CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA COM EXTRATO FOLIAR AQUOSO DE *Combretum duarteanum* CAMBESS

F.M.S. de Sousa[1]; R.C.S. Silva[2]; T. L. B. da Silva[1]; R. R. S. de Farias[3]; M.O.C. Macêdo[1]

[1]Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí/ Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais

[2]Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí/ Graduação em Ciências Biológicas

[3] Universidade Federal do Piauí/ Programa de Pós- Graduação em Biotecnologia

Praça da Liberdade, 1597, 64000-040, Centro, Teresina – PI

mairanassousa@hotmail.com

RESUMO

Tendo em vista a possibilidade de melhoria na atuação de membranas de quitosana, alguns compostos com potencial farmacológico adicional estão sendo incorporados a este biomaterial. Assim, o objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar membranas de quitosana com extrato aquoso foliar de rama-branca (Combretum duarteanum). As membranas foram preparadas utilizando-se quitosana em pó dissolvida em ácido acético e caracterizadas por espectroscopia na região do Infravermelho (IV), termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). O espectro de IV mostrou bandas características de grupamentos químicos tanto da quitosana quanto do extrato incorporado. As análises de TG e DSC mostraram que as membranas de quitosana com ExAquo apresentam maior estabilidade térmica que as membranas de quitosana pura. A partir destas análises, pode-se perceber a efetiva incorporação do ExAquo de C. duarteanum à membrana de quitosana. Sendo este processo uma alternativa para a melhoria do desempenho e utilização destas membranas cicatrizantes.

Palavras-chave: Biomaterial, quitosana, *Combretum duarteanum*

INTRODUÇÃO

Os constantes avanços em pesquisas com biomateriais, ampliou as possibilidades de aplicações destes produtos na medicina regenerativa, com obtenção de materiais que favorecem uma resposta biológica mais rápida e eficaz.

O desenvolvimento de materiais curativos a base de polissacarídeos tem sido uma alternativa eficiente no tratamento de lesões cutâneas. Pois estes estimulam o sistema imune in vitro e in vivo e contribuem favoravelmente no processo de cicatrização[1,2]. Por possuir propriedades cicatrizantes, antimicrobiana e ação hemostática a quitosana, um polissacarídeo natural, tornou-se um dos biopolimeros mais empregado para este fim [3,4].

Tendo em vista a possibilidade de melhoria na atuação de membranas de quitosana, alguns compostos com potencial farmacológico adicional estão sendo incorporados a este biomaterial. Destacando-se substancias bioativas presentes em extratos vegetais [5,6,7].

Combretum duarteanum Cambess é uma planta encontrada nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste do Brasil, conhecida pelos nomes populares de vaqueta, caatinga-branca e rama-branca [8,9]. As folhas de *C. duarteanum* Cambess, são utilizadas na medicina popular em infusões preparadas para o tratamento de dor e como sedativo. A atividade antioxidante, anti-inflamatória e anti-nociceptiva desta espécie foi reconhecida a partir de estudos farmacológicos recentes realizados com extratos foliares [10,11]. Diante destes aspectos, a incorporação de extratos de *C. duarteanum* em membranas de quitosana, agregando as propriedades biológicas dos componentes deste compósito, surge como uma alternativa no desenvolvimento de novos biomateriais curativos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar por meio de espectroscopia na região do infravermelho (IF), TGA (análise termogravimétrica) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) membranas de quitosana com extrato aquoso foliar de rama-branca (*Combretum duarteanum)* para aplicações biológicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

O extrato aquoso (ExAquo) de *C. duarteanum* foi cedido pelo Laboratório de Produtos Naturais da UFPI e preparado a partir das folhas secas e moídas.

As membranas foram preparadas utilizando-se quitosana em pó dissolvida em ácido acético a 2% com agitação constante, por 24h. Em seguida, a solução de quitosana passou por duas filtrações. Posteriormente, separou-se 100 mL da solução para produção das membranas puras e 100 mL para a mistura com o ExAquo (1%), sendo esta mistura submetida a agitação por mais 24h. Depois um volume de 30 mL de cada solução foi vertido sobre placas de petri e as mesmas

acondicionadas em estufa em temperatura de 50ºC. Após a secagem inicial, as membranas formadas foram neutralizadas com NaOH a 5%, seguido de acomodação e secagem em temperatura ambiente. As membranas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia na região do Infravermelho (IV), termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

Para análise do Infravermelho, foi utilizado o espectrômetro modelo IRAFFINITY-1 (*Fourier transform infrared spectrophotometer*). Sendo a faixa do espectro de 4.000 a 400 cm^{-1}.

