



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e

Bioprocessos - Mestrado Profissional

ALINE DE FREITAS LIMA

**Desenvolvimento de um novo adesivo à base de látex natural
carreado com ibuprofeno para tratamento de processos
inflamatórios**

**Araraquara, SP
2019**

ALINE DE FREITAS LIMA

**Desenvolvimento de um novo adesivo à base de látex natural
carreado com ibuprofeno para tratamento de processos
inflamatórios**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos – Mestrado Profissional, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Augusto Batagin Neto

Coorientador: Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

Coorientador: Dr. Matheus Carlos Romeiro Miranda

Araraquara, SP
2019

-
- L732d** Lima, Aline de Freitas.
Desenvolvimento de um novo adesivo à base de látex natural
carreado com ibuprofeno para tratamento de processos inflamatórios
/ Aline de Freitas Lima. – Araraquara, 2019.
58 f. : il.
- Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual
Paulista. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.
- Orientador: Augusto Batagin Neto.
Coorientador: Rondinelli Donizetti Herculano.
Coorientador: Matheus Carlos Romeiro Miranda.
1. Membranas de látex. 2. Liberação sustentada de fármacos. 3.
Desenvolvimento de adesivo. 4. Anti-inflamatórios. I. Batagin Neto,
Augusto, orient. II. Herculano, Rondinelli Donizetti, coorient. III.
Miranda, Matheus Carlos Romeiro, coorient. IV. Título.

ALINE DE FREITAS LIMA

Desenvolvimento de um novo adesivo à base de látex natural carregado com ibuprofeno para tratamento de processos inflamatórios

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos – Mestrado Profissional, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Banca Examinadora

PROF. DR.

INSTITUIÇÃO

ASSINATURA.

PROF. DR.

INSTITUIÇÃO

ASSINATURA.

PROF. DR.

INSTITUIÇÃO

ASSINATURA.

DEDICATÓRIA

*A DEUS A QUEM DEVO A EXISTÊNCIA, A FORMAÇÃO E
ORIENTAÇÃO DE VIDA.*

*A MINHA FAMÍLIA, PROFESSORES E AMIGOS,
PELA DEDICAÇÃO, APOIO , INCENTIVO E COMPREENSÃO.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pelo seu amor infinito, sem Ele nada seria.

Gostaria de agradecer também a meu coorientador, professor Dr. Rondinelli, que com muita paciência e atenção dedicou seu valioso tempo para me orientar em cada passo deste trabalho. Obrigada pelo exemplo recebido e pela contribuição em minha vida profissional.

Agradeço também ao Prof. Dr. Augusto Batagin Neto, que me ajudou sempre que precisei. Muito obrigada pela paciência e confiança.

Agradeço também ao Dr. Matheus Carlos Romeiro Miranda, que me ajudou de uma maneira muito especial, com seu conhecimento e sua paciência. Muitíssimo obrigada.

Agradeço também aos meus familiares queridos, que sempre me apoiaram nessa caminhada.

Agradeço também a todos os professores do curso que de um jeitinho especial e único me transmitiram conhecimento e amor pela pesquisa.

Finalmente, gostaria de agradecer aos meus amigos e ao pessoal do grupo de pesquisa BioMat - Biomateriais e Bioengenharia – UNESP – Araraquara, dos quais me lembrarei pelo resto da vida. Vocês fizeram os meus dias mais alegres e tudo passou tão rápido...Obrigada pelo incentivo e apoio constantes.

“SUA VIDA PODE SER O QUE VOCÊ QUER QUE ELA SEJA
CONTE SUAS BÊNÇÃOS, NÃO SEUS PROBLEMAS.
VOCÊ OS SUPERARÁ, VENHA O QUE VIER.
DENTRO DE VOCÊ HÁ MUITAS RESPOSTAS.
COMPREENDA, TENHA CORAGEM, SEJA FORTE.
NÃO COLOQUE LIMITES EM SI MESMO.
MUITOS SONHOS ESTÃO ESPERANDO PARA SEREM REALIZADOS...”

AUTOR DESCONHECIDO

RESUMO

A liberação sustentada de fármacos é um tópico importante para várias aplicações em nanotecnologia devido ao seu potencial impacto na sociedade, como a criação de sistemas de carreadores otimizados. A relevância dos sistemas de liberação sustentada de princípios ativos advém do fato de que raramente um fármaco veiculado em solução aquosa, ou numa forma convencional, consegue atingir um alvo específico no organismo em concentrações adequadas para provocar o efeito terapêutico esperado. Neste contexto, o látex natural tem se mostrado um material bastante promissor, sendo já empregado em diversos sistemas de liberação. Dentre os principais benefícios deste material, pode-se destacar o baixo custo relativo e a facilidade de aplicação/utilização. Dadas estas interessantes propriedades, diversos trabalhos têm avaliado a utilização de membranas de látex em sistemas de liberação de fármacos, no intuito de desenvolver adesivos de liberação transdérmica utilizando o látex como matriz de dispersão. O presente trabalho avaliou um novo sistema fármaco/membrana baseado em ibuprofeno e o mesmo foi caracterizado por meio de diferentes métodos físicos e químicos. Os resultados obtidos apontam o sistema estudado como um possível precursor de um novo adesivo a base de látex natural. Observou-se a ausência de ligações intermoleculares que dificultariam a liberação do fármaco. Uma pequena perda da capacidade de deformação e elasticidade do látex foi observada após a incorporação do fármaco, a qual, no entanto, não impede a sua aplicação como adesivo. Por fim, a análise de liberação de fármaco e baixo grau de hemólise define o sistema estudado como um promissor biomaterial para aplicações futuras.

Palavras-chave: Membranas de látex. Liberação sustentada de fármacos. Desenvolvimento de adesivo. Anti-inflamatórios.

ABSTRACT

Sustained drug release is an important topic for many applications in nanotechnology because of its potential impact on society, such as the creation of optimized carrier systems. Sustained release systems of active principles come from the fact that rarely does a drug delivered in aqueous solution, or in a conventional form, achieve a specific target in the body at concentrations adequate to elicit the expected therapeutic effect. In this context, natural latex has shown to be a very promising material and has already been used in several release systems. Among the main benefits of this material is the low relative cost and ease of use. Given these interesting properties, several studies have evaluated the use of latex membranes in drug delivery systems, in order to develop transdermal release adhesives using the latex as a dispersion matrix. The present work evaluated a new drug / membrane system based on ibuprofen and the same was characterized by different physical and chemical methods. The obtained results point out the evaluated system as a possible precursor of a new adhesive based on natural latex. It was observed the absence of intermolecular bonds that would hinder the release of the drug. A slight loss of the deformability and elasticity of the latex was observed after incorporation of the drug, which does not prevent its application as an adhesive. Finally, the promising drug release patterns and low degree of hemolysis define the studied system as a promising biomaterial for future applications.

Keywords: Latex membranes. Sustained release of drugs. Development of adhesive. Anti-inflammatory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do processo inflamatório.....	15
Figura 2 - Sítio de ação dos Anti-inflamatórios (AINEs).	16
Figura 3 - Estrutura Molecular Ibuprofeno.	18
Figura 4 - Perfis plasmáticos em diferentes condições de administração.	19
Figura 5 - Curvas ilustrativas de concentração-tempo do fármaco no sangue, para uma forma farmacêutica sólida convencional e um produto com liberação sustentada..	21
Figura 6 - A) Extração do látex natural da seringueira <i>Hevea brasiliensis</i> ; B) Cis- poliisopreno de látex natural.	24
Figura 7 - Evolução da cicatrização da úlcera através da aplicação da membrana de látex: A) Aspecto inicial da ferida apresentando grande quantidade de tecido fibroso necrosado; B) Aplicação da membrana de látex natural; C) Ferida apresentando redução do tecido fibroso necrosado; D) Ferida em estágio avançado de cicatrização.	25
Figura 8 - Esquema de extração e confecção da membrana de látex Natural.	29
Figure 9 - A) Membrana de LN + IBF;	31
Figura 10 - A) Equipamento de ensaio tensão-deformação em funcionamento. B) Exemplo de amostra antes e após o ensaio mecânico.	33
Figura 11 - Emissão e Excitação do fármaco ibuprofeno	34
Figura 12 - Espectros de FTIR das amostras de LN, IBF e LN + IBF	37
Figura 13 - Curva de Tensão <i>versus</i> Deformação das membranas.	40
Figura 14 - Ampliação da região delimitada do gráfico Tensão <i>versus</i> deformação das membranas – Parte elástica.	41
Figura 15 - Curva de calibração de concentrações pré-definidas de ibuprofeno.	43
Figura 16 - Espectro que mostra o perfil de liberação da membrana. Observe que, dada uma mesma excitação, o fármaco emite em uma região diferente do látex natural.....	44
Figura 17 - Liberação do fármaco em função do tempo. Note que a maior liberação ocorre no meio básico.	45
Figura 18 - A) LN + IBF na ampliação de 1000X ; B) LN na ampliação de 1000X C) LN + IBF na ampliação de 5000X. D) LN na ampliação de 5000X.....	46
Figura 19 - A) Amostra Controle positiva, Controle Negativo e Membrana de Látex com Fármaco (Membrana LN+ IBF e Membrana LN). B) Amostra depois de 24horas de incubação (Amostra controle positivo e LN+IBF). C) Amostra Controle Negativo.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vantagens do Sistema de Liberação Sustentada.....	20
Tabela 2 - Dados de controle de qualidade do fornecedor do látex natural utilizado	30
Tabela 3 - Dados do ensaio de resistência mecânica das membranas.....	41
Tabela 4 - Média dos Resultados das quintuplicata das amostras do ensaio de Hemólise.	48

LISTA DE SÍMBOLOS

AA: ácido aracdônico ou araquidônico

AINEs: anti-inflamatórios não esteroides

ATR: refletância atenuada

CMT: concentração mínima tóxica

CME: concentração mínima efetiva

CN: Controle negativo

CP: Controle positivo

COX: cicloxigenase

DO: Densidade óptica

FTIR: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

HPMC: hidroxipropilmetilcelulose

IBF: ibuprofeno

ISO: International Standard Organization)

LN: látex natural

LN+IBF: membranas de látex natural contendo ibuprofeno

MIP: medicamentos isentos de prescrição

SUMARIO

RESUMO	8
LISTA DE SÍMBOLOS	12
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Procedimentos inflamatórios	15
1.2 Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINEs).....	16
1.3 Ibuprofeno	18
1.4 Sistemas de Liberação	18
1.5 Sistemas de Liberação Sustentada.....	20
1.6 O látex Natural e suas aplicações como biomaterial	23
2 OBJETIVOS	28
1.2 Objetivo geral	28
2.2 Objetivos específicos	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 O Biomaterial.....	29
3.1.1 Obtenção do látex natural (LN)	29
3.2 Ibuprofeno	30
3.2.1 Confeção de membranas de látex natural + ibuprofeno (LN+IBF)	31
3.3 Caracterização e análises das membranas.....	32
3.3.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	32
3.3.2 Testes de Tensão vs Deformação.....	32
3.3.3 Estudo da cinética de liberação do ibuprofeno.....	33
3.3.4 Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)	35
3.4. Ensaio Hemolítico	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Análise de FTIR.....	36
4.2 Testes de Tensão - Deformação	38
4.3 Cinética de Liberação.....	42

4.4 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	46
4.5 Atividade Hemolítica.....	47
5 CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

1.1 Procedimentos inflamatórios

A inflamação pode ser definida como a reação do tecido vivo vascularizado à injúria local. O processo inflamatório, sob determinado ponto de vista, pode ser encarado como um mecanismo de defesa do organismo e, como tal, atua destruindo (processos de fagocitose e anticorpos), diluindo (plasma extravasamento) e isolando ou sequestrando o agente agressor, além de abrir caminho para os processos reparativos (processos de cicatrização e regeneração) do tecido afetado (ABBAS et al, 2008).

A inflamação, ou resposta inflamatória, pode ser caracterizada como uma cascata complexa de eventos fisiológicos, os quais promovem proteção aos tecidos e órgãos do corpo. Tal cascata atua restringindo os danos no local da agressão, embora possa ter efeitos deletérios quando ocorre de forma exacerbada (BILATE, 2013).

Segundo Rezende (2003), em sua fase aguda, a inflamação é desencadeada por uma resposta orgânica rápida, a qual encaminha proteínas plasmáticas e diferentes tipos celulares ao local da lesão, objetivando a remoção dos invasores e consequente digestão do tecido necrótico. A Figura 1 ilustra a ação fisiológica do organismo em relação à resposta inflamatória.

