

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CAMPUS SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Lucas Camargo Soares Carvalho da Silva

**MEMBRANA DE LÁTEX COM INCORPORAÇÃO DE ARNICA VISANDO O
TRATAMENTO DE QUEIMADURAS DE SEGUNDO GRAU**

Sorocaba

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CAMPUS SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Lucas Camargo Soares Carvalho da Silva

**MEMBRANA DE LÁTEX COM INCORPORAÇÃO DE ARNICA VISANDO
TRATAMENTO DE QUEIMADURAS DE SEGUNDO GRAU**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Ciência dos Materiais,
para obtenção do título de Mestre em
Ciência dos Materiais.

Orientadora: Eliana Ap. de Rezende Duek
Co-orientador: Daniel Komatsu

Financiamento: Coordenação de
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior (CAPES)

Sorocaba

2021

Camargo Soares Carvalho da Silva, Lucas

MEMBRANA DE LÁTEX COM INCORPORAÇÃO DE
ARNICA VISANDO O TRATAMENTO DE QUEIMADURAS
DE SEGUNDO GRAU / Lucas Camargo Soares Carvalho
da Silva -- 2021.
97f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São
Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba

Orientador (a): Eliana Aparecida de Rezende Duek

Banca Examinadora: Jane Maria Faulstich de Paiva,

Marco Vinícius Chaud

Bibliografia

1. Biomateriais . 2. Polímeros Naturais. 3. Medicina
Regenerativa . I. Camargo Soares Carvalho da Silva,
Lucas. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Lucas Camargo Soares Carvalho da Silva, realizada em 30/08/2021.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek (PUC-SP)

Profa. Dra. Jane Maria Faulstich de Paiva (UFSCar)

Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud (UNISO)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais.

Dedico este projeto de pesquisa aos meus bisavós Tirza e Moyzés (*in memoriam*), com todo meu amor e gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, em especial a minha avó Marta, aos meus pais Ana e Joelson, às minhas irmãs Mirian e Ana Beatriz, por sempre me incentivarem a seguir adiante e por todo amor e carinho que sempre dedicaram a mim, muito obrigado!

Agradeço à minha estimada orientadora, Eliana Duek, por todos os conselhos, pelo suporte, incentivo, por todas as oportunidades que me deu e pela confiança que sempre teve por mim, muitíssimo obrigado.

Agradeço ao meu estimado co-orientador Daniel Komatsu por todos os conselhos, pelo suporte, incentivo, por toda confiança que sempre teve por mim e principalmente por me inserir no meio acadêmico, minha sincera gratidão.

Agradeço a todos amigos e amigas do laboratório de Biomateriais (Labiomat): Moema Hausen, Priscila Breda, Rodrigo Gomes, Flávia Pedrini, Jéssica Asami, Mayara Rezende, Pâmela Garcia, Bruna Quevedo, Vanessa Bevilaqua e Bianca Sabino, pelo suporte, incentivo e por todos os momentos que compartilhamos juntos, muito obrigado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM) e a todos seus docentes, por todo amparo, incentivo e principalmente por se manterem firmes na honrada tarefa de aperfeiçoar e transformar o conhecimento científico.

Agradeço a todos os membros do laboratório Labnus da Universidade de Sorocaba (UNISO), pela análise de Espectroscopia de UV- Visível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

“O saber a gente aprende com os mestres e os livros.
A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes.”

Cora Coralina

RESUMO

Nos últimos anos, diversos estudos têm dado foco a alternativas terapêuticas no tratamento de lesões causadas por queimaduras. Nesse contexto destaca-se a busca de biomateriais e substâncias naturais que auxiliem no processo de regeneração de lesões da pele, a partir de materiais de baixo custo e acessíveis a toda população. Dentre os materiais já estudados para essa aplicação, o látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis* se destaca por apresentar excelentes propriedades físicas, químicas e biológicas, uma vez que é capaz de estimular a angiogênese e acelerar o processo de reparação tecidual. Aliado aos biomateriais, os fitoterápicos contribuem ativamente no tratamento de queimaduras, neste contexto, a arnica apresenta diversas propriedades terapêuticas tais como efeito anti-inflamatório, analgésico e regenerativo. O presente estudo tem como objetivo obter e caracterizar físico-quimicamente as membranas a base de látex carregadas com fibras de arnica para aplicação em lesões causadas por queimaduras. A fim de eliminar as substâncias patogênicas contidas no látex natural, o mesmo foi purificado por coagulação em um não solvente. As membranas foram obtidas pelo método de casting, após dissolução do látex em clorofórmio na concentração 15% (m/v). Para as membranas contendo arnica, foi adicionado 5 e 10% de fibras de arnica em relação a massa de látex, o solvente foi evaporado à temperatura ambiente em uma cuba de vidro até a total evaporação. A caracterização das membranas por FTIR (Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier) mostrou a presença dos grupos químicos característicos para cada um dos constituintes puros e nas membranas contendo arnica, observou-se que o processo de purificação foi eficiente e que há uma predominância das características do polímero nas membranas de látex com arnica, denotando uma baixa interação entre os sistemas, o que foi confirmado pelos resultados de TG (Termogravimetria) e DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial), pois não houve variação nas características térmicas do material pela adição de arnica. No ensaio mecânico de tração, pode-se observar que a adição de arnica provocou discretas variações nas propriedades mecânicas do látex, indicando a baixa interação entre a matriz polimérica e as fibras de arnica. Com a análise de potencial zeta, pode-se constatar a presença de fibras de arnica expostas na superfície da membrana de látex, atribuindo um caráter mais hidrofílico ao material compósito. Quanto ao ensaio de permeação de vapor de água, pode-se observar que a adição de arnica promove um pequeno aumento da adsorção de vapor de água à matriz de látex, o que facilita não só a difusão de vapor de água através do compósito, mas também a absorção de líquidos ao interior do material, como pode ser visto no ensaio de intumescimento das membranas. De acordo com os resultados de liberação, pode-se observar que o mecanismo de liberação obedeceu a um padrão biexponencial, indicando um comportamento anômalo, de modo a não seguir um padrão Fickiano. Observou-se que a maior concentração de arnica promoveu um aumento da concentração em cada tempo de incubação. A análise dos resultados histológicos do estudo *in vivo* mostrou que as queimaduras cobertas com a membrana de látex e principalmente as cobertas pelas membranas de látex contendo arnica, apresentaram uma maior proteção contra agentes infecciosos e à perda de água pelo ferimento. A membrana com concentração de 10% de arnica favoreceu mais intensamente a proliferação celular e a organização tecidual, podendo ser indicada para tratamentos de queimadura de segundo grau.

Palavras-chave: Látex, Arnica, Curativo-cutâneo, Queimadura de pele.

ABSTRACT

In recent years, several studies have focused on therapeutic alternatives in the treatment of skin injuries caused by burns. In this context, the search for biomaterials and natural substances that can help in the regeneration process of skin damages, from low-cost materials and recovery to the entire population. Among the materials already studied for this application, the natural latex from rubber tree *Hevea brasiliensis* presents excellent physical, chemical and biological properties. It can stimulate angiogenesis and accelerate the tissue regeneration process. Combined with latex, plant extracts can contribute to the treatment of burns. So arnica has several therapeutic properties such as anti-inflammatory, analgesic and regenerative effects. The present study aims to obtain and characterize the latex-based membranes loaded with arnica fiber for application in skin injuries caused by burns. The characterization of latex-based membranes were done by FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) and it showed the presence of characteristic chemical groups for each of the pure constituents and in membranes containing arnica, it was observed that the purification process was efficient and that there is a predominance of polymer characteristics in latex membranes with arnica, denoting a low interaction between the systems, which was confirmed by the results of TG (Thermogravimetry) and DSC (Differential Scanning Calorimetry) since there was no change in the thermal characteristics of the material by the combination of arnica. In the mechanical testing, it can be observed that the addition of arnica caused a slight change in the mechanical properties of the latex, indicating the low interaction between the polymer matrix and arnica fiber. Zeta potential analysis, it is possible to verify the presence of arnica fibers exposed on the surface of the latex membrane, results in hydrophilic character to the composite material. Water vapor permeation test, it can be observed that the addition of arnica promotes a small increase in water vapor adsorption to the latex matrix, which facilitates not only the diffusion of water vapor through the composite, but also the absorption of liquids inside the material, as seen in the membrane swelling test. According to the release results, it was possible to observe that the release mechanism followed a biexponential pattern, indicating an anomalous behavior, not following a Fickian pattern. It was observed that the highest concentration of arnica promoted an increase in concentration at each incubation time. *In vivo* study results showed that burns covered with the latex membrane and mainly as covered by latex membranes containing arnica, heat increased protection against infectious agents and water loss from the wound. The membrane content 10% of arnica favored more intensely cell proliferation and tissue organization, and could be determined for second-degree burn treatments.

Keywords: Latex, Arnica, Cutaneous dressing, Burn skin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema ilustrativo da anatomia da pele.	18
Figura 2: Monômero Cis-1,4-poliisopreno.	28
Figura 3- Esquema representativo em microescala de uma partícula monocamada em torno de um núcleo hidrofóbico constituído de cadeias de cis-1,4-poliisopreno.	29
Figura 4: Copo de Payne. Os números no desenho indicam: 1) – Espaço interno a rosca para colocação do filme polimérico; 2) – Anéis de vedação de borracha; 3) – Anel de alumínio; 4) – Tampa.	37
Figura 5: Imagem representativa das matérias-primas e das membranas obtidas: A) Látex Bruto sem correção de pH; B) Fibras de arnica; C) Membrana de látex purificado; D) Membrana de látex contendo 5% de arnica e E) Membrana de látex contendo 10% de arnica.	42
Figura 6: Espectros de FTIR das amostras de Látex Bruto com o pH corrigido não purificado e Látex Purificado.	43
Figura 7: Espectro de FTIR para as membranas de látex, membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica e das fibras de arnica.	45
Figura 8: Termograma dos compostos constituintes e das membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica.	47
Figura 9: Curva de $\ln \beta$ em função de $1/T$ para o látex purificado (A), látex com 5% de arnica (B) e látex com 10% de arnica (C).	49
Figura 10: Energia de Ativação (E_a) em função da porcentagem de degradação térmica das amostras (A) e variação da energia de ativação média em função da concentração de arnica (B).	50
Figura 11: Termogramas das amostras na região entre 300°C a 400°C. Látex (A), Látex + 5% Arnica (B) e Látex + 10% Arnica (C).	51
Figura 12: Curvas de DSC dos compostos constituintes e das membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica.	52
Figura 13: Gráfico dos valores médios de Tensão <i>versus</i> Deformação das membranas de Látex, Látex + 5% Arnica e Látex + 10% Arnica.	54
Figura 14: Gráfico dos valores de Módulo de Young (A), Alongamento na Ruptura (B), Tensão na Ruptura (C) e Tensão no Escoamento (D) para as membranas de Látex, Látex + 5% de Arnica e Látex + 10% Arnica.	55
Figura 15: Módulo elástico relativo em função da fração de volume de arnica.	58
Figura 16: Tensão no escoamento relativa em função da fração de volume da arnica, $L/d=3$ (A), $L/d=5$ (B) e $L/d=10$ (C).	59
Figura 17: Gráfico de potencial Zeta em função do pH das amostras de látex, látex + 5% de arnica, látex + 10% de arnica e das fibras de Arnica.	60
Figura 18: Gráfico da média da variação de massa perdida (Δm) em função do tempo (t) para as amostras de Látex, Látex + 5% Arnica e Látex 10% Arnica.	63

Figura 19: Gráfico do coeficiente de permeabilidade (P_H) ao vapor de água das membranas de Látex, Látex + 5% Arnica e Látex + 10% Arnica.	65
Figura 20: Gráfico do intumescimento das membranas de Látex, Látex com 5% de Arnica e Látex com 10% de Arnica.	67
Figura 21: Curva de calibração da absorbância versus concentração de arnica.	70
Figura 22: Perfil de liberação da membrana contendo 5% de arnica. A) Perfil de Liberação para cada uma das amostras e B) Média dos valores do Perfil de Liberação.	70
Figura 23: Perfil de liberação da membrana contendo 10% de arnica. A) Perfil de Liberação para cada uma das amostras e B) Média dos valores do Perfil de Liberação.	71
Figura 24 – Imagem histológica do controle negativo após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Cabeça-de-seta: epiderme original necrótica; seta: crosta; estrelas: inflamatório predominante de neutrófilos; TCD: tecido conjuntivo propriamente dito.	73
Figura 25: Imagem histológica do controle positivo após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Seta: camada córnea; cabeça-de-seta: nova epiderme; DP: derme papilar; estrela: inflamação; TCD: tecido conjuntivo propriamente dito; F: folículo piloso. ..	74
Figura 26: Imagem histológica do grupo Látex + 5% de Arnica após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Seta: crosta; estrela: inflamação; N: necrose; TA: tecido adiposo; cabeça-de-seta: reepitelização; DP: derme papilar; *: capilares	75
Figura 27: Imagem histológica do grupo Látex + 10% de Arnica após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Cabeça-de-seta: reepitelização; estrela: proliferação de epitélio dos folículos pilosos; TCD: tecido conjuntivo propriamente dito; DP: derme papi espessa, rica em fibroblastos; DR: derme reticular; H: hipoderme.	76

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Avaliação de profundidade da queimadura.	21
TABELA 2: Valores médios e respectivos desvios-padrão do Módulo de Young, Alongamento na Ruptura, Tensão na Ruptura e Tensão no Escoamento para as membranas de Látex, Látex + 5% de Arnica e Látex + 10% Arnica.	54
TABELA 3: Valores de área (A), espessura (L) e do coeficiente de permeabilidade (P_H) para as membranas de Látex, Látex com 5% de Arnica e Látex com 10% de Arnica	64

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 PELE.....	18
3.2 QUEIMADURAS	19
3.3 REGENERAÇÃO E CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS	22
3.4 APLICAÇÃO DE POLÍMEROS NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS	25
3.5 LÁTEX	28
3.6 ARNICA.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 MATERIAIS	34
4.2 MÉTODOS	34
4.2.1 PURIFICAÇÃO DO LÁTEX	34
4.2.2 OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS	34
4.2.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	35
4.2.4 TERMOGRAVIMETRIA.....	35
4.2.5 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	35
4.2.6 ENSAIO MECÂNICO.....	35
4.2.7 POTENCIAL ZETA	36
4.2.8 PERMEAÇÃO DE VAPOR DE ÁGUA	36
4.2.9 GRAU DE INTUMESCIMENTO	38
4.2.10 PERFIL DE LIBERAÇÃO	38
4.2.11 ENSAIO <i>IN VIVO</i>	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
5.1 OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS	42
5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	42
5.3 TERMOGRAVIMETRIA.....	46
5.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	52
5.5 ENSAIO MECÂNICO.....	53

5.6 POTENCIAL ZETA	59
5.7 PERMEAÇÃO DE VAPOR DE ÁGUA	62
5.8 GRAU DE INTUMESCIMENTO	66
5.9 PERFIL DE LIBERAÇÃO	69
5.10 ENSAIO <i>IN VIVO</i>	72
6. CONCLUSÕES.....	79
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	81
REFERÊNCIAS	82

1. INTRODUÇÃO

As queimaduras são lesões da pele ou de qualquer tecido do corpo causada por agentes físicos ou químicos, cujos principais causadores são: fogo, líquidos superaquecidos, produtos químicos e correntes elétricas de altas tensões. As queimaduras são majoritariamente acidentais e, em conjunto com as demais causas, constituem a terceira causa externa de morte no Brasil, representando um grave problema de saúde pública com expressiva relevância nos setores sociais e econômicos.

O tratamento desse tipo de lesão está associado a grande complexidade relacionada à lesão e às complicações causadas por esse trauma. Pensando nesse problema, um amplo conjunto de biomateriais tem sido desenvolvido para essa aplicação. Por definição, biomateriais são dispositivos compatíveis com os tecidos orgânicos, podendo ser de origem natural ou sintética, utilizados na área médica para fins diagnósticos e/ou terapêuticos (GHASEMI, et al., 2019). No que tange sua aplicação em queimaduras, os biomateriais desenvolvidos podem contribuir no recobrimento cutâneo ou servir como um substituto temporário de modo a agir como uma alternativa para a realização de enxertos. Para garantir a eficácia dos dispositivos a base de biomateriais, estes precisam apresentar compatibilidade das suas propriedades físicas e químicas com a natureza da ferida, de modo a controlar o estado bioquímico da ferida e auxiliar no processo de reparação tecidual. Com isso, para que um dispositivo à base de biomateriais seja eficiente, ele precisa cumprir com os requisitos mínimos de reparação tecidual, ter custo acessível para o paciente e contribuir para a prevenção de infecção durante todo o tratamento da lesão.

Dentre os inúmeros biomateriais estudados para essa aplicação, o látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis* tem recebido grande destaque, uma vez que apresenta características físicas, químicas e biológicas favoráveis para aplicações no setor biomédico. Entre os muitos atributos conferidos ao látex, pode-se citar as propriedades de elasticidade, ductilidade e a facilidade de processamento, além da potencial biodegradabilidade e biocompatibilidade com os sistemas biológicos. Ademais, o látex é responsável por estimular a angiogênese, adesão celular e formar matriz extracelular, propiciando seu uso como acelerador da reparação de ferimentos.

A membrana de látex utilizada no presente estudo, foi associada à liberação de compostos bioativos fitoterápicos derivados da arnica, que por sua vez é uma planta

herbácea muito popular na medicina tradicional brasileira, utilizada costumeiramente em infusões alcoólicas como anti-inflamatório e analgésico no tratamento de ferimentos, contusões, inchaço e suavizando hematomas. Além das suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, a arnica também apresenta propriedades antimicrobianas, antibióticas, antioxidativas e regenerativas.

Deve-se ressaltar, que um sistema de liberação controlada de fármaco utilizando látex e o fitoterápico arnica é de suma importância para aplicações em áreas queimadas, uma vez que os sistemas convencionais não conseguiriam administrar doses corretas em sítios profundos ou de grandes extensões. Com isso, o objetivo deste trabalho é desenvolver membranas a base de látex carregado com fibras de arnica e estudar as propriedades físicas, químicas e biológicas do dispositivo, a fim de criar uma alternativa eficiente e economicamente viável para o tratamento de queimaduras.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter e caracterizar membranas a base de látex carregadas com fibras de arnica e verificar a eficácia da liberação controlada dos seus princípios ativos para a possível aplicação na regeneração tecidual de lesões da pele causadas por queimaduras.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Purificar o látex natural a fim de eliminar as substâncias alergênicas e patogênicas que possam estar presentes.
- Obter membranas de látex, látex com 5% (m/m) de arnica e látex com 10% (m/m) de arnica através do método de *casting*.
- Caracterizar físico-química e termicamente as membranas obtidas.
- Analisar o perfil de liberação *in vitro* das membranas contendo fibras de arnica.
- Testar a permeação de vapor d'água das membranas obtidas.
- Analisar o grau de intumescimento das membranas obtidas.
- Analisar a propriedade mecânica das membranas por meio do ensaio mecânico de tração.
- Determinar a energia de superfície da membrana de látex e das membranas de látex contendo fibras de arnica.
- Verificar por meio do estudo *in vivo* o efeito das membranas de látex e látex com arnica na regeneração da pele queimada.

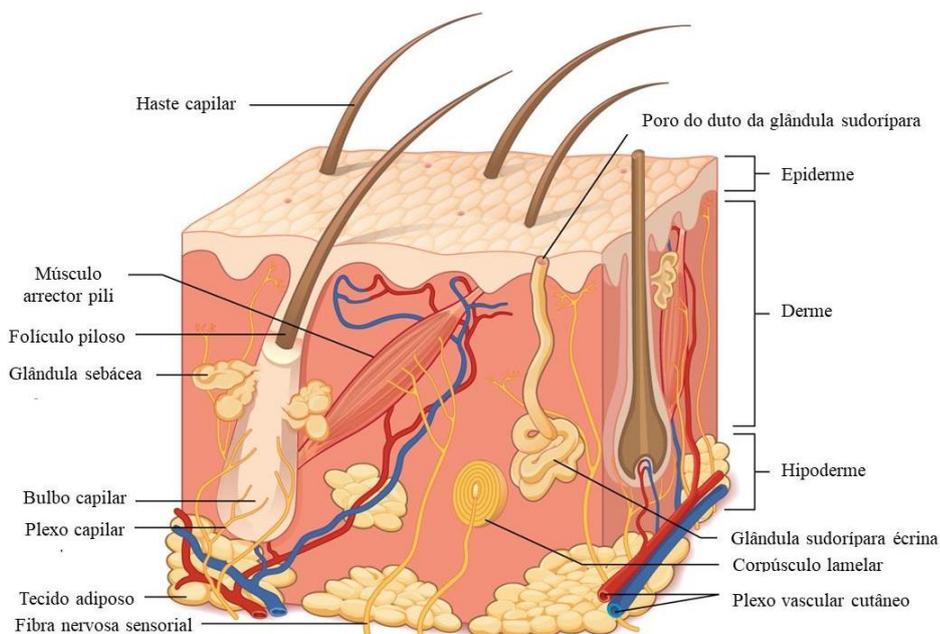
3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PELE

Para grande parte dos animais vertebrados, a pele é o órgão mais externo do corpo, atuando fundamentalmente como uma barreira de proteção contra agentes externos físicos, químicos e biológicos. Deve-se acrescentar que esse órgão atribui muitas outras funções, além da mencionada anteriormente. A pele, ao longo de toda sua extensão, apresenta uma grande quantidade de detectores, glândulas, canais e poros, permitindo que o organismo sinta estímulos táteis, bem como reconheça sensações de calor e frio. Além disso, regula a temperatura e a higrometria corpórea (PISSARENKO e MEYERS, 2020).

A pele é constituída por três regiões distintas (Figura 1), a mais externa delas é a epiderme, que tem como principal função agir como uma barreira. É constituída basicamente por queratinócitos e melanócitos, em sua extensão, a epiderme apresenta epitélio estratificado pavimentoso, granuloso, lúcido e córneo (GURTNER, et al., 2008). Aproximadamente 80% das células presentes na epiderme são queratinócitos, que por sua vez, ficam responsáveis pela produção de queratina, uma proteína de suma importância para os vertebrados. Já os melanócitos, são responsáveis pela produção do pigmento melanina (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Figura 1: Esquema ilustrativo da anatomia da pele.



Fonte: Adaptada de SHMAEFKY (2007).

A derme está localizada logo abaixo da epiderme, sendo composta principalmente por fibroblastos, que produzem a matriz celular. Ela é composta de duas porções, a derme superficial ou derme papilar, composta por tecido conjuntivo frouxo, e a derme profunda ou reticular, formada por tecido conjuntivo denso não modelado. De modo geral, a derme tem como função a sustentação da epiderme, auxiliando no suporte estrutural, é também responsável pelo fornecimento de nutrientes para todos tipos celulares presentes na região. Nela estão presentes estruturas como as glândulas sebáceas, sudoríparas, folículos pilosos, vasos sanguíneos, nervos e terminações nervosas. A derme é responsável por grande parte das propriedades mecânicas presentes na pele, pois nela estão presentes arranjos densos e em camadas de fibras de colágeno e elastina, todas envoltas em uma matriz proteoglicana (LIMBERT, 2017)

A última e mais interna camada da pele é a hipoderme ou fáscia subcutânea, composta principalmente por tecido adiposo, nela estão presentes os aglomerados de adipócitos, cercados por uma rede de fibrocolágeno. A hipoderme é responsável pelo isolamento térmico, armazenamento de energia e por unir a pele às estruturas adjacentes (GURTNER, *et al.*, 2008).

3.2 QUEIMADURAS

As queimaduras podem ser definidas como lesões da pele ou de qualquer tecido do corpo causada por agentes térmicos, químicos ou elétricos, capazes de danificar os tecidos corporais, ocasionando a morte celular (BRASIL, 2012). Também são consideradas queimaduras, as lesões por radiação, radioatividade e fricção (JOHNSON, 2018). Tais agravos podem ser classificados como queimaduras de primeiro, segundo e terceiro grau.

Com a debilitação de no mínimo 15% da área total da pele, já é possível que haja riscos à vida da vítima. A perda da camada epitelial, que por sua vez tem a função de barreira, pode provocar uma perda acentuada de água podendo ocasionar a morte por choque hipovolêmico (CANCIO; BOHANON e KRAMER, 2018). Ademais, tais lesões estão propensas à proliferação de microrganismos que podem levar a sepse, graves complicações clínicas ou até mesmo a morte ((MARCUS, *et al.*, 2019).

De acordo com os dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que ocorram anualmente 180.000 mortes causadas por queimaduras, com maior número de casos em países de baixa e média renda, ocorrendo principalmente no ambiente doméstico e no local de trabalho. No Brasil, segundo a Sociedade Brasileira de Queimaduras (SBQ), ao menos um milhão de pessoas sofrem algum tipo de lesão por queimadura ao longo do ano, sendo 200 mil atendidos em serviços de emergência e 40 mil demandam hospitalização, tendo como principais vítimas, segundo o Ministério da Saúde, crianças e pessoas de baixa renda.

Como mencionado anteriormente, as queimaduras podem ser classificadas em epidérmicas ou de primeiro grau, superficiais de espessura parcial ou de segundo grau superficial, profunda de espessura parcial ou de segundo grau profunda e de espessura total ou de terceiro grau (KARIM; SHAUM e GIBSON, 2020).

Para determinar o grau de complexidade de uma queimadura, é necessário saber qual a profundidade da lesão. A profundidade de uma queimadura é determinada por um sistema de classificação anatômica, que varia de lesões superficiais epidérmicas, até lesões de espessura total que atingem áreas que excedem a derme. Deve-se mencionar que as queimaduras são heterogêneas e as classificações de profundidade nem sempre são facilmente delineadas no cenário clínico (CHERUKUPALLI; DUAN e PAPP, 2019). Essa classificação é apresentada na tabela 1.

TABELA 1: Avaliação de profundidade da queimadura.

Profundidade	Porção afetada	Características visuais	Prognóstico
Queimadura de 1º grau - superficial	Somente a epiderme	Eritema seco	Cura dentro de alguns dias
Queimadura de 2º grau – superficial	Epiderme e derme superficial	Eritema, bolhas, úmido.	Cura dentro de 3 a 15 dias
Queimadura de 2º grau – profunda	Epiderme e derme profunda	Eritema ou pálido, presença de bolhas, umidade variável.	Pode curar dentro de 2 a 3 semanas
Queimadura de profundidade indeterminada	Epiderme e derme profunda ou derme completa	Eritema ou pálido, presença de bolhas, umidade variável.	Tempo de cura indeterminado, superior a 3 semanas
Queimadura de 3º grau - total	Dano completo da epiderme e derme e na camada subcutânea	Seco, coriácea, cor variável.	Cicatrização lenta apenas das bordas, é necessário enxertia para ocorrer cicatrização normal.

