



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS**

FRANCISCA ESTRELA DANTAS MAROJA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA
COM Aloe vera**

Campina Grande

2013

FRANCISCA ESTRELA DANTAS MAROJA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA
COM Aloe vera**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, Área de Concentração: Polímeros, como exigência final para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande

2013



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCC

M354p

Maroja, Francisca Estrela Dantas.

Produção e caracterização de membranas de quitosana com *aloe vera* /
Francisca Estrela Dantas Maroja. -- 2013.

50 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e
Tecnologia.

"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook".

Referências.

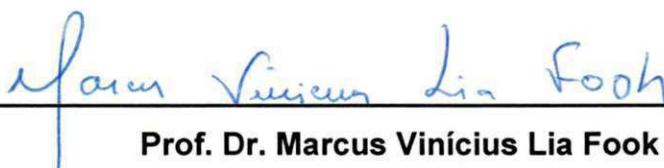
1. Quitosana. 2. *Aloe Vera*. 3. Biomaterial. 4. Membranas.
5. Curativos. I. Fook, Marcus Vinícius Lia. II. Título.

CDU 577.114.4(043)

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA
COM Aloe vera**

FRANCISCA ESTRELA DANTAS MAROJA

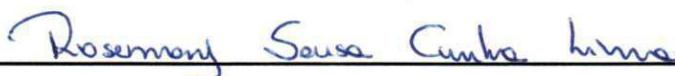
Dissertação aprovada em 23 de agosto de 2013 pela banca constituída pelos seguintes membros:



Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook
(Orientador - UFCG)



Profa. Dr.ª. Maria Roberta de Oliveira Pinto
(Examinadora Externa - UEPB)



Profa. Dr.ª. Rosemary Sousa Cunha Lima
(Examinadora Externa - UEPB)

Campina Grande
2013

A minha Mãe Antonieta (in memórian), por ter sido a minha maior incentivadora em todos os momentos de minha vida, pela mãe guerreira e heroína que foi e pelo seu amor incondicional. Ao meu esposo Flavio (in memórian), meu companheiro, meu amigo e o grande amor da minha vida, minha eterna saudade. A minha sogra Antonieta Maroja (in memórian) que me serviu de exemplo para a minha caminhada, e ao meu Pai João Rodrigues a quem chamo carinhosamente de Vei João, por ser um pai herói, guerreiro e meu exemplo de vida. Dedico.

Para Sempre

Por que Deus permite
que as mães vão-se embora?

Mãe não tem limite,
é tempo sem hora,
luz que não apaga
quando sopra o vento
e chuva desaba,
veludo escondido
na pele enrugada,
água pura, ar puro,
puro pensamento.

Morrer acontece
com o que é breve e passa
sem deixar vestígio.

Mãe, na sua graça,
é eternidade.

Por que Deus se lembra
- mistério profundo -
de tirá-la um dia?

Fosse eu Rei do Mundo,
baixava uma lei:

Mãe não morre nunca,
mãe ficará sempre
junto de seu filho
e ele, velho embora,
será pequenino
feito grão de milho.

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

A quitosana é considerada não tóxica, não alergênica, biodegradável, biofuncional e biocompatível, além de favorecer a reconstituição fisiológica da pele, razão pela qual é estudada para aplicação no tratamento de úlceras. As propriedades já existentes da quitosana podem ser potencializadas pela adição do gel de Aloe vera. Esta é uma planta conhecida popularmente por babosa e muito utilizada como curativo. Desta forma, este trabalho tem como objetivo preparar e caracterizar membranas de quitosana com Aloe-vera para possível aplicação em úlceras. Membranas de Quitosana, Quitosana/Aloe vera (90/10) %, Quitosana/Aloe vera (70/30) % e Quitosana/Aloe vera (50/50) %, foram preparadas pelo método de evaporação do solvente, neutralizadas e caracterizadas por DRX, FTIR, MEV, EDS, Tensão superficial por medidas do ângulo de contato, Intumescimento e Citotoxicidade. No ensaio de DRX foi observado que as membranas compostas apresentaram uma tendência ao perfil de um material amorfo provocada pela adição da Aloe vera. No FTIR observa-se que todos os componentes apresentam grupos funcionais semelhantes. No MEV foi possível comprovar a presença de fases dos dois componentes usados para obtenção dos compostos. As membranas de Quitosana com Aloe vera também apresentaram menor hidrofiliabilidade, porém com maior capacidade de intumescimento, além da viabilidade celular. Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que é possível sintetizar compostos de Quitosana com Aloe vera com propriedades adequadas para utilização como curativos, pois as membranas hidrofílicas irão permitir maior absorção de exsudado.

Palavras-chave: Quitosana; Aloe vera; biomaterial; membranas; curativos.

ABSTRACT

Chitosan is a non-toxic, non-allergenic, biodegradable, biofunctional and biocompatible material which also aids in skin physiological reconstitution processes. For this reason, its properties are intensively studied in order for chitosan to be used in ulcer treatments. Chitosan's properties are intensified with the addition of Aloe Vera gel - Aloe Vera is a plant known for its healing and soothing properties. This project's goal is to prepare and characterize chitosan-Aloe Vera membranes meant to be used in ulcer treatments. Chitosan-Aloe Vera membranes (90/10%; 70/30%; 50/50%) as well as chitosan membranes went through XRT, FTIR, SEM, EDX, Tensile stress and Cytotoxicity tests, and the solvent evaporation technique had been used in their preparation. They had also been neutralized. It was noticed in the XRT test that the addition of Aloe Vera led to the appearance of amorphous phases. The FTIR results showed that both the chitosan and the Aloe Vera had similar functional groups. With the aid of the SEM, both components' phases could be observed. The chitosan-Aloe Vera membranes were less hydrophilic, even though they were capable of absorbing more water – and thus swelling. Based on the results, it was concluded that it is possible to synthesize chitosan-Aloe Vera membranes with good healing properties, given that the hydrophilic membranes will enable a greater absorption of exudate.

Keywords: Chitosan; Aloe Vera; biomaterial; membranes

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Å – angstrons

ASTM – International develops international standards for materials

CERTBIO – Laboratório de Desenvolvimento e Avaliação de Biomateriais

cm – centímetros

ISO – International Organization for Standardization

kV – quilovolts (tensão)

mA – miliampérs (corrente)

m_f – massa intumescida

m_i – massa inicial

MTT – brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio

NBR – norma brasileira

pH – potencial hidrogeniônico

UAEMA – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura química da quitina e da quitosana.....	19
Figura 2 Fotografia da planta da Aloe vera.....	21
Figura 3 Ilustração mostrando as diferentes camadas da pele.....	24
Figura 4 Esquema simplificado de uma secção transversal da epiderme	24
Figura 5 Esquematização do processo de cicatrização.....	28
Figura 6 Coeficiente de detecção, geral e em menores de 15 anos de hanseníase, Brasil, 2003 a 2011.....	30
Figura 7 Coeficiente de prevalência de hanseníase por municípios, Brasil, 2011	31
Figura 8: Difratoograma de raios X das membranas de quitosana, de Aloe-vera e das membranas de quitosana com diferentes proporções de Aloe-vera	36
Figura 9: FTIR: Espectroscopia das Membranas de Aloe-vera e de quitosana sem e com Aloe-vera.....	37
Figura 10: a) Estrutura da quitosana, b) estrutura do Acemannam.	38
Figura 11: Microscopia Eletrônica de Varredura das membranas de Aloe-vera de quitosana e de quitosana com diferentes proporções de Aloe-vera. Aumento de 1500X.....	39
Figura 12: Resultado de EDS com a composição química das membranas de Aloe vera e de quitosana sem e com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe vera.....	40
Figura 13: Resultado de Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato das membranas de quitosana sem e com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe vera.	41
Figura 14: Resultado do Ensaio de Intumescimento das membranas de Aloe vera e de quitosana sem e com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe vera.....	42
Figura 15: Resultado do Ensaio de Viabilidade Celular de Aloe vera e de quitosana sem e com diferentes proporções (10% e 50%) de Aloe vera.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Bandas de absorção no FTIR dos pós das quitosanas com GD de 90%	38
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	4
2 OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo Geral.....	6
2.2 Objetivos Específicos	6
3 REVISÃO DA LITERATURA	7
3.1 Biomaterial.....	7
3.2 Quitosana	18
3.3 Aloe vera.....	21
3.4 Pele	23
3.5 Curativos.....	26
3.6 Úlceras	27
3.7 Hanseníase.....	29
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 Materiais	32
4.2 Métodos.....	32
4.2.1 <i>Preparação das Membranas de Quitosana pura e Quitosana com Aloe vera</i>	32
4.3 Caracterização.....	33
4.3.1 <i>Difração de raios X (DRX)</i>	33
4.3.2 <i>Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	33
4.3.3 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>	34
4.3.4 <i>Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)</i>	34
4.3.5 <i>Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato</i>	34
4.3.6 <i>Ensaio de Intumescimento</i>	34
4.3.7 <i>Ensaio de Citotoxicidade</i>	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 <i>Difração de raios X (DRX)</i>	36
5.2 <i>Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	37
5.3 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>	39
5.4 <i>Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X (EDS)</i>	40

5.5 Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato.....	41
5.6 Ensaio de Intumescimento.....	41
5.7 Ensaio de Citotoxicidade	43
6 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da desacetilação da quitina, por hidrólise dos grupos acetamida. Em função da variação da concentração da base e das temperaturas usadas no processo de desacetilação, é possível obter quitosana com diferentes graus de acetilação e diferentes massas moleculares, sendo estes fatores extremamente importantes no que diz respeito às suas propriedades funcionais (EMBUSCADO; HUBER, 2009).

As potenciais aplicações da quitosana estendem-se as áreas das ciências dos materiais, biotecnologia, terapia genética, farmacêutica, medicina, entre outras (PRASHANTH; THARANATHAN, 2007, SENEL; MCCLURE, 2004).

Biomateriais de quitosana também têm sido considerados como acelerador da reparação tecidual, capazes de aumentar a produção de matriz extracelular através do aumento de produção de fatores de crescimento. Também acelerariam a infiltração de linfócitos polimorfonucleares nas fases iniciais de cicatrização tecidual, aumentando consideravelmente a osteopontina, uma fosfoproteína capaz de aumentar a ligação celular na ferida em cicatrização (UENO et al., 2001). Algumas das propriedades da quitosana podem ser potencializadas quando associadas às propriedades da Aloe vera.

A Aloe-vera L. (*Aloe barbadensis* Miller), é uma planta suculenta perene, que desenvolve um tecido de armazenamento de água no interior das folhas, verdes e túrgidas, para sobreviver em zonas áridas de pluviosidade baixa ou irregular. As células do parênquima contêm no seu interior uma substância mucilagínosa transparente (FEMENIA, et al., 1999). É natural do norte da África, apresenta-se como uma espécie de cacto de cor verde, que possui inúmeras propriedades medicinais. Seus benefícios incluem: ação nutritiva - estimula a formação das células e dos tecidos, pois possui 18 dos 23 aminoácidos necessários para o organismo humano; ação regeneradora - contribui para a eliminação de células antigas e a formação de células novas; ação hidratante - Aloe Vera possui um gel que restaura tecidos danificados e hidrata a pele; ação digestiva - aloe Vera possui enzimas que facilitam a digestão; ação anti-inflamatória - Possui propriedades que auxiliam no tratamento de inflamações, queimaduras e infecções. A ação anticancerígena ocorre porque a planta

também possui a capacidade de parar o crescimento do tumor, quando utilizada como forma terapêutica complementar (MELO; IGLESIAS, 2013).