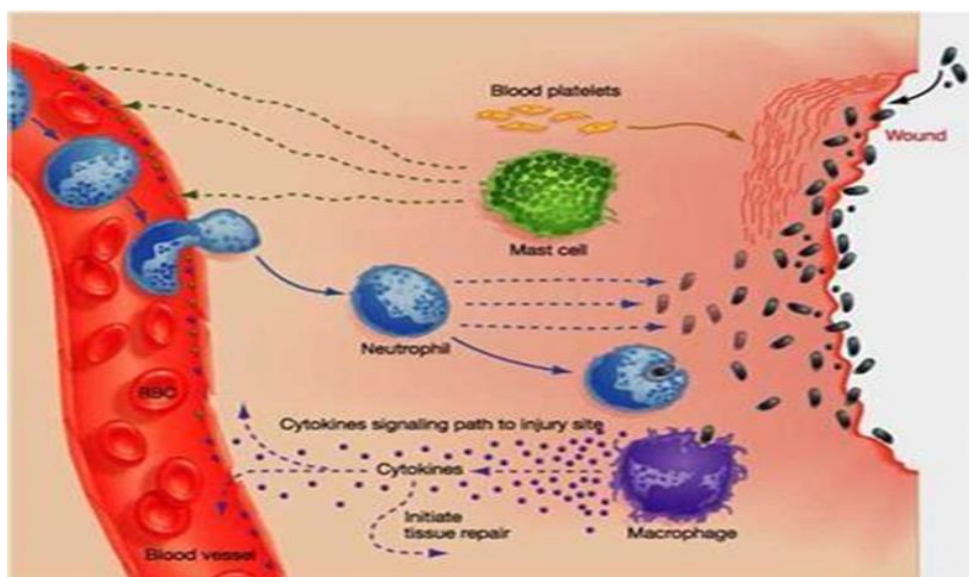


Figura 1 - Esquema do processo inflamatório (RIOS, 2018).

1.2 Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINEs)

Conhecidos pela humanidade há cerca de 100 anos, os compostos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) estão entre os agentes farmacológicos mais utilizados. Apresentam um amplo espectro de indicações terapêuticas, como: analgesia, anti-inflamação, antipirese, profilaxia contra doenças cardiovasculares, entre outros (KUMMER, 2009).

Os AINEs compõem um grupo heterogêneo de compostos, consistindo de um ou mais anéis aromáticos ligados a um ácido funcional. São ácidos orgânicos fracos que atuam principalmente nos tecidos inflamados e se ligam, significativamente, à albumina plasmática. O principal mecanismo de ação dos AINEs (Figura 2) ocorre através da inibição específica da cicloxigenase (COX) e consequente redução da conversão do ácido aracônico em prostaglandina (OLIVEIRA JUNIOR et al. 2007).

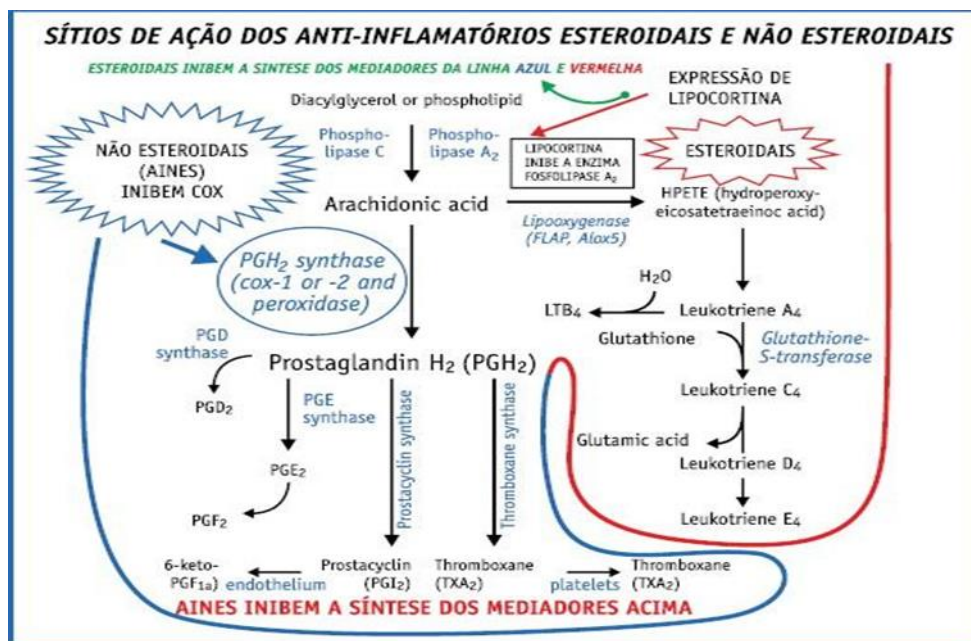


Figura 2 - Sítio de ação dos Anti-inflamatórios (AINEs) (BRANDÃO, 2011).

Conforme mencionam Protto et al (2009), a classe de medicamentos com maior frequência de utilização por automedicação é constituída pelo grupo dos analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios (73,7%). Neste contexto, os AINEs fazem parte de um grupo de medicamentos dos mais comercializados em

todo o mundo. Nos Estados Unidos, estima-se que cerca de 17 milhões de pessoas usam essas substâncias diariamente, pois várias delas podem ser obtidas sem prescrições. O Brasil encontra-se na quinta colocação no mercado consumidor mundial, com alto consumo destes medicamentos em praticamente todas as faixas etárias (CHANDRASEKRARAM et al, 2002).

Os AINEs mais lipossolúveis como cetoprofeno, naproxeno e ibuprofeno, penetram no sistema nervoso central mais facilmente e estão associados com leves alterações no humor e na função cognitiva (PROTTO et al, 2009). Além disso, o uso de AINEs convencionais está relacionado a alto risco de dano na mucosa gastrointestinal, incluindo úlceras, erosões e complicações como sangramento gastrointestinal, perfuração e obstrução do intestino (BRENOL; XAVIER; MARASCA, 2000). De fato, a principal limitação no uso dos AINEs está associada os seus efeitos gastrointestinais indesejáveis, os quais, por sua vez, situam-se entre os mais graves, incluindo náuseas, dor abdominal e úlcera gástrica. Tais efeitos podem ser ainda mais agravados devido ao uso incorreto do medicamento, sem orientação médica (LIPSKY, 2000).

No Brasil, vários AINEs são facilmente encontrados, estando ao alcance de todos em farmácias. Em especial, o naproxeno, ibuprofeno e cetoprofeno constam na lista de Medicamentos Isentos de Prescrição (MIP) de 2003, embora sejam conhecidos como agentes de potencial toxicidade (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003).

Em geral deve-se evitar o uso de AINEs, principalmente coxibes (inibidores da COX - ciclooxigenase), em pacientes com insuficiência cardíaca grave e cardiopatia isquêmica, pelo risco de indução de infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico. Em particular, um levantamento norte-americano relativamente recente assinalou um aumento significativo de risco de infarto do miocárdio e de hemorragia gastrintestinal (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003). Tal panorama evidencia a necessidade de se buscar alternativas a fim de se minimizar os efeitos indesejados causados por estes medicamentos.

1.3 Ibuprofeno

O ibuprofeno (IUPAC:(2RS)-(2)-[4-(2metilpropil)fenil]propanoico) conforme demonstrado na Figura 3 é um AINE, analgésico e antipirético, derivado do ácido propanoico que combate a inflamação, a dor e a febre, por meio da inibição da atividade da enzima cicloxigenase. Em geral é um fármaco bastante tolerado, porém quando administrado por via oral pode desencadear problemas adversos como dores de estômago, vômitos, diarreias e diversas outras gastropatias (SENA et al, 2007).

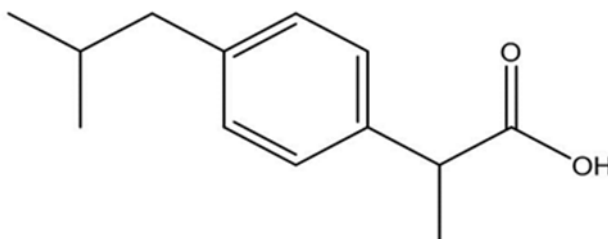


Figura 3 - Estrutura Molecular Ibuprofeno (SENA et al, 2007).

Sintetizado em 1961 no Reino Unido por Dr. Stewart Adams, o ibuprofeno é atualmente comercializado e consumido por milhões de pessoas mundialmente. Apesar de ser administrado principalmente de forma oral, é também encontrado em outras formas farmacêuticas (SENA et al, 2007). O ibuprofeno apresenta massa molecular igual 206,28 g/mol, coloração branca e odor característico. Tal composto tem sido amplamente utilizado em vários modelos matemáticos para a caracterização de perfil de liberação (COLAÇO, 2013).

1.4 Sistemas de Liberação

A extensão e velocidade com as quais um fármaco é absorvido podem ser alteradas por diversos fatores fisiológicos e físico-químicos relacionados ao próprio fármaco. A biodisponibilidade também pode ser influenciada devido a fatores ligados a formulação e a forma farmacêutica. Portanto, torna-se cada vez mais comum o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas para modular a liberação e absorção de fármacos (BAEZA, 1995). Exemplos relevantes são os

comprimidos de liberação sustentada, os quais não permitem a liberação imediata de todo o fármaco numa mesma região do organismo, fazendo-o de forma gradual e contínua em diferentes tempos e locais.

Conforme cita Ansel, Popovich e Allen (2007) existem diferentes tipos de liberação que permitem atingir a concentração mínima efetiva necessária para atingir a ação do fármaco os quais são classificados como:

- **Liberação convencional:** a qual envolve liberar o fármaco de modo que o mesmo seja absorvido completamente e com rapidez pelo organismo.
- **Liberação sustentada:** onde busca-se manter constante a concentração plasmática do fármaco por um período geralmente de 8 a 12 horas.
- **Liberação retardada:** busca-se prolongar o período de latência, ou seja, o intervalo de tempo entre a administração e detecção do fármaco na corrente sanguínea.
- **Liberação repetida:** liberação de dose individual logo após a administração, geralmente que se apresenta na camada mais externa de um comprimido.
- **Liberação prolongada:** onde são disponibilizadas duas doses do fármaco, a primeira, chamada de dose inicial de liberação imediata, necessária para produzir o efeito farmacológico desejado sem causar danos ao organismo; e a segunda, denominada dose de manutenção, liberada de modo gradual, com a finalidade de prolongar a extensão da resposta farmacológica (SENA et al, 2007). A Figura 4 ilustra de uma forma didática esses perfis.

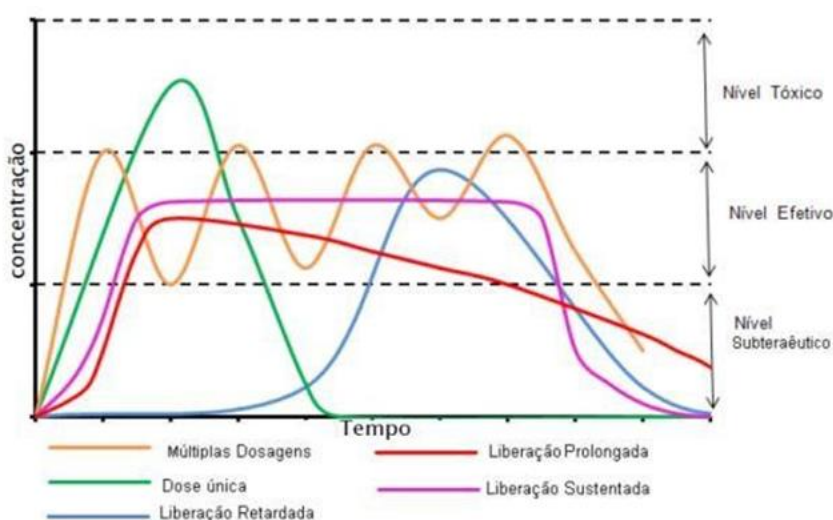


Figura 4 - Perfis plasmáticos em diferentes condições de administração (ALBANEZ, 2012).

1.5 Sistemas de Liberação Sustentada

A liberação sustentada representa uma das fronteiras da ciência, englobando diferentes aspectos multidisciplinares. Possui um alto potencial de contribuição no que tange o avanço de tratamento de saúde, oferecendo inúmeras vantagens quando comparados a outros métodos de dosagem convencional. A Tabela 1 ilustra algumas das principais vantagens da utilização de um sistema de liberação sustentada (MAURO, 2007).

Tabela 1 - Vantagens do Sistema de Liberação Sustentada (MAURO, 2007).

Tipo	Vantagens
Farmacológica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Manter o nível terapêutico sem oscilação; ▪ Impedir níveis tóxicos e efeitos colaterais; ▪ Evitar subníveis terapêuticos; ▪ Aumentar concentrações plasmáticas de fármacos de semi-vida biológica relativamente curta.
Eficácia do tratamento	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Maior comodidade pela redução do número de administrações diárias; ▪ Maior cooperação do paciente no tratamento, diminuindo falhas no tratamento por esquecimento; ▪ Não interrompe o descanso noturno dos pacientes; ▪ Diminuir os efeitos colaterais locais ou sistêmicos.
Econômica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diminuir o custo total do tratamento (menor quantidade de fármaco total utilizado); ▪ Redução do tempo dispensado pelos profissionais da saúde no atendimento, administração e monitorização dos pacientes; ▪ Diminuir custos com transporte e armazenamento; ▪ Nova patente.

Como se pode notar, grande parte das vantagens associadas ao uso de técnicas de liberação controlada envolve as variáveis do tempo e a concentração do fármaco. A Figura 5 ilustra de forma mais clara a principal diferença envolvendo a liberação sustentada e convencional de um fármaco. Os índices CMT e CME representam, respectivamente, a concentração máxima tolerada e a concentração mínima efetiva associada à ação do fármaco. De forma geral, é desejável que a concentração do fármaco permaneça acima da CME, porém, abaixo da CMT, intervalo deste conhecido como “faixa terapêutica” (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2007).