Fonte: Adaptado de KARIM; SHAUM e GIBSON (2020)

A profundidade de uma lesão por queimadura também é determinada por fatores extrínsecos e intrínsecos. Em queimaduras térmicas, os fatores intrínsecos compreendem a liberação de mediadores inflamatórios e proliferação de bactérias, já os fatores extrínsecos incluem desidratação, hipertensão arterial sistêmica, variação de temperatura, tempo de contato, pressão e capacidade específica de calor (relacionada à espessura) da pele (PAPINI, 2004).

De modo geral, a profundidade de uma queimadura baseia-se em sinais clínicos que determinam seu diagnóstico, como já mencionado anteriormente. Existem inúmeros métodos que podem ser adotados para avaliação da complexidade desses ferimentos. A avaliação visual é o método mais utilizado para a determinação da profundidade da queimadura, trata-se de um método simples e barato, que pode ser aprimorado considerando informações táteis, como dor, branqueamento e teor de umidade da ferida (BLOEMEN; VAN ZUIJLEN; MIDDELKOOP, 2011).

A avaliação histológica e outros métodos avançados de imagem são ainda mais eficientes para diagnosticar a profundidade da lesão, realizando uma biópsia da ferida com espessura total e fazendo uma coloração com hematoxilina e eosina. Trata-se de uma técnica superior a avaliação visual, uma vez que existe uma confiabilidade, interobservador e intra observador, alta entre as avaliações histológicas da epitelização (SINGER, *et al.*, 2012).

No entanto, por mais promissora que seja a análise histológica, esta não é uma prática comum devido a dor associada à biópsia, a heterogeneidade da ferida exige múltiplas biópsias dentro de um único ferimento e ao tempo e complexidade do procedimento de coloração e análise da histologia do local ferido. Todavia, a avaliação histológica é uma técnica muito útil no cenário da pesquisa, como uma medida objetiva do potencial de cura e da resposta ao tratamento empregado.

3.3 REGENERAÇÃO E CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS

A pele possui capacidade limitada de regeneração, suprimindo apenas pequenos cortes e escoriações. Em ferimentos com grande extensão em área ou que acometem camadas inferiores à epiderme, ocorre cicatrização ao invés da regeneração.

A regeneração consiste em reconstruir o tecido lesionado de modo a substituí-lo por um morfológicamente idêntico, sem que haja nenhuma perda da sua atividade funcional (BORENA, *et al.*, 2015), de modo a reconstruir a maior parte dos anexos cutâneos (glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos capilares) (ANSELL e IZETA, 2015).

Visto que a pele de mamíferos adultos não se regenera espontaneamente, o reparo de queimaduras é comumente alcançado através da cicatrização, trata-se de um ajuste fisiológico onde há a substituição do tecido lesionado por tecido fibroso, de modo a ser morfológicamente e funcionalmente diferente do tecido original (CHOUHAN, *et al.*, 2019).

A cicatrização ocorre através de uma série de estágios, sendo eles: Hemostasia, Inflamatório, Proliferação (formação de novos tecidos) e Remodelamento do tecido (GURTNER, *et al.*, 2008). Esses estágios ocorrem em uma sequência temporal, mas

também se sobrepõem, assim, o reparo da pele está entre os processos mais complexos do corpo humano.

A resposta inicial a um ferimento é a estenose dos vasos sanguíneos lesionados, o que evita a perda de sangue e dos demais fluidos corpóreos, além de favorecer a ativação das plaquetas para formar um coágulo de fibrina (HEHER, *et al.*, 2018). O coágulo formado é responsável por barrar o fluxo sanguíneo e atua como um alicerce para as células do estágio inflamatório. Em seguida, há o recrutamento dos neutrófilos que atuam na defesa contra bactérias e demais agentes patológicos (WILGUS e ROY; MCDANIEL, 2013).

Entre 48 e 96 horas após a lesão, há o recrutamento de monócitos que posteriormente se transformam em macrófagos e se mantêm presentes por todos os estágios seguintes do processo cicatricial. Os macrófagos juntamente com os linfócitos, fazem parte da resposta imune do organismo e são de suma importância contra a invasão de agentes biológicos externos, são responsáveis por fagocitar bactérias e demais microrganismos que invadam o organismo (HUANG, *et al.*, 2019).

Com o término do estágio inflamatório, inicia-se a angiogênese, isto é, a proliferação, migração e ramificação de células endoteliais para formação de novos vasos sanguíneos. À medida que novos vasos sanguíneos surgem, os fibroblastos presentes se proliferam e invadem o coágulo com o intuito de formar o tecido de granulação, alguns fibroblastos podem se diferenciar em miofibroblastos, unindo as margens da ferida (RODRIGUES, *et al.*, 2019). A resposta dos fibroblastos durante o processo de cicatrização determina o resultado do reparo tecidual (TAKEO; LEE e ITO, 2015).

Durante a proliferação dos fibroblastos, há a deposição de matriz extracelular que modifica o microambiente da ferida do estado inflamatório para o estado de crescimento (WERNER; KRIEG e SMOLA, 2007). Esses fibroblastos também produzem colágeno e outras proteínas da matriz extracelular que auxiliam no reparo da lesão.

No último estágio do processo de cicatrização, ocorre o remodelamento do tecido formado, esse processo ocorre entre três semanas até um ano após a lesão. Basicamente, o colágeno tipo III produzido no estágio de proliferação é substituído por colágeno do tipo I. Os macrófagos presentes provocam contração da lesão, reduzindo assim sua área de superfície (ŞAKRAK, *et al.*, 2012).

Quando a pele apresenta lesões extensas em área e/ou em profundidade, o reparo do tecido é alcançado por meio da repitelização das bordas da lesão, ocasionando a contração da pele (ŞAKRAK, *et al.*, 2012). Essas contrações suscitam em problemas funcionais e estéticos ao ferido.

Um processo eficaz de cicatrização, isto é, quando não acometido por um processo inflamatório persistente ou prolongado, promove a formação de uma cicatriz normotrófica, que por sua vez, assemelha-se muito ao tecido dito normal em termos de espessura, cor e elasticidade (SALGADO, *et al.*, 2012).

Contudo, um processo de cicatrização patológico pode levar a formação de cicatrizes desorganizadas, que se caracterizam pela formação de fibrose excessiva devido à resposta fisiológica irregular (BERMAN; MADERAL e RAPHAEL, 2017).

As cicatrizes patológicas abrangem a formação de dois tipos diferentes de cicatrizes, as cicatrizes hipertróficas e as queloides, sendo elas clinicamente diferentes. Ambas as lesões representam um desequilíbrio entre as fases anabólicas e catabólicas nos processos fundamentais de cicatrização, evidências sugerem que tanto a gravidade da inflamação quanto o tipo de resposta imune predis põem a formação destes tipos de cicatrizes (GAUGLITZ, 2013).

A cicatriz hipertrófica caracteriza-se por ser ampla, espessa e frequentemente elevada que se desenvolve no local da lesão entre 4 e 8 semanas após a lesão, pode causar coceira e normalmente não se estende além dos limites da ferida original (Zhang, *et al.*; 2020). Uma das principais causas de formação de cicatriz hipertrófica é a tensão mecânica na ferida, muito comum em regiões de articulações extensoras e outras áreas de alta tensão, morfológicamente, o colágeno presente mostra um padrão ondulatório paralelo a epiderme (YAGMUR, *et al.*, 2010; BERMAN; MADERAL; RAPHAEL, 2017). Mesmo que possa levar alguns anos, as cicatrizes hipertróficas tendem a regressão espontânea (espessura e elevação) com o passar do tempo ((BERMAN; MADERAL; RAPHAEL, 2017).

Por sua vez, as queloides são lesões duras e pouco elásticas, geralmente apresentam nódulos associados a prurido e dor. As queloides são na maior parte das vezes crescimentos amorfos elevados que ultrapassam o limite da lesão e invadem os tecidos adjacentes (BERMAN; MADERAL; RAPHAEL, 2017; ZHANG, *et al.*, 2020).

Indivíduos com qualquer grau de trauma cutâneo ou qualquer outro processo que resulte em inflamação excessiva durante o processo de cicatrização estão susceptíveis ao desenvolvimento de cicatrizes hipertróficas e queloides. Ambas as cicatrizes estão associadas à fibrose excessiva causada pela produção exacerbada e deposição de matriz extracelular em excesso (GAUGLITZ, 2013). O principal componente extracelular presente é o colágeno, sendo que, nas cicatrizes hipertróficas predomina a formação de colágeno paralelo tipo III e nas queloides, colágeno amorfo tipo I e III (GAUGLITZ, *et al.*, 2010).

3.4 APLICAÇÃO DE POLÍMEROS NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

A cobertura imediata de lesões cutâneas, sobretudo, daquelas causadas por queimaduras é de suma importância para a saúde e tratamento do paciente. Curativos são tradicionalmente usados para proteger a ferida de contaminações externas e absorver o exsudado expelido pelo ferimento (BOATENG e CATANZANO, 2015), uma vez que se tem uma escassez de pele doadora (auto enxerto e aloenxerto) para realização de transplantes.

Diante deste problema, um amplo conjunto de biomateriais têm sido desenvolvidos para aplicação em ferimentos causados por queimaduras e para as demais lesões cutâneas de espessura parcial ou total, desde a excisão e desbridamento até o fechamento final e restauração das funções originais do órgão (BOYCE; CHANG e WARNER, 2020).

Por definição, “Biomaterial é uma substância que foi projetada para assumir uma forma, seja sozinha ou em conjunto com outras, para interagir com componentes de sistemas vivos com a finalidade terapêutica ou diagnóstica” (BIOMATERIALS, 2020). Na última década, o progresso da bioengenharia permitiu o desenvolvimento e a aplicação de biomateriais em ferimentos (DIXIT, *et al.*, 2017), o que culminou na possibilidade de regeneração do epitélio ferido, bem como prevenção da infecção e deterioração do tecido. Quanto à queimadura, os biomateriais desenvolvidos podem atuar no recobrimento da epiderme, na substituição da derme ou na substituição da derme e epiderme, atuando como alternativa para a realização de enxertos (MACNEIL, 2008).

Dentre as diferentes classes de biomateriais, os baseados em polímeros e biopolímeros apresentam certo lugar de destaque devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e boa processabilidade, todos esses fatores reunidos tornam os polímeros materiais amplamente utilizados para confecção de dispositivos médicos (GUO e MA, 2018).

Os biomateriais poliméricos podem ser categorizados em dois tipos: os de origem natural e os sintéticos. A seleção do material mais adequado para uma dada aplicação é de grande importância para garantir o sucesso do tratamento e para isso, deve-se compreender as vantagens e desvantagens dos materiais de origem natural e sintética.

Em geral, os polímeros sintéticos apresentam uma série de vantagens, uma vez que podem ser ajustados de modo a proporcionar um amplo leque de possibilidades com diferentes variedades de produtos e formas (ASADI, *et al.*, 2019), auxiliando de modo efetivo a restauração da estrutura e função do tecido lesionado ou doente. Em sua maioria, apresentam boa processabilidade, propriedades físico-químicas bem definidas, boas propriedades mecânicas e são bioinertes (ASADI, *et al.*, 2019).

No entanto, os polímeros sintéticos carecem de atividade biológica intrínseca e seus produtos de degradação podem causar reações sistêmicas ou locais por conta da alteração do microambiente local *in vivo* (BHATIA, 2016) uma vez que os produtos de degradação são ácidos (GERVASO; SANNINO e PERETTI, 2013) e em alguns casos, em seu preparo são usados solventes tóxicos que podem inviabilizar o seu uso. Além disso, a hidrofobicidade da superfície da maioria dos polímeros sintéticos gera propriedades umectantes fracas e baixa adesão celular, o que por sua vez provoca a desnaturação das proteínas locais e induz a formação de tecido fibroso (BHATIA, 2016). Deve-se ressaltar que a maioria dos materiais sintéticos não apresenta sítios ativos, isto é, grupos funcionais que interagem com o tecido de maneira ativa e, portanto, não podem direcionar ou auxiliar ativamente na cicatrização ou regeneração do tecido (ASADI, *et al.*, 2019), um outro agravante que se deve mencionar é que poucos polímeros sintéticos foram aprovados por agências reguladoras para uso em humanos em aplicações específicas (BHATIA, 2016), o que limita ainda mais sua difusão para aplicações biomédicas.

Os polímeros de origem naturais podem ser resumidamente classificados como polissacarídeos (celulose, amilose, quitina e glicosaminoglicanos), proteínas (fibroína, colágeno, elastina queratina) e polinucleotídeos (DNA e RNA) (ASADI, *et al.*, 2019). Os polímeros de fontes naturais ou biopolímeros podem ser considerados um dos materiais

precursores na confecção de dispositivos biomédicos devido à sua biosimilaridade estrutural com a estruturas presentes na matriz extracelular, biocompatibilidade e biodegradabilidade (GERVASO; SANNINO e PERETTI, 2013). Em sua grande maioria, os polímeros de fontes naturais são compostos por grupos funcionais bioativos, que por sua vez podem interagir facilmente com o sistema biológico e melhorar o desempenho celular, como migração, adesão, proliferação e diferenciação das células (RAHMATI, *et al.*, 2018) e portanto, eles podem ser totalmente integrados ao tecido circundante ao longo do tempo ou mais facilmente remodelados conforme as necessidades do organismo, o que os tornam menos propensos a produzir efeito tóxicos ou indesejados (BHATIA, 2016).

Mesmo que os polímeros naturais demonstrem inúmeras vantagens frente aos polímeros de origem sintética, estes também possuem algumas desvantagens, incluindo sensibilidade a altas temperaturas, propriedades mecânicas pouco aprimoradas, difícil processabilidade e variação entre lotes (ASADI, *et al.*, 2019; BOYCE; CHANG; WARNER, 2020). Deve-se mencionar que alguns grupos funcionais e contaminantes presentes nos polímeros naturais podem produzir efeitos imunológicos indesejáveis (BHATIA, 2016), essa resposta adversa é causada pela presença de endotoxinas ou impurezas presentes no material (MANO, *et al.*, 2007). Um outro fator que deve ser levado em consideração é a degradação por mecanismo enzimático decorrente do processo inflamatório do tecido ou decorrente de contaminações microbianas (BOYCE; CHANG; WARNER, 2020). Logo, faz-se necessária a purificação desses materiais, de modo a eliminar todos os contaminantes e patógenos que possam estar presentes, além de buscar metodologias alternativas para aprimorar as características mecânicas e de processamento desses materiais, viabilizando ainda mais seu emprego nas aplicações biomédicas.

Dentre os diversos polímeros já estudados e aplicados para o tratamento de feridas e queimaduras (BOYCE; CHANG; WARNER, 2020), o látex natural tem exibido grande interesse uma vez que apresenta características químicas e biológicas favoráveis para essa determinada aplicação.

Além do seu já conhecido destaque na indústria automotiva e aeronáutica, o látex vem ganhando cada vez mais visibilidade na indústria biomédica. As características que o tornam atrativo para esse setor incluem suas boas propriedades físicas como elasticidade, ductilidade, tenacidade, resistência ao desgaste, efeito barreira, permeabilidade de

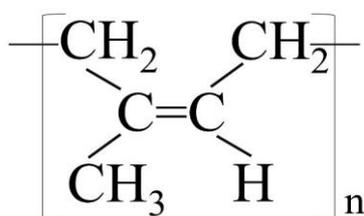
oxigênio e vapores d'água, além da facilidade de processamento, biodegradabilidade e biocompatibilidade (GALIANO, *et al.*, 2018). O látex torna-se ainda mais promissor pois estimula a angiogênese, a formação de matriz extracelular promovendo a neoformação tecidual e crescimento organizado de tecidos em diferentes órgãos (CHEN; LIANG e THOUAS, 2013; BORGES, *et al.*, 2014).

3.5 LÁTEX

O látex é uma secreção coloidal extraída da seringueira *Hevea brasiliensis*, que por sua vez é uma espécie vegetal tropical pertencente à família das *Euphorbiaceae*, endêmica das florestas tropicais da bacia amazônica (RUNGWATTANA, *et al.*, 2018).

O látex, é o citoplasma das células laticíferas (BOTTIER, 2020), rico em partículas de cis-1,4-poliisopreno, popularmente conhecido como poliisopreno ou borracha natural (Figura 2). Em razão da alta pressão do turgor nos vasos dispostos no floema da seringueira (BOTTIER, 2020), o látex verte espontaneamente após uma incisão em seu caule, o que pode ser chamado de “sangria.”

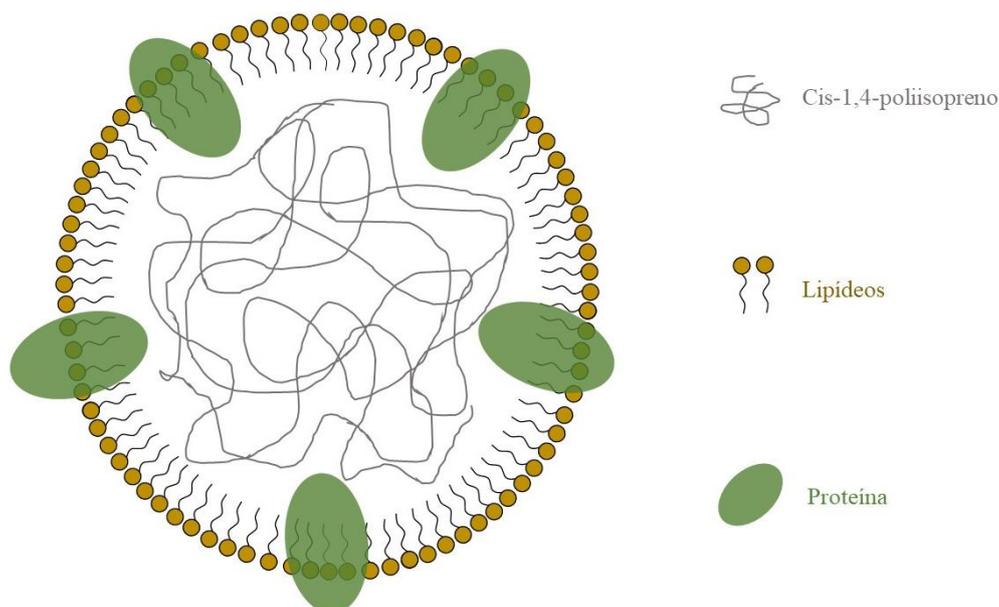
Figura 2: Monômero Cis-1,4-poliisopreno.



Fonte: Autoria própria

Esse líquido coloidal esbranquiçado apresenta densidade aproximada de 0,98g/cm³, podendo variar de acordo com o conteúdo de polímero presente na dispersão e apresenta pH na faixa de 6,5 a 7. Sua fase polimérica compreende cerca de 30 a 45% de sua massa, seguida pela fase aquosa que compreende aproximadamente 50% da massa total do látex (CESAR, *et al.*, 2019) o restante é composto por lipídios, proteínas, carboidratos e minerais (MIRANDA, *et al.*, 2017). Por se tratar de uma dispersão coloidal, as partículas poliméricas exibem uma distribuição de tamanho bimodal que varia de nanômetros a micrômetros, estando dispersas no soro citoplasmático. Essas partículas são esféricas e possuem o núcleo formado por poliisopreno cercado por uma camada composta de lipídios e proteínas (NAWAMAWAT, *et al.*, 2011).

Figura 3- Esquema representativo em microescala de uma partícula monocamada em torno de um núcleo hidrofóbico constituído de cadeias de cis-1,4-poliisopreno



Fonte: Autoria própria

Para evitar a coagulação do látex, adiciona-se uma solução de hidróxido de amônio, a fim de prolongar a vida útil do material, o que facilita sua estocagem por longos períodos.

Dispositivos produzidos a partir do látex têm recebido cada vez mais atenção, uma vez que demonstram sucesso em diversas aplicações, sua notabilidade se deve ao fato de apresentar características como: leveza, elasticidade, ductilidade, tenacidade e facilidade de processamento, além de ser bastante acessível, uma vez que apresenta baixo preço de mercado e por ser um material de fonte renovável (MIRANDA, *et al.*, 2017).

No setor biomédico, demonstrou ser biocompatível, uma vez que apresenta baixa rejeição pelo organismo humano, favorecendo a angiogênese e estimulando a adesão celular e formação de matriz extracelular, o que induz a neoformação tecidual (DIAS, *et al.*, 2015). É importante ressaltar que as proteínas presentes no látex podem provocar efeitos adversos como reações alérgicas. Para que os materiais a base de látex possam ser utilizados em aplicações médicas é necessário realizar a desproteïnização do mesmo (BARROS, *et al.*, 2017).

Diversos estudos apontam que o látex, quando aplicado em sistemas *in vivo*, mostra capacidade de acelerar o processo de reparação tecidual dérmica, sendo um bom

substituto dérmico temporário (FLORIANO, *et al.*, 2016) (ROSA, *et al.*, 2019), além de favorecer a osteogênese quando aplicado em lesões ósseas (DICK e SANTOS, 2017). Além das excelentes propriedades intrínsecas do látex, ele também atua como uma barreira física contra agentes infecciosos e microbianos (MIRANDA, *et al.*, 2018).

Rosa e colaboradores (2019), mostram em seu recente levantamento literário, que é possível afirmar, com evidências práticas, que a cicatrização de tecidos é favorecida pelo uso de biomembranas de látex, bem como a reconstituição celular dos tecidos, revascularização e restabelecimento de funções após lesões causadas por queimaduras, inclusive em casos de feridas crônicas causadas por diabetes mellitus. As investigações sobre as possíveis aplicações do látex em sistemas biológicos indicam que sua contribuição vai muito além das aplicações cutâneas já mencionadas, Pinho e colaboradores (2018) utilizaram membranas de látex para cicatrização conjuntival e análise da neoangiogênese em coelhos e constataram que a aplicação das membranas de látex beneficiou a reparação conjuntival.

Cesar e colaboradores (2020) idealizaram uma mistura que combina as propriedades angiogênicas do látex e a biodegradabilidade e bioabsorvidade do Poli (ácido láctico), para oferecer uma alternativa de menor custo e acessível para o setor biomédico. Seus resultados apontam que as membranas sintetizadas são interessantes para aplicações biomédicas, com destaque para aquelas com maior teor de látex, devido a sua homogeneidade e maior resistência mecânica em relação às demais concentrações.

Na pesquisa realizada por Dick e Santos (2017), foi sintetizado um nanocompósito à base de hidroxiapatita e látex para obter um dispositivo biomimético e funcional para aplicações ósseas. Os resultados obtidos foram promissores, uma vez que se obteve boa proliferação de células osteogênicas, o que favoreceu a recuperação óssea, viabilizando a aplicação deste novo dispositivo para aplicações ortopédicas.

Estudos farmacêuticos sobre o látex têm mostrado resultados propícios para seu uso como uma matriz em sistemas de liberação de fármacos. Barros e colaboradores (2016) revelaram a eficácia das membranas de látex na liberação de peptídeos com interesse farmacológico em um estudo utilizando ocitocina. Resultados semelhantes foram obtidos usando membranas de látex contendo diclofenaco para produção de um sistema de liberação transdérmico (BARROS, *et al.*, 2015). Em uma outra pesquisa, Floriano e colaboradores (2018) associam o látex com o analgésico cetoprofeno para

tratamento de tendinite, o fármaco em questão pode provocar reações sistêmicas quando não dosado corretamente. Buscando minimizar esses possíveis eventos adversos, a associação do medicamento na membrana gerou uma taxa de entrega controlada, minimizando os efeitos nocivos de altas doses.

Marcelino e colaboradores (2018) produziram uma membrana à base de látex carregado com fluconazol e estudaram a liberação deste fármaco e sua susceptibilidade à ação antifúngica contra *Candida albicans*. Segundo os autores, a biomembrana foi capaz de liberar o fármaco e inibir o crescimento do fungo, sendo um material com potencial para o tratamento antimicrobiano em aplicações dérmicas. Corroborando com os demais estudos, Krupp e colaboradores (2019) avaliaram os efeitos da membrana de látex associada ao extrato de própolis na cicatrização de feridas em modelos de queimadura realizados *in vivo*. O estudo mostrou que o tratamento com membranas de látex induziu a cicatrização das feridas, favoreceu a produção de colágeno, a angiogênese e a reepitelização do ferimento, de forma a apresentar bons resultados para o tratamento de queimaduras, pois foram capazes de acelerar o processo de reparo tecidual sem a necessidade de inúmeras trocas de curativo. Deste modo, nota-se que o látex é uma alternativa prática e economicamente viável para administração de fármacos de origem naturais e sintéticos.

3.6 ARNICA

A arnica é uma planta pertencente à família das Asteraceae, que por sua vez, é uma das famílias com maior número de espécies entre as angiospermas. Por apresentar um amplo número de variedades, as plantas deste gênero podem ser encontradas em vários locais do mundo. Na América do Norte e Europa, geralmente são encontradas em montanhas, prados, pastagens e em florestas mais abertas (ŠUTOVSKÁ, *et al.*, 2014). No Brasil, espécies deste gênero podem ser encontradas no cerrado brasileiro, ocorrendo principalmente nos estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia (LOEUILLE, *et al.*, 2015).

Essa planta herbácea, é um dos medicamentos fitoterápicos mais populares da medicina complementar, suas raízes, folhas e flores têm sido usadas há milhares de anos para muitos fins de saúde. Atualmente o extrato de suas flores e rizoma são vendidos na forma de pomadas, cremes, géis e comprimidos. A arnica possui uma ampla variedade de

atividades biológicas e terapêuticas que incluem atividades anti-inflamatórias, antinociceptivas, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, imunomoduladoras, inotrópicas, antibióticas, analgésicas, antitumoral, citoprotetoras e regenerativas (KRIPLANI; GUARVE e BAGHAEL, 2017).

A arnica apresenta mais de cento e cinquenta substâncias terapêuticas em sua constituição, contudo, existem poucos estudos sobre seus mecanismos de ação (KRIPLANI; GUARVE e BAGHAEL, 2017). Em geral, os compostos mais ativos farmacologicamente são as lactonas sesquiterpênicas, derivados de timol, flavonoides, polissacarídeos ácidos e seus glicoconjugados (MARZOTTO; *et al.*, 2016). Seus efeitos anti-inflamatórios se devem a presença dos grupos lactonas sesquiterpênicas do tipo helenalina, que possuem a habilidade de inibir a ativação dos fatores de necrose tumoral alfa e interleucina-1-beta, que por sua vez são fatores pró-inflamatórios (IANNITTI; *et al.*, 2016).