A glicoproteína 5.5 kDa que foi isolado de *A. vera* mostrou o aumento na migração celular e cicatrização acelerada em uma monocamada dos queratinócitos humanos. O efeito curativo da ferida e a melhora da proliferação das células dessa fração glicoproteína foram confirmados em camundongos sem pêlo (CHOI, et al., 2001).

Com base no exposto esse trabalho tem como objetivo obter e caracterizar membranas de quitosana com *Aloe-vera* para possível aplicação em úlcera.

No Brasil, as úlceras constituem um sério problema de saúde pública, em razão do grande número de pessoas com alterações na integridade da pele, embora sejam escassos os registros desses atendimentos. O elevado número de pessoas com essas lesões contribui para onerar o gasto público. Além do sofrimento das pessoas e a interferência na sua qualidade de vida.

Entre os diversos tipos de úlceras, as mais freqüentemente encontradas nos serviços de saúde são as úlceras venosas, as arteriais, as hipertensivas, as úlceras por pressão, as neurotróficas e o pé diabético. As úlceras são geralmente de longa evolução e de resposta terapêutica variável. Dentre estas, destacam-se as neurotróficas, comuns em algumas patologias que acometem o sistema nervoso periférico, como a hanseníase, o alcoolismo e o diabetes mellitus, considerados agravos de alta prevalência no Brasil.

Úlceras são interrupções na solução de continuidade aguda ou crônica do tecido cutâneo-mucoso ou alterações na estrutura anatômica e/ou função fisiológica dos tecidos afetados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Desta forma, o estudo da quitosana associada à *Aloe vera* poderá oferecer uma alternativa no tratamento de úlceras com a obtenção de curativos de baixo custo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Obter e caracterizar membranas de quitosana com Aloe-vera para possível aplicação em úlceras.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir membranas de quitosana sem e com Aloe vera;
- Estudar as características físico-químicas e morfológicas;
- Avaliar o grau de Intumescimento das mesmas;
- Avaliar a citotoxicidade das membranas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Biomaterial

Biomaterial é um material desenvolvido com o propósito de interagir com a interface de sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função no corpo humano, produzido ou modificado artificialmente. Deve apresentar características e propriedades tais como biocompatibilidade, biofuncionalidade e não deve alterar o meio biológico nem reagir com o sangue (HENCH, 1998).

Os biomateriais são utilizados desde as civilizações mais antigas. Chineses e indianos já usavam ceras, resinas e tecidos para reconstruir partes perdidas ou defeitos do corpo. Ao longo dos séculos, avanços nos tipos de materiais sintéticos, técnicas cirúrgicas e métodos de esterilização vêm permitindo o uso de biomateriais em partes do corpo não visualizadas até então. De acordo com a origem, eles são classificados em sintéticos e naturais. Estes últimos podem ainda ser classificados como autógenos; homogêneos e heterogêneos (SCHILLING et al., 2004; VESELY, 2003).

Atualmente os biomateriais têm vastas aplicações como biosensores, implantes, liberação controlada de drogas, lentes intraoculares, etc. A cada ano são desenvolvidos novos biomateriais com o intuito de oferecer outras opções de tratamento para diversas enfermidades. Porém, devido à mudança no conceito de desenvolvimento de biomateriais, a maioria dos novos materiais é voltada para regeneração tecidual. Eles também devem ser susceptíveis aos processos de esterilização, sem que o mesmo não altere as propriedades físico-químicas do material (SAN ROMÁN; REIS, 2004).

Dentre as diversas classes de biomateriais existentes, destaca-se a classe dos bioreabsorvíveis. A capacidade de reabsorção de um biomaterial está relacionada com a biocompatibilidade apresentada pelo mesmo. A biocompatibilidade é a capacidade de o material apresentar resposta apropriada, quando aplicado, não causando reação inflamatória crônica, reação de corpo estranho ou mesmo toxicidade. Ela gira em torno da interação celular com o biomaterial. Sendo o material ideal para executar a função desejada, aquele que eventualmente desaparece (reabsorve), sendo substituído por

tecido natural. Deste modo, polímeros biodegradáveis são de grande interesse para a comunidade da engenharia biomédica (SANTOS JÚNIOR; WADA, 2007).

A evolução atual dos biomateriais depende dos avanços das diversas áreas, de maneira global da biotecnologia e da ciência dos materiais. O desenvolvimento destes envolve também profissionais de diferentes áreas da ciência, portanto, a multidisciplinaridade é fundamental neste processo (HENCH, 1998; RATNER et al., 1996).

Um dos desafios no campo de biomateriais é que todos os dispositivos de implantes substituem tecidos vivos cujas propriedades físicas são resultado de milhões de anos de otimização evolutiva, e que têm a capacidade de crescimento, regeneração e reparo. Assim, todos os biomateriais usados para reparo ou restauração do corpo representam um ajuste de características e de propriedades. O sucesso ou fracasso relativo de um biomaterial reflete o julgamento científico e de engenharia usados na avaliação deste ajuste. A interação de muitos e complexos fatores físicos, biológicos, clínicos e tecnológicos devem ser considerados (OREFICE et al., 2006).

Biomateriais à base de quitosana são uma realidade na área da saúde, e sua aplicação vem sendo estudada em vários campos, desde a indústria farmacêutica, até a engenharia tecidual (SPIN-NETO et al., 2008).

3.2 Quitosana

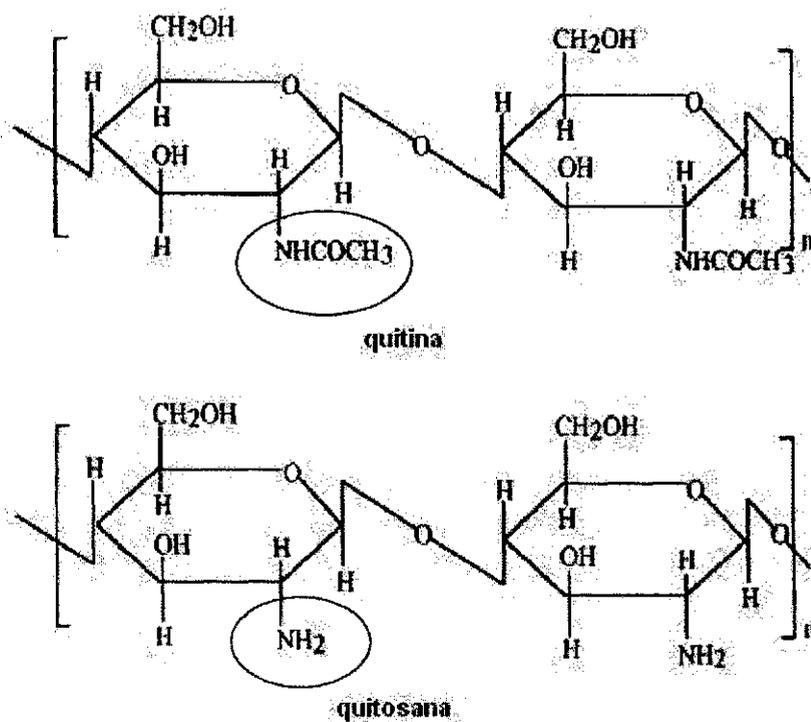
A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, cuja estrutura primária é idêntica à da quitina a não ser pelo fato que em quitosana predominam as unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose. De fato, a completa desacetilação da quitina raramente é realizada, pois são necessárias muitas reações consecutivas, que também favorecem a sua progressiva despolimerização. Assim, o termo quitosana abrange o conjunto de copolímeros que contém ao menos 50-60% de unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose. A quitina é um polissacarídeo encontrado na natureza em grande escala, pois é a segunda substância orgânica mais abundante na biosfera, sendo superada apenas pela celulose, mas supera esta última em termos de taxa de reposição,

que chega a ser duas vezes maior que a da celulose. Quitina e celulose possuem características estruturais semelhantes e atuam como invólucros protetores e materiais de suporte e defesa nos organismos em que ocorrem (ABRAM; HIGUERA, 2004; ROBERTS, 1992).

Quitosana é um polímero formado por moléculas dos açúcares glicosamina e acetilglicosamina. A glicosamina existe como metabólito natural nos animais vertebrados e está presente de forma significativa na matriz extracelular do tecido conjuntivo, compondo o que denominamos de glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Por ser um polímero natural, a quitosana vem se destacando como polímero biodegradável e bioabsorvível, pois seus produtos de degradação são atóxicos, não imunogênicos e não carcinogênicos (URAGAMI; TOKURA, 2006; MUZZARELLI et al., 1997).

As estruturas moleculares da quitina e da quitosana estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Estrutura química da quitina e da quitosana



Fonte: MAJETI; KUMAR, 2000

A quitosana tem despertado o interesse de pesquisadores de várias áreas, principalmente a médica e a farmacêutica, que tem observado na quitosana um biomaterial com grande potencial. É uma substância que tem a capacidade de

formar interações químicas com materiais hidrofóbico e aniônico. Como biomaterial, é aplicada em lentes de contato, membranas artificiais, tratamento de lesões de pele, cicatrizante, agente hemostático, bactericida e fungicida (DALLAN, 2005; BIAGINI et al., 1992; ROBERTS, 1992).

Essa versatilidade da quitosana permite sua conformação em formas tão variadas quanto sua aplicabilidade como fibras, glóbulos, membranas, etc. Por ela não ser hidrolisada pelas enzimas digestivas no homem e a sua estrutura química ser similar a da celulose, ela pode ser usada como um novo tipo de fibra dietética. Entretanto, por conter um par de elétrons livres no nitrogênio tem capacidade de formar complexos com polímeros e metais (JING et al., 1997).

A quitosana é um polissacarídeo que estimula o sistema imune a favorecer o processo cicatricial, é umectante e adere melhor à ferida que o ácido hialurônico e sua propriedade cicatrizante favorece a reconstituição fisiológica da pele e possui efeito analgésico. Isso ocorre devido à ativação dos macrófagos pelos oligômeros de baixa massa molecular, que leva o mesmo a liberar interleucina-1 e estimular a proliferação de fibroblastos que influenciará na estrutura do colágeno. As aplicações dos polissacarídeos têm crescido devido ao recente desenvolvimento de novas técnicas de aperfeiçoamento e pesquisas relacionadas à Engenharia de Tecidos, juntamente com a necessidade de criação de materiais que apresentem um controle de atividade biológica e biodegradabilidade específicas para cada aplicação requerida (SENEL; McCLURE, 2004; DUMITRIU, 2002; BIAGINI et al., 1992).

Os efeitos benéficos do meio úmido no ferimento incluem a prevenção de desidratação do tecido e morte celular, angiogênese acelerada, desbridamento autolítico, pois ele retém as enzimas e água que ajudam na fibrinólise, e redução da dor, atribuída a proteção que o meio úmido fornece as terminações nervosas do ressecamento e exposição. Tais coberturas mantêm as células viáveis e permitem que elas liberem fatores de crescimento estimulando sua proliferação (FIELD; KERSTEIN, 1994).

Acredita-se que a eficácia da quitosana na cicatrização possa ser atribuída à estimulação de citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- α) que auxiliam no processo de reparação tecidual, melhorando, aparentemente, a qualidade das feridas (UENO et al., 2001).

