual a partir da concentração do óleo, de acordo com a equação abaixo:

$$CC\% = \frac{\text{Conc} \cdot V_{\text{sol}} \cdot 100}{1000 \cdot m_{(\text{amostra})}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, Conc é a concentração do óleo, Vsol é o volume da solução em etanol e $m_{(\text{amostra})}$ é a massa da amostra.

4.4 Ensaio de liberação *in vitro*

O ensaio de liberação *in vitro* do LS foi realizado conforme descrito por Lima *et al.* (2024), com algumas modificações. Em 30 mL de água destilada foram adicionados 30 mg dos hidrogéis sintetizados, e estes foram postos em uma incubadora de agitação orbital, em temperatura de 37 °C a 100 rpm. Em intervalos de tempos determinados (1, 2, 4, 24, 48, 72 e 144h), 5 mL das amostras foram retiradas e o mesmo volume de água destilada foi adicionado ao sistema, de modo que o volume ficasse constante ao longo do tempo. A alíquota retirada foi então diluída 10x em etanol e a concentração do LS foi determinada utilizando-se um espectrofotômetro UV-Vis a 275 nm. Os estudos foram realizados em duplicata para cada amostra. Calculou-se a concentração do LS através de uma curva de calibração feita com o timol. Os valores obtidos foram corrigidos pelo branco (hidrogel sem o óleo).

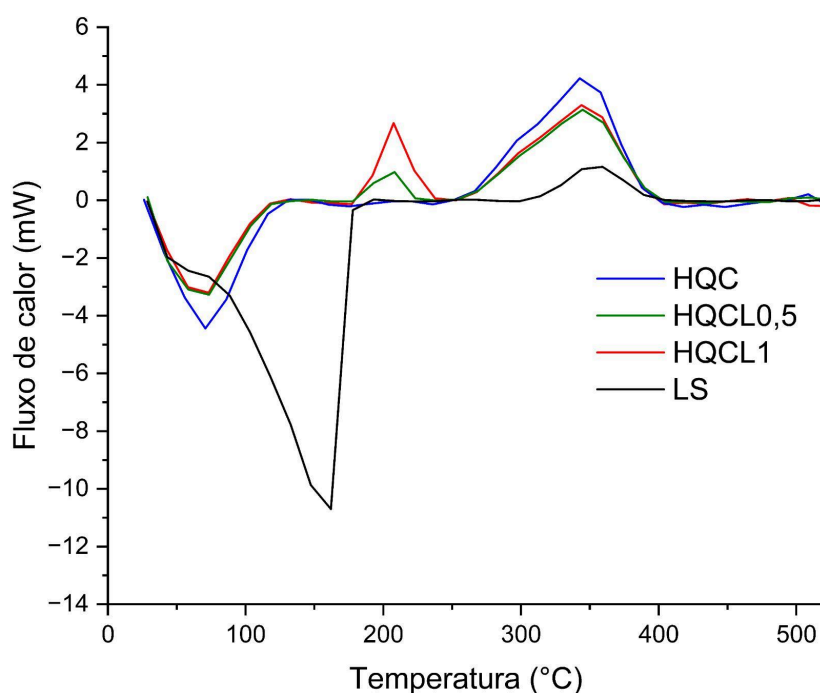
4.5 Toxicidade aguda em *Artemia salina*

Para avaliar a toxicidade aguda dos hidrogéis, foi realizado o ensaio em náuplios de *Artemia salina*, utilizando-se as amostras liofilizadas, pelo método proposto por Meyer *et al.* (1982). Extratos dos materiais foram preparados utilizando água do mar sintética como veículo extrator. A extração ocorreu à temperatura de 37 °C por 24h. Os extratos foram preparados ao mesmo tempo em que os ovos de *Artemia salina* foram postos para a eclosão em água do mar sintética da marca Ocean Tech®, preparada pela dissolução de 36 g em 1,0 L de água destilada, sob oxigenação e iluminação artificial por 48h. Após esse período, os náuplios foram separados e em cada tubo de ensaio contendo 5,0 mL dos extratos, nas concentrações de 1, 0,5 e 0,1 mg/mL, foram adicionados 10 náuplios. Água do mar sintética sem adição de amostra foi empregada como controle negativo, e como controle positivo foi utilizada uma solução de DMSO a 3%. Após os tubos serem incubados, foi realizada a contagem dos náuplios vivos após 24h e 48h, e a viabilidade das larvas de *Artemia salina* foi calculada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os hidrogéis sintetizados foram liofilizados e em seguida submetidos à caracterização por DSC para avaliar o comportamento térmico. Na Figura 9 encontram-se as curvas DSC do óleo essencial de *Lippia sidoides* (LS), dos hidrogéis de quitosana/colágeno (HQC), quitosana/colágeno com 0,5% (HQCL0,5) e com 1% do LS (HQCL1).

Figura 9 - Curvas DSC do hidrogel de quitosana/colágeno (HQC), dos hidrogéis de quitosana/colágeno contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* (HQCL0,5 e HQCL1) e do óleo essencial puro (LS).



Fonte: Autoria própria (2025).

O LS mostra um pico endotérmico acentuado que está relacionado à volatilização/evaporação dos seus constituintes. Em óleos essenciais, eventos endotérmicos de evaporação aparecem frequentemente antes de 200 °C (Marreto *et al.*, 2008). Nesse composto, ainda é possível observar um último evento acima de 300 °C relativo à sua decomposição.