As curvas de TG e DSC foram obtidas em equipamento modelo TGA 51 (Thermogravimetric analyzer) e DSC-60, Shimadzu, na faixa de temperatura de 26 a 600ºC (DSC) e de 26 a 900 ºC (TG). Utilizando-se razão de aquecimento de 10 °C min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de gás da ordem de 50 ml min^{-1}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As membranas de quitosana (M.Q) obtidas apresentaram uma coloração amarelada, enquanto que as com extrato aquoso foliar (M.Q.ExAquo) exibiram um aspecto avermelhado (Fig.1). Além disso, as M.Q.ExAquo mostraram-se menos enrugadas do que as M.Q. após o processo de secagem. Ambas, apresentaram boa flexibilidade e uniformidade.

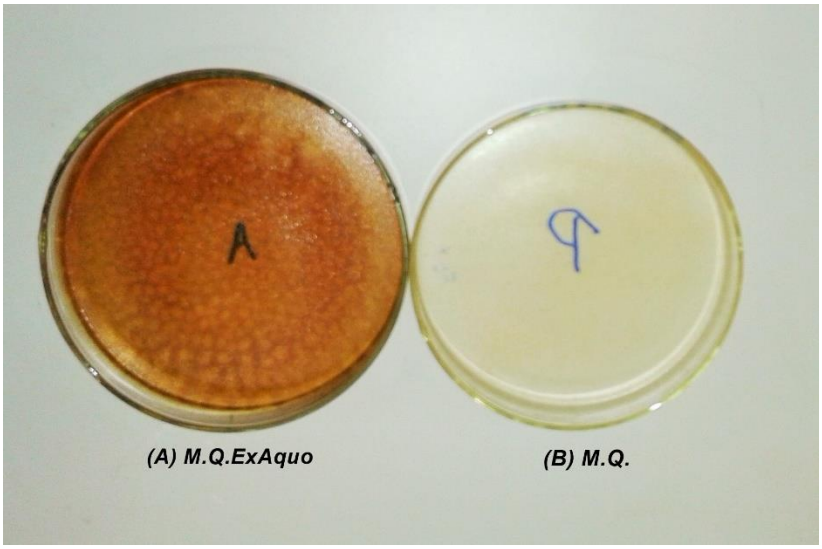

Figura 1- Aspecto macroscópico da (A) membrana de quitosana com extrato aquoso foliar de *C. duarteanum* (B) membrana de quitosana.

A figura 2 mostra os espectros do extrato (ExAquo C.D.) e das membranas de quitosana (M.Q) e quitosana com extrato aquoso de C. *duarteanum* (M.Q.ExAquo).

No espectro referente ao extrato (Fig. 2A) observam-se as seguintes bandas principais: 3363 cm^{-1} referente a deformação axial O-H e a presença de N-H das amidas primárias ou secundárias; 2903 cm^{-1} característica da deformação axial do C-H em composto alifático; 1615 cm^{-1} correspondendo a deformação axial C=O conjugada dos ácidos carboxílicos; 1373 cm^{-1} devido à deformação angular de C-H; e bandas entre 996-1068 cm^{-1} , que são características do estiramento vibracional de C-O em compostos fenólicos [12,13,14].

No espectro da M.Q (Fig. 2B) as bandas entre 600-1380 cm^{-1} são características das estruturas de sacarídeos. Além destas, podem ser observadas as bandas: 1380 cm^{-1} devido a deformação angulares de C- H; 1580 cm^{-1} relacionada com a deformação angular N-H (amida II); 1651 cm^{-1} que corresponde ao estiramento C=O da amida I; 2924 cm^{-1} relacionada ao estiramento CH (assimétrico); 3266 cm^{-1} associada ao estiramento O-H [15,16].