3.3 Aloe vera

A *Aloe vera* é uma planta (Figura 2) que pertence à família Liliaceae e é conhecida popularmente como babosa, sendo de fácil cultivo, desde que o solo seja drenado e permeável. Esta planta tem sido utilizada na medicina tradicional na cura de diversos males, como as doenças de pele, desordens intestinais e doenças virais. Apresenta ação cicatrizante, anti-inflamatória e protetora da pele. A utilização nas lesões de pele é devida, fundamentalmente, ao seu poder emoliente e suavizante. Além das vitaminas C, E, do complexo B e ácido fólico, contém minerais, aminoácidos essenciais e polissacarídeos que estimulam o crescimento dos tecidos e a regeneração celular. Esta planta é conhecida e utilizada pelo homem há mais de 5.500 anos como planta medicinal, conforme registro em papiros egípcios datados de 3.500 anos antes de Cristo. Outros registros de seu uso com fins medicinais e na cosmética são encontrados nas civilizações, árabe, grega, egípcia, romana, asiática e africana. Há relatos que Alexandre, o Grande, teria tomado regiões da África e a ilha de Socotra, no oceano Índico, por existirem grandes quantidades de *Aloe vera* naqueles locais, que foram usadas para curar os ferimentos de seus soldados (DOMINGUEZ et al., 2006; CASTRO; RAMOS, 2002; STEVENS, 1999).

Figura 2: Fotografia da planta da Aloe vera.



Fonte: <http://www.jhoraveja.jex.com.br/nutricao+saude/aloe+vera+babosa+>

A babosa, assim como outras plantas pertencentes à família das suculentas, é capaz de sobreviver em climas áridos e desérticos por ter

desenvolvido uma engenhosa técnica de armazenamento de água. Ela atua como um reservatório vivo do precioso líquido. Contudo, o líquido armazenado por estas plantas é mais do que simples água, mas de fato um gel composto de gliconutrientes de cadeia longa, denominados polissacarídeos. As propriedades mais conhecidas desta planta são as cosméticas, seja na pele ou nos cabelos, atuando como bactericida, cicatrizante e como um hidratante de alta capacidade que ajuda a rejuvenescer tecidos lesionados por queimaduras. Ela também cria um filme protetor que ajuda o organismo a reter mais água e se manter bem hidratado, mesmo sob o calor do Sol escaldante no deserto (STEVENS, 1999).

Aloe Vera é um potente e natural anti-séptico, entregue pronto para utilizar pela Natureza. Afinal, a composição de seu gel é elaborada com uma eficaz propriedade antiviral, bactericida e fungicida para a própria sobrevivência da planta no deserto. Se assim não fosse, qualquer arranhão ou pequeno corte deixaria o conteúdo nutritivo da planta disponível para que bactérias e invasores diversos. Estima-se que esta planta possua mais de 200 substâncias ativas, sendo os polissacarídeos responsáveis pela aparência viscosa do gel, podendo chegar a 30% da quantidade de substâncias com benefícios terapêuticos, nutricionais e cosméticos. O gel de Aloe vera vem tendo comprovações científicas "in vivo" com relação aos efeitos como ação anti-inflamatória, ação imunológica, como cicatrizante, ação positiva sobre diabetes. Outros resultados importantes vêm sendo publicados e são alvos de estudos aprofundados como atuações em casos de artrites, úlceras, câncer, AIDS, etc. Sem dúvida os benefícios atribuídos a esta magnífica planta, é mérito do seu complexo sistema bioquímico (PATROCÍNIO, 2010).

O gel de Aloe vera contém 1% de matéria seca, pH entre 4,3 e 4,4, contendo 0,2 a 0,3 % de açúcares solúveis de baixo peso molecular e 0,1 a 0,2% de polissacarídeos. Este gel pode ser distinguido do exsudato amarelo e amargo originado da casca, o qual possui ação purgativa. O gel provém, portanto, do tecido parenquimatoso da porção central das folhas (ROBBERS et al., 1996; YARON, 1993).

A composição química da Aloe vera contém uma extensa quantidade de nutrientes em suas folhas. Todavia, cada estrutura da Aloe apresenta substâncias específicas e em quantidades distintas (SILVA, 2004).

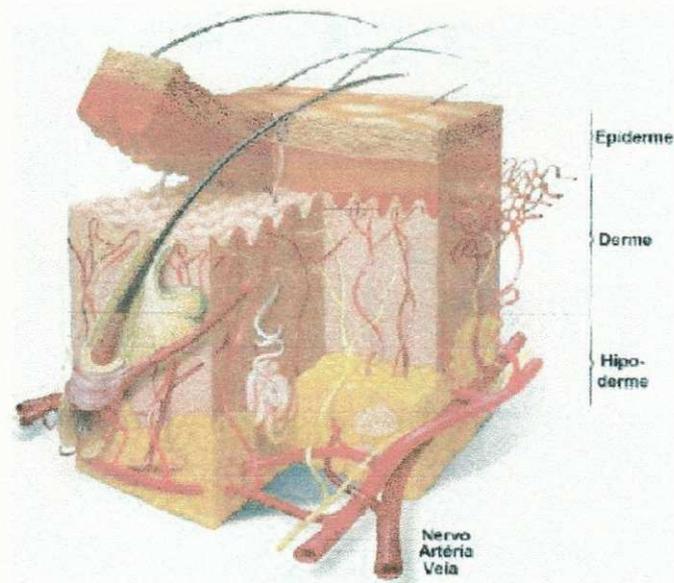
Muitos dos benefícios de saúde associados com Aloe vera têm sido atribuídas aos polissacarídeos contidos no gel das folhas. Estas atividades biológicas incluem, dentre outras, promoção da cicatrização de feridas, atividade antifúngica, hipoglicêmicos ou efeitos antidiabéticos, imunomoduladores, antineoplásicos e propriedades gastroprotetora. Esses efeitos são potencialmente comprovados quando na utilização da folha inteira ou preparações do gel, pois melhora a absorção intestinal, quando ingerida, bem como aumenta a permeação cutânea. Além disso, importantes aplicações farmacêuticas, na forma de pó como excipiente na liberação de fármacos (HAMMAN, 2008)

Os cientistas que estudam a babosa no mundo inteiro, concluíram que a razão pela qual ela funciona tão eficazmente com grande alcance de seus poderes curativos, é a mistura específica de seus componentes, atuando sinergicamente, e não seus componentes isoladamente. No tratamento da pele tem ação restauradora e protetora do tecido cutâneo, além de curar pequenas afecções e irritações cutâneas (STEVENS, 1999).

3.4 Pele

A pele do homem corresponde a 15% do seu peso corporal, é um órgão que delimita e reveste o organismo, protegendo-o e interagindo com o meio exterior. Ela apresenta alterações constantes, sendo dotada de grande capacidade renovadora e de reparação e é constituída basicamente de três camadas interdependentes como observado na Figura 3, a epiderme mais externa, a derme intermediária, e a hipoderme, mais profunda. A transição entre a epiderme e a derme é denominada de junção dermo epidérmica ou zona da membrana basal (AZULAY; AZULAY, 2006).

Figura 3: Ilustração mostrando as diferentes camadas da pele.

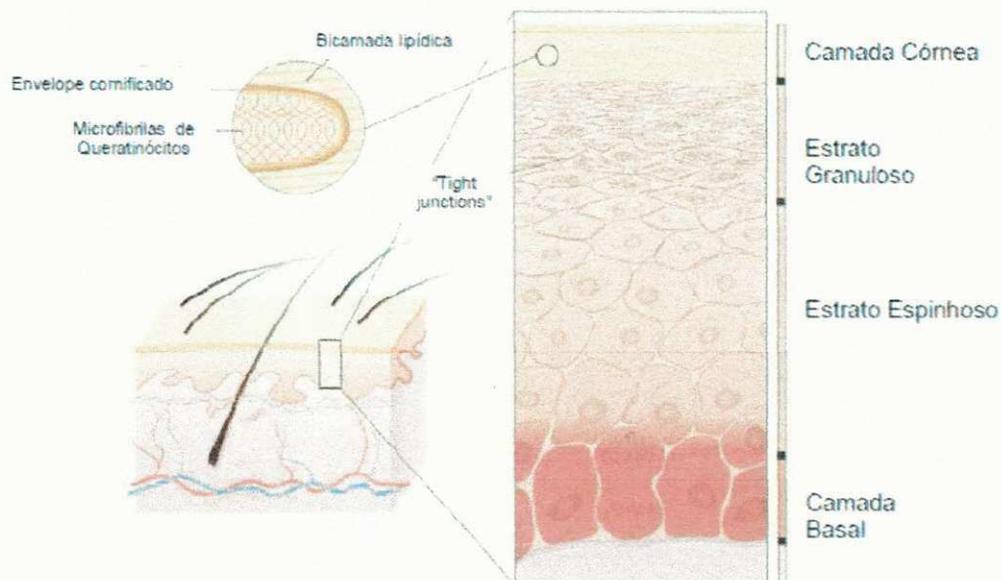


Fonte: ESTAÇÃO, 2012.

A camada superior da pele é a epiderme, constituída por um epitélio estratificado pavimentoso cuja espessura apresenta variações topográficas ao longo do organismo (CANDI et al., 2005).

A epiderme é classificada basicamente em quatro camadas (Figura 4), cada uma apresentando uma função distinta (NORRIS, 2004).

Figura 4 – Esquema simplificado de uma secção transversal da epiderme



Fonte: RAUH, 2008

A camada córnea atua como uma grande barreira à penetração de organismos externos e toxinas, além de prevenir a perda de água; o estrato granuloso é onde inicia-se o processo de cornificação, onde as células sofrem apoptose diferenciando-se em corneócitos; o estrato espinhoso é onde os queratinócitos presentes são responsáveis pela produção dos filamentos de queratina (queratinização) que interagem com os desmossomas, síntese de agentes antioxidantes (glutathione redutase, peroxidase, catalase), citocinas, quimiocinas, queratohialina, etc.; O estrato basal é a camada mais profunda responsável pela proliferação celular, sendo essa camada resistente ao processo apoptótico (RAMOS; SILVA, 2009).

A epiderme é o invólucro do corpo, encarregada de proteger a pele do meio externo. Ela não tem vasos sanguíneos e possui múltiplos tipos celulares de diferentes origens embrionárias. Aproximadamente 80-85% da epiderme é constituída de queratinócitos, 10-13% de melanócitos, 4% de células de langerhans e 1% de células de Merckel (SILVA; CASTRO 2009; CANDI et al., 2005).

A manutenção do número de células na epiderme depende do balanço entre proliferação celular e morte celular (diferenciação/apoptose) dos queratinócitos. Esse processo é governado pela comunicação parácrina e autócrina via hormônios, fatores de crescimento e citocinas ou por comunicação intercelular via célula-célula e célula-matriz de adesão, ou ainda pela comunicação intercelular na região da "gap junction" (HAAS; HERLYN, 2005).

A epiderme tem a capacidade de auto-renovação tanto sob condições homeostáticas como em condições nocivas, devido à presença de uma população celular mitoticamente ativa na camada basal. Em condições normais, a renovação epidérmica é balanceada pela descamação da camada córnea na superfície da pele, onde se verifica uma diferenciação celular progressiva, através do processo de queratinização e cornificação, a partir da camada basal em direção a superfície (CANDI et al., 2005).

A camada basal é a mais profunda da epiderme, composta por uma única fileira de queratinócitos justapostos de citoplasma basófilo e núcleo grande e oval, tendo uma participação fundamental na formação e manutenção da junção dermo-epidérmica (AZULAY; AZULAY, 2006).