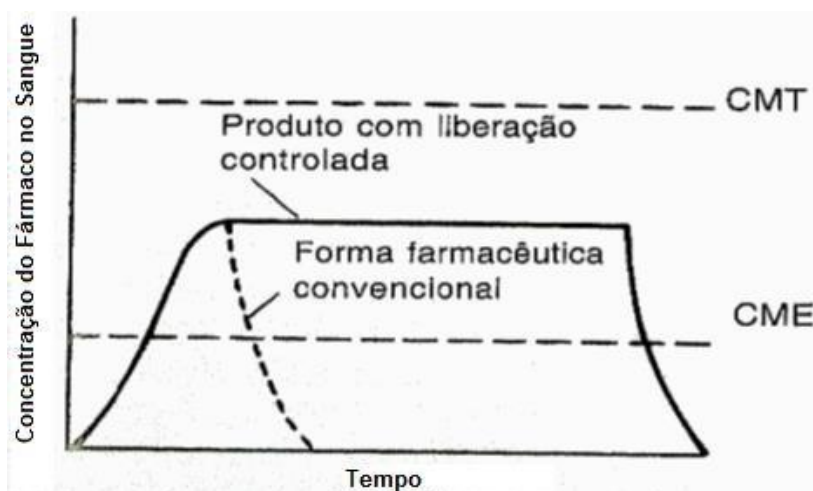


Figura 5 - Curvas ilustrativas de concentração-tempo do fármaco no sangue, para uma forma farmacêutica sólida convencional e um produto com liberação sustentada. (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2007).

Um sistema de liberação sustentada ideal deve apresentar características mínimas, tais como o rápido alcance da concentração terapêutica e a manutenção dentro desta faixa. Em geral tais sistemas não devem ser sensíveis ou passíveis de serem bloqueados por fatores ambientais.

Sistemas de liberação sustentada são bastante interessantes, uma vez que são capazes de influenciar o perfil farmacocinético, a velocidade de liberação, o local e a duração da ação do fármaco, exercendo, inclusive, influência sobre os efeitos colaterais decorrentes de seu uso. Em geral as matrizes utilizadas nesses sistemas de liberação são inertes e não interferem na ação do fármaco.

De fato, vários modelos de matrizes foram apresentados na utilização de liberação sustentada ao decorrer dos anos (NICOLETTI; FRASSON, 2006). Pode-se citar, por exemplo, a utilização das matrizes hidrofílicas com agentes geleificantes não digeríveis e polímeros hidrofílicos, como gomas, de baixo custo e grande disponibilidade (NICOLETTI; FRASSON, 2006). Neste contexto a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) é o material hidrofílico mais comumente utilizado, sendo relatada sua aplicação desde 1960. Possui boa compressibilidade, inchamento adequado e capacidade de conter níveis elevados de fármaco, além de não ser considerado tóxico (KILL; DAM-JOHANSEN, 2003).

Dentro deste contexto, os biomateriais têm se mostrado uma alternativa interessante na liberação sustentada, com uma ampla gama de materiais explorados para essa finalidade. Dentre as diversas matrizes utilizadas nos sistemas de liberação, destacam-se os materiais poliméricos, em especial o látex natural (LN) (GARMS et al., 2017).

Considera-se um biomaterial toda e qualquer substância, sintética ou não, que possa ser utilizada como tratamento para substituir parte de um sistema vivo ou para agir em contato direto com um tecido vivo. Os biomateriais são projetados para reparar e/ou reconstituir partes ou funções de órgãos e tecidos, de maneira que possam servir como matriz, veículo, suporte ou estimulador da formação de novo tecido e/ou de sua reconstituição (GARMS et al., 2017).

A biocompatibilidade é a mais importante das características destes materiais, sendo sua biofuncionalidade dependente deste fator (RIBEIRO; RODRIGUES, 2014). Geralmente uma interação benéfica de um dado material com um organismo é associada à ausência de respostas inflamatórias sustentadas ou tóxicas a partir de sua implantação *in vivo* e baixa degradação do material durante o processo de regeneração ou cura do local. Espera-se também que a degradação do biomaterial não gere produtos tóxicos ao organismo, caso liberados estes devem ser facilmente metabolizados e liberados pelo corpo (CAO; WANG, 2009).

Em particular, membranas de polímeros naturais têm se mostrado promissoras na ampliação dos efeitos terapêuticos dos ativos incorporados, principalmente devido ao fato da matriz polimérica atuar como suporte para inserção de ativos e barreira de proteção. Os materiais biopoliméricos apresentam características ideais para obtenção de curativos, de modo a proporcionar uma alternativa viável para a produção de filmes (HERCULANO, 2009).

Neste contexto, considerando a questão das relações custo/benefício viáveis, no presente trabalho buscou-se desenvolver um novo adesivo à base de látex natural com liberação sustentada de ibuprofeno, no sentido de minimizar os conhecidos efeitos colaterais desse fármaco quando administrado de forma convencional. Um produto vegetal que tem despertado interesse e já é

comumente empregado para o tratamento de inúmeras enfermidades é o látex de algumas plantas (ARRUDA et al., 2016). O látex natural (LN) ganhou seu espaço em meio aos estudos sobre o desenvolvimento de sistemas de liberação sustentada devido às suas interessantes características físicas e boa atividade biológica. Dentre as propriedades físicas pode-se destacar a alta elasticidade, plasticidade, resistência mecânica e propriedades de isolamento elétrico. Tal polímero vem também se destacando em diversas aplicações industriais devido a sua ação profilática, características de biocompatibilidade e estímulo natural (BARROS, 2016).

1.6 O látex Natural e suas aplicações como biomaterial

Um produto vegetal que tem despertado interesse e já é comumente empregado para o tratamento de inúmeras enfermidades é o látex de algumas plantas (ARRUDA et al., 2016). O látex natural (LN) ganhou seu espaço em meio aos estudos sobre o desenvolvimento de sistemas de liberação sustentada devido às suas interessantes características físicas e boa atividade biológica. Dentre as propriedades físicas pode-se destacar a alta elasticidade, plasticidade, resistência mecânica e propriedades de isolamento elétrico. Tal polímero vem também se destacando em diversas aplicações industriais devido a sua ação profilática, características de biocompatibilidade e estímulo natural (BARROS, 2016).

De origem natural, extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* (Figura 6), o látex é um cicatrizante, que possui um papel relevante na defesa natural desta planta. Possui propriedades indutoras de neovascularização e regeneração tecidual, bem como formação de matriz extracelular. Além disso, o látex apresenta baixo custo relativo e ausência do risco de transmissão de patógenos, com grande aplicabilidade clínico-social (NUNES; 2017; MRUÉ, 1996).

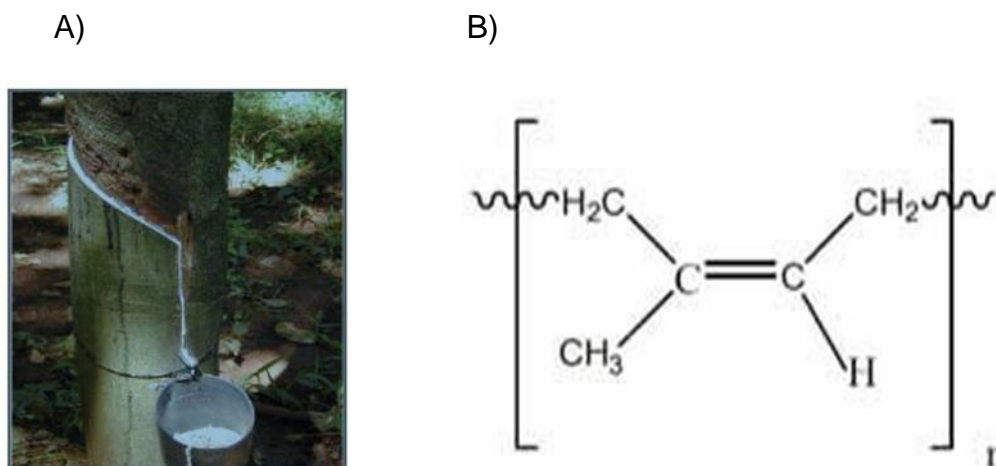


Figura 6 - A) Extração do látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis*; B) Cis-poliisopreno de látex natural (MRUÉ, 1996).

Borges et al (2017) e Herculano (2009) mostraram que membranas à base de borracha são biomateriais inovadores com excelentes resultados na cicatrização e na reconstituição de esôfagos e tímpanos perfurados. Pesquisas que utilizaram este material como implante em diferentes tecidos têm demonstrado resultados satisfatórios, o que motiva a realização de novos trabalhos nesta área (MRUÉ, 1996).

O mercado mundial de biomateriais movimentou milhões no ano de 2008 e em 2012 aumentaram para bilhões as movimentações financeiras associadas a este composto. O crescimento ao mercado mundial atribuído aos fundos de órgãos governamentais, através dos implantes utilizados, avanços tecnológicos, dentre outros fatores (MARKETS; MARKETS, 2017).

Na avaliação da liberação de diclofenaco de sódio utilizando LN como matriz, Aiello e colaboradores demonstraram que o fármaco permanece na superfície da membrana, tornando-os assim materiais promissores para liberação de drogas em aplicações *in vivo*. Os resultados dessa liberação comprovou também uma liberação por até 74 horas que supere em tempos de liberação a cada 2-3 horas tipicamente observados em comprimidos orais de uso convencional. (AIELO et al, 2014; BARROS et al, 2015).

No tratamento de regeneração óssea, estudos mostram que as membranas reduzem o tempo de tratamento e proporcionam uma melhor

recuperação, impedindo a criação de tecidos fibrosos não osteogênicos (FERREIRA, 2009). Para tratamento de cicatrização de úlceras diabéticas, Frade et al. (2004) realizou um estudo onde membranas de látex natural foram empregadas como material indutor. A Figura 7 mostra uma ferida em estágio avançado de cicatrização após 2 meses de uso contínuo da membrana.

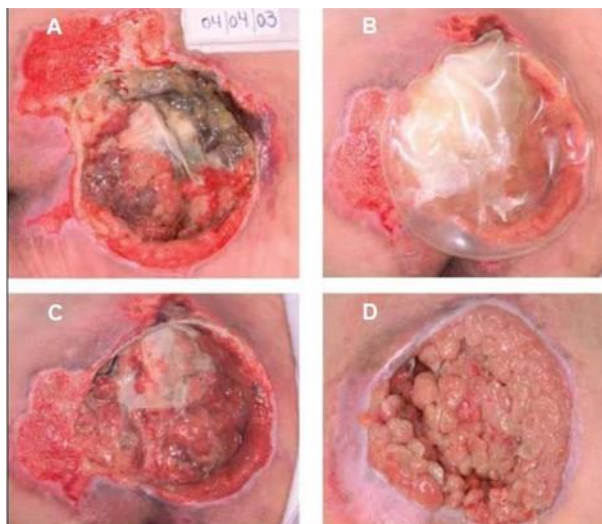


Figura 7 - Evolução da cicatrização da úlcera através da aplicação da membrana de látex: A) Aspecto inicial da ferida apresentando grande quantidade de tecido fibroso necrosado; B) Aplicação da membrana de látex natural; C) Ferida apresentando redução do tecido fibroso necrosado; D) Ferida em estágio avançado de cicatrização (FRADE et al., 2004).

Estes trabalhos demonstram que o látex natural é eficaz na reconstituição tecidual dentre outras funções fisiológicas e profiláticas, o que o configura como um excelente biomaterial. Em especial também apontam a possibilidade de sua aplicação como matriz na liberação sustentada de substâncias de interesse farmacológico.

De fato, dentre as diversas matrizes utilizadas nos sistemas de liberação, as membranas de látex natural têm alcançado um destaque significativo, tanto devido seu potencial na liberação de compostos, como de suas propriedades cicatrizantes intrínsecas. Na última década, buscando potencializar as propriedades terapêuticas deste material, iniciou-se o estudo da incorporação de compostos bioativos (extratos vegetais, peptídeos, nanopartículas e fármacos) nestas membranas. De acordo com Trecco et al

(2014), Barros et al (2015) e Borges et al (2015), a membrana de látex funciona como um reservatório, onde quanto maior a quantidade de substâncias presentes nas membranas, maior o total de substância liberada.