As raízes da arnica contêm uma quantidade relativamente elevada de derivados de timol, que são responsáveis pela capacidade antifúngica e antibacteriana (ŠUTOVSKÁ, *et al.*, 2014). As boas propriedades cicatrizantes apresentadas pela arnica e por seus derivados estão relacionadas com a presença de flavonoides, principalmente dos compostos quercitrina e afzelina, que estão relacionados com as propriedades antioxidantes (BARROS, *et al.*, 2016). Já as propriedades imunomoduladoras estão relacionadas a fração de polissacarídeos presentes, que ativa os macrófagos e conseqüentemente aumenta o processo de fagocitose (KRIPLANI; GUARVE e BAGHAEL, 2017). Existem, também, diferentes metabólitos secundários bioativos (oligossacarídeos, oligofruetosídeos, cumarinas, taninos, carotenóides, etc) que contribuem para todas as propriedades medicinais da planta (KALLIANTAS, *et al.*, 2020).

O extrato de arnica foi usado externamente para o tratamento de várias doenças reumáticas, como osteoartrite, artrite reumatoide e fibromialgia incluindo dor, rigidez e inchaços associados a traumas, contusões e entorses (ŠUTOVSKÁ, *et al.*, 2014). Esse tratamento alternativo além de contribuir para diminuição das dores e para o tratamento da enfermidade, tem o benefício de não apresentar os efeitos adversos característicos dos medicamentos convencionais. Foi estudado o efeito analgésico e anti-inflamatório dos glicoconjugados que são ricos em compostos fenólicos, o que contribui para o tratamento

de inflamações agudas de tendões e articulações (CAPELARI-OLIVEIRA; *et al.*, 2011). O extrato de arnica, também tem sido usado para miocardite, insuficiência cardíaca, arteriosclerose, angina pectoris e demonstrou redução significativa nos edemas pós-operatórios e hematomas (CASTRO, *et al.*, 2012).

Como já mencionado, a arnica pode ser considerada uma boa alternativa para primeiros socorros e desconfortos articulares e musculares, por esse motivo, diversos medicamentos contêm essa erva como principal ingrediente de suas formulações. Pesquisas apontam a eficácia do tratamento com pomadas de arnica no alívio no processo inflamatório e nos danos oxidativos induzidos pela radiação UVB (KALLIANTAS, *et al.*, 2020), além disso, os derivados da arnica contribuem para o tratamento de feridas de pele e demais inflamações cutâneas de modo a colaborar com o processo reparatório do ferimento (ŠUTOVSKÁ, *et al.*, 2014).

Deste modo, este estudo envolve o desenvolvimento de biomembranas a base de látex incorporado com as fibras de arnica para liberação controlada de seus princípios ativos, visando sua aplicação sobre queimaduras de forma a garantir que tanto as propriedades angiogênicas e regenerativas do látex quanto às propriedades anti-inflamatórias e analgésicas da arnica contribuam de maneira efetiva no tratamento de queimaduras.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

O látex utilizado neste trabalho foi cedido pela empresa de Artefatos de Látex São Roque Ltda (Brasil).

As fibras de arnica foram obtida pela farmácia de manipulação Phito fórmulas.

Solventes: ácido clorídrico – PA (Sigma Aldrich), Clorofórmio – PA (synth), metanol – PA (Synth) e metanol – PA (Synth), Pastilhas de Fosfato Salino (PBS) (Sigma Aldrich).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 PURIFICAÇÃO DO LÁTEX

Inicialmente, o látex recebido apresentava pH entre 10,0 – 11,0, por isso, o material foi neutralizado utilizando uma solução de HCl 1M a um intervalo de pH de 7,0-7,5. O látex foi purificado pelo método de coagulação, usando clorofórmio como solvente e metanol como não solvente (1:2), de acordo com TSUNEIZUMI, *et al.*, 2010. Após a precipitação, o material foi submetido à secagem em estufa à vácuo (Fanem modelo Orion 515) à 40°C por 24 horas. Esse processo foi repetido duas vezes a fim de garantir a purificação do material.

4.2.2 OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS

As membranas foram preparadas a partir do látex purificado. Inicialmente 4,5g de látex foi solubilizado em 30 mL de clorofórmio na concentração de 15% (m/v). Em seguida, a solução foi agitada utilizando um agitador magnético até a completa solubilização do conteúdo de látex. Após essa etapa o material foi vertido em um molde de vidro de 20 cm de comprimento por 8 cm de largura, as membranas foram secas à temperatura ambiente em cuba de vidro até a total evaporação do solvente (~48 horas). As membranas contendo arnica seguiram o mesmo procedimento adotado para a membrana de látex, porém foram obtidas duas membranas, respectivamente, adicionando-se 5 e 10% de fibras de arnica em relação a massa de látex.

4.2.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

Foram obtidos espectros de absorção no infravermelho, com transformada de Fourier, em modo ATR para a amostra de látex bruto (sem purificação), para a membrana de látex purificada, para as membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica e para a fibras de arnica, utilizando o equipamento Spectrum 65 (Perkin Elmer). Os espectros de absorção foram analisados na faixa de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans.

4.2.4 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A estabilidade térmica das membranas e das fibras de arnica foi avaliada por análise termogravimétrica utilizando o equipamento TA Instruments modelo Discovery TGA 55. Amostras das membranas e das fibras de arnica com massa de aproximadamente 10 mg foram submetidas ao aquecimento na faixa de 25 a 700°C , à uma razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera de nitrogênio.

4.2.5 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

As análises de calorimetria exploratória diferencial foram obtidas utilizando o equipamento TA Instruments modelo Discovery DSC 25. Amostras das membranas e das fibras de arnica com massa de aproximadamente 7 mg foram seladas hermeticamente em porta amostras de alumínio. Primeiramente as amostras foram aquecidas de 25°C até 150°C , mantendo uma isoterma de 5 minutos. Em seguida, as amostras foram resfriadas até -90°C , seguido de uma isoterma de 5 minutos. Por fim, submeteu-se às amostras a um segundo aquecimento até 200°C . Todos os eventos ocorreram a uma razão de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera de nitrogênio.

4.2.6 ENSAIO MECÂNICO

As propriedades mecânicas das membranas obtidas foram avaliadas pelo teste de tensão/ deformação. Através das medidas da tensão e alongamento até a ruptura, foi possível averiguar a influência das fibras de arnica na matriz polimérica de látex. Para

realização das medidas foi utilizado um equipamento universal de ensaios mecânicos da marca Instron modelo EMIC 23-30 com célula de carga de 50 kgf, seguindo a norma ASTM D412 (44mm de comprimento x 15mm de largura x 0,5mm de espessura). O ensaio foi realizado em triplicata à temperatura ambiente e com taxa de deslocamento de garras de 500 mm/ min, como estabelecido pela norma.

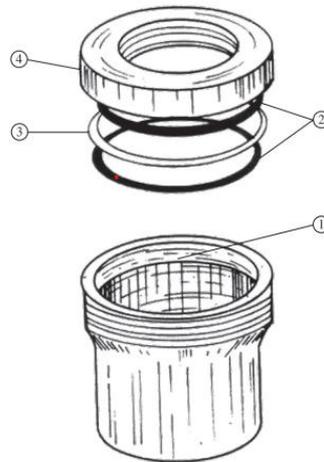
4.2.7 POTENCIAL ZETA

As medições do potencial zeta foram realizadas por meio de um analisador eletrocinético (SurPASS, Anton Paar). O potencial zeta de superfície foi determinado em função do pH em uma solução eletrolítica de KCl 0,001 M variando o pH da solução por adição de HCl 0,05 M ou NaOH 0,05 M através da unidade de titulação automática do instrumento. Para as membranas de látex, látex com 5% arnica e látex com 10% de arnica, as medições foram realizadas usando um porta amostra de superfície plana com gap ajustável. Um par de cada amostra com tamanho de 20 mm × 10 mm foi montado no porta amostra usando fita adesiva dupla-face. A distância entre as superfícies da amostra foi ajustada para $100 \pm 10 \mu\text{m}$. A amostra de arnica foi analisada utilizando um porta amostra cilíndrico e cobertos em ambas as extremidades com um filtro de tamanho de poros de 20 μm . Antes das medições, as amostras sólidas foram equilibradas em pH neutro com várias etapas de enxágue e, em seguida, o pH foi ajustado para 3, onde foi realizada uma varredura de pH com variação de 0,3 por ciclo até atingir o pH 9. O pH e a condutividade do eletrólito foi monitorado por meio de sondas de pH e condutividade, e todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente.

4.2.8 PERMEAÇÃO DE VAPOR DE ÁGUA

Os testes de permeação de vapor de água foram realizados pelo sistema de pesagem utilizando-se um copo de Payne, Figura 4, no qual é colocado água destilada sob o filme polimérico, sem que haja contato entre eles, e por fim o copo é vedado com anéis de borracha e de metal. Para os testes foram utilizadas duas amostras de cada uma das membranas.

Figura 4: Copo de Payne. Os números no desenho indicam: 1) – Espaço interno a rosca para colocação do filme polimérico; 2) – Anéis de vedação de borracha; 3) – Anel de alumínio; 4) – Tampa.



Fonte: (MORELLI; RUVOLLO FILHO, 2010).

Após a montagem, o conjunto foi colocado dentro de um dessecador na presença de pentóxido de fósforo (P_2O_5), um agente dessecante, com a finalidade de gerar um gradiente de pressão, permitindo a permeação do vapor de água através do filme polimérico. O dessecador foi colocado dentro de uma estufa sob temperatura de $35^\circ C$ ($\pm 2^\circ C$) com o objetivo de manter sua temperatura interna constante. Inicialmente os copos de Payne eram pesados a cada 3 horas e depois a cada 24 horas uma vez até o tempo de 140 horas. A variação da massa é diretamente proporcional à massa de água que passa através do filme polimérico.

Para o cálculo do coeficiente de permeabilidade (PH), primeiramente calculou-se o valor de $(\Delta m/\Delta t)$ que é o coeficiente angular do gráfico, variação de massa (Δm) versus tempo (h). Obtido isso, calculou-se o fluxo (J), equação 3, que foi determinado pela variação temporal da massa corrigida pela área do filme exposta e com uso da primeira lei de Fick que é a proporcionalidade entre o fluxo de matéria e o gradiente de concentração (MORELLI; RUVOLLO FILHO, 2010).

$$J = \frac{\Delta m}{\Delta t} \cdot \frac{1}{A} \quad Eq. 1$$

Onde A = área da matriz polimérica

Deste modo, o coeficiente de permeabilidade (PH) foi calculado pela equação 4.

$$P_H = \frac{J.L}{\Delta P_V(T)} \quad Eq. 2$$

Onde $\Delta P_V(T)$ = diferença de pressão de vapor numa dada temperatura; L = espessura da amostra; T = 35°C; $\Delta PV = 31,8$ mmHg.

4.2.9 GRAU DE INTUMESCIMENTO

Os testes de intumescimento foram realizados em triplicatas para as membranas de látex, látex com 5% de arnica e látex com 10% de arnica. As amostras foram pesadas e colocadas em tubo Falcon contendo 10mL de solução tampão fosfato-salino (PBS) a 0,01M e mantidas em banho termostático a uma temperatura de 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). As medições foram realizadas no intervalo de 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, mantidas, posteriormente, as pesagens de hora em hora até o tempo de 4 horas e depois a cada 24 horas. Para a pesagem, as amostras eram retiradas do tubo Falcon e secas com papel toalha a fim de remover o excesso de água da sua superfície. A quantidade de água absorvida, expressa em porcentagem, foi determinada pela equação 3 (ALVES *et al.*, 2016).

$$\text{Intumescimento (\%)} = \left[\frac{M_s - M_d}{M_d} \right] \cdot 100 \quad Eq. 3$$

Onde: M_s = massa da amostra intumescida; M_d = massa da amostra seca.

4.2.10 PERFIL DE LIBERAÇÃO

O Perfil de Liberação *in vitro* das membranas contendo fibras de arnica é dado pela porcentagem de fármaco lixiviado no meio de liberação. O ensaio foi realizado em triplicata usando amostras das membranas (área de 1cm²) com 5 e 10% de fibras de arnica, que foram imersas em tubos Falcon com 6 ml de solução tampão fosfato-salino (PBS) 0,01M e mantidas a 37°C em banho termostático. Em seguida, as alíquotas de 3ml foram coletadas inicialmente após 1, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 minutos, seguidas por coletas em 2, 3, 4 e 5 horas. Após essa etapa inicial, as alíquotas foram colhidas a cada 24 horas até completar 380 horas de ensaio. A quantidade retirada em cada alíquota foi repostada com solução de PBS após cada coleta.

As amostras coletadas foram analisadas em um espectrofotômetro da marca Femto modelo 800 XI, no comprimento de onda de 274 nm. A partir da absorbância obtida para cada amostra, calculou-se a porcentagem de arnica liberada em cada intervalo de tempo. Para este cálculo, utilizou-se a curva de calibração obtida através da diluição seriada de uma solução a 10% de fibras de arnica.

4.2.11 ENSAIO *IN VIVO*

Foram utilizados 40 ratos *Wistar* de ambos os sexos e com idade aproximada de 3 meses, pesando 300g em média, provenientes do Biotério da FCMS/PUC-SP sob aprovação do comitê de ética CEUA no. 2018/97. Os animais foram divididos em 4 grupos de acordo com o tratamento aplicado: um grupo sem membrana Látex, apenas com a lesão (controle negativo); um grupo com membrana de Látex (controle positivo), e dois grupos de membrana de Látex contendo 5% e 10% de Arnica (LA5, LA10). O grupo controle negativo foi composto por 4 animais, enquanto os demais grupos, controle positivo e tratamento 1 e 2, foram compostos por 10 animais. Os tempos de implantes foram de 7 e 14 dias após a intervenção cirúrgica inicial, cada um abrangendo metade dos animais de cada grupo. Este número de animais é necessário para que a avaliação do material seja válida, a fim de verificar a reprodutibilidade dos ensaios.

O procedimento cirúrgico é descrito, primeiramente através da realização de anestesia dos ratos e bloqueio neuromuscular. A sedação foi realizada pela administração intramuscular, na região glútea dos animais, de uma solução de cloridrato de cetamina (90mg/Kg) e cloridrato de xilazina (5mg/Kg). Após a anestesia, os animais permaneceram em repouso, em seguida foi realizada a retirada dos pelos da região dorso-cervical desses animais. A seguir, foi realizada uma queimadura de segundo grau em uma área quadrangular de aproximadamente 4,0 cm² (2 cm x 2 cm) sobre a porção de pele previamente descoberta. Esse procedimento foi realizado de acordo com o método de escaldamento descrito por Walker e Manson (1968), expondo o animal em contato com água a 70° C, por 10 segundos. No grupo tratamento 1, as feridas foram recobertas pela membrana de Látex com 5% de Arnica e no tratamento 2, as feridas foram recobertas pela membrana de Látex com 10% de Arnica. O grupo controle negativo permaneceu com a ferida exposta e sem curativo, enquanto que o grupo controle positivo teve as feridas recobertas com a membrana de Látex. Os ratos foram mantidos em observação até o fim

do efeito da anestesia. Em seguida, os animais permaneceram no Biotério da PUC-SP, recebendo ração comercial e água durante todo o período do experimento e mantidos em gaiolas individuais a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Os animais foram sacrificados 7 e 14 dias após a intervenção cirúrgica inicial por inalação de Halotano 100% em câmara fechada. Após constatação da morte, as áreas de tecido em regeneração foram dissecadas e os fragmentos de pele (uma área de 2x2cm) foram mantidos em formol 10% para realização dos procedimentos histopatológicos.

Processamento do Material

As amostras foram preparadas para análise histológica de acordo com as técnicas utilizadas para Microscopia Convencional, utilizando-se parafina como meio de inclusão. Inicialmente, as secções de pele removidas foram desidratadas em banho de etanol 70% por 24 horas. Em seguida, as amostras foram mantidas em etanol 80% por 30 minutos, sendo levadas para mais um banho de etanol 95% por 30 minutos e por fim, três banhos em etanol 100%, cada um deles com duração de 30 minutos. A segunda etapa de processamento, que compreende a Diafanização das amostras, foi realizada em etanol 100% com suplementação de xilol, seguindo a proporção de 1:1 por 30 minutos, em seguida, as amostras foram mantidas por 60 minutos em xilol puro. Após essa etapa, as amostras foram embebidas em xilol mais parafina, na proporção de 1:1 e mantidas em estufa por 30 a 60°C. Na sequência, as amostras foram embebidas em parafina pura em dois tempos de 90 minutos. Por fim, as amostras foram incluídas em parafina, formando o bloco histológico.

Preparação das lâminas

Os cortes histológicos foram realizados em micrótomo com a espessura de $3\mu\text{m}$. As lâminas com o material histológico foram colocadas em estufa a 40°C para que o excesso de parafina fosse eliminado e corado. Para coloração das lâminas histológicas, realizou-se, inicialmente, a desparafinização dos cortes, realizando duas passagens de 20 minutos em xilol. Em seguida, os cortes foram mergulhados, em sequência, em etanol 100% por 5 minutos, etanol 95% por 5 minutos, etanol 80% e 5 minutos, etanol 70% por 5 minutos, por fim, os cortes foram banhados várias vezes em água destilada. Para corar os cortes, foram utilizados 2 corantes: a hematoxilina, um corante básico, que cora os compostos aniônicos (ácidos nucleicos), apresentando uma tonalidade azul arroxeado, e

a eosina, um corante ácido que marca os compostos catiônicos (a maioria das proteínas, glicoproteínas ácidas) em tom róseo-avermelhado. As lâminas foram mergulhadas em hematoxilina por 10 minutos, lavadas em água destilada por 5 minutos, e mergulhadas em eosina aquosa a 0.5% por 10 minutos, em seguida, foram lavadas em água destilada.

As lâminas com os cortes histológicos foram desidratadas utilizando etanol 95% (passagem rápida), em seguida, as lâminas foram mergulhadas em etanol 100% por 5 minutos. Essa última etapa foi realizada três vezes. Por fim, as lâminas foram diafanizadas em xilol (três passagens rápidas). Após essa etapa, realizou-se a montagem permanente das lâminas. Os cortes foram fixados entre lâmina e lamínula com meio de montagem Entellan (Merck).

Avaliação Histopatológica

Nos exames histológicos das secções dos tecidos em regeneração foram avaliados quanto aos seguintes elementos:

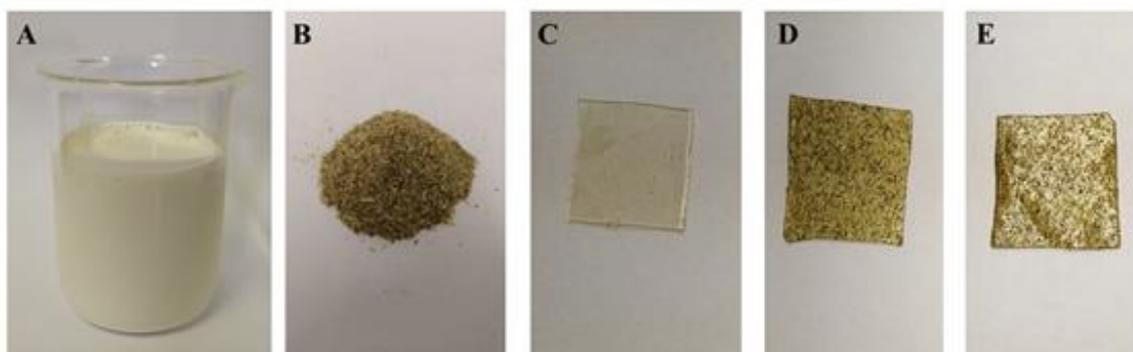
- 1) Características da resposta inflamatória aguda e necrose tecidual;
- 2) Integração entre as membranas de látex, látex contendo arnica e o ferimento;
- 3) Tempo de reparação, o qual inclui a restituição dos componentes da pele, como a epiderme, derme e seus anexos.
- 4) Comparação entre os itens 1, 2 e 3 entre os grupos tratamento e os grupos controle positivo e negativo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS

Conforme descrito no item 4.2.1, as membranas de látex purificado e as membranas de látex contendo diferentes concentrações de arnica foram obtidas por evaporação do solvente. A Figura 5 mostra, macroscopicamente, o látex como recebido (A), trata-se de um líquido leitoso e viscoso. As fibras de arnica como recebida (B). A membrana de látex é opaca e apresenta flexibilidade e elasticidade característica dos elastômeros (C), já as membranas contendo 5% (D) e 10% (E) de arnica apresentam a coloração característica da arnica, boa flexibilidade e elasticidade, o que facilita sua manipulação.

Figura 5: Imagem representativa das matérias-primas e das membranas obtidas: A) Látex Bruto sem correção de pH; B) Fibras de arnica; C) Membrana de látex purificado; D) Membrana de látex contendo 5% de arnica e E) Membrana de látex contendo 10% de arnica.

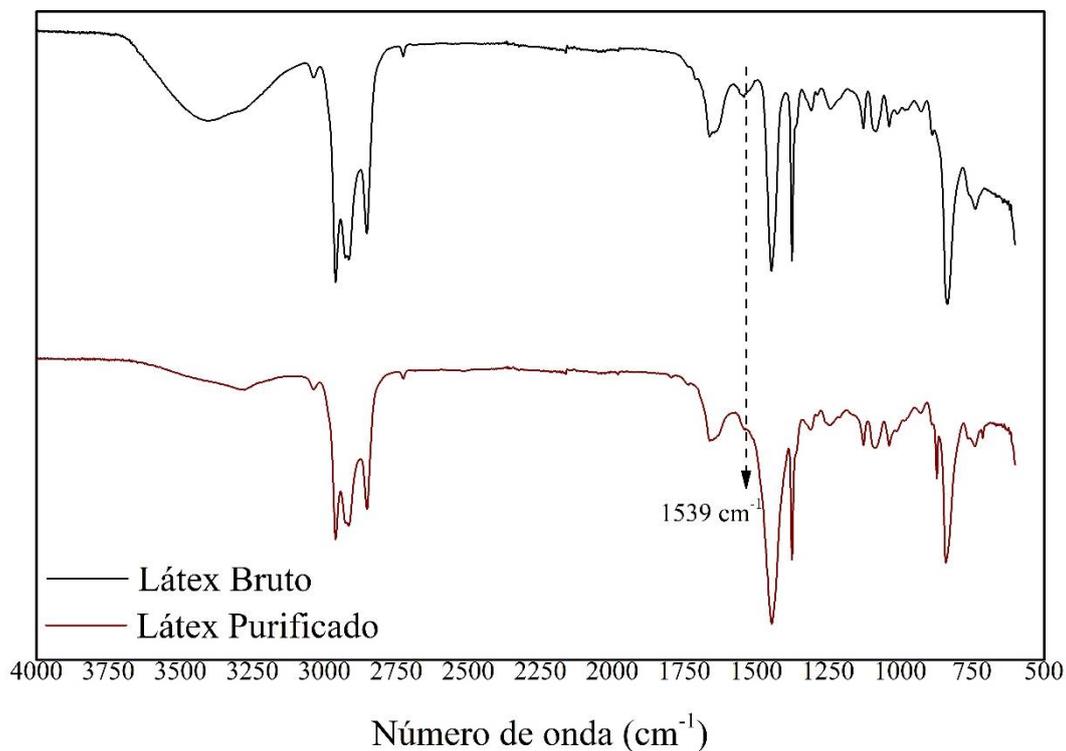


Fonte: Autoria própria

5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho, é uma ferramenta relevante para a identificação de grupos químicos funcionais e pode ser utilizada para identificar mudanças provocadas por agentes químicos e físicos em uma determinada amostra. Os espectros de FTIR obtidos para o látex bruto com o pH corrigido não purificado e látex purificado estão apresentados na Figura 6.

Figura 6: Espectros de FTIR das amostras de Látex Bruto com o pH corrigido não purificado e Látex Purificado



Fonte: Autoria própria

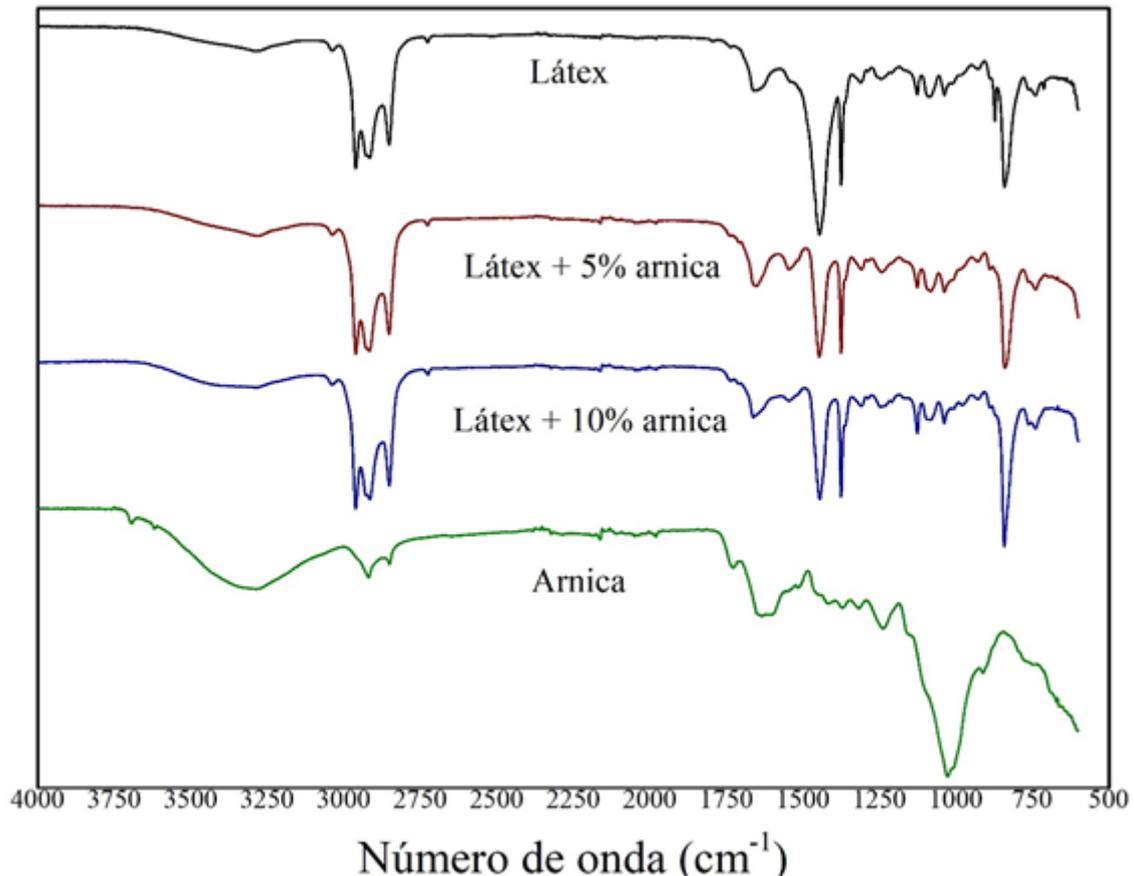
A partir da análise, previamente conhecida, da estrutura molecular do látex, pode-se observar que os dois espectros, tanto do látex sem purificação quanto do látex purificado apresentam vibrações em 2959 cm^{-1} que por sua vez estão relacionadas ao estiramento assimétrico das ligações C-H do grupo CH_3 , em 2916 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} observa-se o estiramento assimétrico das ligações C-H dos grupos $-\text{CH}_2-$ acompanhado pelo estiramento simétrico das ligações C-H do grupo $-\text{CH}_2-$, respectivamente (NAKANISHI, *et al.*, 2018). Na região espectral de 1660 cm^{-1} , observa-se uma banda referente ao estiramento da insaturação do grupo C=C (PONGSATHIT e PATTAMAPROM, 2018). Também pode-se observar uma vibração na região de 1447 cm^{-1} , que corresponde ao estiramento angular da ligação C-H do grupo $-\text{CH}_2-$ e em 1374 cm^{-1} referente ao estiramento angular das ligações C-H do grupo CH_3 (AGREBI, *et al.*, 2018). Por fim, observa-se, um pico em 838 cm^{-1} , relacionado a vibração de flexão fora do plano do grupo tri substituído $=\text{CH}$, grupo este que caracteriza o poliisopreno (CIFRIADI; CHALID e PUSPITASARI, 2017).