A derme, camada da pele subjacente a epiderme, dela separada apenas pela membrana basal, é a estrutura vascularizada da pele, que tem as funções de suporte estrutural e funcional da pele. É flexível e muito elástica. Seu tecido conjuntivo está arranjado em uma camada mais superficial, a derme papilar, e em uma mais profunda, chamada derme reticular. É nessa camada que estão localizadas as fibras de elastina e colágeno, que respondem, respectivamente, pela elasticidade e firmeza da pele; as glândulas sebáceas e sudoríparas; os vasos de menor calibre e as terminações nervosas que dão a sensação de tato, frio e calor (AZULAY;AZULAY,2006).

A hipoderme corresponde à região mais profunda da pele, e é formada por tecido gorduroso. Tem importante papel na termoregulação, reserva de nutrientes e proteção contra traumas mecânicos. É formada por adipócitos, células grandes e arredondadas com citoplasma rico em triglicérides e ácidos graxos, comprimindo o núcleo contra a membrana celular. É a camada mais profunda da pele, composta basicamente por células adiposas. Ela protege o organismo contra choques e ainda atua como isolante térmico. Nela estão os vasos de maior calibre (SILVA; CASTRO, 2009).

A pele é muito mais do que simplesmente uma barreira física passiva entre o meio externo e interno, mas também uma extensão do sistema imunológico. Quando esta é lesada, antes da seleção e aplicação de um curativo, é necessária uma avaliação completa da ferida, do seu grau de contaminação, da maneira como esta ferida foi produzida, dos fatores locais e sistêmicos e da presença de exsudato, como forma de agilizar o processo de cicatrização e proteger a ferida (RAUH, 2008).

3.5 Curativos

Os curativos são uma forma de tratamento das feridas cutâneas. Esse tratamento é dinâmico e depende, a cada momento, da evolução das fases de cicatrização da ferida. Embora haja uma grande variedade de curativos, um só tipo de curativo não preenche os requisitos para ser aplicado em todos os tipos de feridas cutâneas (FRANCO; GONÇALVES, 2008).

O curativo compreende todo o processo de limpeza, desbridamento, seleção da cobertura e/ou tratamento tópico do local. É também considerado como um meio terapêutico que consiste na aplicação de uma cobertura sobre uma ferida limpa. É um procedimento técnico realizado pela equipe de enfermagem e/ou médica, e tem por finalidade a proteção e a cicatrização das feridas. O curativo ideal deve apresentar importantes aspectos como ventilação, absorção líquida, proteção, aplicação de pressão e método de barreira contra contaminante, servir como barreira protetora contra microorganismos; promover a diminuição da dor; evitar a perda excessiva de líquidos; e evitar traumas na troca do mesmo (FRANCO; GONÇALVES, 2008).

A ferida é uma interrupção na continuidade do tecido corpóreo. Esta pode ser provocada por algum trauma, ou ainda ser desencadeada por uma afecção que acione as defesas do organismo. A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido. Tal evento é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportem de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular (ORTONNE; CLÉVY, 1994).

3.6 Úlceras

As úlceras são mais conhecidas na linguagem populares como feridas. As mais frequentemente encontradas nos serviços de saúde são as venosas, as arteriais, as hipertensivas, por pressão, as neurotróficas e o pé diabético. As úlceras são geralmente de longa evolução e de resposta terapêutica variável. Dentre estas, destacam-se as neurotróficas, comuns em algumas patologias que acometem o sistema nervoso periférico, como a hanseníase, o alcoolismo e o diabetes mellitus, considerados agravos de alta prevalência no Brasil. A úlcera plantar, também conhecida como Mal Perfurante Plantar, (úlceras tróficas), na hanseníase é a lesão do nervo Tibial posterior, tendo como consequência a perda da sensibilidade da região plantar (SAMPAIO; RIVITTI, 2008).

O mal perfurante plantar é um dos mais importantes e conhecidos distúrbios tróficos na hanseníase. Aparece mais frequentemente entre os 36 a

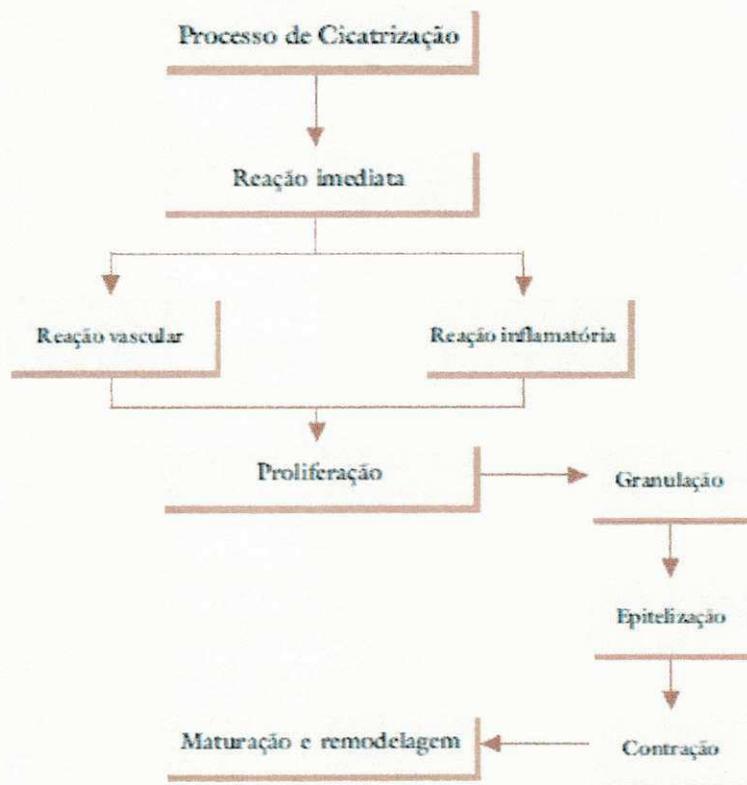
40 anos e não aparece antes dos 15 anos, porém aos 80 anos, já foi observado (BECHELLI et al., 1978).

As úlceras são profundas, afuniladas, com bordos hiperkeratósicos, fundo liso ou granuloso e indolores. Elas podem atingir os ossos subjacentes comprometendo-os, apresentando nos estudos radiológicos osteólise parcial das extremidades distais e osteoperiostite (SAMPAIO; RIVITTI, 2008; BECHELLI et al., 1978).

Deve-se levar em conta as causas nervosas que são determinantes para caracterizar os distúrbios tróficos, e advindo dessas, contaminações por várias bactérias causando uma infecção secundária, porém as mesmas são assépticas para o *Mycobacterium leprae* (BECHELLI et al., 1978).

A equipe multiprofissional, ao avaliar as úlceras, deve reconhecer as diversas fases do processo de cicatrização (Figura 5), bem como identificar os fatores de risco, que podem interferir nesse processo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Figura 5: Esquematização do processo de cicatrização.



Fonte: Ministério da Saúde, 2002

As ulcerações dos hansenianos parecem estar relacionadas ao grau II de incapacidade e a positividade da baciloscopia, detectados tanto pela classificação espectral quanto pela operacional. Tais achados servem de alerta para pacientes, profissionais e gestores de saúde para incentivar melhorias no diagnóstico precoce, avaliação, seguimento e serviços de prevenção de incapacidade dos pacientes com hanseníase, independente do tipo de atenção de serviço prestado a saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Dentre os diversos fatores que dificultam a cicatrização, destacam-se alguns, como: quanto maior for o tempo de evolução da úlcera, bem como sua extensão e profundidade, maior será o tempo necessário à cicatrização. A pressão contínua sobre a área lesada por proeminências ósseas, calosidades e/ou imobilização contínua, conduz à interrupção do suprimento sanguíneo, impedindo que o fluxo de sangue chegue aos tecidos. Na infecção, a presença de corpos estranhos e tecidos desvitalizados ou necróticos prolonga a fase inflamatória do processo de cicatrização, provocam a destruição do tecido, inibem a angiogênese, retardam a síntese de colágeno e impedem a epitelização. Esses devem ser removidos por processo mecânico ou autolítico, para ocorrer a fase reparadora. O uso de agentes tópicos inadequados pode retardar a epitelização e a granulação. A técnica de curativos pode ocasionar trauma mecânico, provocado pela limpeza agressiva, coberturas secas aderidas ao leito da úlcera e/ou inadequadas que interferem no processo da cicatrização retardando a cura. A idade é fator importante na cicatrização. Nas crianças, a cicatrização ocorre rapidamente, porém são propensas a cicatrizes hipertróficas. Entre os jovens a cicatrização pode ser retardada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

3.7 Hanseníase

A hanseníase é uma infecção causada pelo *Mycobacterium leprae*, parasita intracelular obrigatório, com tropismo para o sistema nervoso periférico e a pele. No Brasil é endêmica, sendo descoberto por ano cerca de 40.000 novos casos, apesar da redução de sua prevalência após a introdução da poliquimioterapia (PQT-OMS), em 1990. Um diagnóstico preciso da forma

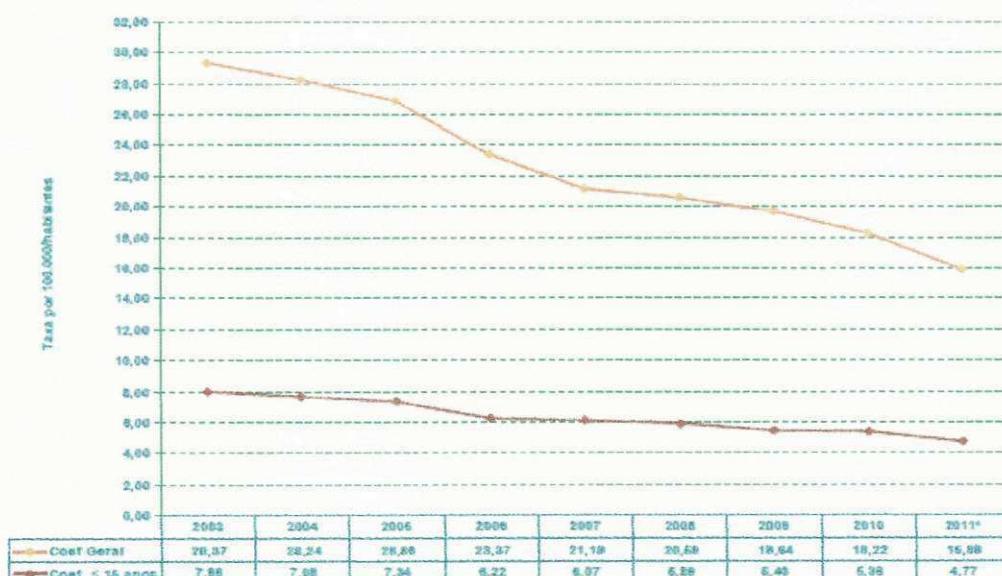
clínica envolve cinco critérios: morfologia das lesões; aspectos evolutivos; baciloscopia do esfregaço; histopatologia e resposta imunológica do paciente (OPROMOLA, 2000).

A hanseníase é uma doença de evolução lenta, manifestando-se de sinais dermatológicos, com grande potencial de provocar incapacidades físicas, podendo inclusive evoluir para deformidades. O homem é considerado a única fonte de infecção da hanseníase. O contágio dá-se através de uma pessoa doente, portadora do bacilo e virgem de tratamento. A principal via de eliminação dos bacilos e provável porta de entrada do mesmo são as vias aéreas superiores (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

A hanseníase é classificada em duas formas polares, estáveis – a hanseníase tuberculóide (HT) e a hanseníase Virchowiana ou Lepromatosa (HV ou HL). Entre estas duas formas existe um grupo denominado Bordeline ou Dimorfa (HD). A hanseníase dimorfa subdivide-se em três formas clínicas: hanseníase dimorfa tuberculóide (HDT); hanseníase dimorfa dimorfa(HDD) e hanseníase dimorfa virchowiana (HDV) (TALHARI, 1994).