Já no espectro da M.Q.ExAquo (Fig. 2C) os picos referentes à quitosana e ao extrato estão presentes, indicando a interação polimérica. Tipicamente, uma diminuição no comprimento de onda vibracional das bandas de vibração O-H e N-H indicam ligações de hidrogênio entre as moléculas de polímero na membrana. No entanto, houve deslocamento da banda de absorção da região de 3.266 cm^{-1} (M.Q), referente à OH ligado, para 3.322 cm^{-1} (M.Q.ExAquo). Isto pode ser indicativo de uma interação hidrofóbica na rede molecular da quitosana e o extrato [16].

Houve evidência das bandas referentes a N-H associado em amidas e C-O de ésteres nas regiões de 3.123 cm^{-1} e 1146 cm^{-1} respectivamente. Além disso, pôde-se observar um ligeiro deslocamento da banda característica do grupo C-O-C da região de 1047 cm^{-1} (M.Q.) para 1068 cm^{-1} (M.Q.ExAquo). Todas estas bandas características observadas são semelhantes àquelas descritas por Fráguas et al. (2015) [17] e por Bispo et al. (2009) [15].

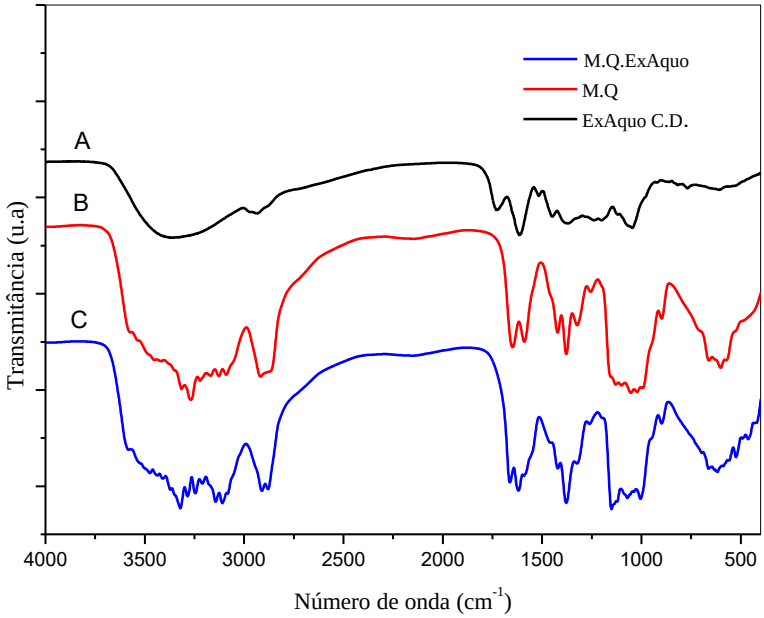

Figura 2- Espectro na região do infravermelho obtidos da A- extrato aquoso foliar de *C. duarteanum* (ExAquo C.D.), B- membrana de quitosana (M.Q.) e C- membrana de quitosana com extrato (M.Q.ExAquo).

A análise termogravimétrica (TGA) mostrou três estágios de decomposição térmica para a membrana de quitosana (Fig. 3). O primeiro estágio se refere à perda de água e se iniciou na temperatura de 36 ºC e seguiu até 180 ºC, com perda de massa de 12%. O segundo estágio (266 ºC-474 ºC), refere-se a perda de água do interior da estrutura polimérica, podendo ser atribuído ao início da degradação da cadeia principal do polímero, com perda de massa de 42% [18]. O terceiro estágio de degradação térmica refere-se a despolimerização e decomposição da estrutura polissacarídea, ocorrendo na faixa de temperatura de 474ºC-600ºC (perda de 40% em massa).

A curva TGA para a membrana de quitosana com extrato apresentou dois estágios de decomposição térmica: I (33ºC- 255°C), com perda de 15% em massa e II (255ºC-900ºC), com perda de 44% em massa. Este último evento, provavelmente, está relacionado com a decomposição térmica de hidratos de carbono e outros compostos orgânicos presentes no extrato. O ExAquo também apresentou uma curva de decomposição com dois estágios: I (70 ºC- 225 ºC), com perda de 14% em massa e II (225 ºC- 900 ºC), com perda de 52% em massa. O primeiro estágio pode ser atribuído à perda de umidade da amostra e o segundo à degradação dos

constituintes do extrato. Houve uma grande quantidade de resíduo para o ExAquo, cerca de 34%, podendo ser atribuído a presença de sais.

