

## AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MECÂNICAS DE BIOMEMBRANAS DE LÁTEX NATURAL COM EXTRATO VEGETAL

K. M. Romeira\*, F. A. Borges\*\*, N. R. Barros\*\*, J. L. F. Cinman\*, R. G. da Silva\* e R. D. Herculano\*

\*Faculdade de Ciências e Letras de Assis - UNESP, Assis, Brasil

\*\*Instituto de Química de Araraquara - UNESP, Araraquara, Brasil

e-mail: rond@assis.unesp.br

**Resumo:** Biomembranas feitas de látex natural têm se mostrado promissoras em aplicações médicas devido as suas propriedades físico-químicas, mecânicas. Além disso, este material é biocompatível, estimula a angiogênese e é utilizado como suporte para sistema de liberação controlada (SLC) de fármacos e compostos bioativos. *Stryphnodendron* sp, conhecido popularmente como "barbatimão", pertencente à família Fabaceae é uma espécie típica do Cerrado brasileiro, com grande distribuição, sendo empregado na medicina popular principalmente devido às suas propriedades adstringentes e cicatrizantes e como agente anti-inflamatório. As biomembranas foram confeccionadas via casting, sendo analisadas amostras de biomembranas no MEV, FTIR e ensaios mecânicos. O estudo demonstrou que o perfil de liberação estabelecido pelo látex com o extrato vegetal é uma liberação mais intensa nas primeiras horas, que devido à liberação do extrato presente na superfície da biomembrana e de uma liberação mais prolongada nas demais horas. A análise do FTIR possibilitou observar que o espectro apresentado pela associação das três substâncias mostra uma soma dos picos característicos de cada componente em separado. Assim, conforme previsto foi possível concluir que a associação dessas substâncias não altera suas conformações químicas. Portanto, é possível afirmar que o SLC de *Stryphnodendron* sp., propanodiol e látex é viável e mantém a integridade química de todos os componentes.

**Palavras-chave:** látex natural, *Stryphnodendron* sp, resistência mecânica

**Abstract:** Natural rubber latex (NRL) from *Hevea brasiliensis* has showed interesting biomedical properties as improving wound healing, cell adherence, tissue formation, and angiogenesis. It is used for biosynthesis of nanoparticles, sensors and prosthesis and for drug delivery systems (for drugs, plant extracts, and nanoparticles). To enhance its wound healing properties was incorporated *stryphnodendron* sp extract, whose pharmacological activity includes anti-inflammatory, antiulcer. Results showed the prolonged release of *stryphnodendron* sp for up 400 hours. Although SEM shows different sizes of clusters at the surface, the release is homogeneous through the biomembrane. The addition of extract to NRL biomembrane had influence in mechanical behavior of NRL, the new material have become stiffer and brittle,

*with a smaller plastic deformation (less ductile).*

**Keywords:** natural latex, *stryphnodendron* sp, mechanical resistance.

### Introdução

A importância dos sistemas de liberação de princípios ativos advém do fato que raramente um fármaco veiculado em solução aquosa, ou numa forma convencional, consegue atingir um alvo específico no organismo em concentrações adequadas para provocar o efeito terapêutico esperado [1]. Isso pode ser facilmente entendido quando se verifica que entre o local de administração do fármaco e o órgão ou tecido alvo, se interpõe uma série de obstáculos de naturezas diversas (anatômicos, químicos e biológicos).

A liberação controlada de fármacos é um tópico importante para várias iniciativas devido ao possível impacto para a sociedade, com a criação de sistemas otimizados que garantam a liberação num sítio específico e a uma taxa controlada. Dentre os vários paradigmas de liberação controlada destaca-se o uso de sistemas liberadores de drogas sustentados em materiais poliméricos [1]. Entretanto, existem limitações nos sistemas carreadores existentes, como por exemplo, o tempo de reabsorção do carreador. Desta forma, surge a necessidade da confecção de um sistema de liberação controlada (SLC) eficaz que provenha a liberação de fármacos no sítio alvo por períodos prolongados de tempo com uma dose apropriada. O látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* está sendo utilizado como matriz para um "novo" SLC e tem se mostrado promissor em aplicações biomédicas [2].

A seringueira *Hevea brasiliensis* é uma árvore extensivamente cultivada no sudeste da Ásia, no entanto é nativa da bacia do rio Amazonas, no Brasil. A borracha natural é um material de elevado valor econômico para a indústria, principalmente a automobilística, devido a suas características físicas, como elasticidade, plasticidade, resistência ao desgaste (fricção) e propriedades de isolamento elétrico.