Esta característica tem sido explorada em diversos trabalhos. Por exemplo, Barros et al (2018) desenvolveram um novo adesivo transdérmico incorporando glicerol ao látex natural, criando um biomaterial que diminui a dor, rachaduras e fissuras no momento da amamentação. Pichayakorn et al (2012) realizaram um estudo da liberação tópica de nicotina por membranas de látex natural para tratamento de pacientes com dependência. Este trabalho mostrou que o látex é eficaz na liberação de nicotina por períodos de 24 horas. O fármaco metronidazol também incorporado na membrana de LN através de várias polimerizações do preparo dessa matriz demonstrou uma liberação controlada de aproximadamente 77% do fármaco por até 310 horas, um resultado bastante eficiente em relação ao uso convencional desse medicamento (Herculano, 2010). Guidelli et al (2013) utilizaram o látex natural como suporte sólido na liberação de nanopartículas de prata, neste trabalho foi observada a liberação das nanopartículas por até 48 horas. Trecco et al (2014) e Borges et al (2015) identificaram a liberação de mais de 80% de extrato natural da *Casearia sylvestris* incorporado ao látex natural em suas análises, modificando os valores de pH da solução e o método de dissolução do extrato. Aiello et al (2014) e Barros et al (2015) desenvolveram um adesivo de liberação transdérmico com ação anti-inflamatória local, incorporando os diclofenacos de sódio e potássio em membranas de látex, respectivamente. Borges et al (2014) avaliaram de forma sistemática as propriedades angiogênicas da matriz de LN e a incorporação do fitoterápico *Casearia sylvestris* utilizando um método diferencial de preparo, onde várias modificações de temperaturas foram utilizadas. Os resultados obtidos desse estudo sugerem que o material induz o crescimento dos vasos sanguíneos. O segundo efeito importante alcançado neste estudo foi que a fração bioativa do LN o poli-isopreno e os seus constituintes são os principais responsáveis pela atividade do material para os efeitos benéficos observados.

Com o intuito de aumentar a atividade cicatrizante da biomembrana de látex natural, o antibiótico gentamicina foi incorporado a este biopolímero. A

gentamicina é indicada para o tratamento de meningite purulenta, pielonefrite, otite, infecções cutâneas, entre outros (MOULDS; JEYASINGHAM, 2010). O LN também foi utilizado por alguns autores que relataram atividade antimicrobiana juntamente com atividade antifúngica para várias linhagens de fungos (GIORDANI, 2002). Barros, 2016 demonstrou através de ensaios de liberação dos peptídeos pelas membranas de látex natural nas soluções: água deionizada; tampão fosfato salino pH 7,4; e tampão carbonato pH 12,0, onde teve um aumento na concentração dos peptídeos nas soluções, evidenciando a liberação máxima destes compostos pelas membranas em períodos de 6 à 48 horas dependendo do peptídeo e da solução utilizada. Araújo et al (2012) estudaram os efeitos das biomembranas de látex como implantes transitório no fechamento de perfurações timpânicas, com aumento da vascularização do enxerto. Como se pode notar, diversos estudos demonstram que o LN é viável para confecção de uma matriz de liberação sustentada de compostos bioativos, tais como: peptídeos, antibióticos, anti-inflamatórios, nanopartículas e fitoterápicos aumentando assim suas aplicações biomédicas. Portanto pode se evidenciar a eficiência do LN como suporte sólido de liberação. Dado este panorama, a importância do presente trabalho é o desenvolvimento de um biomaterial visando uma alternativa para o tratamento de processos inflamatórios e lesões, onde se pode obter a diminuição das altas concentrações consumidas por via oral desse fármaco, reduzindo assim também os efeitos indesejados causados pelo mesmo. Dado este panorama, no presente trabalho busca-se incorporar o ibuprofeno em membranas de LN no sentido de desenvolver um adesivo barato, de fácil manuseio, que poderia ser caracterizado como uma alternativa viável para competir com os tradicionais emplastos do mercado como o Salonpas[®], Sabiá[®], entre outros.

2 OBJETIVOS

1.2 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar um protótipo de um novo adesivo à base de látex natural que permita a liberação sustentada de ibuprofeno para tratamento de processos inflamatórios de baixo custo e fácil aplicação.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a interação entre a membrana de látex e o ibuprofeno no sentido de compreender o comportamento da liberação sustentada visando o tratamento de processos inflamatórios.
- Avaliar o potencial de liberação do ibuprofeno utilizando a membrana de látex como matriz, com diferentes variações de pH (soluções com valores de pH 7,4 e 5,6 com o intuito de mimetizar o perfil em pH da pele lesionada e da pele sadia, respectivamente) empregando a técnica de fluorimetria.
- Caracterizar química e estruturalmente as membranas, utilizando a espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e ensaios de resistência mecânica (tensão *versus* deformação).
- Verificar a morfologia de sistemas contendo Ibuprofeno na superfície das membranas através das técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- Avaliar a citotoxicidade da membrana com ibuprofeno, através de ensaios hemolíticos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 O Biomaterial

3.1.1 Obtenção do látex natural (LN)

O látex natural, extraído de seringueiras *Hevea brasiliensis*, é composto por aproximadamente 60% de borracha, sendo que 4-5% de sua massa é constituído por proteínas, lipídeos, carboidratos, e açúcar, além de 35% de água.

O látex natural utilizado neste trabalho foi adquirido da BDF Comércio de Produtos Agrícolas LTDA, Guarantã - SP. Este látex é obtido da mistura de dois clones de seringueira: RRIM 600 e PB 235. Depois da extração, o látex é mantido em fase líquida através da adição de hidróxido de amônio, ajusta-se assim o pH em 10,2 (Figura 8).

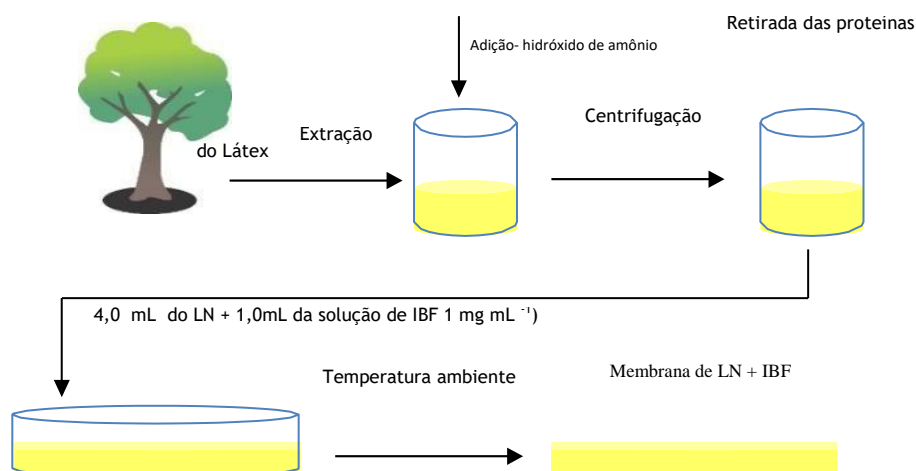


Figura 8 - Esquema de extração e confecção da membrana de látex Natural (Barros et al, 2016).

Após adição do hidróxido de amônio, o material é então centrifugado a 8000 rpm para retirar o excesso de proteínas contidas no látex natural, esta etapa de centrifugação é importante, pois elimina as proteínas de alto peso

molecular causadoras das reações alérgicas, inconvenientes para o uso do látex natural como biomaterial. A Tabela 2 mostra os resultados referentes ao controle de qualidade do material.

Tabela 2 - Dados de controle de qualidade do fornecedor do látex natural utilizado.

Requisitos	Valores
Sólidos Totais	61 %
Borracha Seca (DRC)	60 %
Diferença entre sólidos totais e borracha seca	1,0 %
NH ₃	0,71%
pH	10,2
Viscosidade	30 (Pa.s)
Estabilidade Mecânica	515 mm
Cor	Normal
Odor	Normal

Fonte: BDF Comércio de Produtos Agrícolas LTDA, Guarantã – SP.

3.2 Ibuprofeno

A matéria prima de Ibuprofeno (Fornecedor: Vasudha Pharma Chem Limited) utilizada no presente trabalho foi cedida pela farmácia A Farmacêutica de Ribeirão Preto, São Paulo, com as seguintes especificações:

- Pó cristalino branco e pureza de 99,1%;
- Solubilidade: Insolúvel em água, solúvel em álcool etílico, clorofórmio, éter e acetona. Totalmente solúvel em solução de hidróxido de sódio (NaOH) e carbonato de sódio (Na₂CO₃).

Após recebimento da matéria prima foi realizada uma breve maceração para a homogeneização dos seus componentes (ativo farmacêutico + excipientes). A amostra foi então solubilizada em NaOH 0.1Mol L⁻¹, e então incorporada ao látex.

3.2.1 Confeção de membranas de látex natural + ibuprofeno (LN+IBF)

As membranas foram confeccionadas por “*casting*”, ou seja, através da simples deposição, seguida de secagem. A temperatura deste processo influencia diretamente na porosidade do biomaterial, fator de extrema relevância na liberação sustentada. Todas as membranas foram secas em aproximadamente no período de 72 horas.

Foram preparados 4,0mL de látex natural e 1,0mL da solução de NaOH 0.1 Mol L⁻¹ contendo ibuprofeno na concentração de 20mg mL⁻¹ para avaliar possível liberação do ativo farmacêutico.

As soluções de LN+IBF foram preparadas em triplicatas, em seguida foram depositadas em placas de Petri e mantidas à temperatura ambiente para o processo de secagem ideal da membrana. A secagem das membranas foi completada após um período de 72 horas. Uma membrana controle também foi preparada em triplicata através da mistura de 4,0mL de látex natural e 1,0mL de NaOH 0.1 Mol L⁻¹ sem a presença do ativo farmacêutico ibuprofeno.

Após a maceração do composto ibuprofeno, foram pesados 200mg deste ativo em balão volumétrico de 10,0mL, sendo posteriormente dissolvidos em NaOH 0.1 mol L⁻¹, resultando em uma solução de concentração 20mg mL⁻¹. Após a homogeneização de todos os componentes a solução foi depositada em placa de Petri circular, obtendo-se assim as membranas, apresentadas na Figura 9.



Figure 9 - Membrana de LN + IBF.

3.3 Caracterização e análises das membranas

3.3.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Possíveis interações entre o LN e IBF foram avaliadas por meio de espectroscopia no infravermelho com o auxílio de um espectrofotômetro FTIR - TENSOR 27/BRUKER. A análise de dados no equipamento se dá mediante a técnica de transformada de Fourier com o método de refletância atenuada (ATR) e transmitância. Esta técnica foi utilizada por permitir a identificação de grupos funcionais (aminas, amidas, anéis aromáticos, álcoois, fenóis, entre outros), além de proporcionar o estudo de possíveis interações entre o látex natural e o anti-inflamatório utilizado. Os espectros foram registrados na região compreendida entre 4000 e 400 cm^{-1} , empregando-se fonte de laser HeNe e detector DLaTGS com resolução 4 cm^{-1} , com 32 varreduras.

3.3.2 Testes de Tensão vs Deformação

O ensaio de tração foi realizado com o auxílio do equipamento EMIC-DL 2000. Uma carga constante de 50 kgf foi aplicada sobre as amostras em uma velocidade de 500 mm min^{-1} à temperatura entre 20 – 30°C. Os resultados foram analisados por meio do software TESC versão 3.01 que acompanha o equipamento e gera curvas de resposta (força vs deformação) de cada corpo de prova.

Como a espessura é uma variável que influencia na resistência mecânica à tração, a solução de ibuprofeno foi cuidadosamente misturada ao látex natural. Depois de preparadas as membranas, as espessuras destas foram medidas com o auxílio de um micrômetro. As membranas empregadas nos testes foram preparadas em formatos retangulares com um molde e bisturi aquecido em bico de Bunsen apresentando assim, largura equivalente de 25,8 mm e distância entre as garras de 35 mm com a espessura variável entre as amostras em aproximadamente 0,8 mm. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

Os dados quantitativos foram obtidos via interface específica com um computador, deste modo, gráficos da Tensão (força/área) *versus* Deformação específica (deformação/comprimento das membranas) foram confeccionados. A Figura 10 ilustra como os testes foram realizados e a configuração típica das membranas antes e após os ensaios.

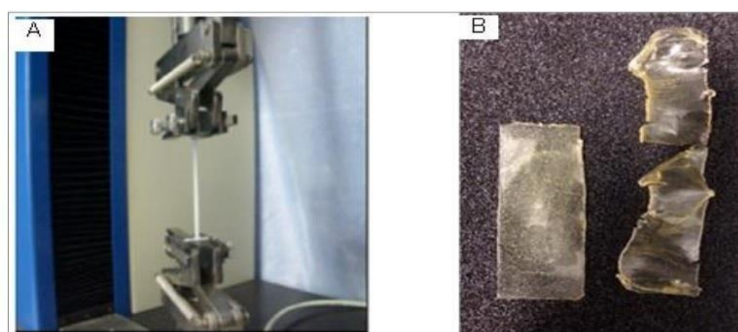


Figura 10 - A) Equipamento de ensaio tensão-deformação em funcionamento. B) Exemplo de amostra antes e após o ensaio mecânico (HERCULANO, 2009).

3.3.3 Estudo da cinética de liberação do ibuprofeno

O equipamento utilizado foi um espectrofluorímetro da marca Perkin Elmer LS 45, com lâmpada de 20KW e presença de um atenuador para leitura das amostras (Figura 11). O equipamento foi utilizado para determinar a cinética de liberação do fármaco em solução tamponada, onde as membranas foram submersas em 100mL de soluções. Para solução tamponada foi avaliado 100mL em meio tamponado pH7,4 e pH5,6 com o intuito de mimetizar o perfil de liberação em pH da pele com lesão e pH da pele sadia respectivamente.

Para tanto foi avaliada a intensidade das bandas de absorção do IBF na técnica fluorimétrica onde o range de excitação foi avaliado no valor de 200-280nm e range de emissão de 280-375nm, conforme ilustra a Figura 11 (LUNA, 2014).