Contudo, observa-se também, que existem algumas diferenças entre espectro obtido para a amostra de látex sem purificação e a amostra de látex purificado. Na amostra de látex sem purificação pode-se observar vibrações de compostos não isoprenicos. Na região entre 3500 e 3200 cm^{-1} , observa-se a presença de uma banda larga e intensa associada às ligações O-H e N-H dos grupos hidroxila e amina, respectivamente (MEKONNEN; AH-LEUNG; HOJABR; BERRY, 2019) (TAHIR; MISRAN, 2019). A presença desses grupos vibracionais indica a presença de proteínas e fosfolipídios presentes no material, que por sua vez, advém da camada que reveste a porção polimérica presente no citoplasma das células laticíferas (BOTTIER,2020) (NAWAMAWAT, *et al*; 2011). Observa-se, também, um pico em 1539 cm^{-1} referente a vibração das ligações C-N do grupo N-C=O da amida II (CIFRIADI; CHALID; PUSPITASARI, 2017). Essa vibração é característica das ligações peptídicas e estão ligadas ao conteúdo proteico presente no látex em natura (ROLERE; LIENGPAYOON; VAYSSE; SAINTE-BEUVE; BONFILS, 2015).

No espectro obtido para a amostra de látex purificado, pode-se observar que há considerável redução do pico alargado antes presente na região de 3500 a 3200 cm^{-1} e o desaparecimento do pico antes presente na região de 1539 cm^{-1} , o que garante que a maior parte das proteínas e os fosfolipídios foram parcialmente removidas, evidenciando, assim, que o processo de purificação do látex foi eficiente.

Uma vez atingida a purificação do látex, as membranas contendo 5 e 10% de fibras em pó de arnica foram obtidas e analisadas por FTIR. Os espectros obtidos para as amostras das membranas contendo 5 e 10% de arnica e das fibras em pó de arnica estão apresentados na Figura 7.

Figura 7: Espectro de FTIR para as membranas de látex, membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica e das fibras de arnica



Fonte: Autoria própria

No espectro de FTIR relacionado a arnica pode-se observar em 3291 cm^{-1} uma banda alargada, referente a sobreposição das ligações O-H pertencente aos grupos álcool e fenol, como também, do estiramento das ligações N-H do grupo amina (KALLIANTAS, *et al.*, 2020). Em 1730 cm^{-1} observa-se o estiramento das ligações C=O, referidas aos grupos aldeído e carbonil, já em 1640 cm^{-1} encontra-se uma sobreposição das vibrações das ligações C=C e C=O, relativas aos grupos acrilato e amida, respectivamente (PURKAIT e SHARMA, 2015). As vibrações em 1241 cm^{-1} e 1026 cm^{-1} correspondem a ligação C-O dos grupos éter e éster, e a vibração estrutural dos grupos aromáticos (PURKAIT e SHARMA, 2015), a vibração em 916 cm^{-1} está relacionada a estiramento angular da ligação =CH dos grupos alceno (KALLIANTAS, *et al.*, 2020).

Quanto ao espectro referente as fibras de arnica, é importante salientar que este fitoterápico contém diversas estruturas complexas, incluindo as lactonas sesquiterpênicas ricas em helenalina e seus derivados, que, por sua vez, apresentam estruturas aromáticas,

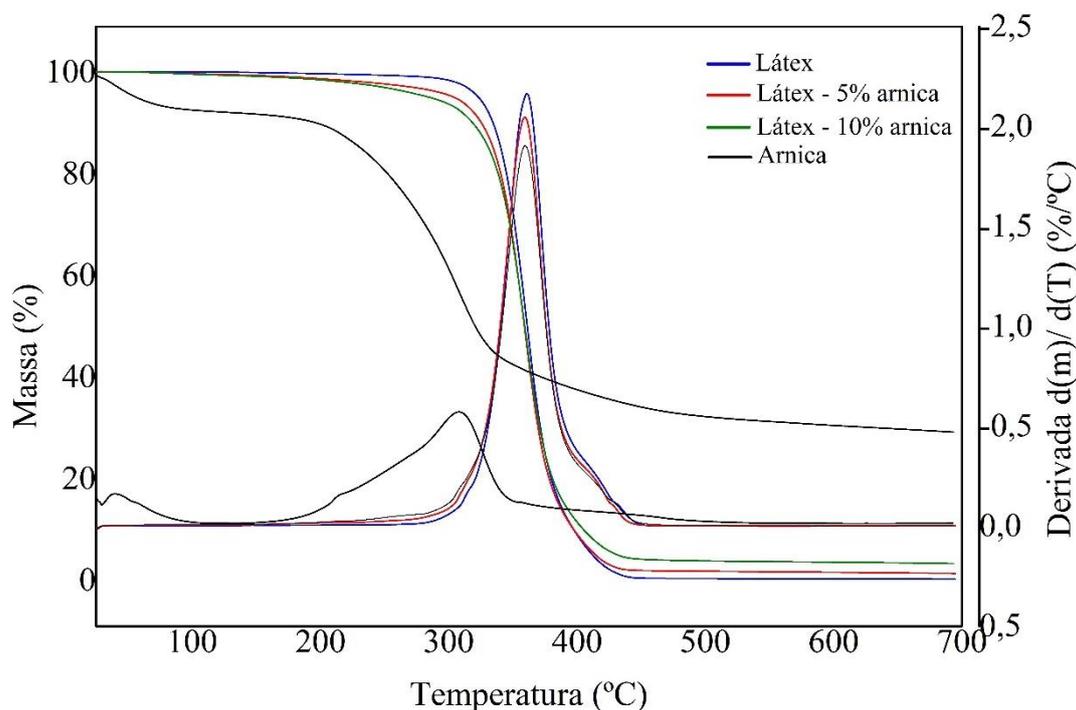
derivados de acrilato, cetona, aminas, amidas, fenóis e outros grupos químicos presentes em sua composição estrutural (ALFREDO, *et al.*, 2009).

Analisando os espectros referentes às membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica, pode-se observar que os espectros formados, para essas duas formulações, são claramente semelhantes ao espectro da membrana de látex, não havendo nenhum surgimento, desaparecimento ou deslocamento de banda. Por esse motivo, uma hipótese que pode ser formada é com relação a polaridade dos dois constituintes. O látex apresenta baixa polaridade, de modo a ter boa afinidade com compostos apolares, enquanto que as fibras de arnica possuem características polares (YANTABOOT e MORNSAKCHAI,2016), o que resulta em uma fraca interação entre os dois materiais. Além disso, o látex e as fibras de arnica apresentam muitas bandas nas mesmas regiões espectrais, resultando em uma sobreposição dos espectros obtidos.

5.3 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

Com o objetivo de explorar os efeitos da incorporação de arnica no látex, foi realizada a análise termogravimétrica dos materiais constituintes e das membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica. As curvas da porcentagem de perda de massa obtidas são apresentadas na Figura 8.

Figura 8: Termograma dos compostos constituintes e das membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica.



Fonte: Autoria própria

Para a curva correspondente a membrana de látex, pode-se observar que a degradação térmica apresenta um único estágio de decomposição. O processo de degradação do látex inicia-se em 338°C e finaliza-se em 385°C, com temperatura de degradação máxima em 360°C. Ao final do processo de degradação, o material não apresentou formação de resíduo, de modo a se obter a degradação completa da membrana de látex.

Conforme mostrado na Figura 8, a decomposição térmica das fibras de arnica ocorre em duas etapas. A primeira etapa tem início em 34°C e término do processo em 65°C, essa primeira perda de massa está relacionada a umidade presente na amostra. A segunda etapa de perda de massa tem início em 228°C e finaliza em 342°C, apresentando temperatura máxima de degradação em 307°C. O resultado obtido para a segunda etapa de degradação térmica das fibras de arnica pode estar associado a decomposição da hemicelulose e celulose presente nas fibras de arnica (ASIM, 2020). Ao final da análise, obteve-se uma porção residual de aproximadamente 29%, que por sua vez, pode estar

relacionado com a porção de lignina não carbonizada devido a atmosfera inerte utilizada durante o ensaio termogravimétrico.

A curva relativa à membrana de látex com 5% de arnica apresentou uma única etapa de decomposição térmica, iniciando em 336°C e finalizando em 382°C, com temperatura máxima de degradação em 358°C e ao final da análise, obteve-se aproximadamente 1,3% de resíduo. Já para membrana de látex com 10% de arnica, observou-se que este também apresenta uma única etapa de degradação, com início em 334°C e término em 383°C, apresenta temperatura máxima de degradação em 359°C e ao final do processo, obteve-se aproximadamente 3,5% de resíduo.

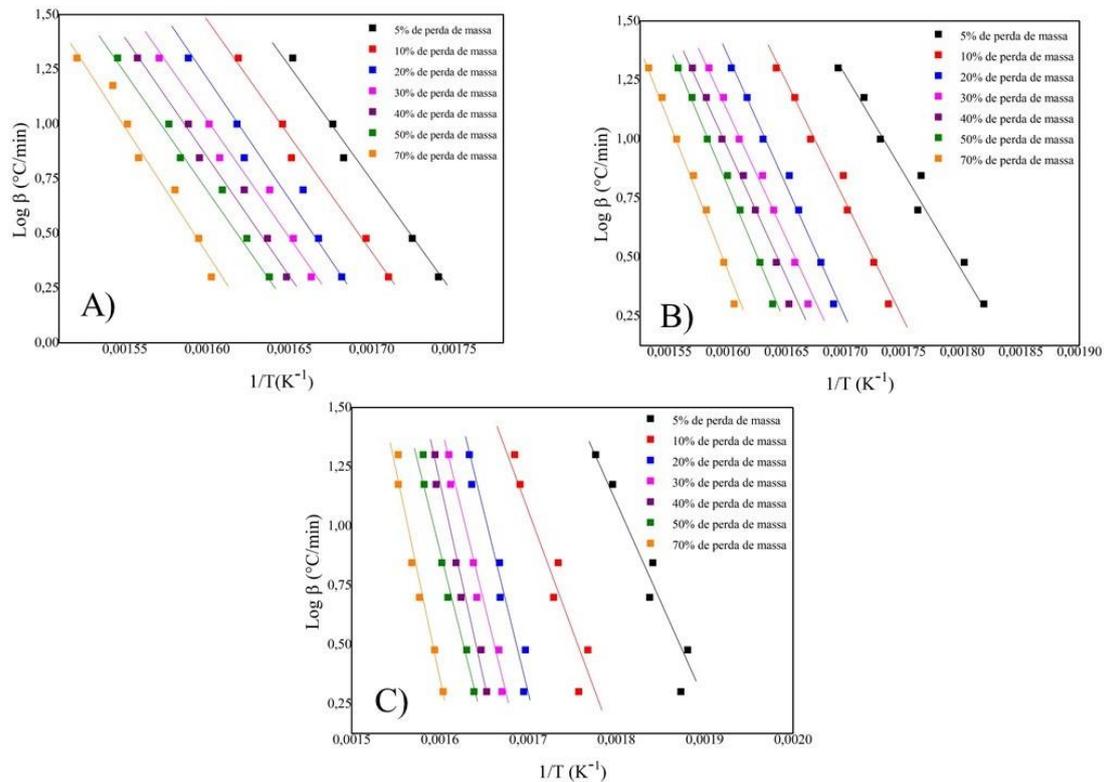
Analisando todas as curvas obtidas, é possível observar que a incorporação das fibras de arnica não provocou, de acordo com os valores das T_{onset} , nenhuma mudança na estabilidade térmica do látex. Assim, seria possível supor que não há uma interação química entre os compostos, o que corrobora com os resultados apresentado pelas análises de FTIR, como já mencionado, devido à diferença de polaridade existente entre o látex e as fibras de arnica.

Através da análise de TG foi possível calcular a energia de ativação a uma determinada conversão (perda de massa). Este cálculo foi realizado a partir do coeficiente angular das retas obtidas em gráficos de $\ln \beta$ em função $1/T$, conforme a equação 4. Para isso, foi utilizado para o cálculo o método de Flynn e Wall, o qual se baseia na premissa de que para um determinado valor de perda de massa, o mecanismo de reação é o mesmo, independente da temperatura em que o processo ocorre. Por isso, é necessário determinar a temperatura em que se verifica essa porcentagem de perda de massa utilizando diferentes razões de aquecimento.

$$Ea = - \frac{R}{b} \left(\frac{\Delta(\log \beta)}{\Delta(1/T)} \right) \quad \text{Eq. 4}$$

Onde: R = constante dos gases (8,314 J/mol.K); b = aproximação derivativa (0,457 K⁻¹) e $d(\ln \beta)/d(\ln(1/T))$ = coeficiente angular da curva do gráfico logaritmo da taxa de aquecimento em função de $1/T$ (K⁻¹) (Standard Test Method for Decomposition Kinetics by Thermogravimetry (ASTM E1641-07)).

Figura 9: Curva de $\ln \beta$ em função de $1/T$ para o látex purificado (A), látex com 5% de arnica (B) e látex com 10% de arnica (C).



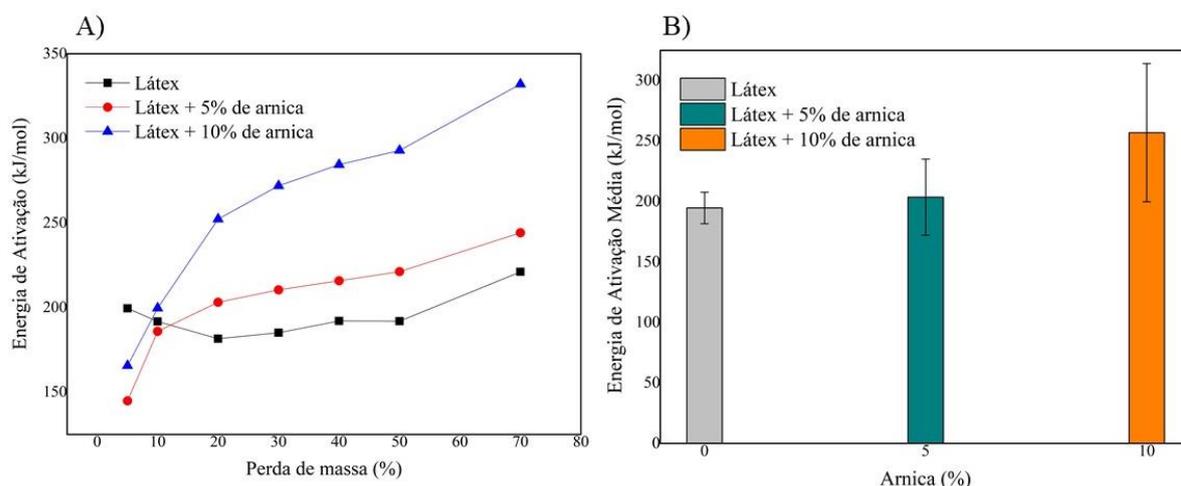
Fonte: Autoria própria

É possível observar, na Figura 10 (A), que os valores de E_a aumentam com o aumento da porcentagem de degradação térmica para as amostras com 5 e 10% de arnica. Isso sugere que, com o avanço do processo de degradação, a presença da arnica dificulta este processo. Por outro lado, os valores de E_a , da amostra de látex purificado, praticamente não variam com o processo de degradação, mostrando uma tendência de estabilidade e que não há resistência para que o mesmo aconteça. Portanto, isso sugere que o processo de degradação, para a amostra de látex purificado, acontece sem restrição.

A Figura 10 (B) ilustra a variação da energia de ativação média em função da concentração de arnica. Este valor médio da E_a representa uma série de etapas elementares em que cada etapa possui os seus próprios parâmetros cinéticos. De acordo com a análise ANOVA, foi possível observar que houve diferença estatística entre os valores de E_a para amostras analisadas. Neste caso, a amostra com 10% de arnica foi a que apresentou o maior valor de E_a , seguida da amostra com 5% de arnica. A amostra de látex foi a que apresentou o menor valor. Assim, é possível perceber que a presença da

arnica dificulta o processo de degradação do látex, o qual envolve, usualmente, reações em cadeia.

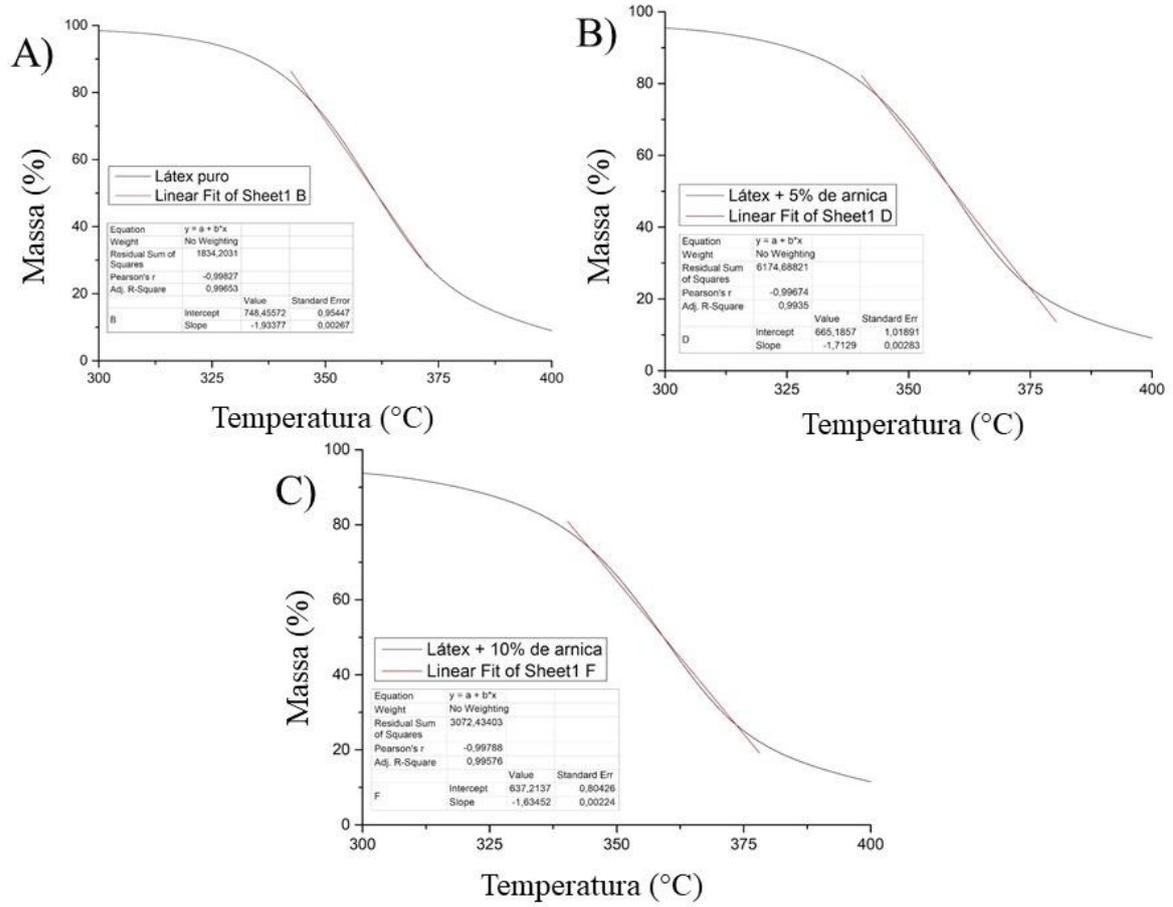
Figura 10: Energia de Ativação (E_a) em função da porcentagem de degradação térmica das amostras (A) e variação da energia de ativação média em função da concentração de arnica (B).



Fonte: Autoria própria

A Figura 11 ilustra os termogramas das amostras na região entre 300°C a 400°C. Esta análise foi realizada, pois apesar das amostras com arnica apresentarem maior valor de E_a do que a amostra de látex purificado, indicando, assim, que a carga vegetal dificulta o processo de degradação da matriz polimérica, não foi possível observar na Figura 8 um aumento na estabilidade térmica das amostras com arnica em relação à membrana de látex. Entretanto, quando se analisa a taxa de degradação, obtida pelo valor do coeficiente angular da reta tangente à curva de TG, Figura 11, a amostra de látex + 10% de arnica é a que apresenta a menor inclinação (coef. angular = $-1,634 \text{ \%}/^\circ\text{C}$) quando comparado às amostras de látex + 5% de arnica (coef. angular = $-1,713 \text{ \%}/^\circ\text{C}$) e de látex purificado (coef. angular = $-1,934 \text{ \%}/^\circ\text{C}$). Isso mostra que a adição de arnica reduz/dificulta a taxa de degradação do látex, corroborando com a análise de E_a , feita anteriormente, na qual observa-se que a presença de arnica dificulta o processo de degradação do látex. Apesar da redução da taxa de degradação, observa-se que não houve melhoria significativa na estabilidade térmica do látex. Portanto, isso corrobora com as análises, apresentadas anteriormente, de que o sistema apresenta baixa interação entre as fibras e a matriz polimérica.

Figura 11: Termogramas das amostras na região entre 300°C a 400°C. Látex (A), Látex + 5% Arnica (B) e Látex + 10% Arnica (C).

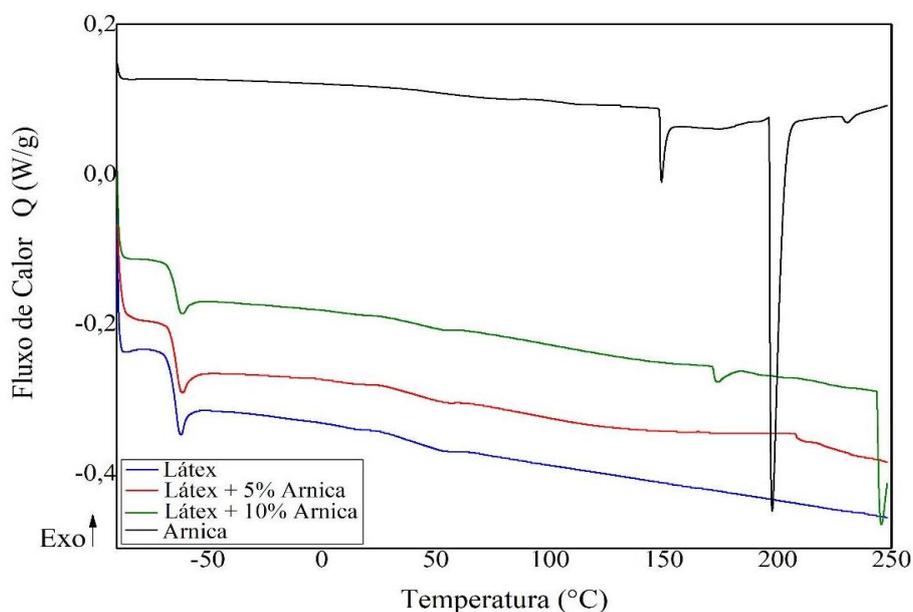


Fonte: Aatoria própria

5.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A fim de determinar as propriedades térmicas tais como as temperaturas de transição vítrea, de cristalização, fusão, foram realizados ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para os materiais constituintes e para as membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica. As curvas de DSC obtidas estão apresentadas na Figura 12.

Figura 12: Curvas de DSC dos compostos constituintes e das membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica.



Fonte: Autoria própria

Na curva de DSC referente a membrana de látex, pode-se observar na região próxima a -68°C uma mudança na linha de base da curva, caracterizando a temperatura de transição vítrea (T_g). Valores semelhantes de T_g foram reportados em estudos já reportados pela literatura, que envolviam o látex e seus derivados (BIJARIMI; AHMAD e RASID, 2012; STROPA, *et al.*, 2016).

Para a curva relacionada com as fibras de arnica, observa-se a presença de dois picos endotérmicos, o primeiro em 149°C e o segundo em 198°C . O primeiro evento endotérmico pode estar associado a perda dos constituintes voláteis e a degradação térmica dos compostos de menor massa molar presentes nas fibras de arnica, já o segundo evento endotérmico pode estar associado a decomposição da grande variedade de

substâncias metabólicas e estruturais, principalmente as derivadas de compostos fenólicos presente na matriz lignocelulósica das fibras vegetal (FERNANDES, *et al.*, 2013).