As curvas DSC para os hidrogéis liofilizados mostram comportamentos térmicos condizentes com compostos poliméricos. Um pico endotérmico observado para esses

materiais em aproximadamente 70 °C é atribuído à perda de água adsorvida nas matrizes poliméricas. Observa-se uma diminuição na intensidade desse pico com a inclusão do óleo essencial (HQC > HQCL0,5 > HQCL1) indicando redução da água retida e maior estabilidade quando se acrescenta o óleo na matriz.

Os hidrogéis acrescidos do LS mostraram picos entre 200 e 210 °C que podem estar relacionados à perda de voláteis ligados às cadeias. Como último evento, depois de 300 °C, que está associado à degradação térmica das cadeias poliméricas, a presença do óleo parece reduzir essa decomposição, indicando uma maior estabilidade.

Para determinar a porcentagem de óleo que os hidrogéis carregavam, realizou-se a extração com etanol em 5 mg das amostras, seguido por leitura em espectrofotômetro UV-Vis em 275 nm. Na Tabela 2 encontram-se os valores obtidos, expressos em médias \pm desvio padrão de n=2.

Tabela 2 - Capacidade de carga (CC%) para as formulações dos hidrogéis.

Formulação	CC%*
HQCL0,5	2,68 \pm 0,20
HQCL1	3,02 \pm 0,36

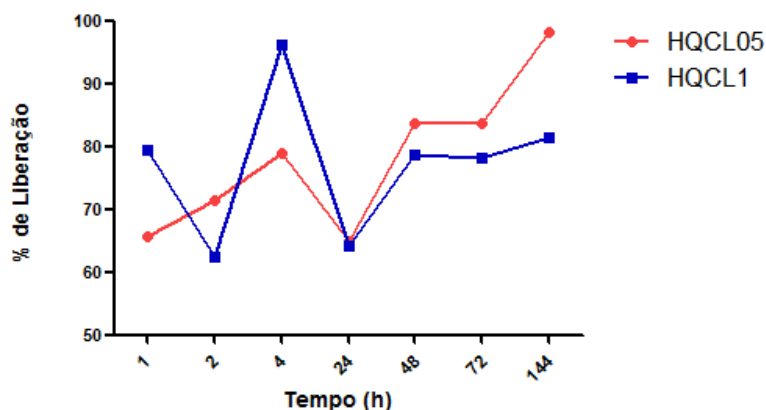
*Médias \pm desvio padrão, n=2.

O hidrogel sintetizado com 0,5% de LS apresentou CC% de 2,68%, enquanto o hidrogel contendo 1% de LS apresentou CC% de 3,02%, resultando em uma diferença de 0,34% entre os valores. Estes resultados indicam uma possível saturação dos sítios de aprisionamento do LS na matriz do hidrogel em concentrações mais elevadas.

Além disso, embora os hidrogéis tenham sido liofilizados, conferindo elevada porosidade à matriz, a incorporação estável do LS é limitada pela natureza hidrofóbica de seus constituintes em contraste com o caráter hidrofílico da matriz de quitosana e colágeno. Soma-se a isso o fato de os hidrogéis serem fisicamente reticulados, o que resulta em interações mais fracas e torna o aprisionamento do LS mais sensível.

Os resultados do ensaio de liberação *in vitro* dos hidrogéis HQCL0,5 e HQCL1 estão apresentados na Figura 10.

Figura 10 - Perfil de liberação *in vitro* de HQCL0,5 e HQCL1.



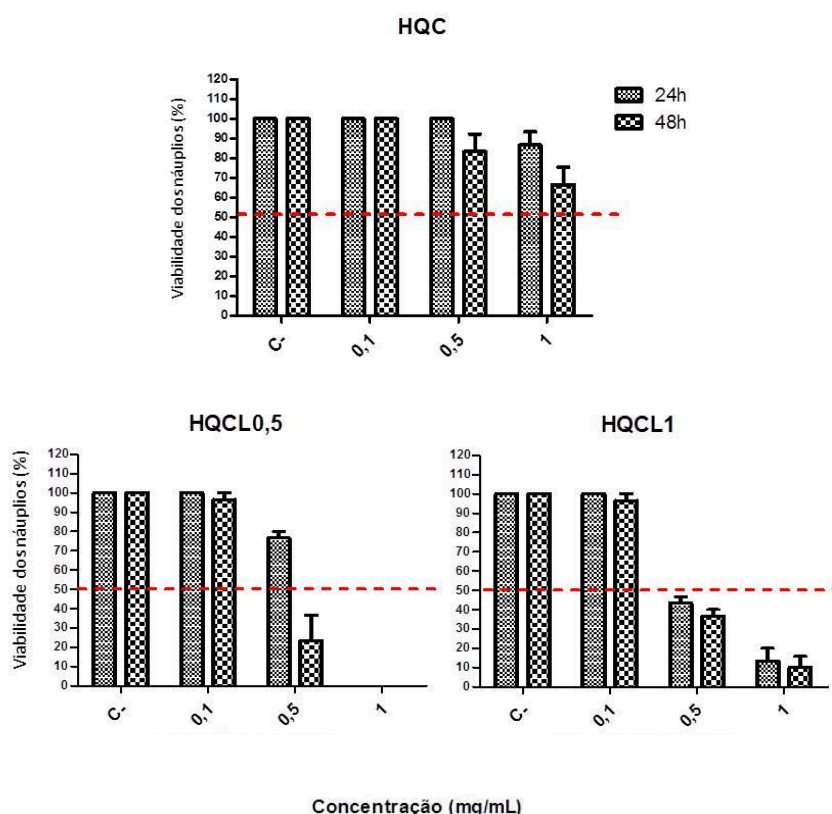
Fonte: Autoria própria (2025).