O látex extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* tem se mostrado promissor em aplicações biomédicas. Biomembranas feitas deste material têm sido usadas como próteses e enxertos médicos devido a suas características de bio-compatibilidade e estímulo natural a angiogênese [1,2]. O látex da seringueira *Hevea brasiliensis* forma um sistema coloidal polifásico e

polidisperso. Depois de centrifugado, o látex é formado por três componentes fundamentais: hidrocarboneto isoprenico, soro e fração de fundo.

Romeira et al (2012) [1], Borges et al (2014)[2] e Aiello et al (2014) [3] mostraram que o látex natural é um material biocompatível com inúmeras aplicações. Ele apresenta alta resistência mecânica e baixo custo. Por essas razões, o látex é um excelente candidato como matriz sólida para liberação controlada.

Novas pesquisas também apontam a utilização da biomembrana de látex em osteoporose na odontologia, na reconstituição da face e próteses, na reconstrução do esôfago de cães, e na sustentação como substituto de bainha muscular por possuir resistência mecânica suficiente.

Somado a isso, surge a possibilidade em utilizar este material na liberação de fármacos e extratos vegetais. Estes últimos, possuem atividade cicatrizante e/ou antiinflamatória. Diante disso, sabe-se que os processos de cicatrização e reparo tecidual ocorrem após trauma ou doença e sua reestruturação constituem mecanismo complexo e para isso se tem intensificado a pesquisa de produtos naturais para auxiliar a cicatrização. Espécies do gênero *Stryphnodendron* destacam-se devido aos inúmeros relatos e trabalhos científicos realizados sobre a capacidade cicatrizante e antiinflamatória.

*Stryphnodendron* sp. popularmente conhecidos como “barbatimão”, pertencente à família Fabaceae, são típicas do bioma cerrado. Apresentam grande distribuição, sendo empregado na medicina popular principalmente devido às suas propriedades adstringentes e cicatrizantes e como agente antiinflamatório. Essas atividades estão diretamente associadas aos elevados teores de taninos, além de flobafenos e glicídios solúveis.

As cascas da *Stryphnodendron* sp., especificamente, possuem teores de taninos e polifenóis na ordem 20%. Seu extrato é rico em taninos condensados, os quais são reconhecidamente ativos em processos de regeneração de tecidos da pele. Estudos pré-clínicos com animais validaram a ação cicatrizante de *Stryphnodendron* sp. e, adicionalmente, a atividade anti-inflamatória foi confirmada em modelos experimentais de inflamação subaguda e crônica.

Assim, a agregação de *Stryphnodendron* sp. no látex natural promove uma maior interação biomembrana-extrato, para otimização nos processos de cicatrização tecidual, garantindo também uma ação antiinflamatória localizada e evitando demais complicações recorrentes desse processo.

## Materiais e métodos

O látex utilizado foi adquirido na fazenda de seringueiras *Hevea brasiliensis*, comercializado por **BDF Látex** (Produtor e Distribuidor de látex natural), em Guarantã-SP. Depois da extração, utilizou-se amônia para manter o látex líquido, e este material foi centrifugado a 8000g por 2 horas[1]. A centrifugação é

importante, pois reduz algumas proteínas contidas no látex natural que causam reações alérgicas[2].

As partes vegetais (cascas) de *Stryphnodendron* sp. foram coletadas na região de cerrado do Vale do Paranapanema, e processadas no laboratório de Física, Biofísica e Biomateriais da UNESP - Campus de Assis. Os materiais vegetais foram selecionados e secados secos em estufa de ar corrente até alcançarem uma propriedade organoléptica própria para serem triturados e pulverizados. A extração foi realizada por maceração dinâmica durante 24 horas em solução de etanol/água a 70%. O extrato assim obtido foi filtrado e a partir dos resíduos foram feitas duas repetições de extração a cada 24 horas. Os extratos hidro-alcoólicos foram reunidos e o etanol evaporado até a secura, obtendo-se o extrato em pó.

A biomembrana de látex foi fabricada depositando 2 mL de látex; enquanto a biomembrana de látex com extrato foi fabricada por duas metodologias: depositando 2 mL de látex acrescidos de 2 mL de extrato de *Stryphnodendron* sp. (10 mg/mL) em solução aquosa; e depositando 2 mL de látex acrescidos 2 mL de extrato de *Stryphnodendron* sp. (10 mg/mL) umectado em propanodiol Zemea® e diluído em água. As biomembranas foram confeccionadas por casting.