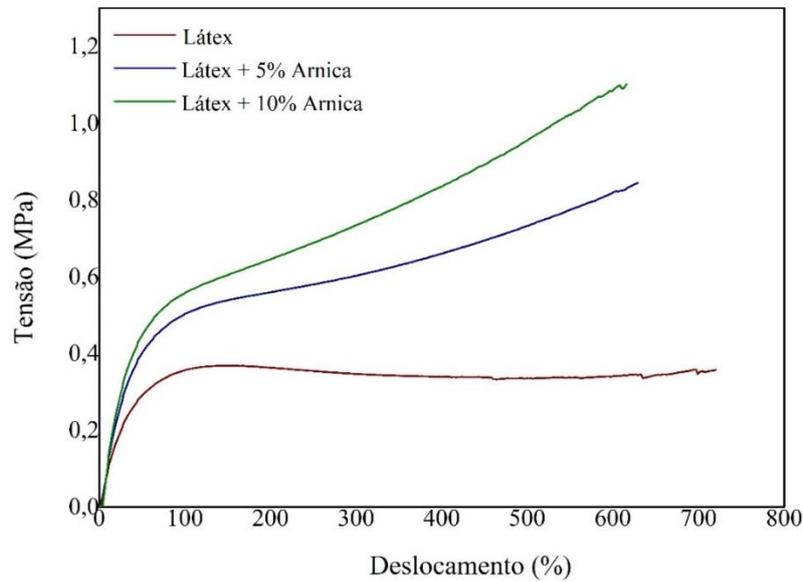
Analisando as curvas de DSC obtidas para as membranas com 5 e 10% de arnica, pode-se observar que não houve variação significativa das propriedades térmicas do material pela adição das fibras de arnica na matriz de látex. Para a membrana de látex com 5% de arnica, o valor obtido para a T_g foi de -66°C . No caso da membrana com 10% de arnica, a mesma apresenta o valor de T_g de -67°C , seguida por dois pequenos picos endotérmicos em 174°C e 245°C , que estão relacionados com a porção de arnica presente na membrana.

De modo geral, a incorporação de arnica na matriz de látex não provocou alterações nas propriedades térmicas do material, o que pode ser visto quando se compara os valores de T_g da membrana pura com os valores obtidos para as membranas contendo arnica. Com isso, pode-se concluir que não houve uma interação química entre os dois materiais, corroborando assim com os resultados mostrados nas análises de FTIR e TG.

5.5 ENSAIO MECÂNICO

O ensaio mecânico de tração foi realizado nas membranas de Látex, Látex com 5% de Arnica e para membrana de Látex com 10% de Arnica. Por meio deste, foram geradas curvas de tensão *versus* deformação dos corpos de prova a partir de valores médios, e os resultados são apresentados na Figura 13.

Figura 13: Gráfico dos valores médios de Tensão *versus* Deformação das membranas de Látex, Látex + 5% Arnica e Látex + 10% Arnica.



Fonte: Autoria própria

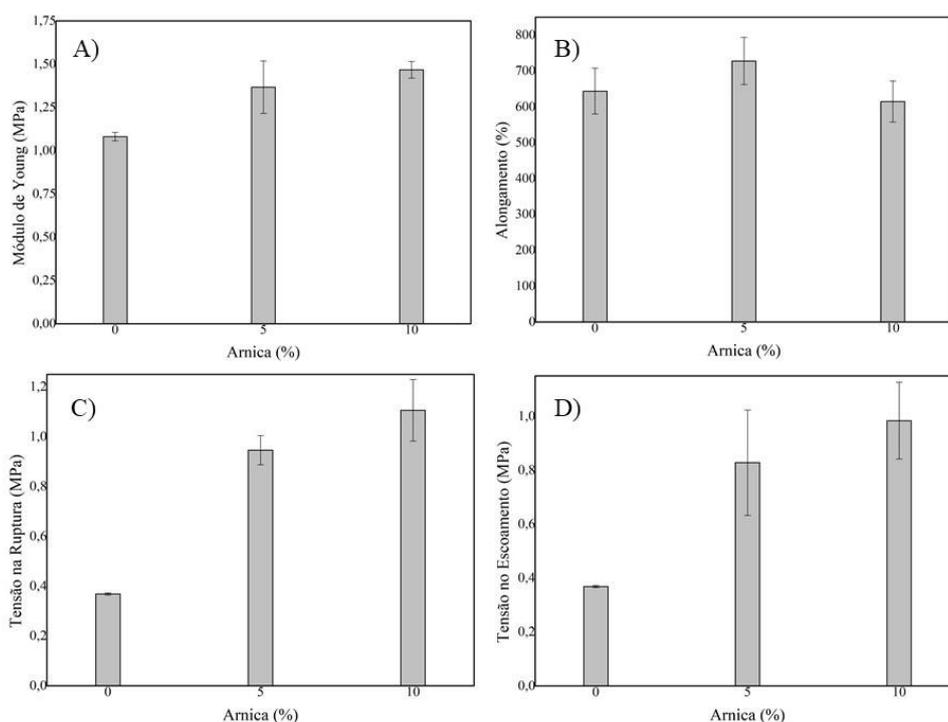
A partir dos dados da Figura 13, foram encontrados os valores de Módulo de Young, Alongamento na ruptura, Tensão na ruptura e Tensão no escoamento. Os valores médios obtidos são apresentados na Tabela 2 e na Figura 14.

TABELA 2: Valores médios e respectivos desvios-padrão do Módulo de Young, Alongamento na Ruptura, Tensão na Ruptura e Tensão no Escoamento para as membranas de Látex, Látex + 5% de Arnica e Látex + 10% Arnica.

	Módulo de Young (MPa)	Alongamento até a Ruptura (%)	Tensão na Ruptura (MPa)	Tensão no Escoamento (MPa)
Látex	1,08 ± 0,02	644,00 ± 64,00	0,37 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Látex + 5% Arnica	1,37 ± 0,15	728,00 ± 66,00	0,95 ± 0,06	0,83 ± 0,19
Látex + 10% Arnica	1,47 ± 0,05	615,00 ± 57,00	1,11 ± 0,12	0,98 ± 0,14

Fonte: Autoria própria

Figura 14: Gráfico dos valores de Módulo de Young (A), Alongamento na Ruptura (B), Tensão na Ruptura (C) e Tensão no Escoamento (D) para as membranas de Látex, Látex + 5% de Arnica e Látex + 10% Arnica.



Fonte: Autoria própria

Analisando os resultados apresentados nas Figuras 13 e 14, bem como na Tabela 2, observa-se que a adição das fibras de arnica na matriz de látex provocou um pequeno aumento dos valores de Módulo de Young. De acordo com a análise ANOVA de fator único, para os valores obtidos de Módulo, foi possível observar que houve diferença estatística entre os resultados ($P=0,004$, $F= 10,21$ e $F_{crítico}= 4,26$), uma vez que o valor P foi menor que 0,005 e o valor de F foi maior que o valor de $F_{crítico}$.

Avaliando os resultados de Alongamento na Ruptura, observa-se que as amostras de látex e látex contendo arnica apresentaram um comportamento típico para essa classe de elastômeros (BENDAHOU *et al.*,2011). Para a membrana de látex é observado um alongamento de $644,00 \pm 64,00\%$, já para a membrana contendo 5% de arnica, observa-se um valor de alongamento de $728,00 \pm 66,00\%$ e para a membrana contendo 10% de arnica observa-se um alongamento de $615,00 \pm 57,00\%$. Nota-se que a maior concentração de arnica provoca uma pequena redução do comportamento elástico da matriz de látex. Contudo, através da análise ANOVA, observa-se que não houve diferença estatística entre as amostras ($P=0,197$; $F=1,95$ e $F_{crítico}=4,25$).

Já para a análise de Tensão na Ruptura das amostras, observa-se que a membrana de látex sem adição de fibras de arnica apresentou valor de Tensão na Ruptura de $0,37 \pm 0,01$ MPa, a membrana com 5% de arnica apresentou valor de $0,95 \pm 0,06$ MPa e a membrana com 10% apresentou valor de tensão de $1,11 \pm 0,12$ MPa. Analisando os resultados de Tensão na Ruptura, observa-se que a adição de arnica provocou um aumento da tensão necessária para a ruptura da matriz polimérica. Os valores de Tensão na Ruptura para as membranas analisadas apresentam diferença estatística segundo a análise ANOVA ($P=4,23.10^{-6}$; $F=65,84$ e $F_{crítico}= 4,26$).

Esse mesmo comportamento é observado na análise de Tensão no Escoamento. As membranas de látex apresentam valor de tensão igual a $0,04 \pm 0,01$ MPa, a membrana com 5% de arnica atingiu um valor de $0,83 \pm 0,19$ MPa e a membrana com 10% de arnica apresenta valor de tensão de $0,98 \pm 0,14$ MPa. Analisando os resultados obtidos, nota-se que a adição de arnica provocou um leve aumento da tensão no escoamento. Esse comportamento é novamente evidenciado por uma variação estatística dos resultados ($P=0,003$; $F=12,70$ e $F_{crítico}= 4,46$).

Comparando os resultados de todas as análises obtidas pelo ensaio mecânico de tração das membranas de látex sem adição de arnica, látex com 5% de arnica e látex com 10% de arnica, observa-se que a adição das fibras de arnica provoca algumas mudanças nas características mecânicas da matriz de látex (Módulo de Young, Tensão na Ruptura e Tensão no Escoamento). Esse comportamento também foi observado no estudo de Sampaio e colaboradores (2016), onde se desenvolveu um material compósito a base de endocarpo de macaúba em uma matriz de látex.

Dessa maneira, o aumento dos valores de Módulo de Young e das Tensões de Ruptura e de Escoamento pode ser atribuída a uma diminuição da mobilidade das cadeias poliméricas do látex provocada pela adição de arnica ao material. A pouca expressividade das mudanças ocasionadas pela adição das fibras de arnica está relacionada com a baixa interação entre os sistemas (látex e as fibras de arnica), corroborando com as análises de FTIR, TG e DSC.

A Figura E ilustra o gráfico de módulo elástico relativo em função da fração de volume de arnica. O mesmo foi construído de acordo com o modelo de Halpin-Tsai

(equação 5) e permite estimar o valor da razão de aspecto (L/d) das fibras de arnica (Eichhorn, S.J. et al., 2010) (Osoka, E.C. & Onukwuli, O.D., 2018).

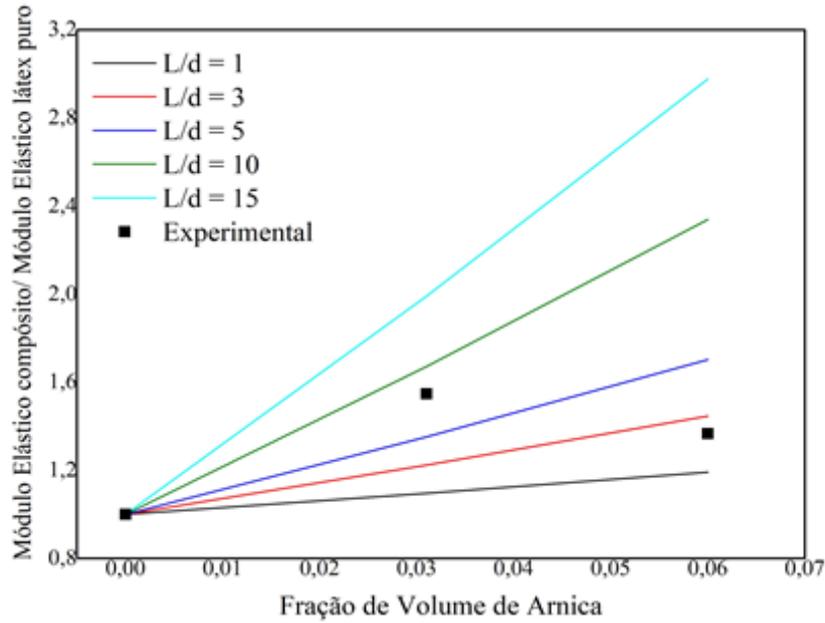
$$\frac{E_c}{E_p} = \frac{1 + 2 A_f \mu \phi_f}{1 - \mu \phi_f} \quad \text{Eq. 5}$$

Onde: E_c e E_p são os valores dos módulos elásticos do compósito e do polímero, respectivamente. A_f refere-se ao valor da razão de aspecto da carga (L/d), ϕ_f é o termo que representa a fração de volume da carga e μ representa o fator geométrico da carga (calculado de acordo com a equação 6).

$$\mu = \frac{\left(\frac{E_f}{E_p}\right) - 1}{\left(\frac{E_f}{E_p}\right) + 2 A_f} \quad \text{Eq. 6}$$

Assim, observando os dados experimentais, que foram plotados na forma de ponto na Figura 15, foi possível estimar os valores da razão de aspecto das amostras de látex com 5 e 10% de arnica. Estes valores ficam entre 5 e 10 para a amostra com 5% de arnica e entre 1 e 3 para a amostra com 10% de arnica, ou seja, houve uma diminuição no valor da razão de aspecto com o aumento da quantidade de arnica na amostra. Assim, uma possível explicação para esta diminuição se deve a baixa interação entre a arnica e a matriz de látex, gerando aglomerados maiores, das partículas de arnica, quando se aumenta a quantidade da mesma no sistema. Com isso, ocorre o aumento da espessura (d) dos aglomerados, reduzindo, então, o valor da razão de aspecto (L/d).

Figura 15: Módulo elástico relativo em função da fração de volume de arnica.



Fonte: Autoria própria

A Figura 16 ilustra a tensão no escoamento relativa em função da fração de volume da arnica, sendo possível estimar o parâmetro de transferência de tensão interfacial entre as fibras de arnica e a matriz de látex. Para isso, foi utilizado a equação 7.

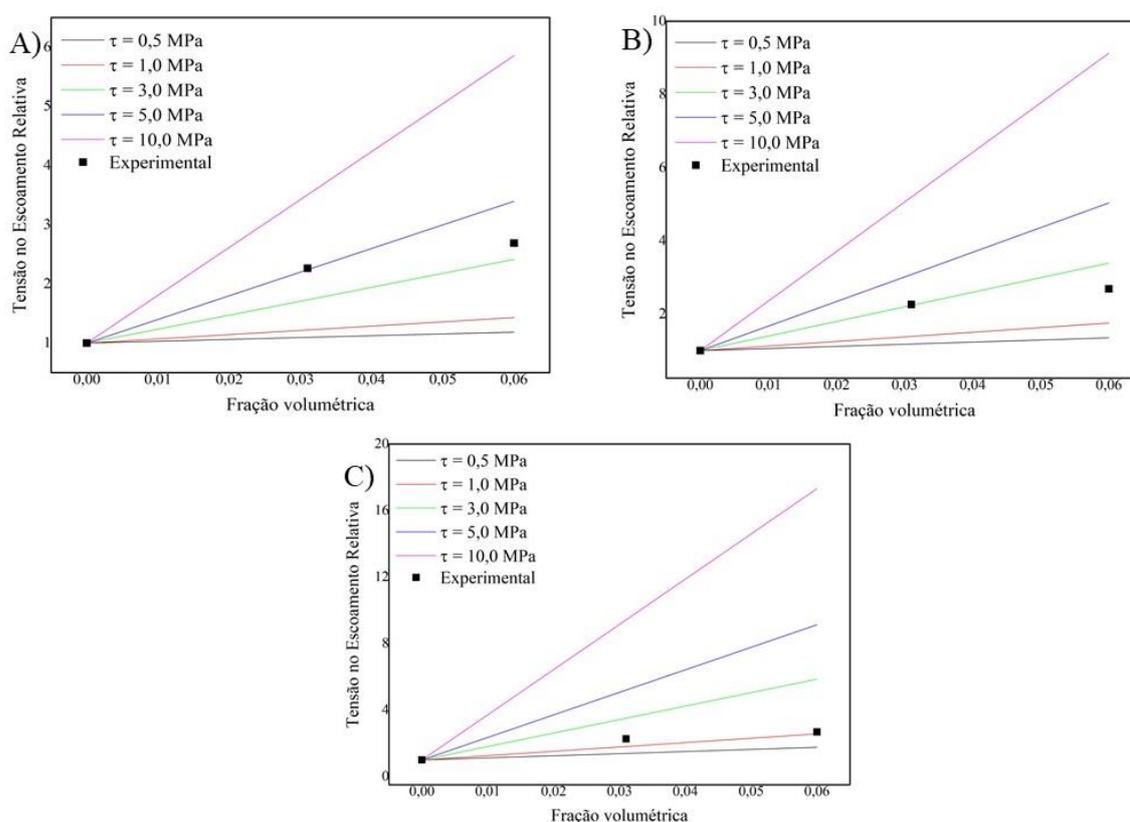
$$\sigma_R = 1 + \phi_f \left(\frac{A_f}{\sigma_p} \tau - 1 \right) \quad \text{Eq. 7}$$

Onde σ_R = razão da tensão no escoamento entre o compósito e o látex (relativa); A_f = razão de aspecto; τ = parâmetro de transferência de tensão interfacial; σ_p = tensão no escoamento do látex e ϕ_f é o termo que representa a fração de volume da arnica.

É possível observar na Figura 16, de acordo com os valores de razão de aspecto simulados teoricamente ($L/d = 3$; $L/d = 5$ e $L/d = 10$), que para o valor de razão de aspecto (L/d) igual a 3, os valores da interação interfacial (τ), para as amostras com 5 e 10% de arnica, são próximos a 5,0 MPa e 3,0 MPa, respectivamente. Para o valor de razão de aspecto (L/d) igual a 5, os valores da interação interfacial (τ), para as amostras com 5 e 10% de arnica, são próximos a 3,0 MPa e 2,0 MPa, respectivamente. Para o valor de razão de aspecto (L/d) igual a 10, os valores da interação interfacial (τ), para as amostras com 5 e 10% de arnica, são próximos a 1,0 MPa. De acordo com o trabalho de BARBER *et al.* (2003), se o compósito apresentar interações fracas (forças de van der Waals) entre a

matriz polimérica e a carga, então, o valor da interação interfacial será pequeno, tipicamente menor do que 10 MPa. Portanto, este resultado mostra que a interação entre o látex e as fibras de arnica é fraca, corroborando com os outros resultados analisados (FTIR, TG e DSC).

Figura 16: Tensão no escoamento relativa em função da fração de volume da arnica, $L/d=3$ (A), $L/d=5$ (B) e $L/d=10$ (C).



Fonte: Autoria própria

5.6 POTENCIAL ZETA

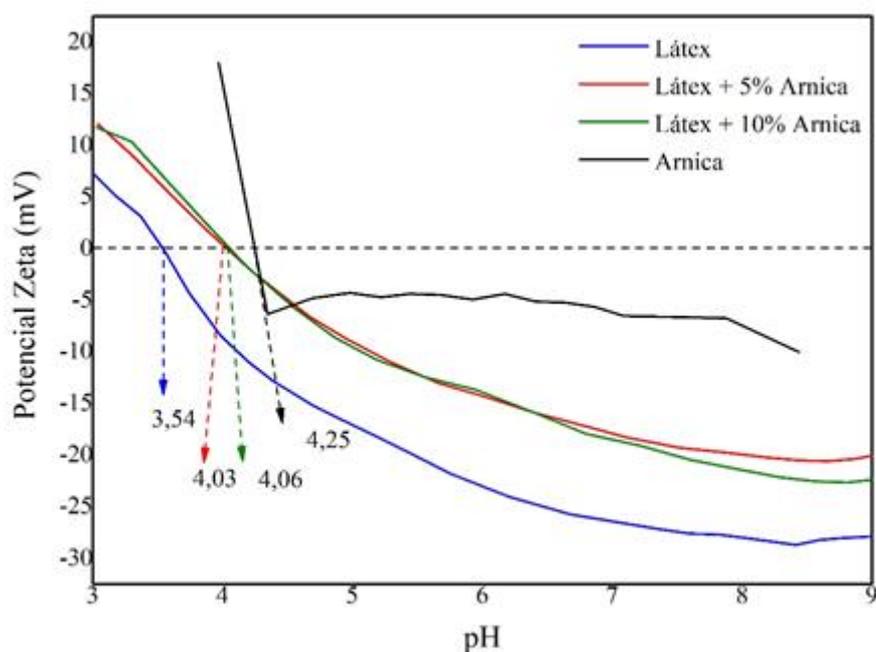
A análise de potencial zeta de superfície é uma ferramenta muito importante para caracterizar as cargas presentes na interface dos materiais. De modo geral, a análise de potencial zeta irá representar a carga presente na superfície sólido-líquido, que por sua vez, afeta a funcionalidade dos materiais.

No campo dos biomateriais, a análise de potencial zeta é um parâmetro fundamental para entender as propriedades de superfície ou a interação de superfície com

o ambiente biológico, de modo a nortear o desenvolvimento e viabilidade de novos materiais para essa área (PLOHL; ZEMLJIČ; POTRČ; LUXBACHER, 2020).

Os resultados de potencial zeta em diferentes faixas pH para as amostras de Látex, Látex com 5% de arnica, Látex com 10% de Arnica e da Fibras de Arnica são apresentados na Figura 17.

Figura 17: Gráfico de potencial Zeta em função do pH das amostras de látex, látex + 5% de arnica, látex + 10% de arnica e das fibras de Arnica.



Fonte: Autoria própria

Analisando o gráfico de potencial zeta em função do pH, observa-se que curva obtida para a membrana de látex sem adição de arnica apresenta valor de potencial zeta de aproximadamente 7mV em pH=3. Com o aumento do pH, é verificado que o valor de potencial zeta vai diminuindo até atingir o ponto isoelétrico ($mV = 0$) no pH= 3,54. Os valores de potencial zeta vão se tornando cada vez mais negativos conforme o valor de pH vai aumentando, apresentando um decaimento quase linear.

Os valores de potencial zeta negativos são típicos para as amostras de látex e sugere a presença de cargas negativas na superfície do elastômero, o que pode estar relacionado com o conteúdo não isoprênico, incluindo as proteínas e fosfolípidios ligados a superfície do material (SINGH; RASDI, 2019). Contudo, observa-se que a membrana

de látex apresentou valores de potencial zeta menos negativos em relação ao pH comparados a outros resultados já reportados pela literatura.

No estudo realizado por Sansatsadeekul e colaboradores (2011), o valor de potencial zeta encontrado para o látex em pH=9 foi de aproximadamente -47,7mV. Já para a amostra de látex analisada neste trabalho, o valor do potencial zeta encontrado em pH=9 foi de aproximadamente -27mV.

Comparando o resultado obtido para membrana de látex com o resultado extraído da literatura, observa-se que o processo de purificação do látex foi efetivo para a redução de proteínas presentes no material, uma vez que é notória a diferença dos valores obtidos de potencial zeta para as amostras (SINGH, 2018). Esse resultado corrobora com os resultados já descritos pela técnica de FTIR.

Para a amostra de fibra de arnica, observa-se um valor inicial de potencial zeta de aproximadamente 18mV no pH=3,9. Com o aumento do pH, há uma rápida queda dos valores de potencial zeta até atingir o ponto isoelétrico em pH=4,25. Logo após atingir o ponto de carga neutra, observa-se uma estabilização dos valores de potencial zeta (patamar na região de -5mV) em função do pH.

Esse comportamento é esperado para maior parte dos compostos lignocelulósicos, uma vez que apresentam estruturas químicas muito semelhantes entre si, o que confere às fibras lignocelulósicas uma característica mais polar (BELLMANN, *et al.*, 2005). Essa característica das fibras se deve à presença de grupos polares (grupos OH), o que confere às fibras vegetais um comportamento mais hidrofílico da sua superfície, propiciando assim, um poder de absorção de umidade (BELLMANN, *et al.*, 2005).

Para as membranas de látex contendo arnica, observa-se um comportamento muito parecido entre a membrana com 5% de arnica com a membrana com 10% de arnica. Ambas apresentam valor de potencial zeta de aproximadamente 11,8mV no pH=3. Com o aumento do pH, observa-se um decaimento dos valores de potencial zeta até atingir o ponto isoelétrico, em pH=4,03 para concentração de 5% e em pH=4,06 para a concentração de 10%.

Comparando os resultados obtidos para a membrana de látex e para as fibras de arnica, com as membranas de látex contendo arnica (5 e 10%), observa-se que as

membranas de látex com adição de arnica apresentam valores intermediários em relação a membrana de látex e as fibras de arnica, evidenciando, assim, a presença de fibras de arnica expostas na superfície da matriz de látex.

Analisando os valores de potencial zeta em função do pH de todas amostras, observa-se que as membranas contendo arnica apresentam menor redução dos valores de potencial zeta quando comparados aos valores encontrados para a membrana de látex. Esse comportamento atribui as membranas com arnica uma característica menos negativa, sendo essa uma característica atribuída pela adição de fibras de arnica à matriz de látex. Por essa razão, espera-se que as membranas com 5 e 10% de arnica apresentem uma característica mais hidrofílica quando comparadas com a membrana contendo apenas látex.

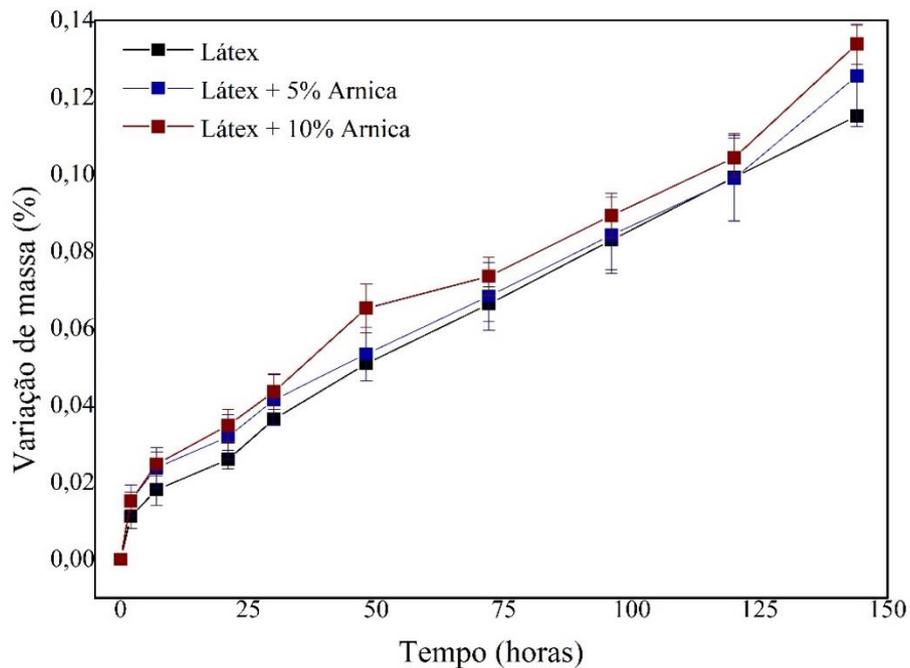
5.7 PERMEACÃO DE VAPOR DE ÁGUA

O grau de permeabilidade de vapor de água ou taxa de permeação de vapor de água, é uma medida que permite avaliar a quantidade, em massa, de vapor de água que pode penetrar em uma determinada área do material sob um determinado período de tempo. Essa medida fornece uma visão geral de como uma fina camada de material atua como uma barreira ao fluxo de fluidos.

