



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
MATERIAIS

PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE GOMAS DO GÊNERO *Sterculia*
QUIMICAMENTE MODIFICADAS COM ANIDRIDO MALEICO

Solranny Carla Cavalcante Costa e Silva

Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho

Teresina - Piauí

2016

SOLRANNY CARLA CAVALCANTE COSTA E SILVA

**PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE GOMAS DO GÊNERO *Sterculia*
QUIMICAMENTE MODIFICADAS COM ANIDRIDO MALEICO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito complementar à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho

Teresina-Piauí

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processamento Técnico

S586p

Silva, Solranny Carla Cavalcante Costa e.

Propriedades biológicas de gomas do gênero *sterculia*
quimicamente modificadas com anidrido maleico / Solranny Carla
Cavalcante Costa e Silva – 2016.

76 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) –
Universidade Federal do Piauí, 2016.

“Orientação: Prof^a. Dr^a. Durcilene Alves da Silva.”

1. Anidrido. 2. Atividade Antimicrobiana. 3. Goma Caraia. 4.
Goma de Chichá. 5. Modificação. 6. Toxicidade. I. Edson Cavalcanti
da Silva Filho. II. Título.

CDD 547.783

**PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE GOMAS DO GÊNERO *Sterculia*
QUIMICAMENTE MODIFICADAS COM ANIDRIDO MALEICO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Aprovada em: 27/04/2016



Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva
Universidade Federal do Piauí
Orientadora



Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho
Universidade Federal do Piauí
Coorientador



Profa. Dra. Carla Eiras
Universidade Federal do Piauí
Examinadora Interna



Profa. Dra. Marina de Oliveira Cardoso Macedo
Instituto Federal do Piauí
Examinadora Externa

Teresina-PI

2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, meu bem mais precioso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por permitir a realização deste trabalho, por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho, que sempre me ajudaram de boa vontade, e por me acalmar nos momentos mais difíceis.

Agradeço à minha família, minha mãe Raimunda e meu pai José Carlos por me ensinarem a ter caráter, fé e determinação, mesmo em meio a tanta humildade. Aos meus irmãos Solrac, Sidney e Stanley, por auxiliarem em minha formação, ajudando a enfrentar momentos de dificuldades e compartilhando momentos de alegria. Às minhas irmãs Soraia (*in memoriam*) e Sofia, por me ensinarem que família é família não importa o que aconteça. E aos demais familiares que sempre se fazem presentes, mas que não tenho como citar aqui porque a família é muito grande.

Agradeço a meu esposo, amigo e companheiro, Elton, por todo o amor, apoio, paciência, por se fazer sempre presente nos melhores e nos piores momentos. Por me ajudar a entender o que eu precisava, por me completar. Aos meus filhos Cecília e Cauê por todo amor, carinho e por encherem minha vida de felicidade.

À minha orientadora Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva pelos ensinamentos, amizade e confiança.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho pelos ensinamentos, pela paciência e incentivo para realização deste trabalho. Aos Profs. Drs. Humberto e Milton pelas sugestões e atenção.

Ao Prof. Dr. Fernando Aécio, ao Lucas e ao Michel por toda ajuda com os testes de citotoxicidade.

A Carla Adriana, Avilnete e Idglan por toda atenção e ajuda com os testes microbiológicos.

Aos meus colegas de turma Armistron, Dilson, Jeferson, Luiz Brito, Valéria, Leonardo, Alexandro e Raquel pelos momentos vividos durante esse tempo.

Aos amigos do Laboratório de Biomateriais pelas risadas nos momentos de lazer e Ru's.

Ao Kelson e Fabricia, pela amizade e por sempre se mostrarem dispostos a ajudar.

Agradeço ao Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados – LIMAV, ao Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LPM), ao Laboratório de Atividade Antileishmania no Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais – NPPM pela disponibilidade de suas infraestruturas.

E finalmente, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para que este trabalho se tornasse concreto.