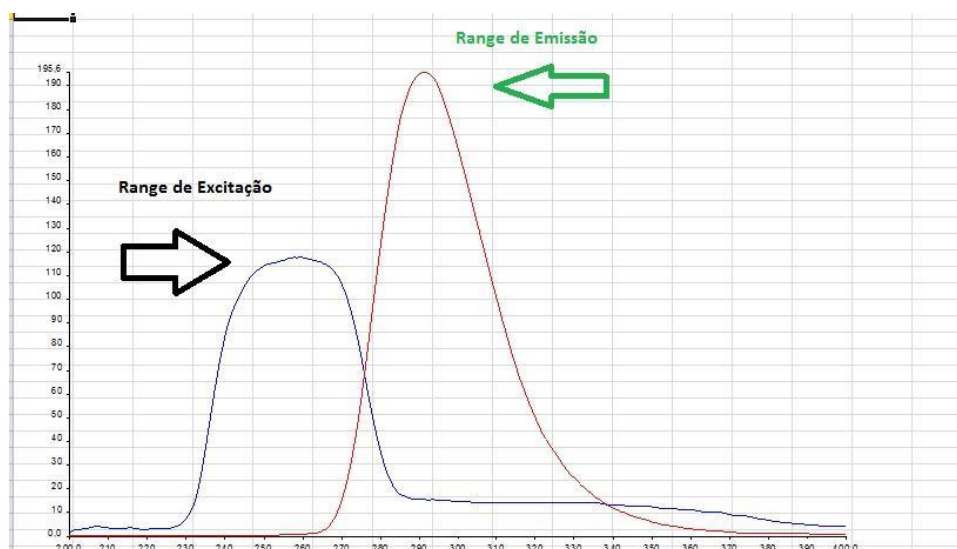


Figura 11 - Emissão e Excitação do fármaco ibuprofeno (Arquivo pessoal).

O comportamento da liberação foi analisado durante 96 horas, retirando-se alíquotas da solução em diferentes intervalos de tempo, e mensurada através da amplitude do range de excitação do fármaco ibuprofeno de 220-248nm com ponto fixo de 263nm e range de emissão do fármaco ibuprofeno corroborando também com a literatura entre 280-375nm com seu ponto fixo aproximadamente 288nm (LUNA, 2014).

As alíquotas foram então retornadas à solução para que não houvesse alteração no volume de liberação. A realização do ensaio foi feita em triplicata, resultando assim na média das três amostras. Gráficos foram então plotados para avaliação da cinética de liberação.

As amostras foram inseridas em meios tamponados, em especial soluções com pH 7,4 e 5,6 foram avaliados no intuito de mimetizar o perfil de peles lesionadas e sadias, respectivamente.

A princípio foram separados 100,0mL de amostras em meios tamponados, as quais foram avaliadas nas primeiras 24 horas para quantificar o fármaco liberado, iniciou-se a verificação da liberação no tempo 0, ou seja, momento em que as membranas foram depositadas no meio tamponado. Após 10 minutos da presença da membrana no meio foi retirada uma alíquota e mensurada

novamente, tal procedimento foi repetido de 10 em 10 minutos até completar 1 hora de imersão das membranas na solução. Uma nova leitura foi realizada, prosseguindo assim leituras consecutivas de hora em hora até totalizar nas primeiras 4 horas decorrida do tempo 0 (inicial). Após 4 horas de imersão as amostras permaneceram imersas no meio tamponado até o período de 24horas, seguindo sucessivamente 48horas, 72horas e 96horas.

A vantagem da utilização da técnica acima é que a mesma não é destrutiva. Os dados foram compilados utilizando o software Origin Pro 8 SR4, da OriginLab Corporation.

3.3.4 Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)

A Microscopia eletrônica por varredura é uma técnica para a verificação da morfologia, a qual foi empregada no estudo da superfície da membrana de látex com e sem a presença de ibuprofeno. A varredura eletrônica de alta resolução foi realizada com o auxílio do MEV (FEG-MEV; JEOL modelo 7500F), em um ângulo de 35°, localizado no Laboratório de Microscopia Avançada (LMA) no Instituto de Química da UNESP, Araraquara. As amostras foram recobertas com ouro sendo a caracterização realizada em 2,00 kV, com ampliações de 300,1000 e 5000 vezes.

3.4. Ensaio Hemolítico

O protocolo utilizado no ensaio hemolítico seguiu a norma ISO10993 parte 4 (Internacional Standard Organization). Utilizou-se 5mL de sangue de carneiro com 3,8% (m/v) de citrato de sódio como anticoagulante (na proporção de 9:1, sangue/ citrato). Em seguida a mistura foi lavada 2X com solução salina 0,9%, e centrifugada a 1000RPM por 10 minutos, descartando-se o sobrenadante.

Membranas de 6 mm de diâmetro foram incubadas em contato direto com 1mL solução de 5 % de eritrócitos (v/v, solução salina 0,9 %(m/v)) por 24 h a 37°C. No controle negativo (CN) não foi adicionado material e como controle

positivo (CP) foi utilizado detergente Triton.

Prosseguiu-se assim com a centrifugação das amostras à 1000RPM por 10 min, transferiu-se 100 µL do sobrenadante para placa de 96 poços e a densidade óptica (DO) foi medida em leitora de microplaca sob 540 nm. O experimento foi realizado em quintuplicata sendo calculada a porcentagem de hemácias com base na equação 1:

$$\text{Hemólise (\%)} = \left(\frac{\text{amostra-CN}}{\text{CP-CN}} \right) * 100 \quad (1)$$

Onde:

Amostra – equivale a amostra a ser avaliada.

CN - Controle Negativo (0%)

CP – Controle Positivo (100%)

De uma forma geral a técnica utilizada consiste em avaliar o potencial hemolítico de um determinado material, ou seja, sua capacidade de provocar lesões na membrana plasmática dos eritrócitos. Neste ensaio buscou-se avaliar se os componentes do novo biomaterial (LN + IBF) seriam capazes de romper a membrana das células sanguíneas de carneiro (BARROS et al, 2015; MIRANDA et al, 2017).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de FTIR

Com o intuito de identificar os grupos funcionais da membrana de LN, IBF e possíveis novos grupos formados a partir da incorporação do anti-inflamatório à membrana, foi utilizada a técnica de FTIR. Na Figura 12 são apresentados os resultados de FTIR da membrana não alterada, do fármaco e da associação LN + IBF, obtidos e empregando-se o modo de refletância total atenuada (ATR) e Transmitância obtidos na região entre 400 e 4000 cm⁻¹.

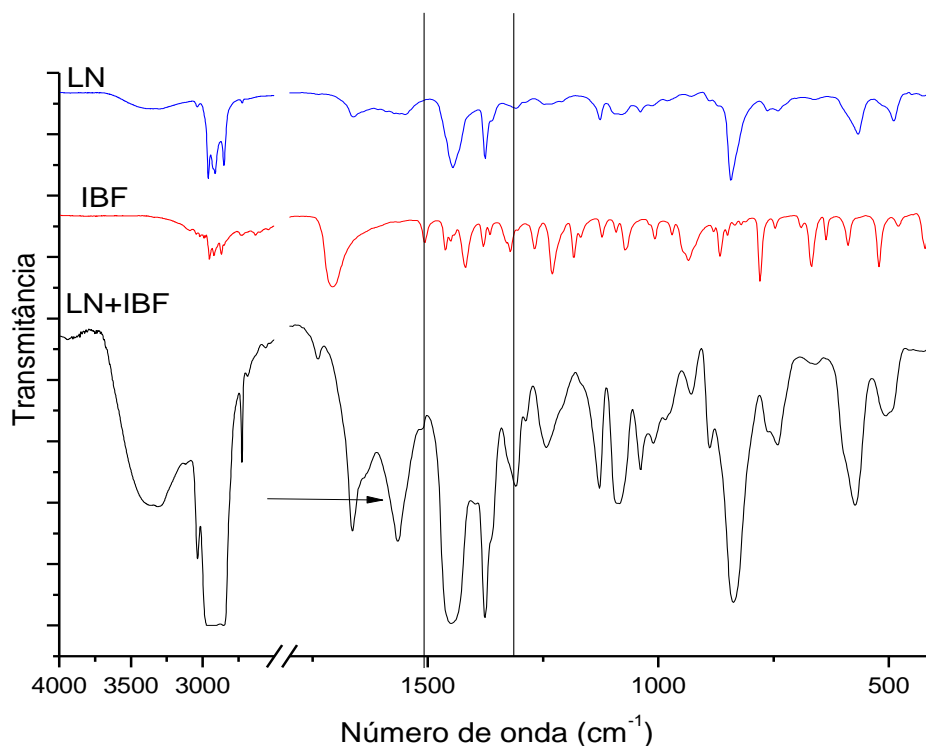


Figura 12 - Espectros de FTIR das amostras de LN, IBF e LN + IBF

A partir da Figura 12 é possível observar a presença de componentes típicos do látex (linha azul) com bandas características do poli (*cis*-1,4- isopreno): entre 2960-2852 cm^{-1} (estiramento simétrico CH_2 e assimétrico CH_3), 1446 cm^{-1} e 1375 cm^{-1} (deformação de CH_2 e CH_3), 1662 cm^{-1} (alongamento $\text{C}=\text{C}$) e 835 cm^{-1} (dobramento fora do plano de $=\text{C}-\text{H}$). Esta última banda, em 835 cm^{-1} , é a mais importante para a identificação do LN, pois caracteriza a função $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ (*cis*-1,4). De forma geral os resultados obtidos para o LN são plenamente compatíveis com os reportados por Garms (2017) e Herculano (2009).

O espectro do IBF (linha vermelha) mostra a presença das principais ligações observadas neste composto: uma banda de estiramento intensa e característica em 1718 cm^{-1} da carbonila do ácido carboxílico, o estiramento do $\text{C}-\text{H}$ aromático em 3089 cm^{-1} do CH_3 em 2954 cm^{-1} e o estiramento do CH_2 em

2924 cm^{-1} , corroborando com os resultados reportados por Bannack et al (2010). Silverstein, Bassler, e Morrill (1994) demonstraram também que o ibuprofeno recuperado possui uma banda infravermelha intensa e bem definida de 1721,5 cm^{-1} atribuída ao estiramento do grupo carbonil C=O que está de acordo com os espectros de infravermelho do padrão químico fornecido pela Administração Nacional de Medicamentos e Alimentos (ANMAT).

De modo geral é possível observar a presença do anti-inflamatório a partir do espectro da membrana de látex incorporada com o IBF, evidenciada pela banda de estiramento intensa e característica em 1718 cm^{-1} da carbonila.

Em especial, a ausência de novas bandas permite inferir que não há interação química efetiva entre o fármaco e componentes da membrana, o que é de fato relevante para a preservação da integridade da estrutura do ibuprofeno e manutenção de seu princípio ativo. Estes resultados estão em acordo com Herculano (2017) e Aiello et al (2014). Barros (2018) fez um estudo no qual incorporou o glicerol na membrana de LN onde foi observado que não houve formação e interação de novas bandas químicas do biomaterial.

4.2 Testes de Tensão - Deformação

As propriedades mecânicas dos polímeros são caracterizadas pela forma como tais materiais reagem às demandas mecânicas aplicadas, podendo ser avaliada a partir da relação tensão-deformação observada nas amostras. Em geral a natureza do comportamento do material polimérico diante dessas indicações depende da estrutura química do material, da temperatura em que ocorre a ação das forças, do tempo, do histórico e das condições do processamento (CANEVAROLO, 2006).

Os ensaios mecânicos em polímeros podem ser classificados como ensaios sob impacto, onde os materiais são demandados em um curto espaço de tempo (segundos) ou sob-regime de fluência ou relaxação, onde as indicações se dão em uma escala de tempo bem maior (anos). Portanto, há uma correlação entre o processamento, a estrutura, as propriedades do polímero utilizado na

fabricação do produto final e o tempo de solicitação são fundamentais para que se possa atuar na tecnologia da transformação de materiais poliméricos (CANEVAROLO, 2006).

A importância de realizar esse ensaio no biomaterial dá-se pelo simples fato de que o mesmo não deverá perder suas características quando o fármaco for incorporado na membrana de LN, indicando assim que a elasticidade das membranas seja ainda suficiente para aplicações biomédicas (HERCULANO, 2009; FLORIANO et al, 2018; ZANCANELA et al, 2019).

Com o propósito de avaliar a influência do ibuprofeno na elasticidade das membranas de látex, ensaios de tração foram realizados com o fármaco incorporado ao biomaterial. Como controle, foram realizados ensaios de tensão *versus* deformação com a membrana de látex sem o ibuprofeno. Como demonstrado na Figura 13 a membrana de LN + IBF apresenta menor rigidez e maior elasticidade em relação à membrana de látex pura. Uma curva característica de Tensão x Deformação (Figura 13) apresenta comportamentos diferenciados para os níveis de força aplicados. A primeira fase (a) é a elástica, onde após a retirada da tensão a membrana volta a adquirir suas dimensões iniciais, sendo caracterizada pelo Módulo de Young, que relaciona a intensidade de esforço a ser aplicado (Tensão) *versus* deformação. A segunda fase (b) é plástica, onde a membrana, conforme a tensão aplicada perde gradativamente sua capacidade de retornar às suas dimensões iniciais. Ao final (c) a membrana não resiste mais a tensão, culminando na ruptura do material.