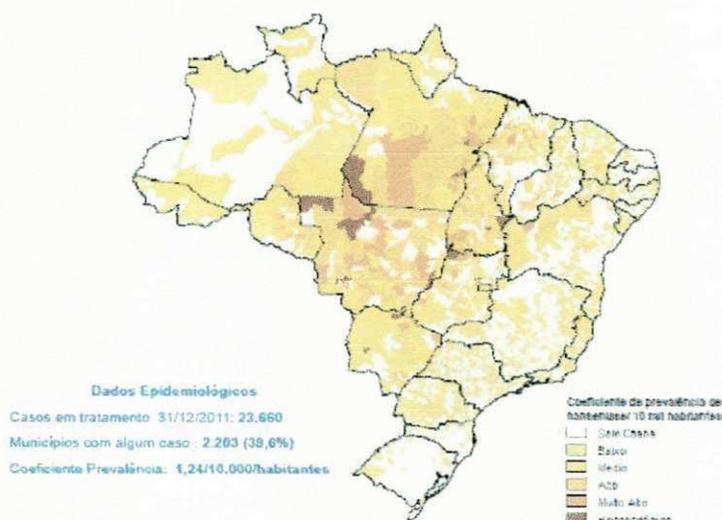
No Brasil a incidência da doença vem diminuindo, como pode ser observado na Figura 6.

Figura 6: Coeficiente de detecção, geral e em menores de 15 anos de hanseníase, Brasil, 2003 a 2011.



O Estado mais hiperendêmico é Mato Grosso com 7,52/10mil como observado na Figura 7. No sul e sudeste, áreas com prevalência menor que 1/10mil.

Figura 7: Coeficiente de prevalência de Hanseníase por municípios, Brasil - 2011



O diagnóstico clínico e a diferenciação das formas da doença são realizados através da história clínica-epidemiológica do paciente, exame dermatoneurológico para identificar lesões e alterações de sensibilidade, e/ou comprometimento neural periférico. Os exames laboratoriais a serem verificados são: exame baciloscópico de raspado dérmico, exame histopatológico, pesquisa do DNA bacteriano por PCR e pesquisa de anticorpos anti- *M. leprae*. Apesar de novos métodos laboratoriais, a história clínica-epidemiológica ainda é o principal método diagnóstico na atenção primária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001)

O teste manual de força dos músculos dos membros superiores e inferiores, mais freqüentemente acometidos, é recomendado pelo programa de controle da hanseníase e é um método utilizado para o diagnóstico de lesões nervosas periféricas, embora sua confiabilidade esteja na dependência da habilidade e conhecimento do examinador. Recomenda-se adotar o critério de graduação da força muscular de zero a cinco. Os resultados dos exames devem ser analisados em seu conjunto. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; BELL-KROTOSKI; BUFORD, 1997).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Desenvolvimento e Avaliação de Biomateriais (CERTBIO), na Universidade Federal de Campina Grande–UFCG/UAEMa.

4.1 Materiais

- Quitosana (Sigma Aldrich), médio peso molecular e grau de desacetilação de 85%;
- Aloe-vera (Erva babosa) cultivo próprio;
- Água destilada;
- Ácido Acético PA (VETEC);
- Hidróxido de Sódio PA (VETEC).

4.2 Métodos

4.2.1 Preparação das Membranas de Quitosana pura e Quitosana com Aloe-vera

A solução de quitosana foi preparada pela dissolução de 1 g de quitosana em 100 mL de uma solução a 1% (v/v) de ácido acético glacial sob agitação magnética a 45° C por 2 h. Em seguida, a solução polimérica foi vertida em placas de petri e acondicionadas em estufa a 37° C por 5 dias para evaporação do ácido e formação das membranas. Após a secagem as mesmas foram retiradas da estufa e neutralizadas com solução de hidróxido de sódio a 1 mol/L por 1 h. Ao final desta etapa as membranas foram lavadas com água destilada para retirada do excesso de hidróxido de sódio. Depois da neutralização, as mesmas foram secadas por 24h a temperatura ambiente. A solução de quitosana com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe-vera foi obtida com a adição e homogeneização da polpa de Aloe vera na solução de quitosana. As etapas de obtenção, neutralização e secagem das membranas de

quitosana com Aloe vera seguiu o mesmo procedimento descrito para obtenção das membranas de quitosana.

4.3 Caracterização

Todas as membranas foram caracterizadas por Difração de raios-X (DRX), Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X (EDS), Tensão Superficial por medidas do ângulo de contato, Intumescimento e Teste de Citotoxicidade.

4.3.1 Difração de raios X (DRX)

As análises de difração de raios-X foram conduzidas a temperatura ambiente em aparelho XRD-6000 Shimadzu, utilizando radiação $K\alpha$ do cobre (1,5418 Å), tensão de 40kV e corrente 30mA. As membranas foram examinadas em um intervalo de 2θ entre 5 e 30 graus a uma velocidade de 2°/min.

4.3.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises utilizando a técnica de espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier foram realizadas em temperatura ambiente e o equipamento utilizado foi um Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR teve como objetivo identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas matérias primas utilizadas nesta pesquisa utilizando a faixa de varredura de 4000 a 600 cm^{-1} .

4.3.3 *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Para realização das análises de microscopia eletrônica de varredura foram retirados fragmentos de aproximadamente 0,5 cm² de cada membrana. O equipamento utilizado foi um Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada, modelo TM-1000, marca Hitachi, com aumentos de 1500 x, profundidade de foco de 1mm, resolução de 30nm, 15KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa), sem recobrimento metálico, mesmo em amostras não condutoras.

4.3.4 *Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)*

As análises por Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X foram realizadas no equipamento TM-1000, marca Hitachi, acoplado ao MEV. Um detector instalado na câmara de vácuo do MEV mede a energia associada aos elétrons da amostra, como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, onde é possível determinar quais elementos químicos estão presentes na amostra.

4.3.5 *Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato*

Para realização desta análise foi utilizado um goniômetro desenvolvido por técnicos da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

Por meio de medidas de ângulo de contato (θ) entre o substrato e água foi possível avaliar a hidrofobicidade de todas as membranas.

4.3.6 *Ensaio de Intumescimento*

Este ensaio foi realizado em água destilada. O material (em triplicata) foi secado, inicialmente, e pesado em balança digital. Em seguida foi imerso em um recipiente com água destilada, onde permaneceu por 24 h. Após esse

período as amostras foram pesadas na mesma balança e o grau de intumescimento foi calculado utilizando a Equação 1.

$$\%I = \left[\frac{m_f - m_i}{m_i} \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde: m_i = massa inicial e m_f = massa intumescida

4.3.7 Ensaio de Citotoxicidade

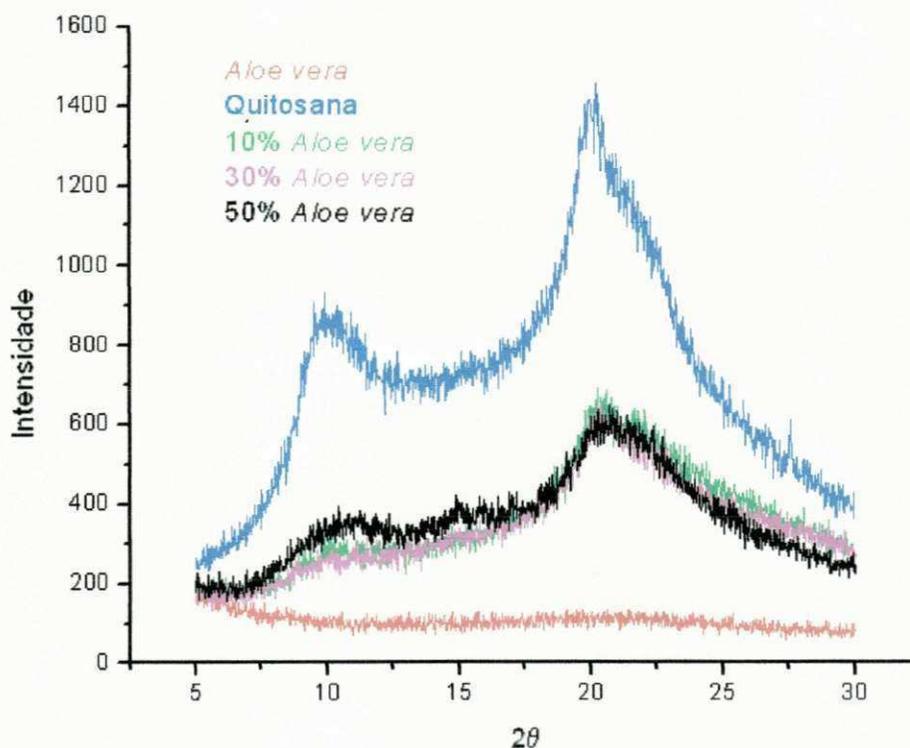
Com o objetivo de atender a norma ISO 0993 que recomenda ensaios *in vitro* de citotoxicidade como testes iniciais para materiais que ficarão em contato com a pele, escolheu-se o teste de avaliação da viabilidade celular dos macrófagos por MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio]. Foram utilizados 5 fragmentos de cada amostra para cada animal. A técnica utilizada foi a descrita por Mosmann, 1983. Todos os procedimentos com animais foram conduzidos conforme normas do SBCAL (Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório) e que obtiveram parecer do Comitê de Ética local (parecer nº08/2009 CEP/FCF/CAr).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Difração de raios X (DRX)

Os difratogramas das membranas estudadas neste trabalho estão apresentados na Figura 8 e observam-se no mesmo, que a adição da babosa proporcionou perfil das membranas mais amorfo quando comparado com a membrana só com quitosana, que apresenta o difratograma característico de um material com perfil semi cristalino, já no difratograma da planta pode-se notar um perfil de um material amorfo.

Figura 8: Difratograma de raios X das membranas de quitosana, de Aloe-vera e das membranas de quitosana com diferentes proporções de Aloe-vera.



Ao observar a Figura 8 pode-se afirmar que não houve alteração no perfil das membranas com quitosana e Aloe vera.

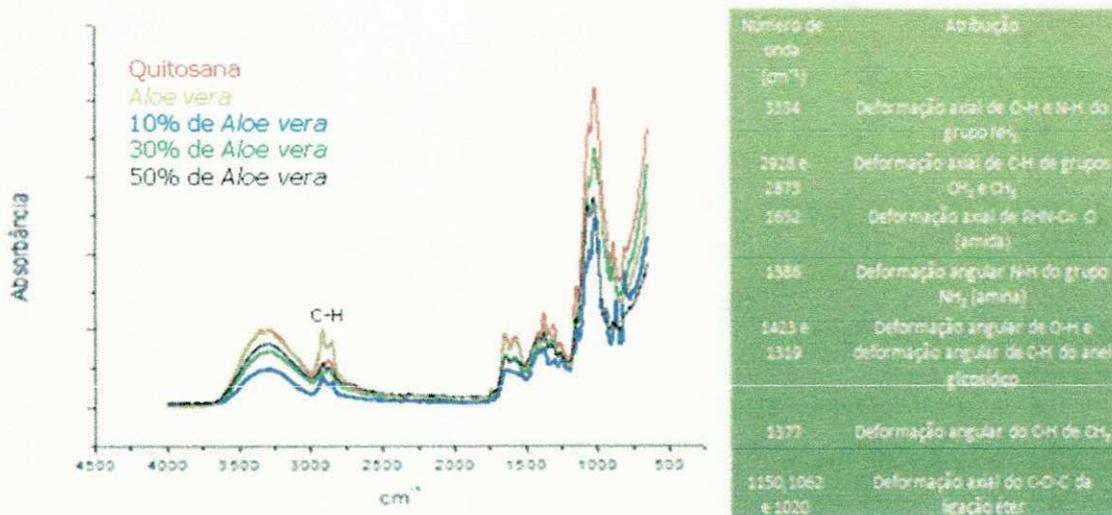
O difratograma da membrana de quitosana apresenta bandas típicas de material semicristalinos, com base larga em torno de $2\theta = 10^\circ$ e $2\theta = 20^\circ$ (URAGAMI; TOKURA, 2006).