Estas biomembranas, após secas, foram colocadas em béqueres distintos com 200 mL de água para teste de liberação estática. Para minimizar a interferência de contaminantes fúngicos, azida sódica (NaN<sub>3</sub>), marca: Dinâmica® foi acrescentada em uma proporção 0,05% v/v.

O comportamento da liberação foi observado retirando alíquotas da solução (na qual a biomembrana estava presente) durante 400 horas. A liberação do *Stryphnodendron* sp. foi caracterizada empregando a técnica por espectroscopia por UV-VIS utilizando um equipamento BEL ENGINEERING®, modelo LGS 53, Itália.

Com o interesse de obter maiores informações da morfologia (superfície) das biomembranas de látex e biomembranas de látex com extrato, usou-se o MEV, equipamento ZEISS, modelo EVO 50®(15KV), Alemanha. O MEV é o instrumento mais versátil para avaliação, exame e análise das características microestruturais de amostras biológicas e não-biológicas. As superfícies para análise foram obtidas através de amostras isoladas de extrato e das biomembranas de látex, látex com extrato e látex com extrato e propanodiol.

A técnica de FTIR foi utilizada para determinar os grupos funcionais presentes em um material. Como cada grupo absorve a radiação infravermelha em uma frequência característica, é possível inferir se está ocorrendo alguma interação química entre os materiais ou não. As amostras foram caracterizadas por FTIR utilizando o equipamento BRUKER®, modelo TENSOR 27, Alemanha. O teste foi realizado a fim de verificar as interações existentes nos componentes isolados - látex, extrato vegetal e propanodiol - e as possíveis interações entre eles nas biomembranas.

Os ensaios de tração foram realizados de acordo com a Norma ASTM-D-638 em uma Máquina de Ensaio Mecânico EMIC®, modelo DL-2000, Brasil. O equipamento é acompanhado do programa TESC® que retorna a curva de resposta força versus deformação de cada corpo de prova. Nesse ensaio foram verificadas as propriedades de resistência à tração, alongamento e módulo de elasticidade. As biomembranas foram confeccionadas e então tensionadas até sua ruptura.

## Resultados

A Figura 1 mostra a curva de liberação da membrana de *Stryphnodendron sp.* diluído em água ( $R^2=0,9879$ ). No detalhe, observa-se o espectro de liberação da membrana de *Stryphnodendron sp.* diluído em água.

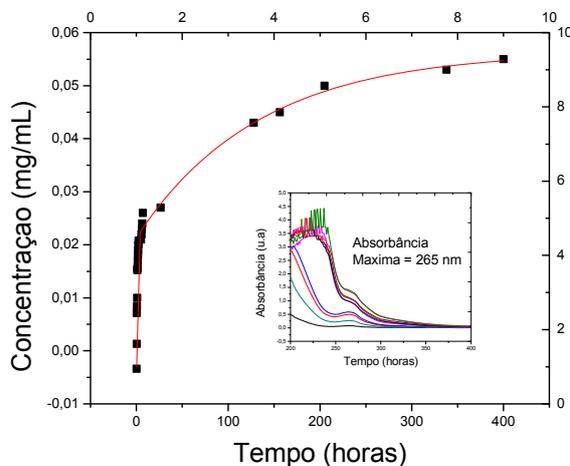


Figura 1: Perfil da liberação do extrato pela biomembrana de látex

A Figura 2 mostra o perfil da curva de liberação da membrana de *Stryphnodendron sp.* umectado em propanodiol e diluído em água ( $R^2=0,9809$ ). No detalhe: espectro de liberação da membrana de *Stryphnodendron sp.* umectado em propanodiol e diluído em água.