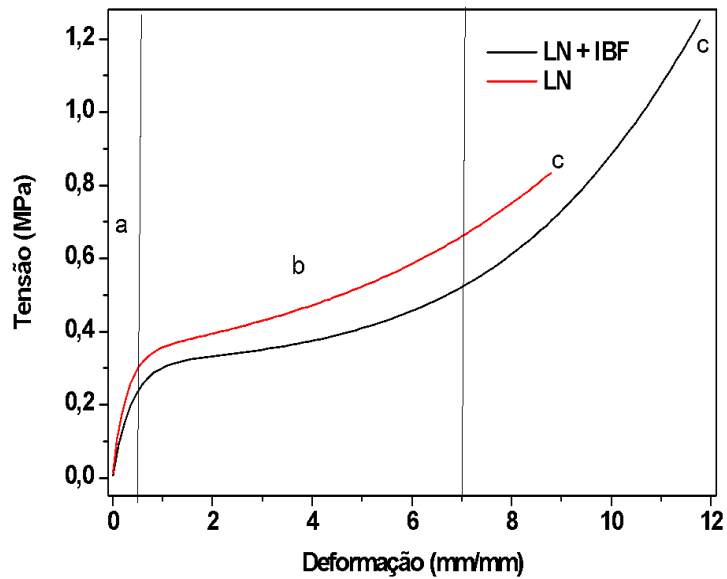


Figura 13 - Curva de Tensão *versus* Deformação das membranas.

Com o intuito de mensurar o módulo de Young das amostras (Figura 14), converteu-se o eixo das ordenadas (Força) em Tensão (MPa). Para tanto, os valores de Força (coletados com o auxílio do software do equipamento de ensaio) foram convertidos por meio da área transversal de cada amostra em tensão. A fase elástica é a região operacional de um biomaterial. Em qualquer aplicação, as intensidades dos esforços mecânicos as quais a membrana deverá ser submetida têm de ser previstas, de modo a garantir que o tempo total do tratamento seja concluído sem se ultrapassar os limites desta fase, garantindo assim a integridade do material e resultados comprovadamente satisfatórios.

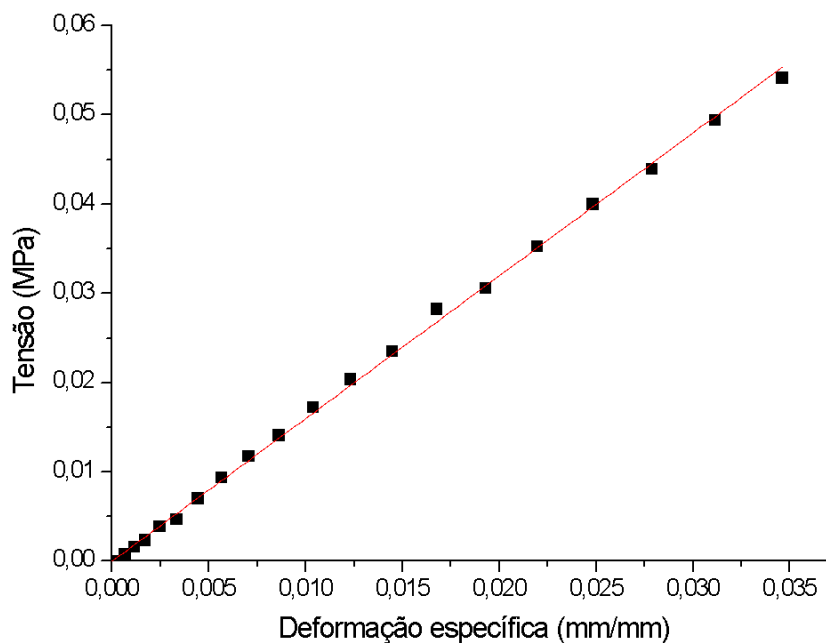


Figura 14 – Ampliação da região delimitada do gráfico Tensão *versus* deformação das membranas – Parte elástica.

A tensão é diretamente proporcional ao alongamento, e o material ainda apresenta a capacidade de retornar à forma original uma vez que a tensão aplicada é retirada. A Tabela 3 apresenta os principais parâmetros obtidos do ensaio de mecânica. Os resultados obtidos são similares aos reportados por Garms (2017) que incorporou moxifloxacina nas membranas de látex. Em geral observa-se que a resistência mecânica obtida deste biomaterial é adequada para aplicações biomédicas.

Tabela 3 - Dados do ensaio de resistência mecânica das membranas.

Amostras	Módulo Young (MPa) Média ± DPR	Tensão Ruptura (MPa) Média ± DPR	Deformação (%) Média ± DPR
LN	1,46 ± 0,07	0,78 ± 0,24	7,86 ± 0,95
LN+IBF	0,84 ± 0,11	1,12 ± 0,15	10,46 ± 1,32

Em geral é relatada na literatura que a adição de componentes na membrana de látex altera a rigidez da amostra, em geral diminuindo o módulo de elasticidade. Por exemplo, Gemeinder (2016) e Bernardes (2013) observaram que houve variação do módulo de elasticidade quando incorporadas a gentamicina e a ciprofloxacina à membrana de látex natural, respectivamente. Resende et al (2010) analisaram a variação do módulo de Young do látex natural incorporados com nanocompósitos de argila. Murbach et al (2014) relataram em seus experimentos que a incorporação da ciprofloxacina à uma membrana de látex alterou seu comportamento mecânico, tornando-a mais rígida e frágil. Herculano (2009) ao incorporar uma proteína (albumina) e um antimicrobiano (metronidazol) em membranas de látex natural observou que não houve uma mudança significativa em relação a ruptura. Dall'Antonia et al (2009), demonstraram que o negro de fumo, atua como reforço para a matriz de borracha natural, melhorando suas propriedades mecânicas como módulo elástico e a resistência à tração, sem, no entanto perder significativamente em alongamento. Cinman, 2014 cita que a incorporação do cetoprofeno em membranas de látex natural a força de ruptura foi de 0,61 MPa, ou seja, um valor 10% menor em relação a membrana de látex natural. Neste contexto, o comportamento da amostra de látex com o ibuprofeno segue o padrão da literatura tornando a amostra menos elástica.

De fato, ensaios de resistência mecânica nas membranas de látex são de extrema importância na área da saúde, visto suas aplicações na regeneração de diafragma, esôfago e ossos dentre outros usos profiláticos (MRUÉ, 2000; SILVA; MANISCALCO, 2013).

4.3 Cinética de Liberação

A Figura 15 mostra a curva de calibração do ibuprofeno na faixa de 0,015 à 0,14mg/mL. A curva analítica ($I_{max} = 864,19 C + 5,698$) visa estabelecer um padrão de quantificação da concentração de IBF (c) em função das amplitudes de emissão obtida das análises de Fluorimetria (I_{max}). Os valores de I_{max} foram estimados a partir da amplitude do pico de emissão localizado em 288nm.

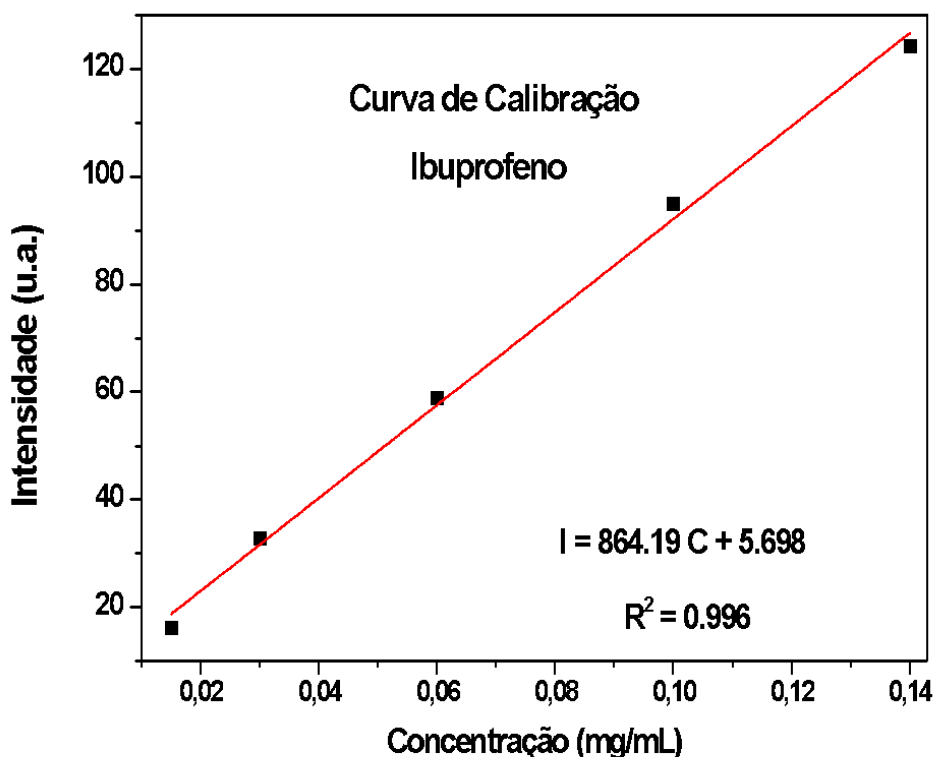


Figura 15 - Curva de calibração de concentrações pré-definidas de ibuprofeno.

A escolha de quantificação do fármaco foi pela técnica de fluorimetria, onde é possível avaliar a liberação através da emissão e excitação do fármaco ibuprofeno conforme mostra as especificações da literatura, onde, avalia-se o range de excitação no valor de 200-248 nm e range de emissão de 280-375 nm.

É possível visualizar, conforme demonstrado na Figura 16, que a matriz polimérica não tem interferência na direta emissão do ativo ibuprofeno. A escolha do biomaterial com o pico de emissão diferente ao do fármaco ibuprofeno é determinante na quantificação liberação do mesmo através da técnica de espectrofluorimetria. O cromatograma da Figura 16 demonstra nitidamente as diferenças entre os picos de emissão do fármaco ibuprofeno em relação ao látex natural. Obtendo-se assim a curva média de cada amostra.

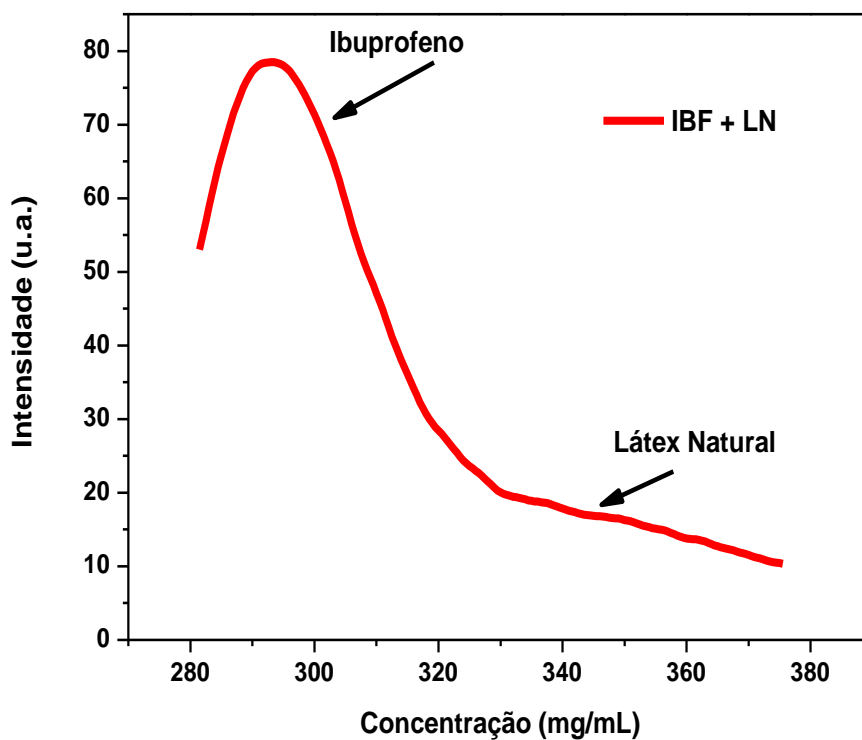


Figura 16 - Espectro que mostra o perfil de liberação da membrana. Observe que, dada uma mesma excitação, o fármaco emite em uma região diferente do látex natural.

De modo geral a Figura 17 demonstra os resultados das liberações do fármaco ibuprofeno em diferentes meios. Podendo se destacar a liberação maior do ibuprofeno em meio básico, em relação ao meio ácido.