O hidrogel HQCL1 apresentou uma alta liberação do LS (cerca de 80%) já com 1 hora, sendo constatada uma queda para 62% em 2 horas, seguido de um pico de liberação de aproximadamente 96% em 4 horas. Após isso, ocorreu uma queda drástica desse pico para 65% em 24 horas. Em seguida, a liberação foi estabilizada em torno de 79% nas 48 horas e 72 horas, respectivamente. Ademais, em 144 horas o percentual de liberação aumenta para 81%. Já o hidrogel HQCL0,5 liberou cerca de 66% do LS na primeira hora, e na hora seguinte, teve a liberação aumentada para cerca de 71%, atingindo aproximadamente 79% em 4 horas. Entretanto, após 24 horas houve uma queda para 65%, seguida de um aumento e estabilização nas 48 e 72 horas (para cerca de 84%), e de novo aumento de aproximadamente 98% em 144 horas.

O percentual de liberação alto no início pode ser um indicativo de que os hidrogéis possuem alta porosidade, o que facilitaria uma difusão rápida em moléculas de água (Machado, 2016), ou um indicativo da liberação do LS que está na superfície da matriz polimérica, uma vez que a liberação de óleo essencial que está na superfície é mais rápida, enquanto a liberação mais lenta deve-se à dessorção e difusão do LS que está retido ou fortemente ligado à matriz (Cruz, 2013). Na Figura 10 observa-se que foram necessárias 24 horas para que ocorresse a estabilidade da matriz no meio aquoso ao qual estava submerso, isto pode estar relacionado ao comportamento de intumescimento dos hidrogéis, o comportamento de absorção e dessorção do LS ao longo do tempo, ou por interações simultâneas de difusão e ligação com as cadeias laterais de aminoácidos carregados e hidrofóbicas do colágeno (Wallace; Rosenblatt, 2003).

A toxicidade aguda dos hidrogéis foi avaliada através do ensaio com náuplios de *Artemia salina* (Figura 11).

Figura 11 - Toxicidade aguda dos hidrogéis de quitosana/colágeno, com (HQCL0,5 e HQCL1) e sem (HQC) o óleo essencial de *Lippia sidoides* em náuplios de *Artemia salina*.



Fonte: Autoria própria (2025).

Os ensaios de letalidade são métodos utilizados para avaliar o potencial tóxico de substâncias, óleos, produtos, extratos vegetais e ainda na detecção de contaminantes ambientais (Hutauruk, Siregar e Nurrachmi, 2024). O teste preliminar com larvas de *Artemia salina* é frequentemente mencionado na literatura científica para determinar a biocompatibilidade ou a dose letal 50 (DL₅₀) pela facilidade, rapidez e baixo custo para a sua realização (Valencia- Llano, López Tenorio e Grande-Tovar, 2022).

No hidrogel HQC, com quitosana e colágeno, a viabilidade dos náuplios foi superior a 80% após 24 horas de exposição a todas as concentrações testadas. Após 48 horas ocorreu uma diminuição na viabilidade dos náuplios nas concentrações de 0,5 e 1 mg/mL, no entanto, esta viabilidade permaneceu superior a 50%, o que indica que este material não é tóxico. Este resultado já era esperado uma vez que a literatura já vem relatando esta atoxicidade tanto do colágeno quanto da quitosana.

Já nos hidrogéis contendo LS (HQCL0,5 e HQCL1) pode-se observar uma diminuição da viabilidade dos náuplios nas concentrações de 0,5 e de 1 mg/mL após 24h, sendo que em HQCL1, nestas mesmas concentrações, a viabilidade dos náuplios foi inferior a 50%. Observa-se ainda que após 48h, a viabilidade diminui ainda mais nestas concentrações, com a viabilidade ficando inferior a 50% também na concentração 0,5 mg/mL no hidrogel HQC0,5; o que indica que estes hidrogéis podem ser classificados como moderadamente tóxicos, uma vez que ocorreu mais de 50% de mortalidade dos náuplios na concentração de 0,5 mg/mL (Meyer *et al.*, 1982).