Muito obrigada!

“O que fazemos por nós mesmos morre conosco. O que fazemos pelos outros e pelo mundo permanece e é imortal.”
Albert Pine

SUMÁRIO

1INTRODUÇÃO	01
REFERÊNCIAS	03
2 CAPÍTULO 1: APLICAÇÕES DE GOMAS DO GÊNERO <i>Sterculia</i> QUIMICAMENTE MODIFICADAS	06
RESUMO	07
ABSTRACT	08
1 INTRODUÇÃO.....	09
2 METODOLOGIA.....	12
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
3.1 ANÁLISE DOS ARTIGOS.....	14
3.2 ANÁLISE DAS PATENTES.....	23
4 CONCLUSÃO.....	27
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
3 CAPÍTULO 2: ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CITOTÓXICA DE DERIVADOS DE GOMAS DO GÊNERO <i>Sterculia</i>	34
RESUMO	35
ABSTRACT	36
1 INTRODUÇÃO.....	37
2 PARTE EXPERIMENTAL.....	40
2.1 MATERIAIS E REAGENTES.....	40
2.2 ORIGEM E ISOLAMENTO DAS GOMAS	40
2.3 MODIFICAÇÃO DAS GOMAS CARAIA E CHICHÁ.....	41
2.4 CARACTERIZAÇÕES	41

2.4.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	41
2.4.2 TERMOGRAVIMETRIA (TGA)	42
2.4.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	42
2.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA CEPA PADRÃO DE <i>Staphylococcus aureus</i>	42
2.5.1 LINHAGEM BACTERIANA	42
2.5.2 PREPARO DO INÓCULO	43
2.5.3 TESTE DE CONTATO DIRETO	43
2.5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
2.6 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE MAMÍFEROS	44
2.6.1 ANIMAIS	44
2.6.2 CITOTOXICIDADE EM MACRÓFAGOS DE CAMUNDONGOS PELO TESTE DO MTT.....	44
2.6.3 CITOTOXICIDADE EM ERITRÓCITOS PELO TESTE DE HEMÓLISE.....	45
2.6.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1 CARACTERIZAÇÕES DAS GOMAS E DOS DERIVADOS	47
3.1.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	47
3.1.2 ANÁLISE TÉRMICA	50
3.1.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	55
3.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>	57
3.3 CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE MAMÍFEROS	61
3.3.1 CITOTOXICIDADE EM MACRÓFAGOS DE CAMUNDONGOS PELO TESTE DO MTT.....	61

3.3.2 CITOTOXICIDADE EM ERITRÓCITOS PELO TESTE DE HEMÓLISE.....	63
4 CONCLUSÃO.....	66
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
7. PERSPECTIVAS	75

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 – Evolução anual do número de publicações com as palavras-chave *gum* AND (“*Sterculia urens*” OR *karaya*) AND (*modified* OR *modification*). Busca realizada em Março de 2016..... 16
- Figura 2 – Aplicações e forma de utilização da goma caraia modificada nos 10 artigos analisados..... 17

CAPÍTULO 2

- Figura 1- Estrutura da goma caraia. Adaptada de Rana et al. (2011). β -D-Galp (β -D-galactose); β -D-GlcpA (Ácido β -D-glucurônico); α -L-Rhap (α -L-ramnose); α -D-GalpA (α -D-ácido galacturônico)..... 38
- Figura 2 - Espectros na região do infravermelho da goma caraia não modificada K e das formas quimicamente modificadas KM30 e KM60..... 47
- Figura 3 - Espectros na região do infravermelho da goma de chichá não modificada (C) e das formas quimicamente modificadas com anidrido maleico CM30 e CM60..... 49
- Figura 4 – Representação esquemática da reação entre as gomas caraia (K) e chichá (C) com o anidrido maleico e formação dos derivados KM (KM30/KM60) e CM (CM30/CM60)..... 50
- Figura 5 - Curvas termogravimétricas (TGA) da goma caraia (K) e de seu derivado com anidrido maleico (KM30 e KM60)..... 51
- Figura 6 - Curvas derivadas (DTG) da goma caraia (K) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30 e KM60)..... 51
- Figura 7 - Curvas termogravimétricas (TGA) da goma do chichá (C) e de seu derivado