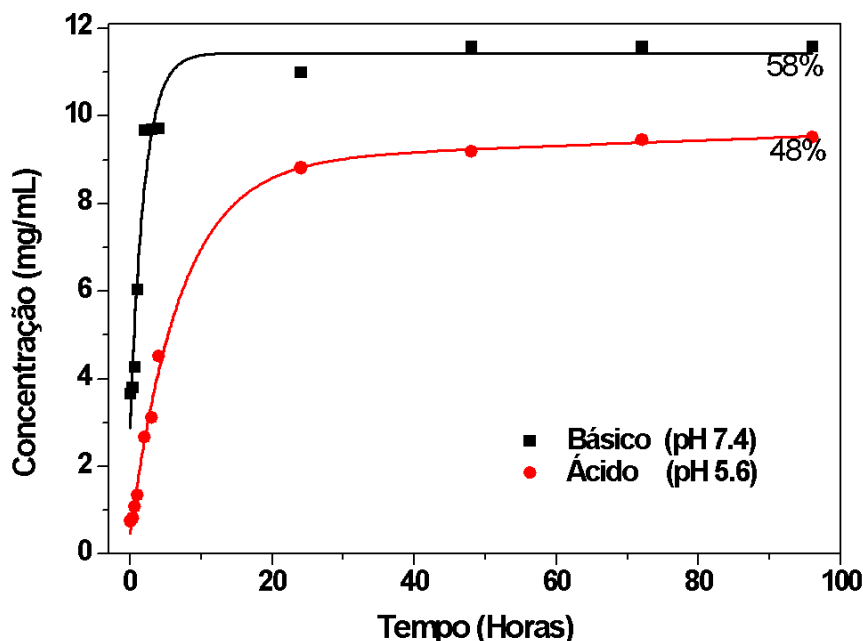


Figura 17 - Liberação do fármaco em função do tempo. Note que a maior liberação ocorre no meio básico.

De forma geral, a cinética de liberação do ibuprofeno pelas membranas nas primeiras horas (0-4h) apresentam evidências do processo de “*burst release*”, o qual é associado à presença de fármaco na superfície do material. Nota-se que a cinética de liberação obedece uma função bi-exponencial ($[C(t)] = A_1 \cdot \exp(-t/\tau_1) + A_2 \cdot \exp(-t/\tau_2) + [C_0]$), onde a exponencial de mais rápido decaimento é associada ao fármaco presente na superfície, enquanto que a mais lenta deve-se ao fármaco inicialmente presente no interior da membrana (AIELO et al, 2014; BARROS et al, 2015).

Como relatado por Aiello et al (2014), Barros et al (2015) e Floriano et al (2017), através de pequenas modificações na confecção das membranas espera-se facilitar a liberação do fármaco. Por exemplo, a variação da porosidade da membrana poderia auxiliar na incorporação e liberação do composto, o que poderia levar a sistemas otimizados (MRUÉ, 1996; GARMS, 2017; GEMEINDER, 2016).

A Figura 17 ilustra também o processo de liberação do ibuprofeno pelo biopolímero em 96 horas. Com base nestas diferenças observa-se em 96 horas uma liberação de aproximadamente 12 mg/mL de fármaco em meio básico, o

equivalente a 58% do total, e uma liberação de aproximadamente 10 mg/mL de IBF em meio ácido, o que equivale a 48% do fármaco presente no sistema.

4.4 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

Com propósito de analisar a morfologia do biomaterial, bem como a incorporação do fármaco na membrana de látex, utilizou-se o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) com uma voltagem de 2kV. A Figura 18 apresenta as micrografias das membranas analisadas onde se observa sobre a membrana partículas do fármaco ibuprofeno na parte superior. Para controle desse ensaio foi utilizada a membrana de látex natural sem a presença do fármaco.

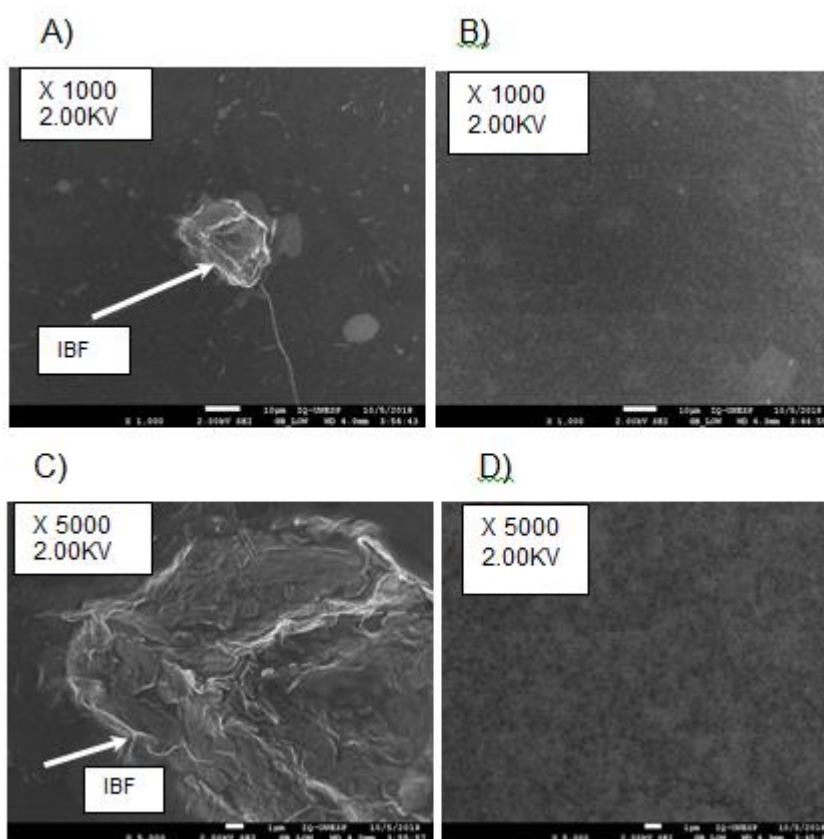


Figura 18 - A) LN + IBF na ampliação de 1000X; B) LN na ampliação de 1000X C) LN + IBF na ampliação de 5000X. D) LN na ampliação de 5000X

Nas características do LN demonstrado na Figura 18 B e D em ampliações respectivas de 1000X e 5000X, nota-se uma superfície lisa, sem fissuras ou formação de poros de acordo com Herculano et al. (2010), Murbach et al. (2014) e Barros et al. (2015).

Na avaliação do LN+IBF (Figura 18 A e C) é possível verificar presença do fármaco na superfície da membrana, corroborando com dados reportados por Barros (2016), que indicam que o ativo farmacêutico localiza-se em grande parte sobre a superfície da membrana.

Garms (2017), também demonstrou em seu trabalho presença do antibiótico moxifloxacina na superfície da membrana de LN e Gemeinder (2016) comprovou presença da gentamicina na superfície da membrana. Portanto, a presença do fármaco ibuprofeno na superfície da membrana está de acordo com os dados da literatura e indica que na cinética de liberação do fármaco se dá de forma muito rápida na solução utilizada nos ensaios, dando origem ao efeito “burst release” ou explosão de liberação, que consiste na liberação quase que espontânea de uma fração do composto incorporado ao sistema de liberação, observada na Figura 17.

4.5 Atividade Hemolítica

Ao trabalhar-se com um biomaterial é necessário garantir que o mesmo não danifique as células do organismo quando for utilizado. Para isso, o ensaio hemolítico foi realizado no intuito de verificar se o biomaterial é ou não compatível com o sistema hemático (Figura 19).

O ensaio de atividade hemolítica foi realizado para avaliar se os componentes liberados pelo LN e pela mistura LN+IBF são capazes de romper membrana das células sanguíneas de carneiro (BORGES *et al.*, 2015; MIRANDA *et al.*, 2017). A Figura 19 ilustra os resultados obtidos.

Como se pode notar a membrana com o ibuprofeno não causa lesão nas hemácias no período de 24 horas de aplicação, o que é compatível com os

dados reportados por de Barros *et al.*, (2016) que testaram a atividade hemolítica de membranas de látex natural.

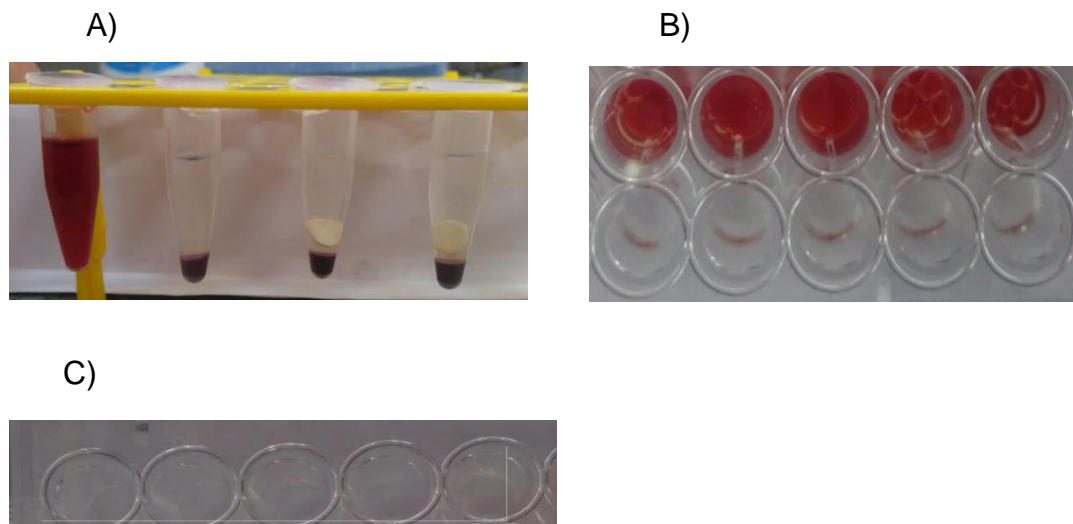


Figura 19 - A) Amostra Controle positiva, Controle Negativo e Membrana de Látex com Fármaco (Membrana LN+ IBF e Membrana LN). B) Amostra depois de 24horas de incubação (Amostra controle positivo e LN+IBF). C) Amostra Controle Negativo.

Tabela 4 - Média dos Resultados das quintuplicata das amostras do ensaio de Hemólise.

Sistemas	Percentagem de Hemólise em cada amostra					Média
	1	2	3	4	5	
LN PURO	1,796	7,960	1,303	5,424	0,000	3,297
LN + IBF	0,141	1,021	5,213	6,516	0,317	2,641

Borges et al (2015) estudaram a atividade hemolítica da membrana de látex natural incorporado com fosfato de cálcio, onde as concentrações abaixo de 6,5mg/mL apresentaram menos de 10% de hemólise. Por outro lado Miranda (2018) comprovou que todos os compostos de fosfatos de cálcios para reparação óssea incorporado na membrana de látex natural para o ensaio da atividade hemolítica não causaram lesão nas hemácias depois de 24 e 120 horas de incubação.

Nossos resultados ilustram uma percentagem extremamente baixa de hemólise para o sistema LN+IBF, o que indica o sistema obtido como um biomaterial promissor para o desenvolvimento de um novo adesivo.

5 CONCLUSÕES

No presente trabalho buscou-se confeccionar e caracterizar um novo adesivo a base de látex natural para visando a liberação sustentada de ibuprofenos para o tratamento de processos inflamatórios. Para tanto foram empregadas análises de FTIR e fluorimetria, bem como ensaios mecânicos e biológicos.

Os resultados de FTIR mostraram os grupos vibracionais característicos de cada material, onde não foram observadas novas bandas vibracionais, o que sugere, num primeiro momento, a ausência de ligações intermoleculares capazes de reter o ibuprofeno no interior da membrana de látex, os quais poderiam dificultar a sua liberação.

Pelos ensaios mecânicos pode-se observar a alterações nas propriedades do material obtido, com redução significativa na sua capacidade de deformação e uma leve diminuição da elasticidade. A partir dos resultados pode-se concluir que o material desenvolvido utilizando o LN carregado com ibuprofeno para aplicação em processos inflamatórios e lesões têm propriedades mecânicas semelhantes às encontradas por outros autores.

Para o ensaio realizado em meio ácido foi possível observar uma liberação de até 48% do fármaco disperso. Para o meio básico, devido sua afinidade com as características físico-química do fármaco com o meio, foi liberado 58% do fármaco incorporado pelo biomaterial. A liberação é ligeiramente dependente do pH do meio e portanto da condição da pele sobre a qual atuará.

Estudos preliminares de biocompatibilidade indicam o sistema LN+IBF como um promissor biomaterial, não apresentando um alto grau de hemólise significativa em até 24horas de uso.

Em geral os resultados obtidos sugerem que o sistema desenvolvido é apropriado para aplicações biomédicas, caracterizando-se como uma alternativa barata e simples para o tratamento de processos inflamatórios e

lesões. A partir desse novo sistema de liberação sustentada, espera-se obter a diminuição das altas concentrações consumida deste fármaco por via oral, diminuindo assim os efeitos indesejados causados.

Como proposta para estudos futuros utilizando o biomaterial desenvolvido neste trabalho podemos citar: i) Avaliar a citotoxicidade das membranas em fibroblastos NIH-3T3 e queratinócitos (HaCat); ii) Avaliar a liberação e permeação in vitro das membranas em célula de difusão de Franz; iii) Caso as membranas sejam atóxicas e permeiem no tecido transdérmico, a meta principal, num trabalho futuro seria testar/analisar o efeito cicatrizante no tratamento de feridas de roedores.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. et al. Reparo tecidual: regeneração, cicatrização e fibrose. In: KUMAR, V. (editor). **Robbins patologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 63-186.

AIELO, P. B. et al. Evaluation of sodium diclofenac release using natural rubber latex as carrier. **Materials Research**, v. 17, supl. 1, p. 146-152, 2014.

ALBANEZ, R. **Recobrimento gastrorresistente de pellets de diclofenaco de sódio em leite fluidizado tipo wurster**. 2012. 159 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2012.