A difusão do fluido penetrante através de membranas poliméricas ocorre em algumas etapas. Inicialmente, há a difusão do fluido para a membrana polimérica, em seguida, ocorre a adsorção do fluido na superfície do polímero, estabelecendo um equilíbrio entre as duas partes (vapor de água e matriz polimérica). Em seguida as moléculas do fluido penetrante se difundem na matriz polimérica, via um mecanismo de movimentação das cadeias poliméricas. Por fim, o fluido penetrante é desorvido na outra face da matriz polimérica, onde é difundido para a atmosfera.

Os resultados obtidos da análise de permeação de vapor de água realizada pelo método de pesagem foram determinados conforme descrito no item 4.2.8 e representam a média da variação de massa perdida (Δm) em função do tempo (t), e são apresentados na Figura 18.

Figura 18: Gráfico da média da variação de massa perdida (Δm) em função do tempo (t) para as amostras de Látex, Látex + 5% Arnica e Látex 10% Arnica.



Fonte: Autoria própria

Observando a Figura 18, pode-se observar duas regiões com características distintas entre si para as três amostras. A primeira delas, está entre o intervalo inicial até 2 horas de análise, observa-se uma maior inclinação na curva de variação de massa em função do tempo, a qual pode ser atribuída ao início do processo de adsorção e difusão do vapor de água nas membranas de látex e látex com fibras de arnica.

A partir de 4h até 144 horas de análise, observa-se um outro perfil de inclinação da curva de variação de massa, a qual é utilizada para obter os valores de fluxo e posteriormente o coeficiente de permeabilidade das amostras.

Comparando o comportamento de variação de massa das amostras de látex e látex com arnica, pode-se observar que membrana com 10% de arnica apresenta uma perda de massa ligeiramente superior à da membrana com 5% de arnica, que por sua vez, é superior a membrana contendo apenas látex. Isso indica que a adição de fibra de arnica influenciou, mesmo que de modo pouco pronunciado, a estrutura da membrana de látex.

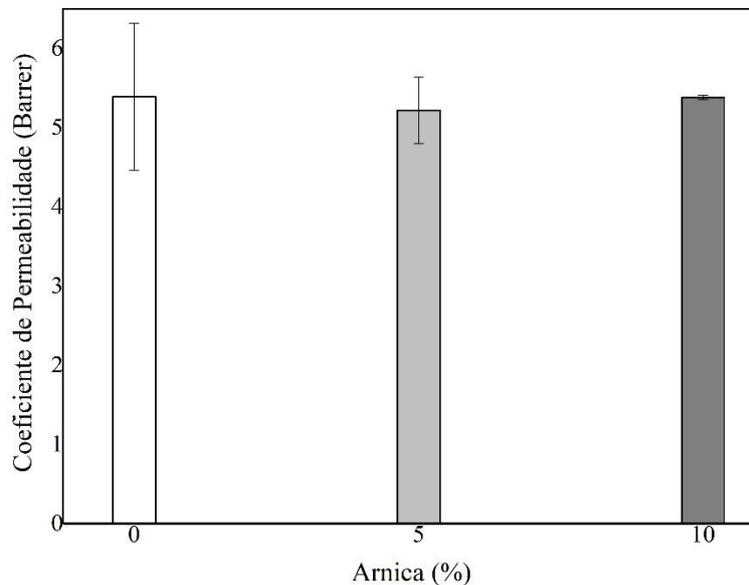
A análise foi interrompida após 144 horas de ensaio, uma vez que não foi mais possível observar o comportamento de variação de massa, pois uma das membranas de látex começou a se deformar em decorrência da umidade presente na superfície interna da membrana, o que ocasionou uma ruptura da membrana e, assim, prejudicando o isolamento do sistema e permitindo a passagem sem barreira do vapor de água para o meio.

Tanto na tabela 3 como na Figura 19, pode-se observar o gráfico que apresenta os valores obtidos do coeficiente de permeabilidade para as membranas de látex, látex com 5% de arnica e látex com 10% de arnica.

Tabela 3: Valores de área (A), espessura (L) e do coeficiente de permeabilidade (P_H) para as membranas de Látex, Látex com 5% de Arnica e Látex com 10% de Arnica

Amostra	A (cm²)	L (cm)	P_H (Barrier)
Látex	7,06	0,059	5,39 ± 0,93
Látex + 5% Arnica	7,06	0,063	5,22 ± 0,42
Látex + 10% Arnica	7,06	0,065	5,38 ± 0,03

Figura 19: Gráfico do coeficiente de permeabilidade (P_H) ao vapor de água das membranas de Látex, Látex + 5% Arnica e Látex + 10% Arnica.



Fonte: Autoria própria

O processo de transporte de pequenas moléculas através de uma matriz polimérica leva em consideração os tamanhos relativos das moléculas e seus tamanhos em comparação com a dimensão de passagem no material sólido através das quais as moléculas permeiam (MCKEEN, 2017). Deste modo, podem existir algumas variáveis que influenciam o processo de permeabilidade em materiais poliméricos, sendo eles: o grau de cristalinidade, características estruturais das cadeias laterais poliméricas, grau de ramificação e/ou de reticulação, massa molar do polímero, concentração do penetrante, polaridade do penetrante, afinidade química entre o penetrante e a matriz polimérica (DUNCAN, 2011). Além das características químicas dos materiais, deve-se levar em consideração as características de processamento da membrana, como por exemplo: a viscosidade da solução formadora da membrana, o processo de obtenção da membrana, os componentes presentes adicionados a membrana e também a espessura da membrana (PHAECHAMUD; ISSARAYUNGYUEN; PICHAYAKORN, 2016).

Analisando os resultados obtidos dos coeficientes de permeabilidade das membranas de látex e látex com arnica, observa-se que a membrana contendo 10% de arnica apresenta maior valor de permeação de vapor de água, levando em consideração o desvio padrão calculado.

Comparando os resultados obtidos para as diferentes membranas, e levando em consideração o valor do desvio, observa-se que as membranas contendo fibras de arnica apresentam uma razão de permeabilidade maior que a membrana contendo apenas látex. O maior coeficiente de permeabilidade apresentado pelas membranas contendo arnica pode estar associado a maior interação entre o vapor de água (fluido penetrante) e as fibras de arnica, devido a maior característica polar do reforço de arnica em relação a matriz de látex, que por sua vez, apresenta característica mais apolar.

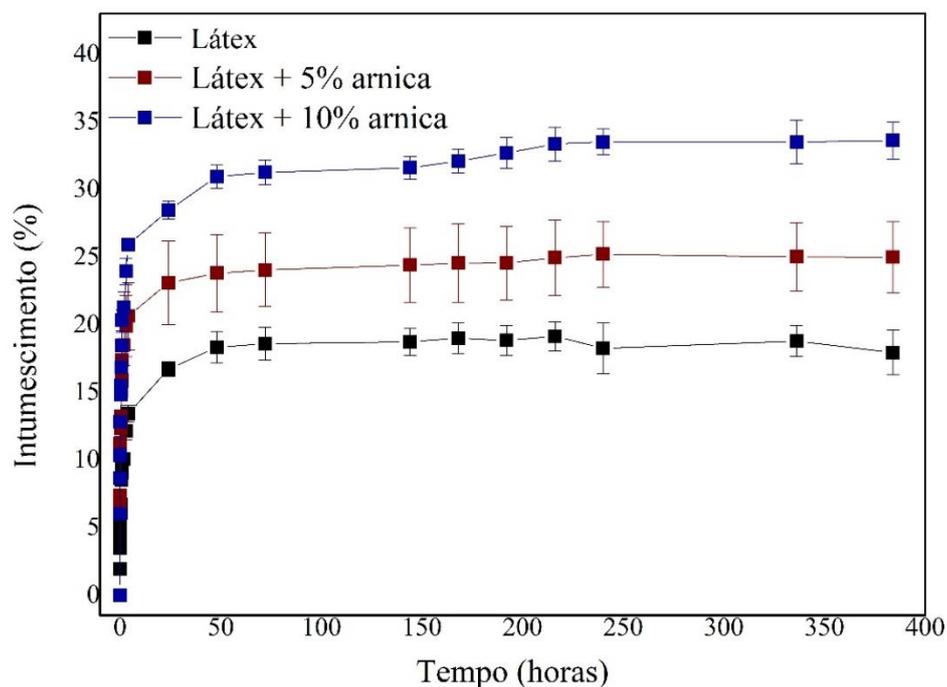
De acordo com LeCorre e colaboradores (2012), a adição de carga com característica mais hidrofílica à matriz de látex, pode conferir uma maior razão de permeabilidade de vapor de água ao material, fazendo com que a natureza mais hidrofílica da carga seja predominante. No estudo realizado por Bras e colaboradores (2010), usando a mesma matriz de látex, observou-se um aumento no coeficiente de permeação de vapor de água com a adição de compostos lignocelulósicos. Segundo os autores, esse aumento pode ser explicado pelo fato de que os *whiskers* de celulose podem atuar como absorventes ou retentores de umidade devido a sua alta sensibilidade à umidade em comparação com a borracha de látex.

Deste modo, as fibras de arnica, por apresentarem características mais hidrofílicas em comparação a matriz de látex, podem estar aumentando a adsorção de vapor de água na matriz polimérica e facilitando a difusão do vapor através do compósito. Portanto, este comportamento é interessante para uma matriz dérmica, uma vez que existe a necessidade de absorção do exsudado oriunda da área queimada, evitando, assim, uma umidade excessiva no local da lesão.

5.8 ENSAIO DE INTUMESCIMENTO

O teste de intumescimento avalia a quantidade de solvente absorvida pelo material ao longo do tempo de exposição ao fluido e, assim, obtém um perfil de hidratação da membrana. O grau de intumescimento das membranas de Látex, Látex com 5% de fibras de Arnica e Látex com 10% de fibras de Arnica foram determinados conforme descrito no item 4.2.9, e estão apresentados na Figura 20.

Figura 20: Gráfico do intumescimento das membranas de Látex, Látex com 5% de Arnica e Látex com 10% de Arnica.



Fonte: Autoria própria

Analisando o gráfico de porcentagem de intumescimento pelo tempo, observa-se que a membrana de látex e as membranas de látex contendo arnica atingiram seu percentual máximo de intumescimento com 48 horas de imersão em PBS, mantendo-se estável por todo tempo de ensaio. Observa-se, também, que a capacidade de intumescimento é diferente entre os três tipos de membrana.

A membrana que apresentou o maior grau de intumescimento foi a membrana contendo 10% de fibras de arnica. Ao final das 380 horas de ensaio foi observado um valor de intumescimento de 33,61%.

A membrana contendo 5% de fibras de arnica apresentou um valor intermediário de intumescimento, obtendo 25% de absorção ao final do tempo de ensaio. Já a membrana de látex sem adição de carga, apresentou ao final do ensaio um valor de 17,94% de intumescimento.

Como já discutido nos resultados de permeação de vapor de água, a capacidade de absorção de um fluido pelas membranas de látex apresenta algumas variáveis. Além

das características de polaridade dos materiais, um dos fatores que influenciam no grau de intumescimento das membranas de látex é a densidade de reticulação entre as cadeias poliméricas. Quanto maior o grau de reticulação, menor será o volume livre e flexível das moléculas e, por consequência, menor será a absorção de água pelo material (BARROS, *et al.*, 2016). Também deve-se levar em consideração as características de processamento do material, como, por exemplo, o processo de obtenção da membrana e as cargas adicionadas ao material (PHAECHAMUD; ISSARAYUNGYUEN; PICHAYAKORN, 2016).

Comparando os resultados obtidos de intumescimento das amostras, observa-se que as membranas contendo fibras de arnica apresentam valores superiores de absorção quando comparadas a membrana contendo apenas látex.

Esse maior percentual de absorção está relacionado com a presença da carga de arnica, que por sua vez, apresenta um caráter mais hidrofílico, característico dos compostos lignocelulósicos (BRAS; HASSAN; BRUZESSE; HASSAN; EL-WAKIL; DUFRESNE, 2010). Com a maior porcentagem de fibras à matriz de látex, há uma maior absorção de fluido ao material. As fibras de arnica contidas na superfície do material atuam como uma porta de entrada para o fluido penetrar o interior da membrana de látex.

De acordo com Waiprib e colaboradores (2017), existe um maior percentual de absorção de umidade quando há a adição de cargas com propriedades mais hidrofílicas e higroscópicas à matriz de látex. Os grupos polares presentes nas cargas podem formar ligações de hidrogênio com a água, resultando em um melhoramento do caráter hidrofílico dos filmes de látex.

Esses resultados corroboram com os resultados já descritos na literatura em relação ao ensaio de permeação de vapor de água para as membranas contendo fibras de arnica.

O valor de porcentagem de absorção obtido para a membrana de látex sem carga está de acordo com os valores já descritos na literatura (CESAR, *et al.*, 2019 e SAIJUN *et al.*, 2009). A baixa capacidade de absorção apresentada pela matriz de látex, está associada com a natureza mais hidrofóbica do polímero e, também, ao típico entrecruzamento das cadeias poliméricas em elastômeros, o que diminui a mobilidade molecular e acarreta em uma menor absorção de umidade, uma vez que a força de

expansão exercida pelo intumescimento é atingida e o equilíbrio do inchamento é alcançado (SAIJUN *et al.*, 2009).

A taxa de intumescimento foi determinada através da inclinação da reta, nos tempos iniciais de ensaio, das curvas de intumescimento apresentadas na Figura 20. A membrana de látex apresentou taxa de absorção de água de 3,27 mg/h, enquanto que a membrana contendo 5% de arnica apresentou uma taxa de 5,16 mg/h. Já a membrana contendo 10% de arnica, apresentou a maior taxa de absorção dentre todas as outras, obtendo o valor de 5,22 mg/h. Essa maior taxa de intumescimento está relacionada à quantidade de fibras presente na membrana, o que aumenta a interação das moléculas de água com a matriz de látex com arnica.

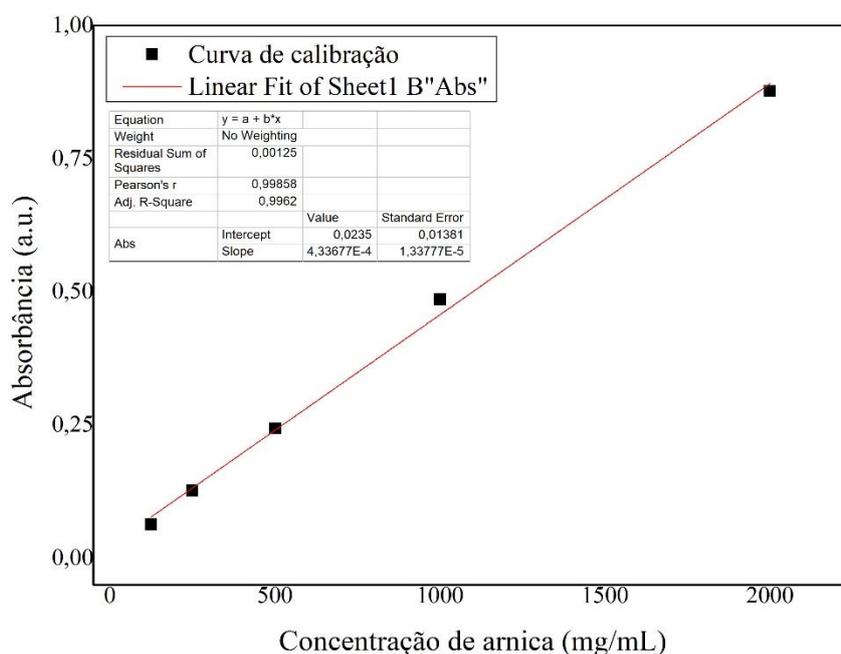
Essa maior capacidade de absorção de umidade pela amostra, favorece sua aplicação como um curativo dérmico, uma vez que a absorção do exsudados da superfície do ferimento é um fator bastante relevante no processo de reparação tecidual (SUNG *et al.*, 2010)

5.9 PERFIL DE LIBERAÇÃO

As alíquotas colhidas durante o ensaio de liberação foram analisadas por espectroscopia de UV-visível. Para determinar a concentração de cada alíquota coletada, foi determinada uma curva de calibração. Esta curva de calibração é uma importante ferramenta para estabelecer um padrão entre a absorbância e a concentração do fármaco.

Neste ensaio, foram preparadas várias soluções com diferentes concentrações de arnica (125 a 2000 $\mu\text{g/mL}$), em seguida, as absorbâncias das diferentes soluções foram medidas no comprimento de onda de 274 nm. Usando a curva de calibração, as concentrações das amostras foram obtidas através da interceptação da absorbância no eixo correspondente de concentração. A curva de calibração é apresentada na Figura 21.

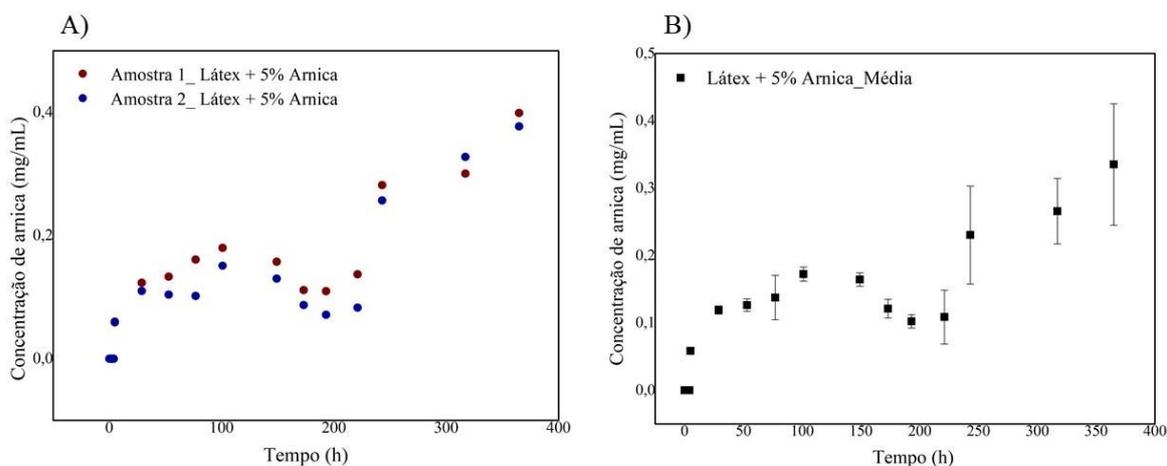
Figura 21: Curva de calibração da absorbância versus concentração de arnica.



Fonte: Autoria própria.

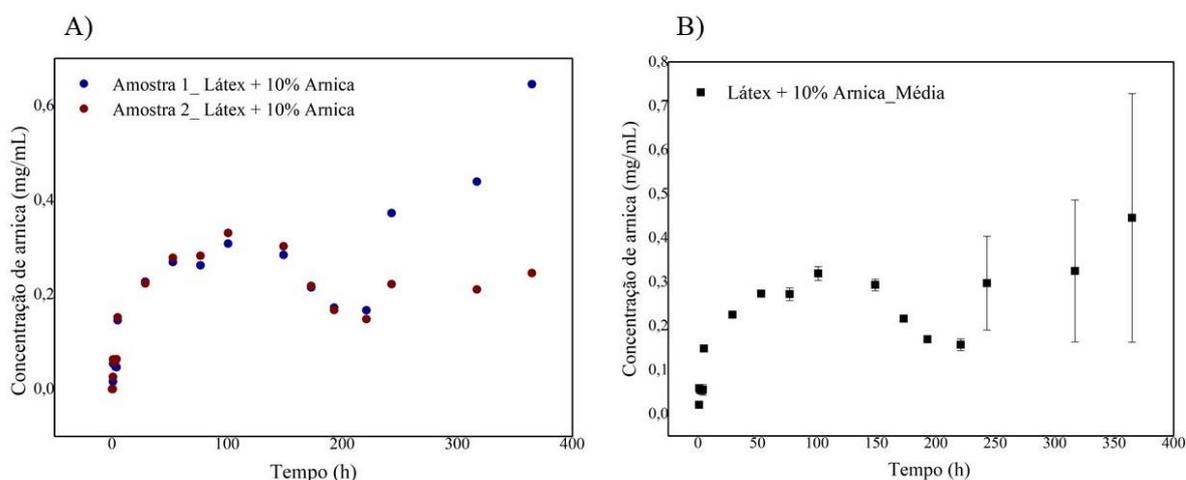
Uma vez obtida a curva de calibração, pode-se determinar a concentração das alíquotas coletadas no ensaio de liberação das membranas contendo 5 e 10% de arnica. Os gráficos de liberação pelo tempo de incubação das amostras com 5 e 10% de arnica são apresentados pelas Figuras 22 e 23, respectivamente.

Figura 22: Perfil de liberação da membrana contendo 5% de arnica. A) Perfil de Liberação para cada uma das amostras e B) Média dos valores do Perfil de Liberação.



Fonte: Autoria própria.

Figura 23: Perfil de liberação da membrana contendo 10% de arnica. A) Perfil de Liberação para cada uma das amostras e B) Média dos valores do Perfil de Liberação.



Fonte: Autoria própria.

Observando os resultados do perfil de liberação obtidos para a membrana com 5% de arnica, nota-se que a cinética de liberação da arnica para o meio de PBS acontece em duas etapas. A primeira tem início após 5 horas de incubação, apresentando um aumento da concentração até o tempo de 100 horas, seguido por um decréscimo até o início da segunda etapa de liberação, que se inicia em 220 de incubação. Observa-se que para a membrana com 5% de arnica a primeira etapa de liberação apresenta seu pico de liberação ($0,175 \mu\text{g/mL}$) em 100 horas e a segunda etapa de liberação apresenta liberação máxima ($0,335 \mu\text{g/mL}$) em 360 horas de ensaio.

Esse mesmo perfil de liberação é observado para membrana com 10% de arnica. A primeira etapa de liberação tem seu início após 5 horas de incubação e o pico máximo de liberação ($0,319 \mu\text{g/mL}$) para essa etapa é observado em 100 horas de ensaio. A segunda etapa de liberação tem início após 240 horas e obtêm seu máximo de liberação ($0,447 \mu\text{g/mL}$) após 360 horas de ensaio. Observa-se que a maior quantidade de fibras de arnica na matriz de látex promove um aumento das concentrações em cada tempo de incubação.

Analisando o perfil de liberação das membranas com 5 e 10% de arnica, observa-se que o mecanismo de liberação obedece a um padrão biexponencial (MARCELINO, *et al.*, 2018). O mecanismo de liberação corresponde a um transporte anômalo, sendo assim,

a difusão do fármaco para o meio não segue um padrão Fickiano (MURBACH, *et al.*, 2014).

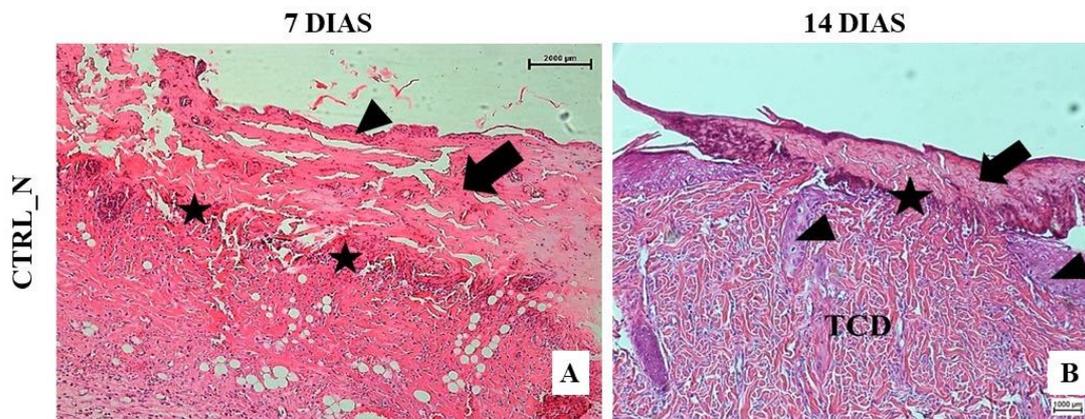
A primeira etapa de liberação observada para as membranas, está relacionada com a porção de fibras de arnica presente na superfície das membranas, deste modo, os princípios ativos presentes nessas fibras mais superficiais são liberados mais facilmente do que aqueles presentes nas fibras mais internas à membrana (ZANCANELA, *et al.*, 2017). Já a segunda etapa de liberação está associada ao intumescimento da matriz de látex (SUKSAEREE, *et al.*, 2012). Assim, a absorção de líquido para o interior do material faz com que as substâncias fitoterápicas sejam difundidas com mais facilidade para o meio de PBS, uma vez que há um equilíbrio entre a fase mais concentrada para a menos concentrada.

A liberação promovida por uma matriz polimérica é determinada por algumas variáveis, sendo elas: a interação do fármaco com a matriz polimérica, concentração de fármaco presente na matriz e a característica de intumescimento e/ ou erosão da matriz polimérica (BARROS, *et al.*, 2016).

5.10 ESTUDO *IN VIVO*

Quando submetidas à avaliação histológica, as amostras dos controles negativos (CTRL_N), são apresentados na Figura 24 (A), após 7 dias, resultaram em ferida extensa, com início de reepitelização, com infiltrado inflamatório significativo e uma faixa de neutrófilos contínua demonstrando o início de formação de um tecido de granulação. Além de invasão de células adiposas. Adjacente a este tecido, a derme profunda e hipoderme apresentaram vasos ectásicos. Um dos exemplares apresentou abscesso na crosta superficial, além de tecido de granulação com macrófagos e piócitos na hipoderme superficial, panículo carnoso e hipoderme profunda. De modo geral, o reparo tecidual esteve presente, porém, com focos infecciosos.

Figura 24 – Imagem histológica do controle negativo após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Cabeça-de-seta: epiderme original necrótica; seta: crosta; estrelas: inflamatório predominante de neutrófilos; TCD: tecido conjuntivo propriamente dito.