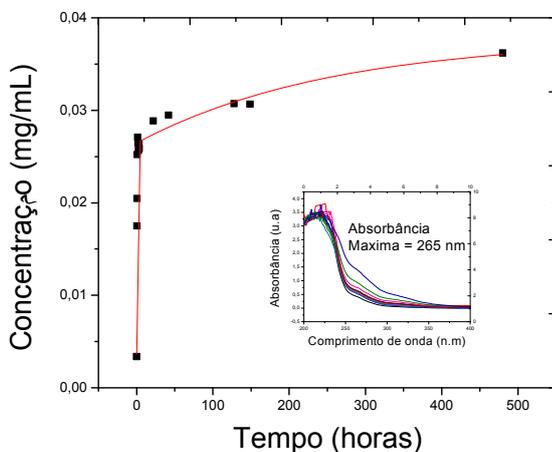


Figura 2: Perfil da liberação do extrato umedificado com propanodiol

A Figura 3A mostra o grão do extrato vegetal e a Fig. 3B mostra a biomembrana com extrato vegetal de *Stryphnodendron sp.*

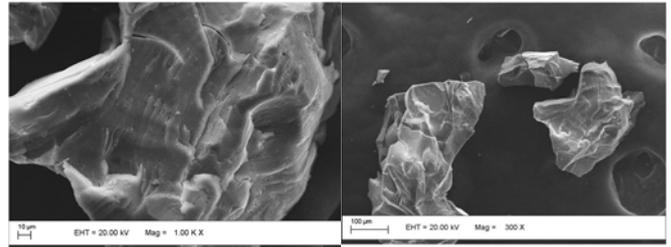


Figura 3: a-) extrato vegetal, b-) látex + extrato vegetal

A Figura 4 mostra a curva tensão versus deformação dos ensaios mecânicos realizados nas amostras de Látex, Látex e *Stryphnodendron sp.* e Látex e *Stryphnodendron sp.* com propanodiol. No detalhe, observa-se a parte linear da curva Tensão versus Deformação.

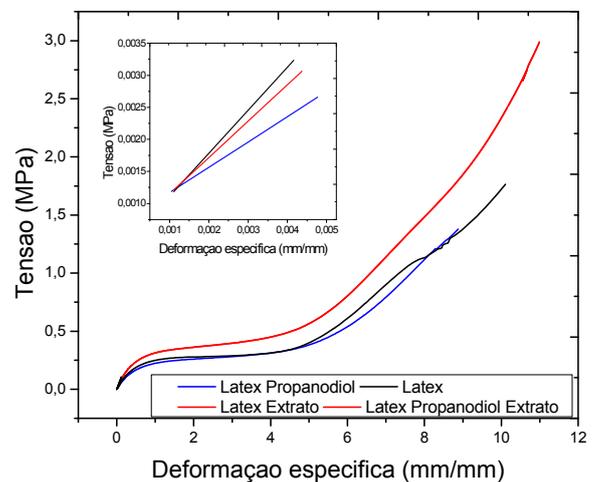


Figura 4: Ensaio de resistência mecânica das biomembranas de látex natural

## Discussão

Nas figuras 1 e 2, é possível observar que a liberação nas biomembranas incorporadas com extrato vegetal e a incorporadas com extrato vegetal e propanodiol, a obedecem a uma função bi-exponencial, como já demonstrado por Romeira et al (2012) e Borges et al (2014) [1-2]. Desta forma, temos dois tipos de liberação na matriz polimérica, uma mais rápida e outra mais lenta. A liberação mais intensa nas primeiras horas é devido ao extrato presente na superfície da biomembrana e a liberação mais lenta, ocorre devido ao extrato presente no interior da biomembrana.

A partir destas curvas de liberação é possível calcular a quantidade de extrato liberado pela membrana, a partir do valor da concentração no último ponto da liberação multiplicando pelo volume total do fluido. Para a biomembrana de látex incorporado com extrato vegetal diluído em solução aquosa, 11 mg (Concentração=0,055 mg/mL e 200 mL), ou seja, 55%

do extrato total foi liberado, enquanto para a biomembrana de látex com extrato vegetal umectado com propanodiol, 7,24 mg (Concentração=0,036 mg/mL e 200 mL), ou seja, 36% do extrato total presente no polímero foi liberado.

Ao agregar o extrato de *Stryphnodendron* sp. no látex observou-se uma diminuição considerável no alongamento e um aumento na tensão de ruptura, quando comparado com a amostra de látex (sem extrato e sem umectante) (Tabela I). Já para a biomembrana de látex incorporada com propanodiol, observou-se um aumento da elasticidade e da tensão de ruptura quando comparado com o látex (apenas). Finalmente, a biomembrana de látex incorporada com extrato vegetal e propanodiol obteve a mesma elasticidade da biomembrana de látex e propanodiol; e com alongamento e tensão de ruptura superiores a todas as outras biomembranas.

Tabela I: Resultados dos ensaios mecânicos das biomembranas de: A) Látex, B) Látex e extrato de *Stryphnodendron* sp., C) Látex e propanodiol e D) Látex e extrato de *Stryphnodendron* sp. com propanodiol.