Foi verificada uma melhor estabilidade térmica para as membranas com ExAquo de *C. duarteanum* em comparação as membranas de quitosana sem extrato, no intervalo de temperatura estabelecido. Como o processo de degradação dos constituintes bioativos do extrato e da quitosana inicia-se apenas acima de 200 ºC (segundo estágio), deve-se respeitar este intervalo térmico, em todas as etapas de manipulação destas membranas, principalmente na possível produção de um biomaterial curativo ou durante o seu armazenamento. Visto que, estas membranas, quando submetidas a temperaturas superiores a esse limite térmico podem sofrer a degradação dos fitoconstituintes do extrato empregado e também da estrutura polimérica da quitosana, os quais podem modificar suas propriedades biológicas, alterando a resposta fisiológica e terapêutica [19].

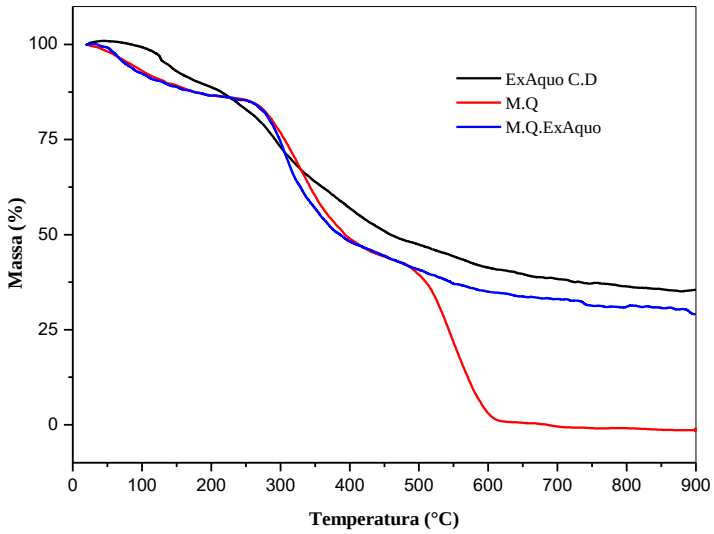

Figura 3- Curva de análise termogravimétrica para o extrato aquoso foliar de *C. duarteanum* (ExAquo C.D); membrana de quitosana (M.Q) e membrana de quitosana e extrato aquoso de *C. duarteanum*(M.Q.ExAquo).

Na Figura 4, observa-se as curvas de DSC das membranas M.Q, M.Q.ExAquo e do ExAquo foliar de *C. duarteanum*. Para a M.Q, o primeiro evento entre 66 e 128 °C apresenta um pico endotérmico a aproximadamente 88 °C, referente à perda de água da amostra polimérica. O segundo evento, com pico endotérmico, teve início a 177 °C e refere-se a liberação de compostos voláteis do material. Um evento exotérmico foi observado entre 280 e 318 ºC, atribuído ao início

de degradação da cadeia principal do polissacarídeo. O quarto evento com pico endotérmico a 494 ºC, deve-se a carbonização do material.

A curva DSC para a M.Q.ExAquo mostrou três eventos térmicos: um pico endotérmico em cerca de 82ºC com entalpia de 110 J/g (relacionado a perda de água e de constituinte voláteis da amostra); um pico exotérmico a 285 ºC e entalpia de – 145,57 J/g, o qual possivelmente se refere à decomposição inicial de metabólitos secundários presente na amostra como alcaloides, flavonoides, taninos entre outros[20]; um pico endotérmico a 390 ºC com entalpia de 137,39 J/g. Estes ultimo está dentro da faixa de temperatura de maior degradação do material, demonstrada pela TG. Já a curva DSC do extrato evidenciou somente dois eventos térmicos: um endotérmico na faixa de temperatura de 118 a 141 ºC (entalpia de 40,11 J/g) e um outro exotérmico de 483 a 598 ºC (entalpia de – 222,73 J/g), que correspondem a degradação dos compostos orgânicos presentes no extrato. Obteve-se um melhor resultado com as membranas de M.Q.ExAquo quando comparadas às M.Q, evidenciando uma diminuição na degradação do material, consequentemente, o aumento da estabilidade térmica do material. As membranas de quitosana testadas por não apresentarem uma estrutura cristalina definida, não apresentam temperatura de fusão na faixa térmica estabelecida[21].