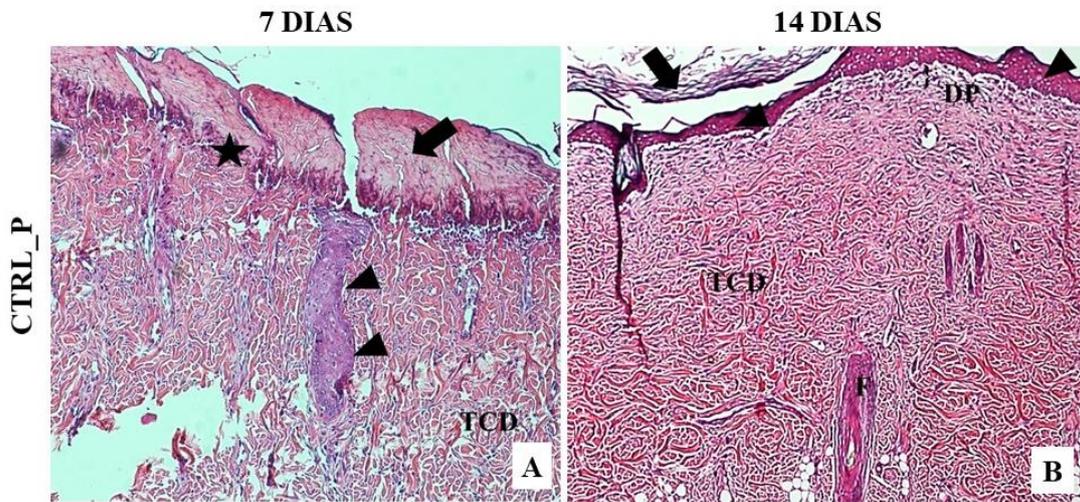


Fonte: Autoria própria

Em relação aos controles negativos (CTRL_N) de 14 dias, representado pela Figura 24 (B), observa-se que ocorreu reepitelização irregular, com áreas de epiderme espessa com acantose e papilomatose, além de derme mostrando tecido de granulação maduro. Nessas áreas de reepitelização, observa-se escassos anexos cutâneos. Um exemplar apresentou contração da ferida, com crosta espessa contendo fibrina, restos de neutrófilos e colônia de bactérias, com poucas células grandes e multinucleadas sem granulomas, sugerindo restos de material estranho. No geral, esse grupo, também apresentou sinais de infecção, como necrose e neutrófilos.

O controle positivo (CTRL_P), após 7 dias de intervenção cirúrgica, representado na Figura 25 (A), foi possível observar a presença de uma ferida grande com reepitelização parcial, infiltrado inflamatório, com atividade angiogênica exibindo vasos contendo neutrófilos e mastócitos ao redor. Nas áreas de reepitelização, o processo mostra cicatriz com tecido de granulação exibindo colágeno paralelo à superfície e aspecto jovem. Em um exemplar foi encontrado reação de corpo estranho. De um modo geral, a membrana de látex protegeu as feridas o que favoreceu melhor organização tecidual em relação aos grupos de controle negativo. Deste modo, agiu como um agente físico impedindo a desidratação pela perda de líquidos corpóreos pela área lesionada.

Figura 25: Imagem histológica do controle positivo após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Seta: camada córnea; cabeça-de-seta: nova epiderme; DP: derme papilar; estrela: inflamação; TCD: tecido conjuntivo propriamente dito; F: folículo piloso.

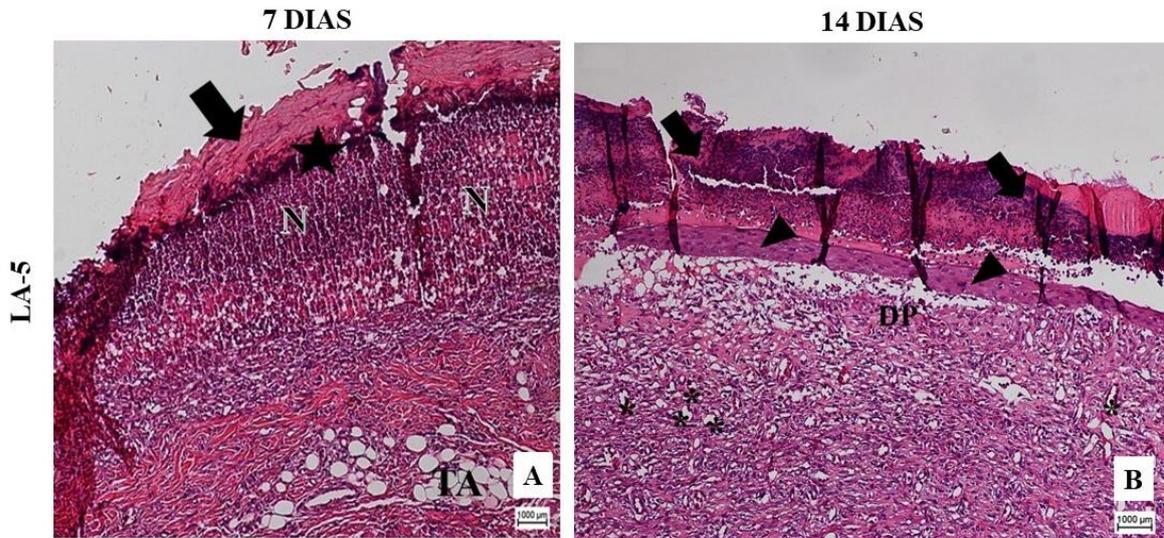


Fonte: Autoria própria

Quanto ao controle positivo (CTRL_P) de 14 dias, representado pela Figura 25 (B), o aspecto geral foi de cicatrização, com fechamento quase completo da ferida e presença de tecido de granulação maduro e áreas de contração em alguns exemplares. A permanência das membranas sobre os ferimentos controlados, favoreceram maior reepitelização, com presença de folículo piloso e derme papilar desenvolvida, porém ainda delgada.

Os resultados da análise histológica do grupo Látex com 5% de Arnica (LA5) após 7 dias, representado pela Figura 26 (A), mostraram que o fechamento da ferida foi quase total em alguns exemplares. A reepitelização foi evidenciada pela epiderme madura, com estrato granuloso, acantose e dilatação dos óstios foliculares. A derme apresentou aspecto fibrótico com tecido de granulação mais maduro em relação aos grupos anteriores. Há escassos vasos proliferados, demonstrando menor angiogênese em razão do extenso processo inflamatório. De um modo geral, houve boa resposta ao uso da membrana com 5% de arnica com reepitelização avançada e tecido de granulação maduro, quando comparado ao controle positivo.

Figura 26: Imagem histológica do grupo Látex + 5% de Arnica após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Seta: crosta; estrela: inflamação; N: necrose; TA: tecido adiposo; cabeça-de-seta: reepitelização; DP: derme papilar; *: capilares.

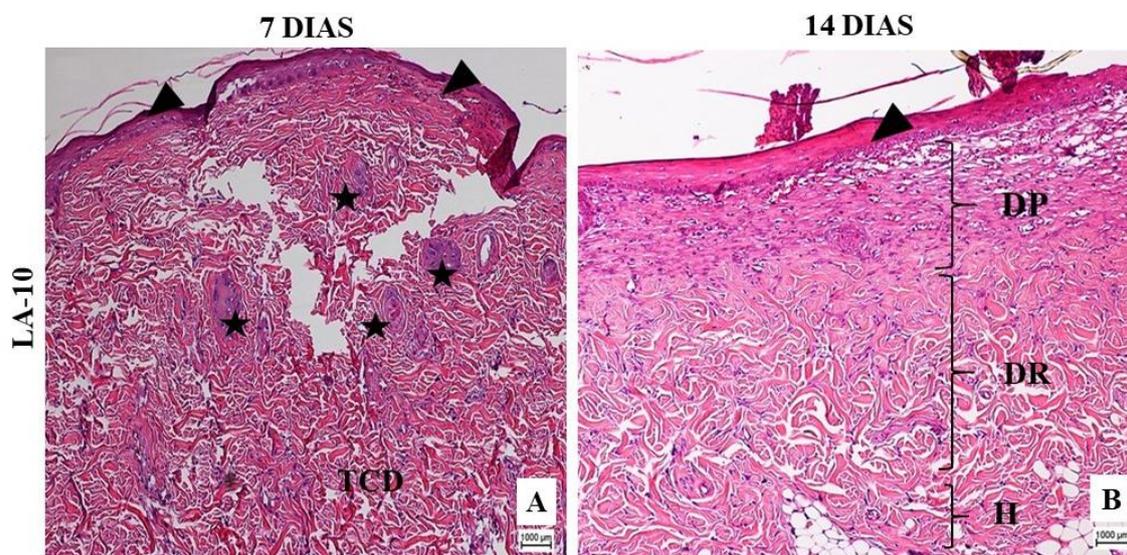


Fonte: Autoria própria

No grupo Látex com 5% de Arnica (LA5) após 14 dias, Figura 26 (B), apresentaram contração e fechamento parcial a quase total da área recoberta pela membrana, com neutrófilos adjacentes à crosta. Em um animal foi observado áreas reepitelizadas com cicatrização tardia e colágeno maduro. Neste grupo, a regeneração observada apresentou um tecido de granulação maduro, caracterizando com boa resposta na comparação com o controle positivo no mesmo período de tempo. De forma geral, esse grupo apresentou derme papilar mais espessa, com grande quantidade de capilares, indicando angiogênese, o que não pôde ser visto nos demais grupos descritos anteriormente.

Quanto ao grupo Látex com 10% de Arnica (LA10) após 7 dias, Figura 27 (A), o aspecto geral foi de reepitelização parcial, porém delgada o que evidencia início da regeneração da epiderme. A reação inflamatória aguda foi focal e pouco evidente, com presença de picnose além de extenso infiltrado inflamatório. Assim, a reepitelização e a formação da crosta foram mais evidentes em relação ao CTRL-P e LA5, ambos no mesmo período de 7 dias. Adicionalmente, são observadas bainhas epiteliais de folículos pilosos contendo núcleos picnóticos, o qual indicam acometimento de anexos cutâneos.

Figura 27: Imagem histológica do grupo Látex + 10% de Arnica após 7 (A esquerda) e 14 (B direita) dias. Cabeça-de-seta: reepitelização; estrela: proliferação de epitélio dos folículos pilosos; TCD: tecido conjuntivo propriamente dito; DP: derme papilar espessa, rica em fibroblastos; DR: derme reticular; H: hipoderme.



Fonte: Autoria própria

A histologia analisada no grupo Látex com 10% de Arnica (LA10) após 14 dias, Figura 27 (B), apresentaram fechamento irregular, com regeneração evidente contendo diversas áreas com reepitelização total inclusive no centro da lesão. Contudo o infiltrado inflamatório se mostrou persistente quando comparado ao LA5 no mesmo período. Os sinais de inflamação se mostram com dispersão esparsa tanto nas áreas na neo-derme papilar e das áreas contendo feixes colágenos. Embora a persistência de sinais inflamatórios tardios neste grupo, o mesmo foi considerado o que melhor regenerou em razão do recobrimento total da epiderme em todos os animais analisados, sendo possível identificar claramente a recomposição das três camadas da pele (epiderme, derme e hipoderme), inclusive, com a reconstituição das duas subcamadas da derme (derme papilar e reticular). A ausência de cristas epidérmicas e papilas dérmicas, indicam que o processo regenerativo é bem recente, e normalmente se formam em tempos posteriores ao analisado neste trabalho.

A cicatrização consiste na reparação de lesões e constituem uma fase inflamatória, o qual é mandatória e normal. Deste modo, a regeneração se direciona em diversas fases

distintas inflamatórias, as quais são nomeadas a seguir: 1) fase inflamatória; 2) proliferativa; 3) maturação (ŞAKRAK, *et al.*, 2012). Assim, os resultados experimentais reforçam essa visão, uma vez que as queimaduras cobertas com a membrana de látex ficaram mais protegidas contra infecções e perda de água, favorecendo proliferação celular e organização tecidual. A prevenção da perda de água na queimadura foi um fator que ocorreu devido a presença da membrana de látex, que pode ajudar na retenção dos líquidos, de modo a preservar uma certa umidade ao ferimento.

De acordo com Rosa e colaboradores (2019), o látex natural é capaz de estimular a angiogênese e o reparo tecidual, de forma que constitui uma opção de tratamento que pode ser extrapolada para diversas patologias, incluindo úlceras por pressão, neuropáticas e vasculares. Nesta mesma linha, os resultados experimentais deste estudo também estão de acordo com a literatura atual, já que as queimaduras de segundo grau cobertas com a membrana de látex tiveram melhor neovascularização e reepitelização.

Portanto, a análise dos resultados pós-experimental do grupo controle negativo e do grupo controle positivo demonstrou que a membrana de látex contribuiu para o processo de cicatrização da queimadura, visto que os ratos com a membrana foram menos expostos a agentes infectantes e tiveram melhor reepitelização do que os ratos sem a membrana, essa evidência demonstra o papel protetor de alguns biomateriais na proteção de infecções e prevenção de perdas de fluidos corporais, (DIXIT *et al.*, 2017) e do potencial benéfico do látex na angiogênese e regeneração celular (ZIMMERMANN *et al.*, 2007).

De acordo com Santos e colaboradores (2010), em seu estudo no qual avaliou-se a relação entre os mediadores inflamatórios prostaglandina E2 (PGE2) e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) com bioativos da *Lychnophora ericoides*, arnica nativa do Brasil, verificou-se que alguns componentes, como a vicenina-2, um flavonóide C-glicosilado, atuam inibindo de maneira dose-dependente a produção de PGE2, enquanto outros, como os ácidos cafeoilquínicos, em concentrações até 5-10 μ g/mL inibem a produção de mediadores inflamatórios, mas conforme a concentração aumenta, esses compostos passam a estimular a síntese de PGE2. Nesse aspecto, o presente estudo corrobora com esses achados, uma vez que ambas as concentrações (5 e 10%) de arnica na membrana de látex foram eficazes em reduzir a inflamação das feridas.

Ademais, em relação ao tempo (7 e 14 dias) dos curativos com a mesma concentração de arnica, os resultados apresentados pelo grupo de estudo com a membrana de látex com 10% de arnica, implantados por 14 dias (Figura 27) demonstraram melhor

resposta tecidual quando comparados ao grupo de 5% de arnica no mesmo intervalo de tempo (Figura 26), visto que tiveram reparação mais evidente, melhor reepitelização, demonstrando que a concentração de 10% de arnica favorece preferencialmente a regeneração tecidual em relação à concentração de 5% arnica.

Peculiarmente, quando comparado os grupos de 7 dias entre as duas concentrações de arnica, já há diferenças discrepantes visto que com 5% de arnica, ainda havia exsudato e crosta presentes, o que demonstra indícios de áreas cruentas na lesão, fato não identificado nas análises histológicas da arnica à 10% neste mesmo tempo. Portanto, a presença da arnica à 10% foi decisiva em período de tempo maior para favorecer o reparo tecidual. Em suma, a associação entre látex e arnica foi positiva para o tratamento de queimaduras de segundo grau, visto que os resultados experimentais reafirmaram as propriedades de favorecer a regeneração da epiderme e derme. A busca de literatura para comprovar os efeitos da arnica na regeneração cutânea é bastante escassa, sendo encontrado apenas um trabalho com resultados pouco representativos, no qual determina a atuação da arnica no favorecimento do reparo de lesões de pele (Huber, et al., 2011).

6 CONCLUSÕES

Membranas de látex e látex contendo 5 e 10% de arnica foram obtidas por casting. A purificação do látex pode ser verificada através dos espectros de FTIR devido à presença dos grupos químicos característicos do poliisopreno presente no látex antes e após a purificação. Quando se comparou os espectros, notou-se que após a purificação, as bandas entre 3500 e 3200 cm^{-1} e em 1539 cm^{-1} , referentes às proteínas e fosfolipídios diminuíram de intensidade, o que garante que a maior parte dos componentes não poliméricos foram removidos. Observou-se também as bandas dos diversos grupos químicos presentes nas fibras de arnica. Nas membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica, verificou-se a predominância das características espectrais do látex, sem nenhuma alteração em relação à membrana de látex. Esse fato pode estar relacionado com a diferença de polaridade dos dois constituintes, o látex com características mais apolares e as fibras de arnica com características mais polares, o que interfere na interação entre os mesmos. Esse comportamento foi confirmado através das análises do potencial zeta que evidenciaram que a presença das fibras de arnica na superfície da matriz de látex, conferiram a essas membranas uma característica mais hidrofílica.

As análises termogravimétricas não mostraram nenhuma alteração nas membranas de látex após a incorporação de 5 e 10% de arnica o que reforça a hipótese de que não houve uma interação química entre os dois compostos. Resultados obtidos através dos modelos de energia de ativação, mostraram que a adição das fibras de arnica na matriz de látex dificulta o processo de degradação térmica do material, porém, não houve melhora significativa na estabilidade térmica do látex, o que denota uma baixa interação entre os sistemas. A caracterização térmica por DSC demonstrou que a temperatura de transição vítrea da membrana de látex e das membranas de látex contendo 5 e 10% de arnica é de -68°C , -66°C e -67°C , respectivamente. Esse resultado corrobora com os demais resultados obtidos e fortalece a hipótese de que não há ligação química de intensidade significativa entre a matriz de látex e as fibras de arnica.

Os resultados obtidos através dos ensaios mecânico de tração das membranas de látex e látex contendo 5 e 10% de arnica, mostraram que a adição de arnica provocou alterações nas características mecânicas da matriz de látex (Módulo de Young, Tensão na Ruptura e Tensão no Escoamento), no entanto, quando esses resultados são minuciosamente explorados, observa-se e que o compósito de látex com arnica apresenta

baixos valores de interação interfacial (τ) e, portanto, há uma interação fraca entre a matriz e a fibra de modo a corroborar com os demais resultados.

A análise de permeação de vapor de água nas membranas de látex e látex contendo 5 e 10% de arnica, mostrou que a adição de fibras de arnica promoveu um aumento da adsorção de vapor de água à matriz de látex, de modo a facilitar a difusão do vapor através do compósito. Quanto ao teste de intumescimento, observa-se que as membranas de látex com adição de arnica apresentaram maiores valores de absorção de líquido quando comparadas com a membrana de látex. Essa maior capacidade de absorção está relacionada com a porção de fibras de arnica presente na membrana, corroborando, assim, com os resultados de Potencial Zeta e de Permeação de vapor de água.

Resultados de liberação obtidos para as membranas de látex com 5 e 10% de arnica, observou-se que o mecanismo de liberação obedece a um padrão biexponencial. O mecanismo de liberação apresentou um comportamento anômalo, de modo a não seguir um padrão Fickiano. Observou-se também que a maior quantidade de fibras de arnica na matriz de látex promoveu um aumento da concentração em cada tempo de incubação.

A avaliação histológica dos resultados *in vivo* demonstrou que as queimaduras cobertas com as membranas de látex apresentam uma maior proteção contra a infecção e a perda de água do ferimento. Essa condição é mais evidente para as membranas contendo 10% de arnica, pois favoreceu mais intensamente a proliferação celular e a organização tecidual, podendo ser indicada para tratamentos de queimadura de segundo grau.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Realizar o ensaio de ângulo de contato para as membranas obtidas, com o intuito de avaliar a mudança de tensão superficial provocada pela incorporação de arnica à matriz de látex.
- Submeter as membranas à análise de microscopia eletrônica de varredura para avaliar a distribuição das fibras de arnica na matriz de látex.
- Avaliar as propriedades reológicas das membranas obtidas.

REFERÊNCIAS

AGREBI, Fatma; GHORBEL, Nouha; BRESSON, Serge; ABBAS, Ouissam; KALLEL, Ali. Study of nanocomposites based on cellulose nanoparticles and natural rubber latex by ATR/FTIR spectroscopy: the impact of reinforcement. **Polymer Composites**, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 2076-2087, 28 set. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pc.24989>.

ALFREDO, Patrícia P.; ANARUMA, Carlos A.; PIÃO, Antônio C.s.; JOÃO, Silvia M.A.; CASAROTTO, Raquel A.. Effects of phonophoresis with Arnica montana onto acute inflammatory process in rat skeletal muscles: an experimental study. **Ultrasonics**, [S.L.], v. 49, n. 4-5, p. 466-471, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultras.2008.12.002>.

ANSELL, David M; IZETA, Ander. Pericytes in wound healing: friend or foe?. **Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 24, n. 11, p. 833-834, 15 set. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/exd.12782>.

ASADI, Nahideh; BAKHSHAYESH, Azizeh Rahmani del; DAVARAN, Soodabeh; AKBARZADEH, Abolfazl. Common biocompatible polymeric materials for tissue engineering and regenerative medicine. **Materials Chemistry And Physics**, [S.L.], v. 242, p. 001-036, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122528>.

ASIM, Mohammad; PARIDAH, Mohd T.; CHANDRASEKAR, M.; SHAHROZE, Rao M.; JAWAID, Mohammad; NASIR, Mohammed; SIAKENG, Ramengmawii. Thermal stability of natural fibers and their polymer composites. **Iranian Polymer Journal**, [S.L.], v. 29, n. 7, p. 625-648, 21 maio 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13726-020-00824-6>.

BARBER, A.H.; COHEN, S.R.; WAGNER, H.D. Measurement of carbon nanotube polymer interfacial strength. **Applied Physics Letters**, v. 82, n. 23, p. 4140-4142, 2003. <https://doi.org/10.1063/1.1579568>

BARROS, Mariel de; SILVA, Luisa Mota da; BOEING, Thaise; SOMENSI, Lincon Bordignon; CURY, Benhur Judah; BURCI, Ligia de Moura; SANTIN, José Roberto; ANDRADE, Sérgio Faloni de; MONACHE, Franco Delle; CECHINEL-FILHO, Valdir.

Pharmacological reports about gastroprotective effects of methanolic extract from leaves of *Solidago chilensis* (Brazilian arnica) and its components quercitrin and afzelin in rodents. **Naunyn-Schmiedeberg'S Archives Of Pharmacology**, [S.L.], v. 389, n. 4, p. 403-417, 13 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00210-015-1208-0>.

BARROS, Natan Roberto de; CHAGAS, Paulo Augusto Marques; BORGES, Felipe Azevedo; GEMEINDER, Jose Lucio Padua; MIRANDA, Matheus Carlos Romeiro; GARMS, Bruna Cambraia; HERCULANO, Rondinelli Donizetti. Diclofenac Potassium Transdermal Patches Using Natural Rubber Latex Biomembranes as Carrier. **Journal Of Materials**, [S.L.], v. 2015, p. 1-7, 8 nov. 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/807948>.

BARROS, Natan Roberto de; MIRANDA, Matheus Carlos Romeiro; BORGES, Felipe Azevedo; GEMEINDER, José Lúcio Pádua; MENDONÇA, Ricardo José de; CILLI, Eduardo Maffud; HERCULANO, Rondinelli Donizetti. Natural rubber latex: development and in vitro characterization of a future transdermal patch for enuresis treatment. **International Journal Of Polymeric Materials And Polymeric Biomaterials**, [S.L.], v. 66, n. 17, p. 871-876, 28 ago. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00914037.2017.1280795>.

BARROS, Natan Roberto de; MIRANDA, Matheus Carlos Romeiro; BORGES, Felipe Azevedo; MENDONÇA, Ricardo José de; CILLI, Eduardo Maffud; HERCULANO, Rondinelli Donizetti. Oxytocin Sustained Release Using Natural Rubber Latex Membranes. **International Journal Of Peptide Research And Therapeutics**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 435-444, 16 mar. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10989-016-9523-y>.

BELLMANN, C.; CASPARI, A.; ALBRECHT, V.; DOAN, T.T. Loan; MÄDER, E.; LUXBACHER, T.; KOHL, R.. Electrokinetic properties of natural fibres. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 267, n. 1-3, p. 19-23, out. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.06.033>.

BERMAN, Brian; MADERAL, Andrea; RAPHAEL, Brian. Keloids and Hypertrophic Scars. **Dermatologic Surgery**, [S.L.], v. 43, p. 3-18, jan. 2017. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/dss.0000000000000819>.

BHATIA, Saurabh. Natural Polymers vs Synthetic Polymer. In: BHATIA, Saurabh. **Natural Polymer Drug Delivery Systems: nanoparticles, plants, and algae**. Switzerland: Springer, 2016. Cap. 3. p. 35-119.

BIJARIMI, Mohd; AHMAD, Sahrim; RASID, Rozaidi. Mechanical, thermal and morphological properties of poly(lactic acid)/epoxidized natural rubber blends. **Journal Of Elastomers & Plastics**, [S.L.], v. 46, n. 4, p. 338-354, 27 dez. 2012. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0095244312468442>

BIOMATERIALS, ELSEVIER; 2019, <https://www.journals.elsevier.com/biomaterials>; (Acessado junho 18, 2020).

BLOEMEN, M.C.T.; VAN ZUIJLEN, P.P.M.; MIDDELKOOP, E.. Reliability of subjective wound assessment. **Burns**, [S.L.], v. 37, n. 4, p. 566-571, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2011.02.004>.

BOATENG, Joshua; CATANZANO, Ovidio. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing—A Review. **Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 104, n. 11, p. 3653-3680, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1002/jps.24610>.

BORENA, Bizunesh M.; MARTENS, Ann; BROECKX, Sarah Y.; MEYER, Evelyne; CHIERS, Koen; DUCHATEAU, Luc; SPAAS, Jan H.. Regenerative Skin Wound Healing in Mammals: state-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments. **Cellular Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 1-23, 2015. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000374049>.

BORGES, Felipe Azevedo; BOLOGNESI, Luis Felipe Cesar; TRECCO, Alberto; DRAGO, Bruno de Camargo; ARRUDA, Larisa Baldo de; LISBOA FILHO, Paulo Noronha; PIERRI, Elaise Gonçalves; GRAEFF, Carlos Frederico de Oliveira; SANTOS, André Gonzaga dos; MIRANDA, Matheus Carlos Romeiro. Natural Rubber Latex: study of a novel carrier for *Casearia sylvestris* Swartz delivery. **Isrn Polymer Science**, [S.L.], v. 2014, p. 1-5, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/241297>.

BOTTIER, Céline. Biochemical composition of *Hevea brasiliensis* latex: a focus on the protein, lipid, carbohydrate and mineral contents. **Advances In Botanical Research**, [S.L.], p. 201-237, 2020. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2019.11.003>

BOYCE, Steven; CHANG, Philip; WARNER, Petra. Burn Dressings and Skin Substitutes. **Biomaterials Science**, [S.L.], p. 1169-1180, 2020. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-816137-1.00074-x>.

BRAS, Julien; HASSAN, Mohammad L.; BRUZESSE, Cecile; HASSAN, Enas A.; EL-WAKIL, Nahla A.; DUFRESNE, Alain. Mechanical, barrier, and biodegradability properties of bagasse cellulose whiskers reinforced natural rubber nanocomposites. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 627-633, nov. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.07.018>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção À Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Cartilha para tratamento de emergência das queimaduras**. 2012. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cartilha_tratamento_emergencia_queimaduras.pdf. Acesso em: 20 jan. 2020.