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados aqui expostos, pode-se concluir que os hidrogéis de quitosana e colágeno carregados com óleo essencial de *Lippia sidoides* apresentaram, em suas curvas de DSC, alterações na intensidade dos picos térmicos, sugerindo um possível efeito estabilizador do óleo na matriz polimérica. Além disso, os hidrogéis HQCL0,5 e HQCL1 apresentaram uma capacidade de carga de 2,68% e 3,02%, respectivamente. Já o ensaio de liberação *in vitro* evidenciou que o hidrogel HQCL0,5 possui um perfil de liberação mais controlado do que o HQCL1. No entanto, os hidrogéis contendo o LS apresentaram moderada toxicidade, o que torna necessário avanço nos estudos a fim de diminuir essa toxicidade, permitindo o seu uso futuro como carreador deste óleo essencial.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHIMAJD, F. *et al.* Chitosan-based biocompatible dressing for treatment of recalcitrant lesions of cutaneous leishmaniasis: A pilot clinical study. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 85, n. 6, p. 609-614, 2019. DOI: 10.4103/ijdv.IJDVL_189_18. Disponível em: https://ijdv.com/content/126/2019/85/6/Images/ijdv_2019_85_6_609_252575.pdf. Acesso em: 15 ago. 2025.
- ABREU, F. O. M. S. *et al.* Chitosan/cashew gum nanogels for encapsulating essential oils. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 4, p. 1277-1282, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.048>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861712003888>. Acesso em: 7 jul. 2025.
- AHMADI, F. *et al.* Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2015. Disponível em: https://journals.lww.com/rips/fulltext/2015/10010/Chitosan_based_hydrogels__characteristics_and.1.aspx. Acesso em: 6 ago. 2025.
- AHMADY, A. R. *et al.* Fabrication of chitosan-gelatin films incorporated with thymol-loaded alginate microparticles for controlled drug delivery, antibacterial activity and wound healing: *in-vitro* and *in-vivo* studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 223, Part A, p. 567-582, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.249>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813022025041>. Acesso em: 20 set. 2025.
- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of advanced research**, v. 6, n. 2, p. 105-121, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123213000969>. Acesso em: 11 ago. 2025.
- ALMEIDA, K. B. *et al.* *In vitro* release and anti-herpetic activity of *Cymbopogon citratus* volatile oil-loaded nanogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 4, p. 495-502, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.05.007>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/3CK3shKrrH6wKtywVZxN6MF/?lang=en>. Acesso em: 9 ago. 2025.
- ALVEN, S.; PETER, S.; ADERIBIGBE, B. A. Polymer-based hydrogels enriched with essential oils: a promising approach for the treatment of infected wounds. **Polymers**, v. 14, n. 18, p. 3772, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14183772>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/18/3772>. Acesso em: 8 ago. 2025.
- ALVES, L. R. *et al.* Aplicações de hidrogéis como biomateriais: uma revisão de dissertações e teses brasileiras desde 2017. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 22, n. 2, p. 53-79, 2021. DOI: <https://doi.org/10.37779/nt.v22i2.4031>. Disponível em: <https://periodicos.ufn.edu.br/index.php/disciplinarumNT/article/view/4031>. Acesso em: 9 ago. 2025.

ANDIA, D. C.; CERRI, P. S.; SPOLIDORIO, L. C. Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofisiológicos. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 35, n. 2, p. 191-198, 2013. Disponível em: <https://revodontolunesp.com.br/article/588017da7f8c9d0a098b493d/>. Acesso em: 18 set. 2025.

ARAÚJO, G. M.; VIEITES, F. M.; SOUZA, C. S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 79-89, 2012. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/495/49558825007.pdf>. Acesso em: 18 set. 2025.

BERGER, J. *et al.* Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 35-52, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(03\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(03)00160-7). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641103001607>. Acesso em: 28 jul. 2025.

BONAN, R. F.; PEREZ, D. E. C.; BATISTA, A. U. D.; BONAN, P. R. F. Uso de sistemas de liberação controlada de fármacos em odontologia. In: UCHÔA, R. C.; ONE, G. M. C. (Org.). **Odontologia: integração em pesquisa, tecnologia e aplicabilidade clínica 1** [recurso eletrônico]. Campina Grande: IBEA, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/301793887_Cap_22_-_Odontoma_Dilatado_Relato_de_Caso. Acesso em: 12 jul. 2025.

BOTARO, V. R. ; SENNA, A. M. Visão geral: hidrogéis, propriedades, classificação e importância histórica. In: BOTARO, V. R.; RODRIGUES, J. S. (org.). **Hidrogéis derivados de polímeros naturais: desenvolvimento e aplicações**. São Carlos: EdUFSCar, 2022. p. 1-13. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=fTiVEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT8&dq=info:XCokJBObplEJ:scholar.google.com/&ots=8Hu8UAao_V&sig=TI9en2XeHWuaR75zn89vhaSQ6ZA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 8 ago. 2025.

BOTELHO, M. A. *et al.* Protective effect of locally applied carvacrol gel on ligature-induced periodontitis in rats: a tapping mode AFM study. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 23, n. 10, p. 1439-1448, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.2798>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19274705/>. Acesso em: 8 jul. 2025.

BRITO, D. I. V. *et al.* Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida spp.* **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 836-844, 2015. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_060. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/5QY9NnSt9p77hLnvbt8Xfdk/?lang=pt>. Acesso em: 10 jul. 2025.

BRIXNER, B. *et al.* Antimicrobial activity of chitosan combined with essential oils in biomedical applications: an integrative review. **Research, society and development**. v. 11, n. 14, p. 1-12, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36563>. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/274728>. Acesso em: 30 jul. 2025.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. *et al.* Anthelmintic activity of *Lippia sidoides* essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 154, n. 1-2, p. 167-170, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.02.023>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401708001106>. Acesso em: 20 set. 2025.

CARLSON, G. A. *et al.* Bacteriostatic properties of biomatrices against common orthopaedic pathogens. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 321, n. 2, p. 472-478, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.06.165>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X04014172>. Acesso em: 17 jul. 2025.

CARVALHO, A. F. U. *et al.* Atividade larvídica do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. contra *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 4, p. 569-571, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000400027>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/n4mDFhvmFjHN7xKfKJJTNKh/?format=html&lang=en>. Acesso em: 3 jul. 2025.

CARVALHO, M. G. F. M. **Contribuições tecnológicas para formas farmacêuticas a partir de óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham. e *Lippia organoides* H.B.K. para tratamento das leishmanioses.** 2011. 114 f. Tese (Doutorado em 2011) - Universidade Estadual do Ceará, 2011. Disponível em: <http://siduece.uece.br/siduece/trabalhoAcademicoPublico.jsf?id=70614>. Acesso em: 2 jul. 2025.