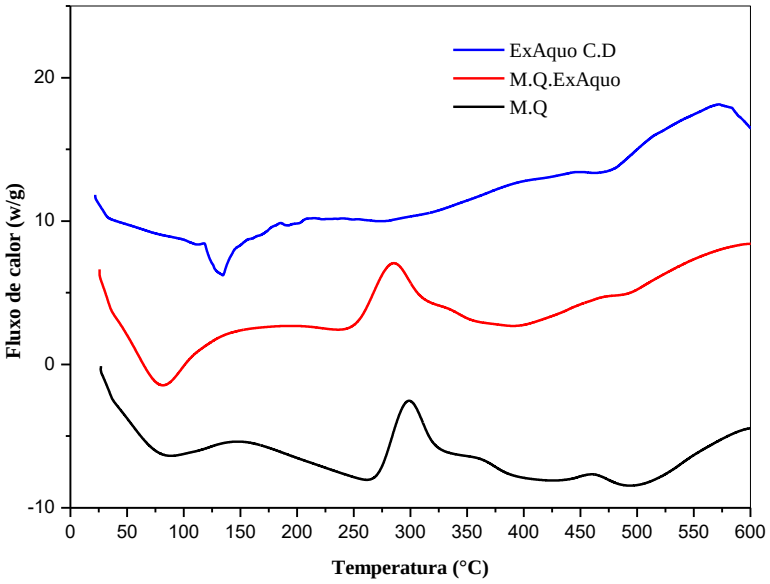

Figura 4- Curva de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para o extrato aquoso foliar de *C. duarteanum* (ExAquo C.D); membrana de quitosana (M.Q) e membrana de quitosana e extrato aquoso de *C. duarteanum*(M.Q.ExAquo).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que houve a incorporação do extrato aquoso foliar de *C. duarteanum* à matriz de quitosana, com a interação entre grupos funcionais da quitosana e componentes polifenólicos do extrato evidenciada por IV. Foram obtidas membranas uniformes, flexíveis e de boa estabilidade térmica até cerca de 200 ºC. Assim, biomateriais de maior potencial cicatrizante desenvolvidos a partir desta blenda polimérica torna-se uma proposta viável, tendo em vista, as propriedades farmacológicas favoráveis dos seus componentes principais, que podem ser mantidas sob as condições propostas no processo de preparação das membranas.

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos de fomento CAPES, FAPEPI e ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais do IFPI, por tornarem possível a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

[1] DIALLO, D. et al. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. Journal of Ethnopharmacology, v.74, p.159-171, 2001.

[2] SCHIRATO, G.V. et. al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. Ciência Rural, Santa Maria, v.36, n.1, p.149-154, 2006.

[3] SPIN-NETO, R. S. et al. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. Revista de Odontologia da UNESP, v. 37, n. 2, p. 155-161, 2008.

[4] MOURA, M.J. Aplicações da quitosana em liberação controlada de fármacos: algumas considerações. Enciclopédia Biosfera, v.8, p.1489, 2012.

[5] BARRAL, S.M. O uso do extrato hidroalcoólico de barbatimão associado ao filme de quitosana para a cicatrização de feridas cutâneas complexas em ratas. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Minas Gerais, Pós-Graduação m Ciências Aplicada à Cirurgia e à oftalmologia, Belo Horizonte, 2014.

[6] BREDA, C.A. et al. Análises microscópicas de blenda de quitosana-extrato etanólico de casca de pequi. In: VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Juiz de Fora, MG, Brasil, 2014.

[7] TOMAZ, V. G.; MORAES, A. M. Incorporação de extrato de alecrim em membranas de alginato e quitosana. In**:** Anais do XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica [=Blucher Chemical Engineering Proceedings, v. 1, n.3, p. 1095-1100.]. ISSN Impresso: 2446-8711**.** São Paulo: Blucher,2015. Disponível em: http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/incorporao-de-extrato dealecrim-em-membranas-de-alginato-e-quitosana-19781. Acesso em: 25/09/2016.

[8] FORZZA, R. C. et. al. Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio/Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v.1, 2010.

[9] FARIAS, R. R. S. et al. Botânica (aspectos morfológicos) e distribuição geográfica de três espécies de Combretaceae nos cerrados do Piauí, nordeste do Brasil. Publicações Avulsas em Conservação de Ecossistema, Teresina, n. 31, p.1-23, nov. 2014.