ANSEL, H. C., POPOVICH, N. G., ALLEN, L. V. Formas farmacêuticas com velocidade controlada e sistemas de liberação de fármacos. In: ALLEN JUNIOR, L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, 2007. cap. 9, p. 283-300.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. **Farmacotécnica: Formas farmacêuticas e Sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, 2000. 568 p.

ARRUDA, A. S. et al. Avaliação da Produção do látex em mangabeiras do cerrado goiano. **Ciências Florestal**. Santa Maria v 26, p 939-948, 2016.

ARAUJO, M. M; MASSUDA, E. T.; HYPOLITO, M.A. Anatomical and functional evaluation of tympanoplasty using a transitory natural látex biomembrane compounds. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v.107, n.1, p. 4-20, 2016.

BAEZA, M. F. L. **Sistema de liberação controlada: estudo de revestimento aquoso em formas sólidas, comprimidos e microgrânulos, com vistas a veiculação de fármacos de ação tuberculostática**. Dissertação (Mestrado em

Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BANNACH, G. et al. Thermoanalytical study of some anti-inflammatory analgesic agents. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 102, p. 163-170, 2010.

BARROS, N. R.; SANTOS, R.S.; MIRANDA, M.C.R. et al. Natural latex-glycerol dressing to reduce nipple pain and healing the skin in breastfeeding women. **Skin Research Technology**, 2018. p.1-8. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/srt.12674>.

BARROS, N. R. **Estudo da incorporação e liberação de peptídeos hormonais utilizando membranas de látex natural como carreador**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2016.

BARROS, N. R. et al. Diclofenac potassium transdermal patches using natural rubber latex biomembranes as carrier. **Journal of Materials**, v. 2015, p. 1-7, Article ID 807948, 2015.

BERNARDES, L. L. **Avaliação da liberação controlada da Ciprofloxacina utilizando membranas de látex natural modificadas via laser**. 2013. Bolsa de Iniciação Científica, Processo FAPESP, nº 13/18307-5. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/bolsas/148479/avaliacao-da-liberacao-controlada-da-ciprofloxacina-utilizando-membranas-de-latex-natural-modificada/>>. Acesso em: 04 de julho de 2018.

BILATE, A. M. B. Inflamação, citosinas, proteínas da fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de reumatologia clínica**. v. 8, n. 2, p. 47-51, 2007.

BORGES, F. A. et al. Natural rubber latex coated with calcium phosphate for biomedical application. **Journal of Biomaterials Science**, Polymer edition, v. 26 n. 17, p. 1256-1268, 2015.

BORGES, F. A. et al. Natural Rubber Latex: Study of a Novel Carrier for Casearia sylvestris Swartz Delivery. **ISRN Polymer Science**, Article ID 241297, 5 pages, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/241297>.

BRANDÃO, A. Anti-inflamatórios uma compressão total: Entrevista com Farmacêutico Carlos Alberto Balbino. **Revista Pharmacia Brasileira**. v. 81, p. 30-44, abr./maio, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/85665/203662.pdf?sequence>>. Acesso em: 13.06.2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC nº 138, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o enquadramento na categoria de venda de medicamentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

BRENOL, J.C.T.; XAVIER, R.M.; MARASCA. J. Anti-inflamatórios não hormonais (AINHs) convencionais. **Revista Brasileira de Medicina**. v. 57, p. 53-63, 2000.

CANEVAROLO JR, S. V. **Ciência dos Polímeros**: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Paulo, SP: Artliber, 2006.

CAO, Y.; WANG, B. Biodegradation of Silk Biomaterials. **International Journal of Molecular Science**, v.10, p.1514-1524, 2009.

CINMAN, J. L. F. **Desenvolvimento de um novo sistema dinâmico para avaliação da liberação de fármacos**. - Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Letras de Assis - Universidade Estadual Paulista, 2014.

CHANDRASEKHARAN, N. V. et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/ antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of National Academy of Science**, USA, v. 99, n 21, p. 13926-13931, 2002. DOI: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.162468699.

COLAÇO, R. **Determinação de diclofenaco e ibuprofeno em matrizes aquosas por EFS-CLAE-UV**. Dissertação (Mestrado em Ciências

Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

COLLETT, J.; MORETIN, C. Formas farmacêuticas perorais de liberação modificada. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 298-313.

DALL'ANTONIA, A. C. et al. Caracterização mecânica e térmica da borracha natural formulada e vulcanizada dos clones: GT1, IAN 873, PB 235 e RRIM 600. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 1, p. 63-71, 2009.

FERREIRA, M. et al. Angiogenic properties of natural rubber latex biomembranes and the serum fraction of *Hevea brasiliensis*. **Brazilian Journal of Physics**, v. 39, n. 3, p. 564-569, 2009.

FISCHER, D. et al. In vitro cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis. **Biomaterials**, v. 24, n. 7, p. 1121- 1131, 2003.

FLORIANO J. F. et al. Ketoprofen loaded in Natural rubber latex transdermal patch for tendinitis treatment. **Journal of Polymers and Environment**, v. 26, n. 6, p 2281-2289, 2018.

FRADE, M. A. C. et al. Management of diabetic skin wounds with a natural latex biomembrane. **Medicina Cutânea Ibero-Latino-Americana**, v. 32, n. 4, p. 157-162, 2004.

GARMS, B. C. et al. Characterization and Microbiological Application of Ciprofloxacin Loaded in Natural Rubber Latex Membranes. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2017.

GARMS, B. C. **Caracterização física, química e biológica de membranas de látex natural incorporadas com moxifloxacina para o tratamento de feridas cutâneas**. 2017. 68f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2017.

GEMEINDER, J. L. P. **Desenvolvimento e avaliação de um sistema de liberação sustentada de gentamicina em biomembranas de látex natural.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Assis, 2016.

GIORDANI, R.; REGLI, P.; BUC, J. Antifungal effect of *Hevea brasiliensis* latex with various fungi. Its synergistic action with amphotericin B against *Candida albicans*. **Mycoses**, v. 45, n. 11/12, p. 476-481, 2002.

GOMÉZ, M. S.; MARTINEZ, J. A.; MARTINEZ, F. Validation of an analytical method by liquid chromatography for determination of ibuprofen in biorelevant media, **Química Nova**, v. 33, n.8, p. 1794-1799, 2010.

GUIDELLI, E. J. et al. Silver nanoparticles delivery system based on natural rubber latex membranes. **Journal of Nanoparticle Research**. v.15, n.4, p.1-9, 2013.

HERCULANO, R. D. **Membranas de látex natural: desenvolvimento de um novo sistema de liberação sustentada e aplicações no reparo tecidual.** 108p. Tese (Livre-Docência). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2017.

HERCULANO, R. D. et al. Metronidazole release using natural rubber latex as matrix. **Materials Research**, v.13, n.1, p. 57-61, 2010.

HERCULANO, R. D. **Desenvolvimento de membranas de látex natural para aplicações médicas** Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ribeirão Preto, 2009.

ISO10993-4:2009. **Problemas com hemocompatibilidade, evolução biológica de produtos sanitários**, Parte 4: Seleção de ensaio para interações com sangue ISO 10993-4:2009.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. O.; SERRANO, S.C.; TEODORA, A.L.; et al. Os anti-inflamatórios não hormonais. **Prática hospitalar**; v. 9, n. 51, p. 173-178, 2007.

KIIL, S.; DAM-JOHANSEN, K. Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements. **Journal of Controlled Release**, v. 90, n. 1, p. 1-21, 2003.

KUMMER, L.C. Anti-inflamatórios Não Esteroidal - inibidores da ciclooxigenase-2. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498-512, 2009.

LIPSKY, P.E. Unresolved issues in the role of cyclooxygenase-2 in normal physiologic processes and disease. **International Medical Archives**. v.160, p. 913-920, 2000.

LUNA, A.S.; PINHO, J.S.A. Determination of Paracetamol and Ibuprofen in Tablets and Urine Using spectrofluorometric Determination Coupled with Chemometric Tools. **Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry**. v., n. 1, ID 1001, 7 pages, 2014.

MARKETS AND MARKETS [Internet]. Market Research Report: Report Code n. 5234. **Bone Growth Stimulator Market by Product (Device, Bone Morphogenetic Protein, PRP), Application (Spinal Fusion, Delay Union & Non-union Bone Fracture, Oral-maxillofacial), End User (Hospitals, Home Care, Academia, CROs) - Global Forecasts to 2022**. Northbrook, Illinois, 2017. Disponível em: <<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/bone-growth-stimulator-market-82341383.html>>. Acesso em: 18 jan. 2018.

MATKOVIC, S. R.; VALLE, G. M.; BRIAND, L. E. Quantitative analysis of ibuprofen in pharmaceutical formulations through FTIR spectroscopy. **Latin American Applied Research**, Bahía Blanca, v. 35, n. 3, p. 189-195, 2005.

MAURO, C.P. **Comprimidos de Liberação Controlada**. 46p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia) Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007.

MIRANDA, M. C. R. **Desenvolvimento e estudo toxicológico em métodos alternativos de compósito á base de látex natural e fosfatos de cálcio para**

reparação óssea. Tese (Doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2018.

MIRANDA, M.C.R et al. Porosity effects of natural latex *Hevea brasiliensis* on release of compounds for biomedical applications. **Journal of Biomaterial Science- Polymer Edition.** v. 28, n. 18, p. 2117, 2017.

MOULDS, R.F.W.; JEYASINGHAM, M.S. Gentamicin: a great way to start. **Australian Prescriber**, v.33, n.5, p.134-135, 2010.

MRUÉ F. **Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Aplicabilidade em neoformação esofágica e da parede abdominal. Estudo experimental em cães.** 2000. 112p. Tese (Doutorado em Medicina). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

MRUÉ, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex: estudo experimental em cães.** Dissertação (Mestrado em Medicina) Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1996.

MURBACH, H. D. et al. Ciprofloxacin release using natural rubber latex membranes as carrier. **International Journal of Biomaterials**, v. 2014, Article ID 157952, 7 pages, 2014.

NICOLETTI, D. C.; FRASSON, Z. P. Formas de liberação controlada: Revisão Bibliográfica e Avaliação Comparativa da Qualidade de Comprimidos Retard de Nifedipina 20mg de Referência e Similar, **Revista Conexto & Saúde**, v.5, n.10, p. 65-74, 2006.

NUNES, G. A. M. A. **Caracterização de palmilhas de látex: avaliação de compósitos de látex como proposta para o desenvolvimento de palmilhas para utilização no tratamento de pacientes com pé diabético.** 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Universidade de Brasília, Faculdade Gama, Brasília/DF, 2017.

ONUMA, Y. et al. Identification of putative palytoxin as the cause of clupeotoxism. **Toxicon**, v. 37, n. 1, p. 55-65, 1999.

ORIGINLab. **Origin 8.0**. Northampton, MA: OriginLab Corporation, 2009.

PICHAYAYAKORN, W. et al. Nicotine transdermal patches using polymer natural rubber as matrix controlling system: effect of polymer and plasticizer blends. **Journal of Membrane Science**, v. 411, p. 81-90, 2012.

PROTTO F. R. et al, Prevalência da dor e do uso de analgésicos e anti-inflamatórios na automedicação de pacientes atendidos no Pronto-Socorro Municipal de Taubaté. **Revista Dor: Pesquisa, Clínica e Terapêutica**. v. 10: n. 4, p. 313- 317, 2009

RESENDE, C. et al. Natural rubber-clay nano composites: mechanical and structural properties. **Polymer** v. 51, p. 3644-3652, 2010.

REZENDE, F. C. B. **Estudo da Cinética do Infiltrado Celular Inflamatório Induzido por Adjuvantes de Vacinas em Bolhas de Ar Formadas no Subcutâneo de Camundongos**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

RIBEIRO, A. R.; RODRIGUES, S. S. F. R. Modelagem Matemática do Olho Ambliope para Tratamento com Oclutor Derivado de Latex. In: ANAIS DO VIII CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA MECÂNICA. Uberlândia, MG, Brasil. 2014.

RIOS, P. **Defenses front a malalties infeccioses (A)**. Immunitat inespecífica. Disponível em: <https://biolulia.wordpress.com/ciencies-per-al-mon-contemporani/tema-4-salut-i-malaltia/4-2-1-malalties-infeccioses/4-3-3-defenses-front-a-malalties-sistema-immunitari/>. Acesso em: 22 jun. 2018.

SENA, M. M. et al. Determinação espectrofotométrica simultânea de paracetamol e ibuprofeno em formulações farmacêuticas usando calibração multivariada. **Química Nova**. v. 30, n. 1, p. 75-79, 2007.

SILVA, E.B.; MANISCALCO, C. L. Palatoplastia com biomembrana natural de látex com polilisina 0,1% em CÃES com defeito palatino experimentalmente induzido. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 785-792, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T.C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1994.

TRECCO, A. et al. Liberação de componentes do extrato de *Casearia sylvestris* Swartz empregando membranas de látex natural como suporte. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, p. 89-95, 2014.

WARD, M. A.; GEORGIU, T. K. Thermoresponsive polymers for biomedical applications. **Polymers**, v. 3, p. 1215-1242, 2011.

ZIMMERMANN M. et al. Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1719-1723, 2007.