CEN, L. *et al.* Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. **Pediatric Research**, v. 63, n. 5, p. 492-496, 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/pr2008100>. Acesso em: 17 jul. 2025.

CHAVES, F. C. M. *et al.* Teor de óleo essencial e seus constituintes em alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) de três regiões geográficas distintas. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. S1462-S1465, 2008. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/683919/1/Teordeoleoessencial.pdf&ved=2ahUKEwi8hbXK07qRAxWbHLkGHauIH4AQFnoECCMQAQ&usq=AOvVawITqkDpAGRNR8MZnEnWSyTa>. Acesso em: 2 jun. 2025.

CÔRREA, T. H. B. *et al.* **Os alimentos como tema gerador no desenvolvimento de uma hiperímia para o ensino de química.** 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Thiago-Correa-10/publication/342078411_Os_alimentos_como_tema_gerador_no_desenvolvimento_de_uma_hiperímia_para_o_ensino_de_Química/links/5ee0fb12299bf13a891011a5/Os-alimentos-como-tema-gerador-no-desenvolvimento-de-uma-hiperímia-para-o-ensino-de-Química.pdf. Acesso em: 31 jul. 2025.

COSTA, J. G. M. *et al.* Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/rHBmZkTRYK6TgQKRqf78vCx/?lang=pt>. Acesso em: 9 jul. 2025.

COSTA JÚNIOR, E. S. **Desenvolvimento de matriz de quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/MAPO-7REJZY>. Acesso em: 26 jul. 2025.

CRUZ, R. A. J. **Otimização de scaffolds de colágeno tipo I como sistema de liberação controlada para um extrato de calêndula (*Calendula officinalis*)**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unal.edu.co/items/1f097c81-8c49-4196-9940-eacc4b9cfef0>. Acesso em: 28 out. 2025.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. 2005. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2005. DOI: 10.47749/T/UNICAMP.2005.359143. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/359143>. Acesso em: 26 jul. 2025.

DASH, M. *et al.* Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981-1014, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S007967001100027X>. Acesso em: 27 jul. 2025.

DEEPTHI, S. *et al.* Layered chitosan-collagen hydrogel/aligned PLLA nanofiber construct for flexor tendon regeneration. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 492-500, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.124>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861716309225>. Acesso em: 22 jul. 2025.

DENG, C. *et al.* A collagen–chitosan hydrogel for endothelial differentiation and angiogenesis. **Tissue Engineering Part A**, v. 16, n. 10, p. 3099-3109, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0504>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20586613/>. Acesso em: 24 jul. 2025.

ERSANLI, C. *et al.* Release profile and antibacterial activity of *Thymus sibthorpii* essential oil-Incorporated, optimally stabilized type I collagen hydrogels. **Bioengineering**, v. 12, n. 1, p. 89, 2025. DOI: 10.3390/bioengineering12010089. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11760836/>. Acesso em: 19 jul. 2025.

FARIAS-JÚNIOR, P. A. *et al.* Leishmanicidal activity of carvacrol-rich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Biological Research**, v. 45, n. 4, p. 399-402, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602012000400012>. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-97602012000400012&script=sci_arttext&tlng=e. Acesso em: 3 jul. 2025.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 02 jul. 2025.

GÉRENTES, P. *et al.* Study of a chitin-based gel as injectable material in periodontal surgery. **Biomaterials**, v. 23, n. 5, p. 1295-1302, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00247-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00247-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961201002472>. Acesso em: 31 jul. 2025.

GIRARDI, R. C. G. **Comportamento de matrizes de colágeno utilizadas no tratamento de feridas planas induzidas em pele de rato**. 2005. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/25cc/4b275e9b4cb00d459704fb0ee2801d3c0650.pdf>. Acesso em: 6 jul. 2025.

GOMES, J. P. **Desenvolvimento das formulações de hidrogel à base de colágeno extraído da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2021. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/62728>. Acesso em: 19 jul. 2025.

GUIMARÃES, L. G. L. *et al.* Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 267-275, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000200006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rca/a/8tY9fs4CB5T8qNSL6VFBqHD/?lang=pt>. Acesso em: 11 jul. 2025.

HENRIQUE, J. S.; FALCARE, R. S.; LOPES, P. S. Sistemas de liberação controlada. **Pharmacia Brasileira**, v. 56, p. 22, 2006. Disponível em: https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:DgUyzuDzC8YJ:scholar.google.com/+sistemas+de+libera%C3%A7%C3%A3o+&hl=pt-BR&as_sdt=0,5. Acesso em: 9 jul. 2025.

HUTAURUK, D.; SIREGAR, Y. I.; NURRACHMI, I. Toxicity of cadmium (Cd) on *Artemia salina*. **Tropical Marine Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 26-29, 2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/391199523_Toxicity_of_Cadmium_Cd_on_Artemia_salina. Acesso em: 30 nov. 2025.

LEAL, L. K. A. M. *et al.* Análise de timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, suple 1, p. 9-11, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000300004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/kvVkQCYhZxYsLt3Ztg8YFCq/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 29 jun. 2025.

LEMO, T. L. G. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytotherapy Research**, v. 4, n. 2, p. 82-84, 1990. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/230009838_Antimicrobial_activity_of_essential_oil_of_Brazilian_plants. Acesso em: 20 set. 2025.