Como pode ser observado, a adição de Aloe-vera que tem um perfil amorfo, pode influenciar em propriedade, como tempo de degradação das membranas, já que, quanto menor a cristalinidade do material, menor dificuldade terá para a água entrar nesses sítios, maior será o intumescimento e conseqüentemente a sua degradação.

5.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

De acordo com a Figura 9, pode-se afirmar que, a adição da babosa nas membranas de quitosana, não apresentou alteração significativa, no entanto, observa-se que ocorreu uma diminuição da banda em 2893 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento assimétrico do grupo C-H, das membranas de quitosana com babosa quando comparado apenas com o espectrograma da babosa.

Figura 9: FTIR: Espectroscopia das Membranas de Aloe-vera e de quitosana sem e com Aloe-vera.



O espectro característico da quitosana está de acordo com Ponciano, (2010) (Tabela 1), pois apresentam todas as absorções relativas à mesma.

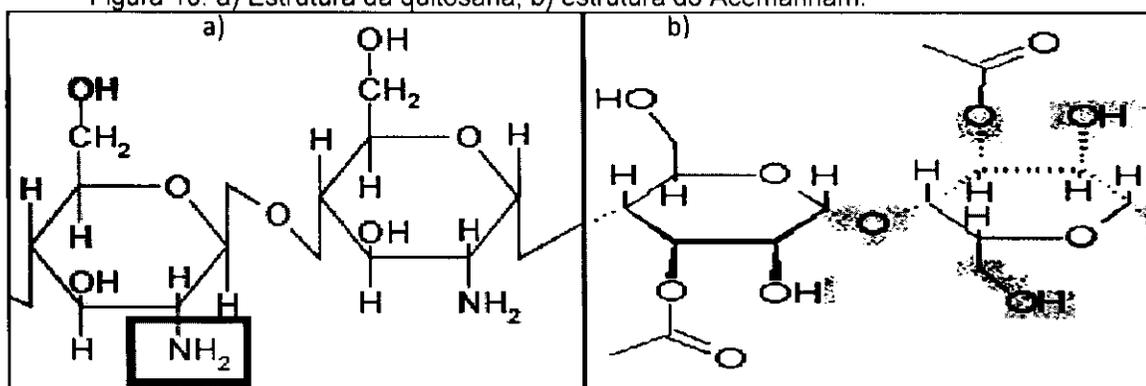
Tabela 1. Bandas de absorção no FTIR dos pós das quitosanas com GD de 90%

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição
3334	Deformação axial de O-H e N-H do grupo NH_2
2928 e 2873	Deformação axial de C-H de grupos CH_2 e CH_3
1652	Deformação axial de RHN-C=O (amida)
1586	Deformação angular N-H do grupo NH_2 (amina)
1423 e 1319	Deformação angular de O-H e deformação angular de C-H do anel glicosídico
1377	Deformação angular do C-H de CH_3
1150, 1062 e 1020	Deformação axial do C-O-C da ligação éter

Fonte: Ponciano, 2010.

A semelhança entre os espectros da Aloe-vera e da da quitosana, pode estar relacionada a presença do Acemannam no gel de Aloe-vera. O Acemannam é o principal polímero presente no gel da planta, polímero esse de organização estrutural (em nível molecular) muito semelhante a da quitosana (Figura 10). Muitos dos efeitos benéficos à saúde proporcionados pela Aloe-vera são justificados devido a presença desse polímero em sua constituição, como por exemplo, propriedades imunomoduladoras, antimicrobianas e cicatrizantes (TURNER et al., 2004; JETTANACHEAWCHANKIT, SASITHANASATE, 2009).

Figura 10: a) Estrutura da quitosana, b) estrutura do Acemannam.



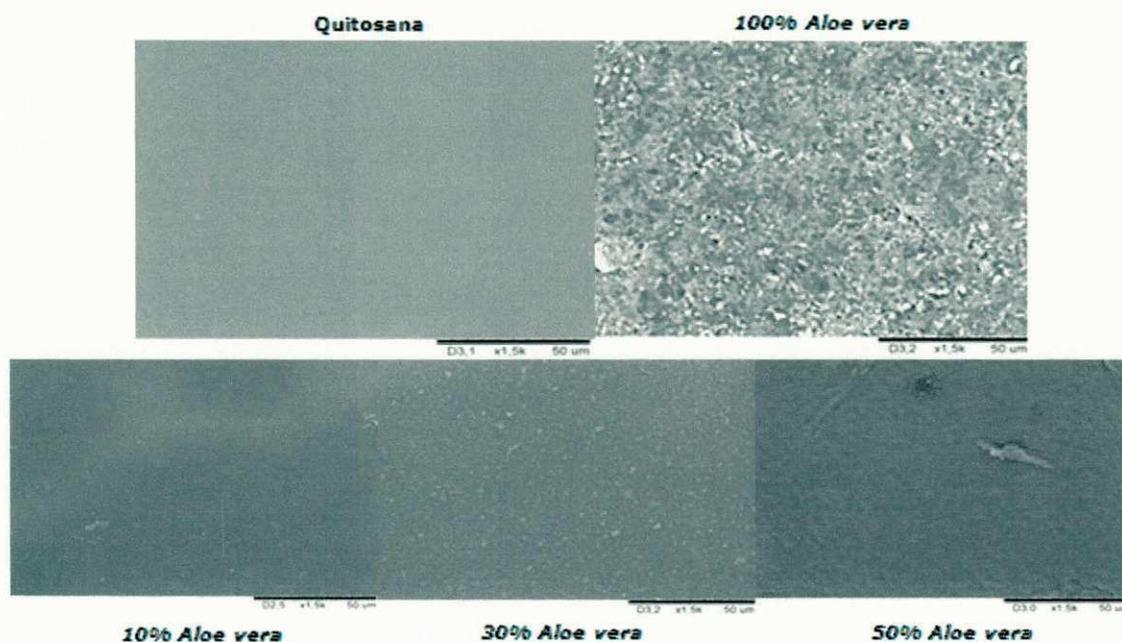
Fonte: Adaptado de STAMFORD (2006), TURNER et al. (2004).

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na microscopia eletrônica por varredura o feixe de elétrons é rastreado pela superfície da amostra e a imagem é produzida pela coleta dos elétrons secundários emitidos pela superfície excitada, por um cintilador. A imagem é reproduzida em um tubo de raios catódicos sincronizado com o feixe rastreador.

Na Figura 11 são observadas as imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura das membranas obtidas nesta pesquisa, onde são observadas diferenças morfológicas significativas, principalmente, entre as membranas de quitosana e Aloe vera puras. Já nas membranas compostas de quitosana e Aloe vera são identificadas características morfológicas intermediárias.

Figura 11: Microscopia Eletrônica de Varredura das membranas de Aloe-vera de quitosana e de quitosana com diferentes proporções de Aloe-vera. Aumento de 1500X.

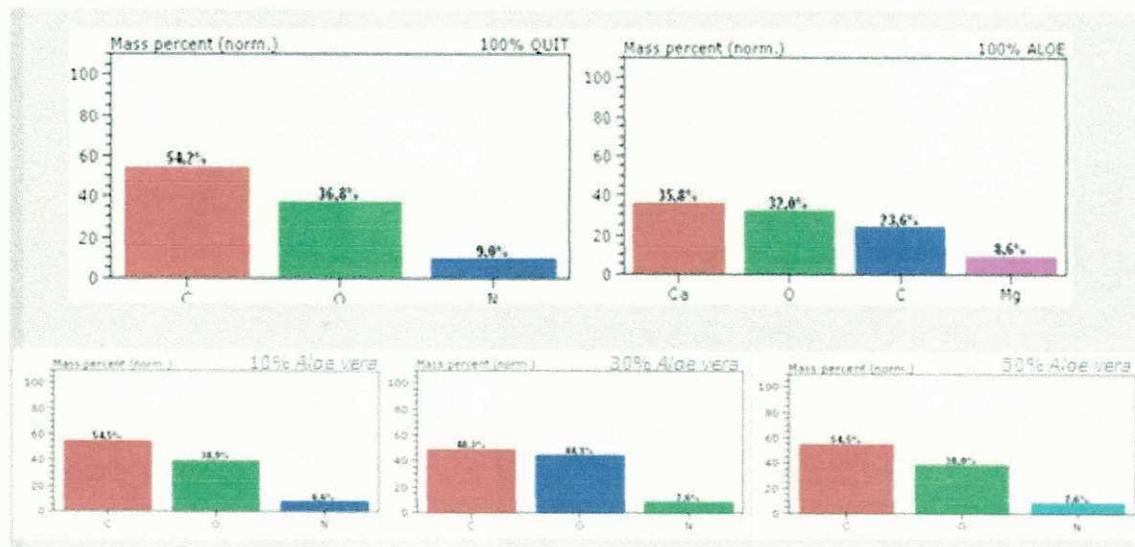


As variações encontradas na superfície das membranas ocorreram, possivelmente, por causa da presença do gel da planta, pois quanto maior foi o percentual de Aloe vera, melhor ficou de visualizar as diferenças de fases apresentadas pelos constituintes utilizados nesta pesquisa.

5.4 Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X (EDS)

Na Figura 12 observa-se o resultado de EDS das membranas de Aloe vera e de quitosana sem e com Aloe vera. Na membrana de quitosana foram encontrados elementos como carbono, oxigênio e nitrogênio.

Figura 12: Resultado de EDS com a composição química das membranas de Aloe vera e de quitosana sem e com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe vera.



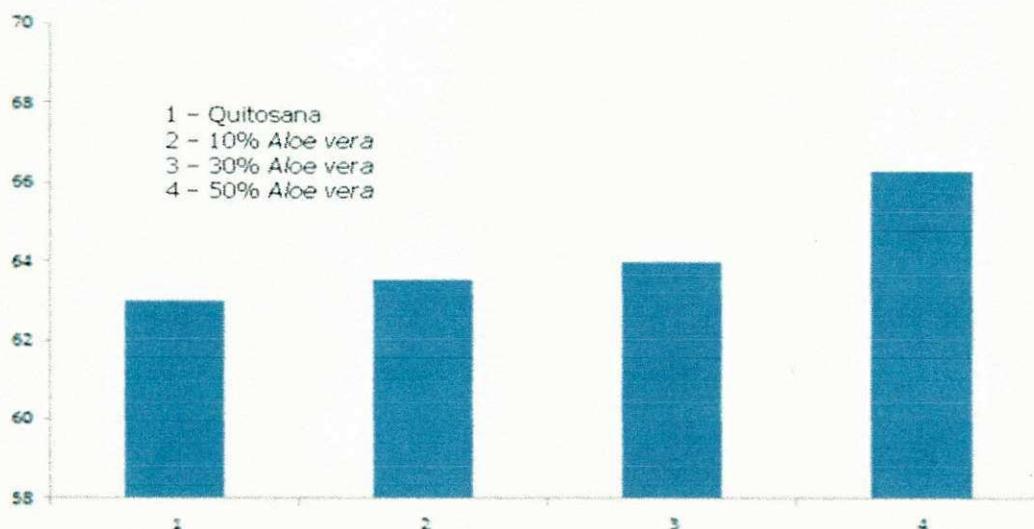
No resultado de EDS da membrana de Aloe-vera são observadas a presença dos elementos carbono e oxigênio, próprios da estrutura do Acemannam e, observa-se, também, a presença dos elementos cálcio e magnésio que, segundo Grindlay, Reynolds (1986), fazem parte de uma gama de outros elementos presentes no gel de Aloe-vera, sendo o magnésio um dos responsáveis pela melhora no quadro de queimaduras tratadas com gel de Aloe-vera.