	Módulo de Young (MPa)	Alongamento (%)	Tensão de ruptura (MPa)
A	0,49	960,9 ± 108,0	1,072 ± 0,19
B	0,62	904,0 ± 89,57	1,840 ± 0,67
C	0,42	920,6 ± 34,55	2,082 ± 0,12
D	0,62	1075,0 ± 30,27	3,009 ± 0,26

Abhilash et al (2009) [4], em estudos sobre os efeitos de glicóis relatou que a adição destes compostos em elastômeros causam um aumento da tensão, o que pode ser devido a um maior número de ligação de hidrogênio, por conta do aumento dos átomos de oxigênio nas unidades de repetição dos glicóis.

Enquanto Jia et al (2014) [5] mostrou que a resistência à tração diminui gradualmente à medida que o conteúdo de glicol aumenta. Além disso, o alongamento do elastômero aumenta com o aumento do teor de glicol. Isso porque a adição de 1,2-propanodiol reduziu a densidade de ligações cruzadas e a flexibilidade de elastômeros.

## Conclusão

Os resultados demonstraram que a biomembrana de látex é viável para a liberação de extrato de *Stryphnodendron* sp. As análises de MEV mostrou o extrato na superfície da membrana, sendo responsável pela liberação mais rápida. Além disso, observamos que 55% do total de extrato incorporado na biomembrana foi liberado em 400 horas. Na análise de FTIR é observamos apenas um aumento das ligações de hidrogênio. Assim, não houve modificação no espectro

do látex natural quando foi incorporado com os outros compostos.

Em relação à resistência mecânica, se observou que o emprego do propanodiol como umectante aumentou a porcentagem de alongamento e a tensão de ruptura. Adicionalmente, com a incorporação deste umectante na biomembrana incorporada com extrato, constatamos uma velocidade inicial de liberação menor, onde 33% do extrato total incorporado na biomembrana foi liberado em 400 horas.

Em resumo, o presente trabalho demonstrou ser possível produzir biomembranas de látex, propanodiol e extrato de *Stryphnodendron* sp. para aplicações biomédicas (cicatrizantes) e mantendo a integridade química de todos os seus componentes com resultados satisfatórios[6-8].

## Agradecimentos

Agradecimentos à FAPESP (Processos 2011/17411-8 e 2011/06856-9 e CNPq (Processos 2013/26016 e 470261/2012-9).

## Referências

- [1] Romeira KM, Drago BC, Murbach HD, Aiello PB, Silva RMG, Brunello CA, Herculano RD. Evaluation of *Stryphnodendron* sp. Release Using Natural Rubber Latex Membrane as Carrier. **Journal of Applied Sciences**. 2012; 12: 693-697.
- [2] Borges FA, Bolognesi LFC, Trecco A, Drago BC, Arruda LB, Lisboa Filho PN, Herculano RD, et al. Natural Rubber Latex: Study of a Novel Carrier for *Casearia Sylvestris* Swartz Delivery. **ISRN Polymer Science**. 2014; 2014: 1-5.
- [3] Aiello PB, Romeira KM, Borges FA, Drago BC, Herculano RD. Evaluation of sodium diclofenac release using natural rubber latex as carrier. **Materials Research**. 2014; 17: 146-152.
- [4] Abhilash G, Sabharwal S, Dubey A, Paul J, John H, Joseph R. Preparation of Low-Protein Natural Rubber Latex: Effect of Polyethylene Glycol. **Journal of Applied Polymer Science**. 2009, 114(2): 806-810.
- [5] Jia L, Wei Z, Ping P, Xiaojun S, Yanfei Z. Synthesis and Characterization of Poly(1,2-propanediol-co-1,8-octanediol-co-citrate) Biodegradable Elastomers for Tissue Engineering. **Bio-Medical Materials and Engineering**. 2014; 24: 619-624.
- [6] Herculano RD, Brunello CA, Graeff CFO. Solid State Nitric Oxide Sensor Using a Latex Rubber Matrix. **Macromolecular Symposia**. 2006; 245: 529-532.
- [7] Herculano RD, Brunello CA, Graeff CFO. Optimization of a Novel Nitric Oxide Sensor Using a Latex Rubber Matrix. **Journal of Applied Sciences**. 2007; 7: 3801-3805.
- [8] Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 2009, 84: 257-262.