LI, J.; MOONEY, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 12, p. 1-17, 2016. DOI: 10.1038/natrevmats.2016.71. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5898614/>. Acesso em: 15 jul. 2025.

LIMA, I. S. *et al.* Synthesis and characterization of cassava gum hydrogel associated with chlorhexidine and evaluation of release and antimicrobial activity. **Macromolecular Bioscience**, v. 24, n. 6, p. 2300507, 2024. DOI:<https://doi.org/10.1002/mabi.202300507>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mabi.202300507>. Acesso em: 11 nov. 2025.

LINDEN, L. V. **Ensaio de biocompatibilidade e atividade antimicrobiana de suturas cirúrgicas impregnadas com óleo de *Lippia sidoides* Cham.** 2021. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/23448>. Acesso em: 3 jul. 2025.

LIU, W. *et al.* Investigation of solid lipid nanoparticle carbopol gel for transdermal iontophoretic administration of triamcinolone acetate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 1, p. 135-141, 2008. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.08.013>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18778760/>. Acesso em: 11 jul. 2025.

LYRA, M. A. M. *et al.* Hydrophilic and mucoadhesive matrix systems for controlled drug release. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784-793, 2007. Disponível em:https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://www.la-tamjpharm.org/trabajos/26/5/LAJOP_26_5_5_1_5NH237W57Y.pdf&ved=2ahUKewjr8dSRrmRAxXdqZUCHfYWDbQQFnoECckQAQ&usq=AOvVaw3CxtcQQIMRH3rs8y3Rc6PC. Acesso em: 12 jul. 2025.

MACHADO, B. R. **Hidrogel de quitosana e pectina aplicados para liberação controlada e matriz scaffold.** 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2016. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/5514>. Acesso em: 27 out. 2025.

MAES, C.; BOUQUILLON, S.; FAUCONNIER, M. L. Encapsulation of essential oils for the development of biosourced pesticides with controlled release: A review. **Molecules**, v. 24, n. 14, p. 2539, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24142539>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/14/2539>. Acesso em: 31 jul. 2025.

MANION, C. R.; WIDDER, R. M. Fundamentals of essential oils. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 74, n. 9, p. e153-e162, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2146/ajhp151043>. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajhp/article-abstract/74/9/e153/5102762?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 9 jul. 2025.

MARRETO, R. N. *et al.* Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. **Thermochimica Acta**, v. 475, n. 1-2, p. 53-58, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tca.2008.06.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040603108002062>. Acesso em: 7 set. 2025.

MARTINS, V. C. A.; GOISSIS, G. Colágeno aniônico como matriz para deposição orientada de minerais de fosfato de cálcio. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 6, n. 4, p. 30-37, 2013. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/000916907>. Acesso em: 21 jul. 2025.

MATOS, F. J. A. *et al.* Medicinal plants of Northeast Brazil containing thymol and carvacrol-*Lippia sidoides* Cham. and *L. gracillis* HBK (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 6, p. 666-668, 1999. DOI:

<https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9711990>. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.1999.9711990>. Acesso em: 2 jun. 2025.

MEDEIROS, M. G. F. *et al.* *In vitro* antileishmanial activity and cytotoxicity of *Lippia sidoides* Cham. essential oil. **Parasitology International**, v. 60, n. 3, p. 237-241, 2011. DOI: 10.1016/j.parint.2011.03.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21421075/>. Acesso em: 16 ago. 2025.

MENESES, R. *et al.* Inhibitory effect of essential oils obtained from plants cultivated in Colombia on the *in vitro* replication of the yellow fever virus. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 8, n. 8, p. 1-6, 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1476-0711-8-8>. Acesso em: 3 jul. 2025.

MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982. DOI: 10.1055/s-2007-971236. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2007-971236>. Acesso em: 7 set. 2025.

MONTEIRO, M. V. B. *et al.* Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 378-382, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.036>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17254726/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

MORAIS, S. R. *et al.* Essential oil composition, antimicrobial and pharmacological activities of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) from Sao Goncalo do Abaete, Minas Gerais, Brazil. **Pharmacognosy magazine**, v. 12, n. 48, p. 262-270, 2016. DOI: 10.4103/0973-1296.192197. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5096271/>. Acesso em: 29 jun. 2025.

MOREIRA, C. D. F. **Avaliação da adição de colágeno tipo I e nanopartículas de vidro bioativo a hidrogéis termossensíveis de quitosana para uso na engenharia de tecido**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/items/3f37ee12-087b-4c57-bf30-735a9fef7bc>. Acesso em: 23 jul. 2025.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger** [recurso eletrônico]. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. Disponível em: <https://dokumen.pub/principios-de-bioquimica-de-lehninger-6nbsped-9788582710739-8582710739.html>. Acesso em: 16 jul. 2025.

OLIVEIRA, D. R. *et al.* Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* HBK. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 236-240, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.022>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606000781>. Acesso em: 2 jan. 2025.

OLIVEIRA, M. L. M. *et al.* Topical continuous use of *Lippia sidoides* Cham. essential oil induces cutaneous inflammatory response, but does not delay wound healing process.

Journal of Ethnopharmacology, v. 153, n. 1, p. 283-289, 2014. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.030>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24583105/>. Acesso em: 4 jul. 2025.

PAL, K.; BANTHIA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Polymeric hydrogels: characterization and biomedical applications. **Designed monomers and polymers**, v. 12, n. 3, p. 197-220, 2009.