Nas membranas de quitosana com Aloe vera não foi possível identificar os componentes cálcio e magnésio, isso não implica que não exista esses elementos nas amostras, mas que, a quantidade presente, pode não ter sido suficiente para que o equipamento o identificasse.

5.5 Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato

Na Figura 13 observam-se os resultados das medidas de ângulo de contato para as membranas de quitosana pura e com Aloe vera.

Figura 13: Resultado de Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato das membranas de quitosana sem e com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe vera.



A presença de Aloe vera nas proporções de 10%, 30% e 50% nas membranas de quitosana diminuíram a hidrofiliçidade das mesmas. No entanto, essa diminuição não foi relativamente considerável, pois manteve todas as membranas com um perfil de material hidrofílico, o que é justificado pelo ensaio de intumescimento.

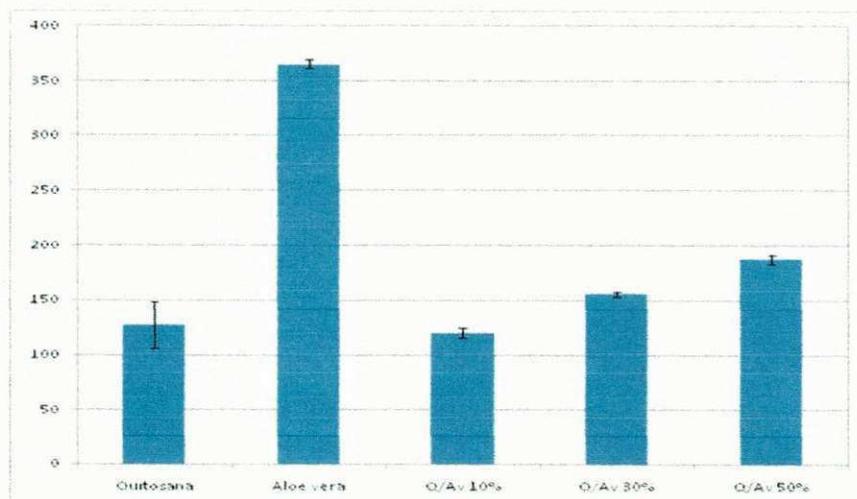
5.6 Ensaio de Intumescimento

O grau de intumescimento foi realizado para membranas de quitosana com a finalidade de observar o efeito da adição de Aloe vera na quitosana sobre essa propriedade.

De acordo com o observado na Figura 14, pode-se afirmar que a adição da polpa de Aloe vera na quitosana possibilitou a aquisição de membranas com maior grau de intumescimento. Pode-se verificar também, que o grau de

intumescimento das membranas não foi diretamente proporcional a molhabilidade das mesmas, observada no ensaio de ângulo de contato, pois a análise de ângulo de contato é realizada no primeiro momento em que se coloca a gota de água sobre a superfície da membrana. Já o intumescimento é observado horas depois do material ser imerso em água, permitindo um maior tempo de absorção e retenção de líquido pelas membranas.

Figura 14: Resultado do Ensaio de Intumescimento das membranas de Aloe vera e de quitosana sem e com diferentes proporções (10%, 30% e 50%) de Aloe vera.



A absorção de água modifica significativamente as propriedades dos materiais poliméricos. No caso das membranas hidrofílicas permite estimar o potencial de absorção de exsudado, em suas aplicações como curativos, bem como o seu comportamento em sistemas de liberação de fármacos.

Na quitosana, há predominância dos grupos amino caracterizados por ligações covalentes (N-H), onde a eletronegatividade das ligações gera sítios de alta polaridade, tornando, assim, favorável o rearranjo das moléculas e água em torno desses sítios. Essa característica estrutural, associada aos grupos acetamido caracterizam um material com alto grau de afinidade e retenção de água. Essa habilidade de absorção e retenção de água é um fator importante para materiais implantáveis, pois ela permite a absorção de fluidos corpóreos e a transferência de nutrientes e metabólitos (ASSIS et al., 2003; THEIN-HAN; KITTYANANT, 2007).

5.7 Ensaio de Citotoxicidade

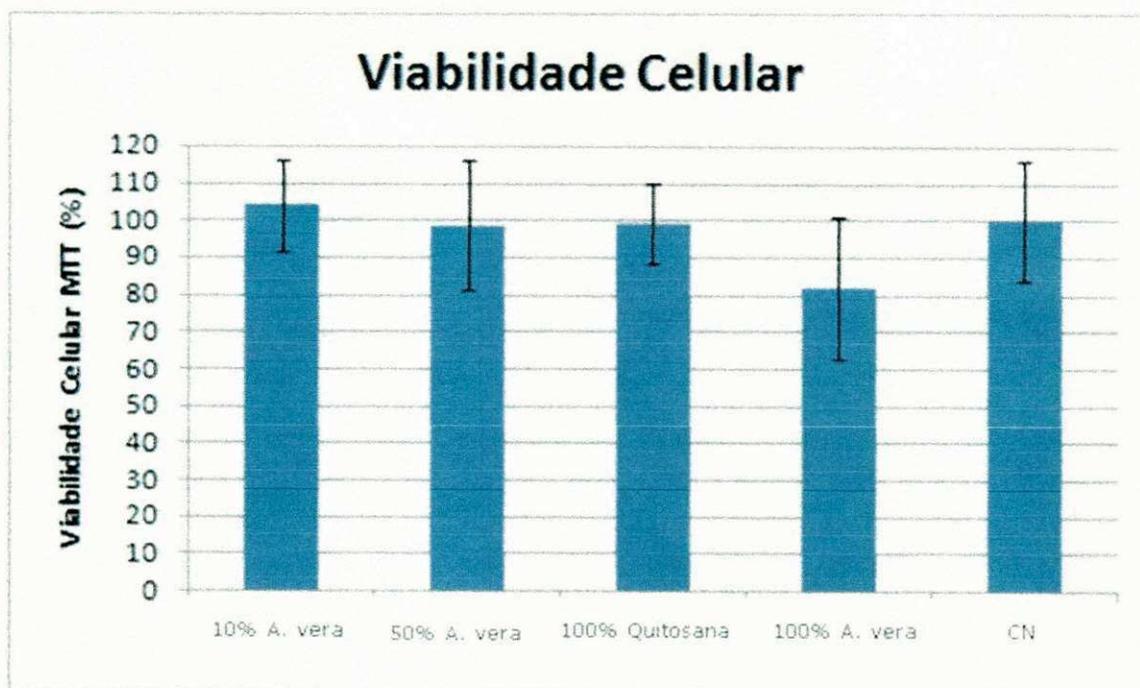
Com o objetivo de atender a norma ISO 0993 que recomenda ensaios in vitro de citotoxicidade como testes iniciais para materiais que ficarão em contato com a pele, escolheu-se o teste de avaliação da viabilidade celular dos macrófagos por MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio]. De uma forma geral, neste teste realizam-se ensaios quantitativos para avaliar a interrupção da atividade mitocondrial pela quantificação da formação de cristais de formazana, a partir da redução do tetrazólio MTT. Ou seja, avalia-se a viabilidade celular partindo do princípio que as células viáveis, uma vez em contato com o MTT, metabolizam o tetrazólio de metiltiazol na mitocôndria, utilizando enzimas ativas, havendo um acúmulo de cristais de tetrazólio ou formazana, que pode ser detectado pela leitura da absorbância em 540 nm, com filtro de referência em 620 nm.

Para a concretização desta etapa, fez-se necessário a obtenção das células do exsudato peritoneal que foi realizada a partir do procedimento descrito a seguir. Para obtenção das células do exsudato peritoneal foram utilizados 5 camundongos Swiss, previamente estimulados pela inoculação intraperitoneal de 3,0 mL de tioglicolato de sódio (Difco Lab. LTDA) a 3,0 %, três dias antes da coleta de células. Após esse período, os animais foram eutanasiados por inalação em câmara de CO₂. Os macrófagos do exsudato peritoneal foram coletados para preparo da suspensão celular. O número de células foi determinado pela contagem em câmara hemocitométrica de Neubauer (Boeco, Germany) em uma diluição 1:100 do Líquido de Lázarus. As células foram ajustadas à concentração de $5 \cdot 10^6$ células em meio RPMI-1640-C.

Em uma placa estéril de 96 poços de fundo plano (Corning, Inc.) foram distribuídos 100 µL por poços das suspensões de células do exsudato peritoneal de camundongos, em seguida foi adicionado um disco, confeccionado a partir das membranas de quitosana e quitosana/Aloe vera, com diferentes concentrações. Foram utilizados 5 discos de cada composição de membrana para cada animal.

Todas as membranas testadas apresentaram viabilidade celular acima de 70 % e está de acordo com a ISO 10993-5, como pode ser observado na Figura 15.

Figura 15: Resultado do Ensaio de Viabilidade Celular de Aloe vera e de quitosana sem e com diferentes proporções (10% e 50%) de Aloe vera.



6 CONCLUSÕES

A técnica de DRX mostrou que a presença de Aloe vera nas membranas de quitosana tornou o material com um perfil mais amorfo.

A técnica de espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) mostrou que a Aloe vera nas proporções de 10%, 30% e 50% não alteraram, significativamente, os grupos funcionais característicos da quitosana, já que ambos os materiais apresentam grupos semelhantes

Na microscopia eletrônica de varredura foi possível observar fases da quitosana e da Aloe vera em todos os compostos.

No ensaio de Tensão Superficial observou-se que, com o aumento na quantidade de a Aloe vera nas membranas de quitosana ocorreu diminuição na molhabilidade das mesmas, indicando uma menor hidrofiliçidade. Já no ensaio de Intumescimento, o aumento na quantidade de a Aloe vera nas membranas de quitosana proporcionou um aumento significativo no grau de intumescimento.

O ensaio de MTT revelou que todas as membranas são biocompatíveis.

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que é possível sintetizar compostos de Quitosana com Aloe vera com propriedades adequadas para utilização como curativos, pois as membranas hidrofílicas irão permitir maior absorção de exsudado.