[10] GOUVEIA, M. G.S.; XAVIER, M.A.; BARRETO, A. S.; GELAIN, D. P.; SANTOS, J.P.A.; ARAÚJO, A. A.S.; SILVA, F. A.; QUINTANS, J. S.; AGRA, M F.; CABRAL, A.G.S.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antioxidant, Antinociceptive, and Anti-inflammatory Properties of the Ethanolic Extract of *Combretum duarteanum* in Rodents. Journal of medicinal food, v.14, p.1389–1396, 2011.

[11] LIMA, G. R. M.; MONTENEGRO, C. A.; FALCÃO, H.S.; JESUS, N. Z. T.; CABRAL, A. G. S.; AGRA, I. F. G.; AGRA, M. F.; TAVARES, J. F.; BATISTA, L. M. Gastroprotective activity of the ethanolic extract and hexane phase of *Combretum duarteanum* Cambess. (Combretaceae). J Nat Med, n.67, p.492–502, 2013.

[12] SILVERSTEIN, R. M.; WEBTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação espectrométrica de compostos orgênicos.7ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

[13] ALBERNAZ, V. Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização fisicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico. Dissertação (mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

[14] HERNÁNDEZ-TERRONES, M.G. et al. Estudo fotoquímico e alelopático do extrato de caule de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*). Planta Daninha, Viçosa-MG, v.25, n. 4, p. 755-762, 2007.

[15] BISPO, V.M.; MANSUR, A.A.P.; MANSUR, H.S. Caracterização por espectroscopia de infravermelho de filmes de quitosana com diferentes quantidades de agente reticulante. In: 10º Congresso Brasileiro de Polímeros, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 2009.

[16] OLIVEIRA, A.P.R. Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo do processo de reticulação. Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo- USP, Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de

Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Programa de Pós-graduação Interunidades em Bioengenharia, São Carlos, 2013.

[17] FRÁGUAS, R.M. et al. Caracterização química e efeito cicatrizante de quitosana, com baixos valores de massa molar e grau de acetilação, em lesões cutâneas. Polímeros, v.25, n.2, p. 205-211, 2015.

[18] PARIZE, A. L. Desenvolvimento de sistemas microparticulados e de filmes de quitosana e corante natural cúrcuma. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-graduação em Química, Florianópolis, 2009.

[19] SOUZA, E.A.; SANTANA, C.P.; FERNANDES, F.H.A.; SILVA, P.C.D.; BASILIO JUNIOR, I.D.; SIMÕES, M.O.S.; MEDEIROS, F.D.; MEDEIROS, A.C.D. Caracterização térmica de extrato de *Croton blanchetianus* Baill**.** In: IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, Serra Negra, SP, Brasil, 2014.

[20] COSTA, R.S. et al. Investigation of thermal behavior of heliotropium indicum l. Lyophilized extract by tg and dsc. J therm anal calorim, v.111, p.1959–1964, 2013.

[21] ARGIN-SOYSALA, S.; KOFINASB, P.; LOA, L. M. Effect of complexation conditions on xanthan–chitosan polyelectrolyte complex gels. Food Hydrocolloids, v.23, p. 202–209, 2009.

CHARACTERIZATION FROM MEMBRANES CHITOSAN WITH EXTRACT AQUEOUS LEAF OF *Combretum duarteanum* CAMBESS

ABSTRACT

Considering the possibility of improving the performance of chitosan membranes, some compounds with additional pharmacological potential are being incorporated into this biomaterial. The objective of this work was to prepare and characterize chitosan membranes with leaf aqueous extract of foliage-white (Combretum duarteanum). Membranes were prepared using chitosan poder dissolved in acetic acid and characterized by spectroscopy in the infrared (IR), thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC). The IR spectrum showed characteristic bands of chemical groupings so chitosan as the embedded extract. TG analysis and DSC showed that chitosan membranes ExAquo have higher thermal stability than the pure chitosan membranes. From these analyzes, we can realize the effective incorporation ExAquo of C. duarteanum the chitosan membrane. As an alternative to this process to improve the performance and use of these healing membranes.

Keywords: biomaterial, Chitosan, *Combretum duarteanum.*