DOI: <https://doi.org/10.1163/156855509X436030>. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/201234746_Polymeric_Hydrogels_Characterization_and_Biomedical_Applications. Acesso em: 3 ago. 2025.

PAPAIORDANOU, F. *et al.* Colágeno e pele: da estrutura às evidências de sua suplementação oral. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 14, p. e20220110, 2022. DOI:

<http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20191131410>. Disponível em:

<https://www.redalyc.org/journal/2655/265570220031/265570220031.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2025.

PARENTEAU-BAREIL, R.; GAUVIN, R.; BERTHOD, F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. **Materials**, v. 3, n. 3, p. 1863-1887, 2010. DOI:

<https://doi.org/10.3390/ma3031863>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1996-1944/3/3/1863>. Acesso em: 21 jul. 2025.

PASCUAL, M. E. *et al.* *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review.

Journal of Ethnopharmacology, v. 76, n. 3, p. 201-214, 2001. DOI:

[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00234-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00234-3). Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11448540/>. Acesso em: 29 jun. 2025.

PAULA, H. C. B. *et al.* Esferas (beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de *Croton zehntneri* Pax et Hollm. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p. 112-120, 2010. DOI:

<https://doi.org/10.1590/S0104-14282010005000019>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/po/a/BdqvRqww9PdxFBSwqQ8HcB/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 7 set. 2025.

PEPPAS, N. A. *et al.* Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27-46, 2000. DOI:

[https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00090-4](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00090-4). Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641100000904>. Acesso em: 4 ago. 2025.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 7, p. 641-678, 2009.

Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/223454608_Chitin_and_Chitosan_Polymers_Chemistry_Solubility_and_Fiber_Formation. Acesso em: 29 jul. 2025.

PINHEIRO, L. G. **Potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Lippia sidoides* contra bactérias gram-negativas multidroga resistentes**. 2021. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2021. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/62348>. Acesso em: 2 jun. 2025.

REGATTIERI, A. B.; SENA, G. L.; SILVA FILHO, E. A. Preparação e caracterização de emulsões ternárias quitosana/SDS/hexano. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 3, p. 622-633, jan. 2016. DOI: 10.5935/1984-6835.20160047. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/download/1130/733/7892>. Acesso em: 31 jul. 2025.

LARA-RICO, R. L. *et al.* Hidrogeles de colágeno acoplados con hidroxiapatita para aplicaciones en ingeniería tisular. **TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas**, v. 23, e20200224, 2020. DOI: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.224>. Disponível em: <https://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/224>. Acesso em: 17 jul. 2025.

RODRIGUES, N. O. L. **Estudo da liberação controlada de fármacos por hidrogel de PVA/Atapulgita**. 2012. Trabalho de Conclusão de Graduação (Graduação em Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/handle/11422/8918>. Acesso em: 14 jul. 2012.

SACHLOS, E. *et al.* Novel collagen scaffolds with predefined internal morphology made by solid freeform fabrication. **Biomaterials**, v. 24, n. 8, p. 1487-1497, abr. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00528-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00528-8). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961202005288>. Acesso em: 17 jul. 2025.

SÁNCHEZ-CID, P. *et al.* Biocompatible and thermoresistant hydrogels based on collagen and chitosan. **Polymers**, v. 14, n. 2, 272, jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14020272>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/2/272>. Acesso em: 22 jul. 2025.

SÁNCHEZ-MACHADO, D. I. *et al.* Chitosan. In: NABAVI, S. M.; SILVA, A. S. (org.). **Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements**. Academic Press, 2019. cap. 4.2, p. 485-493. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00064-3>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128124918000643>. Acesso em: 25 jul. 2025.

SANTHANAM, R. *et al.* Bovine based collagen dressings in wound care management. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 32, n. 33, p. 48-63, dez. 2020. DOI:10.9734/JPRI/2020/v32i3330949. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Wan-Iryani-Wan-Ismail/publication/346895796_Bovine_Based_Collagen_Dressings_in_Wound_Care_Management/links/5fd1d599a6fdcc697bf2c744/Bovine-Based-Collagen-Dressings-in-Wound-Care-Management.pdf. Acesso em: 7 jul. 2025.

SANTOS, Rajá Vidya Moreira *et al.* Composição química e atividades biológicas do óleo essencial das folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) encontradas no lavrado de Boa Vista-RR. **Caderno Pedagógico**, v. 21, n. 9, p. e7527-e7527, 2024. DOI: <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n9-047>. Disponível em:

<https://ojs.studiespublicacoes.com.br/ojs/index.php/cadped/article/view/7527>. Acesso em: 28 de maio de 2025.

SEVERO, A. M. C. **Hidrogéis de poli (álcool vinílico), quitosana e óleo de melaleuca visando a aplicação como curativo cutâneo**. 2019. Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/25154>. Acesso em: 1 ago. 2025.

SILVA, P. S. L. *et al.* Clinical effect of a gel containing *Lippia sidoides* on plaque and gingivitis control. **European Journal of Dentistry**, v. 7, n. 01, p. 028-034, jan. 2013. DOI: 10.1055/s-0039-1698992. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0039-1698992>. Acesso em: 2 jun. 2025.

SILVA, A. R. S. T. *et al.* Leishmanicidal activity and structure-activity relationships of essential oil constituents. **Molecules**, v. 22, n. 5, 815, maio 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22050815>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/5/815>. Acesso em: 30 mar. 2025.

SILVA, T. L. **Atividade sinérgica do timol e agentes antimicrobianos frente à *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente e seus efeitos sobre a biossíntese de biofilme e piocianina**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/16574>. Acesso em: 4 jul. 2025.