REFERÊNCIAS

- ABRAM, A. P.; HIGUERA, I. Quitina y quitosano: obtencion, caracterizacion y aplicaciones; Abram, A. P., ed.; Programa Cyted 2004, - Pontificia Universidad Catolica del Peru/Fondo Editorial: Lima, cap 1. 2004.
- AIDER, M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *Lwt-Food Science and Technology*, 43, 837-842.
- ANRAKU, M., FUJUU, T., FURUTANI N., KADOWAKI, D., MARUYAMA, T., OTAGIRI, M., GEBICKI, J. M. & TOMIDA, H. 2009. Antioxidant effects of a dietary supplement: Reduction of indices of oxidative stress in normal subjects by water-soluble chitosan. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 104-109.
- ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção em água em filmes finos de quitosana processadas em diversas concentrações. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.
- AZULAY, R. D. AZULAY, D. R. *Dermatologia*. Ed. 4. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2006.
- BECHELLI, L. M., CURBAN, G.V. *Compêndio de dermatologia*. 5. ed., Atheneu, 1978, Cap.17. Micoses superficiais. p. 249-250.
- BELL-KROTOSKI JA, BUFORD WL Jr. The force/time relationship of clinically used sensory testing instruments. *J Hand Ther* 1997; 10:297-309.
- BIAGINI, G.; MUZZERELLI, R. A. A.; GIARDINO, R. E.; CASTALDINI, C. Biological Material for wound healing. In: BRINE, I.; CHARLES, J. *Advanced in chitin and chitosan*. Elsevier Science Publishers, London, p. 16-24, 1992.
- BONDREAU, M. D. & BELAND, F. A. 2006. An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (Miller), *Aloe vera*. *Journal of Environmental Science and Health Part C-Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 24, 103-154.
- CHOI, S. W., SON, B. W., SON, Y. S., PARK, Y. I., LEE, S. K. & CHUNG, M. H. 2001. The wound healing effect of a glycoprotein fraction isolated from *aloe vera*. *Br. J. Dermatol*, 145, 535-545.
- COSMETIC INDUSTRY REVIEW EXPERT PANEL, Final report on the safety assessment of *Aloe Andongensis* extract, *Aloe Andongensis* leaf juice, *Aloe Arborescens* leaf extract, *Aloe Arborescens* leaf juice, *Aloe Arborescens* leaf protoplasts, *Aloe Barbadensis* flower extract, *Aloe Barbadensis* leaf, *Aloe Barbadensis* leaf extract, *Aloe Barbadensis* leaf juice, *Aloe barbadensis* leaf polysaccharides, *Aloe Barbadensis* leaf water, *Aloe Ferox* leaf extract, *Aloe Ferox* leaf juice and *Aloe Ferox* leaf juice extract. *Int J Toxicol* 26 Suppl 2, p. 1-50, 2007.

- DALLAN, P. R. M. Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. (Tese). 194f, 2005.
- DAL'BELO, S. E., GASPAR, L. R. & BERARDO GONCALVES MAIA CAMPOS, P. M. 2006. Moisturising effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Res. Technol.*, 12, 241-246.
- DOMÍNGUEZ, I.R.; GUTIÉRREZ, O.S.; LÓPEZ, O.R.; NARANJO MF. Beneficios del Aloe Vera L. (sábila) en las afecciones de la piel. *Rev Cubana Enferm.* 2006;2(3):1-4.
- DUMITRIU, S. Polysaccharides as Biomaterials. *Polymeric Biomaterials*. Marcel Dekker: New York, 2002.
- EMBUSCASO, M. E., HUBER, K. C. 2009. *Edible Filmes and Coatings for Food Applications*, Dordrecht; London, Springer.
- FEMENIA, A., SÁNCHEZ, E., SIMAL, S. & ROSSELLÓ, C. 1999. Compositional features of polysaccharides from Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydrate polymers*, 3, 109-117.
- FIDÉLES, T. B. Filmes Reticulados de Quitosana para Aplicação como Biomaterial. Programa de pós-graduação em Ciência e engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande (Dissertação), 72f, 2010.
- FIELD C, KERSTEIN M (1994) Overview of wound healing in a moist environment. *Am J Surg* 167 (supplement 1A) 2s-6s.
- FRANCO, D. GONÇALVES, L. F. Feridas Cutâneas: A Escolha do Curativo Adequado. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2007.
- GRINDLAY; REYNOLDS. The Aloe vera phenomenon: a review of the properties and moderns uses of the leaf parenchyma gel. *J. Ethnopharmacol.* 16: 117-151, 1986.
- HAMMAN, J. H. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules*, vol. 13, p. 1599-1616, 2008.
- HENCH, L. L. Biomaterials: a forecast for the future. *Biomaterials*, v. 19, p. 1419-1423, 1998.
- IGLESIAS A; MARIN A; BARRAGÁN JA; CHINCHETRU C; PÉREZ-TORRUBIA A. Estudio sobre la respuesta dérmica enpacientes tratados com Aloe vera en el tratamiento radioterápico de cáncer de mama. Acesso em agosto. 2013.
- JETTANACHEAWCHANKIT, S.; SASITHANASATE, S. Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound, *J Pharmacol Sci*, vol. 109, nº 4, p. 31 – 525, 2009.

JING, S. B.; LI, L.; Ji, D.; TAKIGUCHI, Y.; YAMAGUCHI, T. Effect of chitosan on renal function in patients with chronic renal failure. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. v. 49, n. 9, p. 721-723, 1997.

YANG, E. J., KIM, J. G., KIM, J. Y., KIM, S. C., LEE, N. H. & HYUN, C. G. 2010. Anti-inflammatory effect of chitosan oligosaccharides in RAW 264.7 cells. *Central European Journal of Biology*, 5, 95-102.

LIMA, R. S. C. Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina, Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, 2010, 112 f.

MAJETI M, KUMAR NV. 2000. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J Pharm Pharm Sci* 3:234–258.

MARRECO, P.R.; MOREIRA, P.L.; GENARI, S.C.; MORAES, A.M. Effect of Different Sterilization Methods on the Morphology.Mechanical Properties, and Cytotoxicity of Chitosan Membranes Used as Wound Dressings. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 71A, p. 268-277, 2004.

MELO JG; SANTOS AG; AMORIM ELC; NASCIMENTO SCN; ALBUQUERQUE UP. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. Acesso em agosto. 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. Guia para o Controle da Hanseníase. 2009.

MINISTÉRIO da SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual de prevenção de incapacidades. Brasília: Ministério da Saúde; 2001. p. 107.

MINISTÉRIO da SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia para o controle da hanseníase. (Cadernos de Atenção Básica n. 10, Série A: Normas e Manuais Técnicos, n.111). Brasília: Ministério da Saúde; 2002. p. 89.

MUZZARELLI, R. A. A. Depolymerization of methyl pyrrolidinone chitosan by lysozyme. *Carbohydrate Polymers*. v. 19, p. 29-34, 1992.

NI, Y.; TIZARD I. R. Analytical Methodology: The Gel-Analysis of Aloe Pulp and its Derivatives. In: *Aloes the Genus Aloe*, Reynolds, T. (Ed.). CRC Press, Boca Raton, FL., USA., p. 111-126, 2004.

OLBER MOREIRA DE FARIA, BRENO RABELO DE CARVALHO E SILVA, EMANUEL MIRANDA OLIVEIRA, PEDRO NILO MAGALHÃES DUMONT. Evolução epidemiológica e métodos diagnósticos da hanseníase no Brasil – 2013.

OPROMOLLA, D. V. A. Terapêutica. In: OPROMOLLA, D. V. A. Noções de Hansenologia,. Bauru. Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato. P. 959. 2000.

ORTONNE JP, CLÉVY JP. Physiologie de la cicatrisation cutanée. Ver Prat 1994; 44(13): 1733-4.

PONCIANO, J. J. In: Desenvolvimento de membranas bioabsorvíveis com variado nível de orientação molecular para aplicação como biomaterial. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande, 2010.

PRASHANTH, K. V. H.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential – an overview. Trends in Food Science & Technology, vol. 18, p. 117-131, 2007.

RAJASEKARAN, S.; RAVI, K.; SIVAGNANAM, K.; SUBRAMANIAN, S. Beneficial effects of Aloe vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol, vol. 33, p. 232-237, 2006.

ROBERTS, G. A. F. Chitin Chemistry. Mc Millan Press, London, 1992.

RIDLEY, D. S. JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity: a five group system. Int J Lepr. 34:255-73. 1966.

ROMANAZZI, G., GABLER, F. M., MARGOSAN D., MACKEY, B. E. & SMILANICK, J. L. 2009. Effect of Chitosan Dissolved in Different Acids on Its Ability to Control Postharvest Gray Mold of Table Grape. Phytopathology, 99, 1028-1036.

SAMPAIO, S. A. P. RIVITTI, E. A. Dermatologia. Ed. 3. São Paulo. Artes Médicas; p. 625-51. 2007.

SANTOS, C. Propriedades de Filmes de Quitosano – Influência do grau de acetilação e da massa molecular do biopolímero. Tese de Mestrado. Universidade de Aveiro, 2006.

SCHILLING, A. F.; LINHART, W.; FILKE, S.; GEBAUER, M.; SCHINKE, T.; RUEGER, J. M.; AMLING, M. Resorbability of bone substitute biomaterials by human osteoclasts. Biomaterials, v. 25, p. 3963-3972, 2004.

SENEL, S.; MCCLURE, S. J.; Adv. Drug Deliver. Rev., vol. 56, p. 1467, 2004.

SHOULDERS, M. D.; RAINES, R. T. Collagen structure and stability. Annu Rev Biochem. V. 78, p. 929-958, 2009.

SILVA, M. R. CASTRO, M. C. R. Fundamentos de Dermatologia. Rio de Janeiro, Atheneu. 2009.

SPIN-NETO R, PAVONE C, FREITAS RM, MARCANTONIO RAC, MARCANTONIO-JR E. Chitosan based biomaterials with medical and dental application: literature review. *Rev Odontol UNESP*. 2008; 37(2): 155-161.

STAMFORD, T. C. M. Produção, caracterização e atuação anticariogênica de quitosana extraída de *Cunninghamella elegans* UCP 542. 153f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife, 2006.

STEVENS, Neil, O Poder Curativo da Babosa – Aloe vera – Selestial Connection – (Tradução – SCAPIN, S.) – São Paulo: Madras Editora Ltda, 1.999.

STUART, R. W.; LEFKOWITZ, D. L.; LINCOLN, J. A.; HOWARD, K.; GELDERMAN, M. P.; LEFKOWITZ, S. S. Upregulation of phagocytosis and candidicidal activity of macrophages exposed to the immunostimulant acemannan. *Int J Immunopharmacol*, vol. 19, nº 2, p. 72 – 82, 1997.

TALHARI S, NEVES RG, OLIVEIRA SG. *Dermatologia tropical hanseníase*. 3 ed. Manaus: Grafica Tropical; 1997. p.41-61.

TARAVEL, M. N.; DOMARD, A. Collagen and its interactions with chitosan III. Some biological and mechanical properties. *Biomaterials*, v. 17 p. 451-455. 1995.

TURNER, C. E.; WILLIAMSON, D. A.; STROUD, P. A.; TALLEY, D.J. Evaluation and comparison of commercially available Aloe vera L. products using size exclusion chromatography with refractive index and multi-angle laser light scattering detection. *Int Immunopharmacol*, vol. 4, nº 14, p. 37 – 1727, 2004.

UENO H, MURAKAMI M, OKUMURA M, KADOSAWA T, UEDE T, FUJINAGA T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. *Biomaterials*. 2001;22:1667-73.

URAGAMI T.; TOKURA S, (eds.) *Material Science of Chitin and Chitosan*, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.

VESELY, I. The evolution of bioprosthetic heart valve design and its impact on durability. *Cardiovascular Pathology*. v. 12, p. 277-286, 2003.

ZHANG, L.; TIZARD, I. R. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. *Immunopharmacol*, vol. 35, n 2, p. 28 – 119, 1996.

ZANINI, M.; MACHADO FILHO, C. A. S.; TIMONER, F. Uso de esponja cirúrgica para curativo compressivo de enxerto cutâneo. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. Rio de Janeiro. v. 79, n.3, p.359-362, 2004.

ANAIS DO 12 CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA DE FAMILIA E COMUNIDADE – maio junho de 2013.