CANCIO, Leopoldo C.; BOHANON, Fredrick J.; KRAMER, George C.. Burn Resuscitation. **Total Burn Care**, [S.L.], p. 77-86, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-47661-4.00009-5>.

CAPELARI-OLIVEIRA, P.; PAULA, C.A.; REZENDE, S.A.; CAMPOS, F.T.; GRABE-GUIMARÃES, A.; LOMBARDI, J.A.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A.. Anti-inflammatory activity of *Lychnophora passerina*, Asteraceae (Brazilian “Arnica”). **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 135, n. 2, p. 393-398, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.03.034>.

CASTRO, Fabiene C.B.; MAGRE, Amanda; CHERPINSKI, Ricardo; ZELANTE, Paulo M.; NEVES, Lia M.G.; ESQUISATTO, Marcelo A.M.; MENDONÇA, Fernanda A.s.; SANTOS, Gláucia M.T.. Effects of microcurrent application alone or in combination with topical *Hypericum perforatum* L. and *Arnica montana* L. on surgically induced wound healing in Wistar rats. **Homeopathy**, [S.L.], v. 101, n. 3, p. 147-153, jul. 2012. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1016/j.homp.2012.05.006>.

CESAR, Mariana Biondi; BORGES, Felipe Azevedo; BILCK, Ana Paula; YAMASHITA, Fábio; PAULINO, Cristiane Garcia; HERCULANO, Rondinelli Donizetti. Development and Characterization of Natural Rubber Latex and Polylactic Acid Membranes for Biomedical Application. **Journal Of Polymers And The**

Environment, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 220-230, 31 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-019-01596-8>.

CHEN, Qizhi; LIANG, Shuling; THOUAS, George A.. Elastomeric biomaterials for tissue engineering. **Progress In Polymer Science**, [S.L.], v. 38, n. 3-4, p. 584-671, mar. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003>.

CHERUKUPALLI, A.; DUAN, N.; PAPP, A.. A third of referrals are unnecessary: critical review of burn outpatient clinic data. **Burns**, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 805-817, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2019.03.013>.

CHOUHAN, Dimple; DEY, Namit; BHARDWAJ, Nandana; MANDAL, Biman B.. Emerging and innovative approaches for wound healing and skin regeneration: current status and advances. **Biomaterials**, [S.L.], v. 216, p. 1-69, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119267>.

CIFRIADI,; CHALID, M; PUSPITASARI, S. Effect of urea deproteinization on catalytic hydrogenation of natural rubber latex. **Iop Conference Series: Materials Science and Engineering**, [S.L.], v. 223, p. 1-12, jul. 2017. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899x/223/1/012010>.

DIAS, Fernando J.; ISSA, João Paulo M.; COUTINHO-NETTO, Joaquim; FAZAN, Valéria P.s.; SOUSA, Luiz Gustavo; IYOMASA, Mamie M.; PAPA, Paula C.; WATANABE, II-Sei. Morphometric and high resolution scanning electron microscopy analysis of low-level laser therapy and latex protein (*Hevea brasiliensis*) administration following a crush injury of the sciatic nerve in rats. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 349, n. 1-2, p. 129-137, fev. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2014.12.043>.

DICK, T.A.; SANTOS, L.A. dos. In situ synthesis and characterization of hydroxyapatite/natural rubber composites for biomedical applications. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 77, p. 874-882, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.301>.

DIXIT, Saurabh; BAGANIZI, Dieudonné R.; SAHU, Rajnish; DOSUNMU, Ejowke; CHAUDHARI, Atul; VIG, Komal; PILLAI, Shreekumar R.; SINGH, Shree R.; DENNIS, Vida A.. Immunological challenges associated with artificial skin grafts: available

solutions and stem cells in future design of synthetic skin. **Journal Of Biological Engineering**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 2-23, dez. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13036-017-0089-9>.

Eichhorn, S.J., Dufresne, A., Aranguren, M., Marcovich, N.E., Capadona, J.R., Rowan, S.J., Weder, C., Thielemans, W., Roman, M., Renneckar, S., Gindl, W., Veigel, S., Keckes, J., Yano, H., Abe, K., Nogi, M., Nakagaito, A.N., Mangalam, A., Simonsen, J., Benight, A.S., Bismarck, A., Berglund, L.A., Peijs, T. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 45, n.1, p.1-33, 2010. DOI: 10.1007/s10853-009-3874-0

FERNANDES, Felipe H. A.; SANTANA, Cleildo P.; SANTOS, Ravelly L.; CORREIA, Lidiane P.; CONCEIÇÃO, Marta M.; MACÊDO, Rui O.; MEDEIROS, Ana Cláudia D. Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. **Journal Of Thermal Analysis And Calorimetry**, [S.L.], v. 113, n. 2, p. 443-447, 12 dez. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10973-012-2807-3>.

FLORIANO, Juliana Ferreira; BARROS, Natan Roberto de; CINMAN, José Luiz Ferreira; SILVA, Rosangela Gonçalves da; LOFFREDO, Augusto Villela; BORGES, Felipe Azevedo; NORBERTO, Ana Maria Queiros; CHAGAS, Ana Laura Destro; GARMS, Bruna Cambraia; GRAEFF, Carlos Frederico de Oliveira. Ketoprofen Loaded in Natural Rubber Latex Transdermal Patch for Tendinitis Treatment. **Journal Of Polymers And The Environment**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 2281-2289, 10 out. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-017-1127-x>.

GALIANO, Francesco; BRICEÑO, Kelly; MARINO, Tiziana; MOLINO, Antonio; CHRISTENSEN, Knud Villy; FIGOLI, Alberto. Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications. **Journal Of Membrane Science**, [S.L.], v. 564, p. 562-586, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2018.07.059>.

GAUGLITZ, Gerd G.; KORTING, Hans C.; PAVICIC, Tatiana; RUZICKA, Thomas; JESCHKE, Marc G.. Hypertrophic Scarring and Keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. **Molecular Medicine**, [S.L.], v. 17, n. 1-2, p. 113-125,

5 out. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2119/molmed.2009.00153>.

GAUGLITZ, Gerd. Management of keloids and hypertrophic scars: current and emerging options. **Clinical, Cosmetic And Investigational Dermatology**, [S.L.], p. 103-114, abr. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ccid.s35252>.

GERVASO, Francesca; SANNINO, Alessandro; PERETTI, Giuseppe. The biomaterialist's task: scaffold biomaterials and fabrication technologies. **Joints**, [S.L.], v. 01, n. 03, p. 130-137, jul. 2013. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.11138/jts/2013.1.3.130>.

GHASEMI-MOBARAKEH, Laleh; KOLAHREEZ, Davood; RAMAKRISHNA, Seeram; WILLIAMS, David. Key terminology in biomaterials and biocompatibility. **Current Opinion In Biomedical Engineering**, [S.L.], v. 10, p. 45-50, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cobme.2019.02.004>.

GUO, Baolin; MA, Peter X.. Conducting Polymers for Tissue Engineering. **Biomacromolecules**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 1764-1782, 23 abr. 2018. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00276>.

GURTNER, Geoffrey C.; WERNER, Sabine; BARRANDON, Yann; LONGAKER, Michael T.. Wound repair and regeneration. **Nature**, [S.L.], v. 453, n. 7193, p. 314-321, maio 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nature07039>.

GURTNER, Geoffrey C. M.D.; EVANS, Gregory R. D. M.D. Advances in Head and Neck Reconstruction, **Plastic and Reconstructive Surgery**: September 2000 - Volume 106 - Issue 3 - p 672-682

HEHER, P.; MÜHLEDER, S.; MITTERMAYR, R.; REDL, H.; SLEZAK, P.. Fibrin-based delivery strategies for acute and chronic wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 129, p. 134-147, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2017.12.007>.

HUANG, Shu-Mei; WU, Ching-Shuang; CHIU, Min-Hsi; WU, Chin-Han; CHANG, Yu-Tang; CHEN, Gwo-Shing; LAN, Cheng-Che E.. High glucose environment induces M1 macrophage polarization that impairs keratinocyte migration via TNF- α : an important

mechanism to delay the diabetic wound healing. **Journal Of Dermatological Science**, [S.L.], v. 96, n. 3, p. 159-167, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2019.11.004>.

HUBER, Roman; BROSS, Felix; SCHEMPP, Christoph; GRÜNDEMANN, Carsten. Arnica and stinging nettle for treating burns – A self-experiment. **Complementary Therapies In Medicine**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 276-280, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctim.2011.08.001>.

IANNITTI, Tommaso; MORALES-MEDINA, Julio César; BELLAVITE, Paolo; ROTTIGNI, Valentina; PALMIERI, Beniamino. Effectiveness and Safety of Arnica montana in Post-Surgical Setting, Pain and Inflammation. **American Journal Of Therapeutics**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 184-197, 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/mjt.0000000000000036>.

JOHNSON, Christopher. Management of burns. **Surgery (Oxford)**, [S.L.], v. 36, n. 8, p. 435-440, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2018.05.004>

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. Histologia básica: texto e atlas. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KALLIANTAS, D; KALLIANTA, M; KORDATOS. K; KARAGIANNI, S. The nanostructure character of Arnica montana as ultra high diluted succussed solution medicinal product. Recent advances and prospects. **J Nanomed**. 2020; 3(1): 1021.

KARIM, Aos S.; SHAUM, Katherine; GIBSON, Angela L.F.. Indeterminate-Depth Burn Injury—Exploring the Uncertainty. **Journal Of Surgical Research**, [S.L.], v. 245, p. 183-197, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2019.07.063>.

KRIPLANI, Priyanka; GUARVE, Kumar; BAGHAEL, Uttam S.. Arnica montana L. - a plant of healing: review. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [S.L.], v. 69, n. 8, p. 925-945, 11 abr. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jphp.12724>.

KRUPP, Tamires; SANTOS, Bruna Daniele dos; GAMA, Loyane Almeida; SILVA, Josmary Rodrigues; ARRAIS-SILVA, Wagner Welber; SOUZA, Nara Cristina de; AMÉRICO, Madileine Francely; SOUTO, Paula Cristina de Souza. NATURAL RUBBER - PROPOLIS MEMBRANE IMPROVES WOUND HEALING IN SECOND-

DEGREE BURNING MODEL. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 131, p. 980-988, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.147>.

LECORRE, Déborah S.; BRAS, Julien; DUFRESNE, Alain. Influence of the Botanic Origin of Starch Nanocrystals on the Morphological and Mechanical Properties of Natural Rubber Nanocomposites. **Macromolecular Materials And Engineering**, [S.L.], v. 297, n. 10, p. 969-978, 13 jul. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mame.201100317>.

LIMBERT, Georges. Mathematical and computational modelling of skin biophysics: a review. **Proceedings Of The Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, [S.L.], v. 473, n. 2203, p. 1-39, jul. 2017. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspa.2017.0257>.

LOEUILLE, Benoît; SEMIR, João; LOHMANN, Lúcia G.; PIRANI, José R.. A Phylogenetic Analysis of Lychnophorinae (Asteraceae: vernonieae) based on molecular and morphological data. **Systematic Botany**, [S.L.], v. 40, n. 1, p. 299-315, 1 fev. 2015. American Society of Plant Taxonomists. <http://dx.doi.org/10.1600/036364415x686585>.

MACNEIL, S. Biomaterials for tissueengineering of skin. *Materials Today*, v. 11, n. 5, p. 26–35, 1 maio 2008.

MANO, J.F; SILVA, G.A; AZEVEDO, H.S; MALAFAYA, P.B; SOUSA, R.A; SILVA, S.S; BOESEL, L.F; OLIVEIRA, J.M; SANTOS, T.C; MARQUES, A.P. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. **Journal Of The Royal Society Interface**, [S.L.], v. 4, n. 17, p. 999-1030, 3 abr. 2007. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2007.0220>.

MARCELINO, Mônica Yonashiro; BORGES, Felipe Azevedo; COSTA, Ana Flávia Martins; SINGULANI, Junya de Lacorte; RIBEIRO, Nathan Vinícius; COSTA-ORLANDI, Caroline Barcelos; GARMS, Bruna Cambraia; MENDES-GIANNINI, Maria José Soares; HERCULANO, Rondinelli Donizetti; FUSCO-ALMEIDA, Ana Marisa. Antifungal activity of fluconazole-loaded natural rubber latex against *Candida albicans*. **Future Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 359-367, mar. 2018. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/fmb-2017-0154>.

MARCUS, Joseph E.; PIPER, Lydia C.; AINSWORTH, Craig R.; SAMS, Valerie G.; BATCHINSKY, Andriy; OKULICZ, Jason F.; BARSOUMIAN, Alice E.. Infections in patients with burn injuries receiving extracorporeal membrane oxygenation. **Burns**, [S.L.], v. 45, n. 8, p. 1880-1887, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2019.04.023>.

MARZOTTO, Marta; BONAFINI, Clara; BRIZZI, Maurizio; BELLAVITE, Paolo; OLIOSO, Debora. Arnica montana effects on gene expression in a human macrophage cell line. Evaluation by quantitative Real-Time PCR. **Homeopathy**, [S.L.], v. 105, n. 02, p. 131-147, maio 2016. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1016/j.homp.2016.02.001>.

MCKEEN, Laurence W. Introduction to Permeation of Plastics and Elastomers. **Permeability Properties Of Plastics And Elastomers**, [S.L.], p. 1-19, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-50859-9.00001-4>.

MEKONNEN, Tizazu H.; AH-LEUNG, Tracyl; HOJABR, Sassan; BERRY, Richard. Investigation of the co-coagulation of natural rubber latex and cellulose nanocrystals aqueous dispersion. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, [S.L.], v. 583, p. 123949, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123949>.

MIRANDA, M. C. R.; PREZOTTI, F. G.; BORGES, F. A.; BARROS, N. R.; CURY, B. S. F.; HERCULANO, R. D.; CILLI, E. M.. Porosity effects of natural latex (*Hevea brasiliensis*) on release of compounds for biomedical applications. **Journal Of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [S.L.], v. 28, n. 18, p. 2117-2130, 17 set. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09205063.2017.1377024>.

MORELLI, F. C.; RUVOLLO FILHO, A. Nanocompósitos de polipropileno e argila organofílica: difração de raio X, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e permeação ao vapor d'água. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p. 121–125, jun. 2010.

NAKANISHI, Erika Yukari; CABRAL, Matheus Roberto; GONÇALVES, Paulo de Souza; SANTOS, Valdemir dos; SAVASTANO JUNIOR, Holmer. Formaldehyde-free particleboards using natural latex as the polymeric binder. **Journal Of Cleaner Production**, [S.L.], v. 195, p. 1259-1269, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.019>.

NAWAMAWAT, Kanjane; SAKDAPIPANICH, Jitladda T.; HO, Chee C.; MA, Yujie; SONG, Jing; VANCOSO, Julius G.. Surface nanostructure of Hevea brasiliensis natural rubber latex particles. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 390, n. 1-3, p. 157-166, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.021>.

Osoka, E.C. & Onukwuli, O.D. A Modified Halpin-Tsai Model for Estimating the Modulus of Natural Fiber Reinforced Composites. **International Journal of Engineering Science Invention**, v. 7, p. 63-70, 2018.

PAPINI, Remo. Management of burn injuries of various depths. **Bmj**, [S.L.], v. 329, n. 7458, p. 158-160, 15 jul. 2004. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.329.7458.158>.

PHAECHAMUD, Thawatchai; ISSARAYUNGYUEN, Pongsathorn; PICHAYAKORN, Wiwat. Gentamicin sulfate-loaded porous natural rubber films for wound dressing. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 85, p. 634-644, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.040>.

PINHO, Erika Christina Canarim Martha de; CHAHUD, Fernando; LACHAT, João-José; COUTINHO-NETTO, Joaquim José; SOUSA, Sidney Julio Faria e. The study of the use of a latex biomembrane and conjunctival autograft in rabbit conjunctiva wound healing. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, [S.L.], v. 81, n. 2, p. 125-129, 2018. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/0004-2749.20180028>.

PISSARENKO, Andrei; MEYERS, Marc A.. The materials science of skin: analysis, characterization, and modeling. **Progress In Materials Science**, [S.L.], v. 110, p. 1-147, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmatsci.2019.100634>.

PLOHL, Olivija; ZEMLJIČ, Lidija Fras; POTRČ, Sanja; LUXBACHER, Thomas. Applicability of electro-osmotic flow for the analysis of the surface zeta potential. **Rsc Advances**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 6777-6789, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c9ra10414c>.

PONGSATHIT, Siriwan; PATTAMAPROM, Cattaleeya. Irradiation grafting of natural rubber latex with maleic anhydride and its compatibilization of poly(lactic acid)/natural rubber blends. **Radiation Physics And Chemistry**, [S.L.], v. 144, p. 13-20, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.11.006>.

PURKAIT B, SHARMA A, identification and characterization of medicinally active ingredient of endangered plant arnica montana. *Int J Pharm Chem Anal* 2015;2(2):59-64

RAHMATI, Maryam; PENNISI, Cristian Pablo; BUDD, Emma; MOBASHERI, Ali; MOZAFARI, Masoud. Biomaterials for Regenerative Medicine: historical perspectives and current trends. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], p. 1-19, 2018. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/5584_2018_278.

RODRIGUES, Melanie; KOSARIC, Nina; BONHAM, Clark A.; GURTNER, Geoffrey C.. Wound Healing: a cellular perspective. **Physiological Reviews**, [S.L.], v. 99, n. 1, p. 665-706, 1 jan. 2019. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>.

ROLERE, Sébastien; LIENGPRAYOON, Siriluck; VAYSSE, Laurent; SAINTE-BEUVE, Jérôme; BONFILS, Frédéric. Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: a rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. *Polymer Testing*, [S.L.], v. 43, p. 83-93, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2015.02.011>.

ROSA, Suélia de Siqueira Rodrigues Fleury; ROSA, Mário Fabrício Fleury; FONSECA, Marcos Augusto Moutinho; LUZ, Glécia Virgolino da Silva; AVILA, Carlos Federico Domínguez; DOMÍNGUEZ, Aldira Guimarães Duarte; DANTAS, Aldene Guimarães Duarte; RICHTER, Von Braun. Evidence in Practice of Tissue Healing with Latex Biomembrane: integrative review. **Journal Of Diabetes Research**, [S.L.], v. 2019, p. 1-17, 3 mar. 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/7457295>.

RUNGWATTANA, Kanin; KASEMSAP, Poonpipope; PHUMICHAJ, Thitaporn; KANPANON, Nicha; RATTANAWONG, Ratchanee; HIETZ, Peter. Trait evolution in tropical rubber (*Hevea brasiliensis*) trees is related to dry season intensity. **Functional Ecology**, [S.L.], v. 32, n. 12, p. 2638-2651, 20 set. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.13203>.

SAIJUN, Diew et al. Water absorption and mechanical properties of water-swella-ble natural rubber. **Sonklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 31, n. 5, p. 561, 2009.

ŞAKRAK, Tamer; KÖSE, Ayşe Aydan; KIVANÇ, Özgen; ÖZER, Mehmet Caner; COŞAN, Didem Turgut; SOYOCAK, Ahu; KARABAGLI, Yakup; ÇETIN, Cengiz. The effects of combined application of autogenous fibroblast cell culture and full-tissue skin graft (FTSG) on wound healing and contraction in full-thickness tissue defects. **Burns**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 225-231, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2011.08.015>.

SALGADO, Rosa M.; ALCÁNTARA, Luz; MENDOZA-RODRÍGUEZ, C. Adriana; CERBÓN, Marco; HIDALGO-GONZÁLEZ, Christian; MERCADILLO, Patricia; MORENO, Luis M.; ÁLVAREZ-JIMÉNEZ, Ricardo; KRÖTZSCH, Edgar. Post-burn hypertrophic scars are characterized by high levels of IL-1 β mRNA and protein and TNF- α type I receptors. **Burns**, [S.L.], v. 38, n. 5, p. 668-676, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2011.12.012>.

SANSATSADEEKUL, Jitlada; SAKDAPIPANICH, Jitladda; ROJRUTHAI, Porntip. Characterization of associated proteins and phospholipids in natural rubber latex. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 111, n. 6, p. 628-634, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.01.013>.

SANTOS, M. D. et al. Effects of caffeoylquinic acid derivatives and C-flavonoid from *Lychnophora ericoides* on in vitro inflammatory mediator production. **Nat Prod Commum**, v. 5, n. 5, p. 733-740, 2010

SHMAEFSKY, Brian R.. **Applied Anatomy and Physiology: a case study approach**. Eua: Paradigm Publishing, 2007. 560 p.

SINGER, Adam J.; HIRTH, Douglas; MCCLAIN, Steve A.; CLARK, Richard A.F.. Lack of Agreement Between Gross Visual and Histological Assessment of Burn Reepithelialization in a Porcine Burn Model. **Journal Of Burn Care & Research**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 286-290, 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1097/bcr.0b013e3182331de2>.

SINGH, Manroshan. The Colloidal Properties of Commercial Natural Rubber Latex Concentrates. **Journal Of Rubber Research**, [S.L.], v. 21, n. 2, p. 119-134, jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf03449165>.

SINGH, Manroshan; RASDI, Fatimah Rubaizah Mohd. Colloidal properties of epoxidized natural rubber latex prepared via membrane separation technology. **Journal Of Rubber Research**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 153-167, 19 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42464-019-00029-4>.

STROPA, Jusinei M.; HERRERO, Aline S.; OLIVEIRA, Silvio C.; CAVALHEIRO, Alberto A.; DANTAS, Renato F.; OLIVEIRA, Samuel L.; MACHULEK JUNIOR, Amilcar; OLIVEIRA, Lincoln C. S.. Use of Natural Rubber Membranes as Support for Powder TiO₂ and Ag/TiO₂ Photocatalysts. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], p. 575-583, 2015. Sociedade Brasileira de Quimica (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150293>.

ŠUTOVSKÁ, M.; CAPEK, P.; KOČMALOVÁ, M.; PAWLACZYK, I.; ZACZYŃSKA, E.; CZARNY, A.; UHLIARIKOVÁ, I.; GANCARZ, R.; FRAŇOVÁ, S.. Characterization and pharmacodynamic properties of Arnica montana complex. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 69, p. 214-221, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.051>.

SUKSAEREE, Jirapornchai; BOONME, Prapaporn; TAWEEPREDA, Wirach; RITTHIDEJ, Garnpimol C.; PICHAYAKORN, Wiwat. Characterization, in vitro release and permeation studies of nicotine transdermal patches prepared from deproteinized natural rubber latex blends. **Chemical Engineering Research And Design**, [S.L.], v. 90, n. 7, p. 906-914, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2011.11.002>.

TAHIR, H; MISRAN, M. Natural rubber latex (NRL) waste protein purified at various pH condition and metal extraction studies. **Journal Of Physics: Conference Series**, [S.L.], v. 1349, p. 012062, nov. 2019. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/1349/1/012062>.

TAKEO, M.; LEE, W.; ITO, M.. Wound Healing and Skin Regeneration. **Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-13, 1 jan. 2015. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a023267>.

TSUNEIZUMI, Yota; KUWAHARA, Maiko; OKAMOTO, Kohei; MATSUMURA, Shuichi. Chemical recycling of poly(lactic acid)-based polymer blends using environmentally benign catalysts. **Polymer Degradation And Stability**, [S.L.], v. 95, n.

8, p. 1387-1393, ago. 2010. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.01.019>.

WAIPRIB, Rungtiwa; BOONME, Prapaporn; TAWEEPRED, Wirach; KALKORNSURAPRANEE, Ekwipoo; SUKSAEREE, Jirapornchai; PICHAYAKORN, Wiwat. Deproteinized natural rubber latex/gelatinized starch blended films as drug delivery carrier. **Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly**, [S.L.], v. 148, n. 7, p. 1223-1228, 7 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00706-017-2005-x>.

WALKER, H. L.; MASON, A. D. Jr. A standard animal burn. **J. Trauma**, Baltimore, v. 8, n. 6, p. 1049-1051, 1968

WERNER, Sabine; KRIEG, Thomas; SMOLA, Hans. Keratinocyte–Fibroblast Interactions in Wound Healing. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 127, n. 5, p. 998-1008, maio 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jid.5700786>.

WILGUS, Traci A.; ROY, Sashwati; MCDANIEL, Jodi C.. Neutrophils and Wound Repair: positive actions and negative reactions. **Advances In Wound Care**, [S.L.], v. 2, n. 7, p. 379-388, set. 2013. Mary Ann Liebert Inc.
<http://dx.doi.org/10.1089/wound.2012.0383>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (org.). **Burn**: factsheet. Factsheet. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>. Acesso em: 15 jan. 2020.

XU, Chuanhui; CAO, Liming; LIN, Baofeng; LIANG, Xingquan; CHEN, Yukun. Design of Self-Healing Supramolecular Rubbers by Introducing Ionic Cross-Links into Natural Rubber via a Controlled Vulcanization. **Acs Applied Materials & Interfaces**, [S.L.], v. 8, n. 27, p. 17728-17737, 30 jun. 2016. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/acsami.6b05941>.

YAGMUR, Caglayan; AKAISHI, Satoshi; OGAWA, Rei; GUNEREN, Ethem. Mechanical Receptor–Related Mechanisms in Scar Management: a review and hypothesis. **Plastic And Reconstructive Surgery**, [S.L.], v. 126, n. 2, p. 426-434, ago. 2010. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
<http://dx.doi.org/10.1097/prs.0b013e3181df715d>.

YANTABOOT, Kanokwan; AMORNSAKCHAI, Taweechai. Effect of mastication time on the low strain properties of short pineapple leaf fiber reinforced natural rubber composites. **Polymer Testing**, [S.L.], v. 57, p. 31-37, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2016.11.006>.

ZANCANELA, Daniela Cervelle; HERCULANO, Rondinelli Donizetti; FUNARI, Cristiano Soleo; MARCOS, Caroline Maria; ALMEIDA, Ana Marisa Fusco; GUASTALDI, Antônio Carlos. Physical, chemical and antimicrobial implications of the association of propolis with a natural rubber latex membrane. **Materials Letters**, [S.L.], v. 209, p. 39-42, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2017.07.093>

ZHANG, Tao; WANG, Xiao-Feng; WANG, Zheng-Cai; LOU, Dong; FANG, Qing-Qing; HU, Yan-Yan; ZHAO, Wan-Yi; ZHANG, Li-Yun; WU, Li-Hong; TAN, Wei-Qiang. Current potential therapeutic strategies targeting the TGF- β /Smad signaling pathway to attenuate keloid and hypertrophic scar formation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 129, p. 1-12, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110287>.

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.