SILVA, G. A. T. **Síntese, caracterização e avaliação antimicrobiana de novos derivados do timol e carvacrol**. 2018. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/19188>. Acesso em: 4 jul. 2025.

SOUSA, B. M. L. *et al.* Óleo essencial nanoformulado de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) como aditivo em silagens consorciadas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 24, e-73623P, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v24e-73623P>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/Ztk8dqcfwzr4ZFHR7xCGdjd/?lang=pt>. Acesso em: 10 jul. 2025.

SUH, J. K. F.; MATTHEW, H. W. T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. **Biomaterials**, v. 21, n. 24, p. 2589-2598, dez. 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00126-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00126-5). Disponível em: <https://www.sciencedirect-com.ez187.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S014296120001265?via%3Dihub>. Acesso em: 27 jul. 2025.

TANGARIFE-CASTAÑO, V. *et al.* Antifungal activity of Verbenaceae and Labiatae families essential oils. **Pharmacologyonline**, v. 1, n. especial, p. 133-145, abr. 2012. Disponível em: <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/server/api/core/bitstreams/d4ace9cd-be3d-4991-af03-ad3f1c1c9fbb/content>. Acesso em: 9 jul. 2025.

TERBLANCHÉ, F. C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae)—a literature review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 5, p. 471-485, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700673>. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.1996.9700673>. Acesso em: 29 jun. 2025.

TIBBITT, M. W.; ANSETH, K. S. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 103, n. 4, p. 655-663, jul. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.22361>. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bit.22361>. Acesso em: 05 ago. 2025.

VALENCIA-LLANO, C. H.; LÓPEZ-TENORIO, D.; GRANDE-TOVAR, C. D. Biocompatibility assessment of two commercial bone xenografts by *in vitro* and *in vivo* methods. **Polymers**, v. 14, n. 13, 2672, 29 jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14132672>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/13/2672>. Acesso em: 30 nov. 2025.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. **Fitoterapia**, v. 81, n. 5, p. 343-349, jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.10.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X09002536>. Acesso em: 3 jul. 2025.

VOLPE-FIX, A. R. *et al.* Essential oil extracted from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) induces cell cycle arrest, apoptosis, and antimigratory effects in melanoma cells. **Chemistry & Biodiversity**, v. 22, n. 1, e202401530, jan. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202401530>. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley-com.ez187.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1002/cbdv.202401530>. Acesso em: 27 maio 2025.

WAHL, D. A.; CZERNUSZKA, J. T. Collagen-hydroxyapatite composites for hard tissue repair. **European Cells and Materials**, v. 11, p. 43-56, 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Jan-Czernuszka/publication/7211694_Collagen-Hydroxyapatite_Composites_for_Hard_Tissue_Repair/links/0c960517e38a15f001000000/Collagen-Hydroxyapatite-Composites-for-Hard-Tissue-Repair.pdf. Acesso em: 21 jul 2025.

WALLACE, D. G.; ROSENBLATT, J. Collagen gel systems for sustained delivery and tissue engineering. **Advanced drug delivery reviews**, v. 55, n. 12, p. 1631-1649, nov. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X03001868>. Acesso em: 28 out. 2025.

WANG, C. *et al.* Procoagulant and antimicrobial effects of chitosan in wound healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, 7067, 29 jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22137067>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/13/7067>. Acesso em: 5 jul. 2025.

WANG, X. *et al.* Synthesis and evaluation of collagen–chitosan–hydroxyapatite nanocomposites for bone grafting. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 89A, n. 4, p. 1079-1087, 15 jun. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32087>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.a.32087>. Acesso em: 21 jul. 2025.

WIEGAND, C.; HIPLER, U. C. Polymer-based biomaterials as dressings for chronic stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**, v. 294, n. 2, p. 1-13, ago. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/masy.200900028>. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley-com.ez187.periodicos.capes.gov.br/doi/pdf/10.1002/masy.200900028>. Acesso em: 31 jul. 2025.

XU, M. *et al.* Preparation of collagen-polysaccharide composite hydrogels and research progress in biomedical applications. **Journal of Biomedical Engineering**, v. 41, n. 6, p. 1286-1292, dez. 2024. DOI: 10.7507/1001-5515.202407008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40000221/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

YANG, W. *et al.* Preparation of polymer composites with electrostatic spinning promotes wound regeneration: A review. **AIP Advances**, v. 14, n. 9, 090701, set. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0215772>. Disponível em: <https://pubs.aip.org/aip/adv/article/14/9/090701/3311242>. Acesso em: 24 mar. 2025.

YOUSSEFI, M. R. *et al.* *In vitro* and *in vivo* effectiveness of carvacrol, thymol and linalool against *Leishmania infantum*. **Molecules**, v. 24, n. 11, 2072, maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24112072>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2072>. Acesso em: 20 set. 2025.

ZAPATA, B. *et al.* Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. **Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud, Bucaramanga**, v. 41, n. 3, p. 215-222, set./dez. 2009. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-08072009000300002&script=sci_arttext. Acesso em: 2 jul. 2025.

ZIAEE, M.; MOHARRAMIPOUR, S.; MOHSENIFAR, A. Toxicity of *Carum copticum* essential oil-loaded nanogel against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. **Journal of Applied Entomology**, v. 138, n. 10, p. 763-771, dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/jen.12133>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jen.12133>. Acesso em: 7 jul. 2025.