com anidrido maleico (CM30 e CM60).....	53
Figura 8 - Curvas derivadas (DTG) da goma do chichá (C) e de seus derivados com anidrido maleico (CM30 e CM60).....	54
Figura 9 - Difratoogramas de raios-X da goma caraia (K) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30 e KM60).....	55
Figura 10 - Difratoogramas de raios-X da goma do chichá (C) e de seus derivados com anidrido maleico (CM30 e CM60).....	56
Figura 11 - Teste do contato direto para K e seus derivados KM30 e KM60 com a cepa padrão da bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25.923.....	58
Figura 12 - Teste do contato direto para C e seus derivados CM30 e CM60 com a cepa padrão da bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25.923.....	59
Figura 13 – Efeito citotóxico das gomas caraia (K) e chichá (C) e de seus derivados (KM30, KM60, CM30 e CM60) sobre macrófagos de camundongos. A figura representa a média ± erro padrão da média de experimento realizado em triplicata. One-way ANOVA foi realizado para comparar os grupos com o controle, sendo * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$	62
Figura 14 - Efeito citotóxico da goma caraia (K), da goma de chichá (C) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30, KM60, CM30 e CM60) sobre a viabilidade de eritrócitos de carneiro. Cada ponto representa a média ± erro padrão da média de experimento realizado em duplicata, com limite de confiança de 95%.....	64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Combinações de palavras-chave utilizadas para a busca de artigos e patentes. Busca realizada em Março de 2016.....	12
Tabela 2. Número de artigos encontrados nos bancos de dados Scopus, Web of Science e Scielo. Busca realizada em Março de 2016.....	14
Tabela 3. Número de artigos selecionados para análise após a exclusão dos artigos repetidos, prospectivos, de revisão ou que não se tratavam das gomas modificadas. Busca realizada em Março de 2016.....	15
Tabela 4. Resumos dos artigos que utilizaram a goma caraia modificada. Busca realizada em Março de 2016.....	18
Tabela 5. Número de depósitos de patentes encontradas nas bases EPO, USPTO e INPI. Março de 2016.....	24
Tabela 6. Resumos das patentes depositadas no banco de depósito de patentes da EPO. Busca realizada em Março/2016.....	25

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Temperaturas Máximas de decomposição e variação da massa em porcentagem nos estágios 1º, 2º e 3º para as amostras K, C e seus derivados KM30, KM60, CM30 e CM60.....	53
Tabela 2. Efeito inibitório das gomas caraia (K) e chichá (C) e de seus derivados (KM30, KM60, CM30 e CM60) sobre a cepa padrão de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25.923.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análises de variância
BHI	Brain Heart Infusion
C	goma de chichá
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
CM30	goma de chichá modificada com anidrido maleico por 30 minutos
CM60	goma de chichá modificada com anidrido maleico por 60 minutos
CRMV-PI	Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado do Piauí
DMA	N-N'-dimetilacetamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DRX	Difração de Raios-X
DTG	Termogravimetria Derivada
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPO	European Patent Office
FTIR	Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil
K	goma caraia
KBr	Brometo de potássio
KM30	goma caraia modificada com anidrido maleico por 30 minutos
KM60	goma caraia modificada com anidrido maleico por 60 minutos
MTT	brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio
NaCl	Cloreto de sódio

NaOH	Hidróxido de sódio
NPPM	Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais
PBS	Tampão fosfato-salino
PVA	Álcool polivinílico
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SFB	Soro fetal bovino
TGA	Termogravimetria
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFPI	Universidade Federal do Piauí
USPTO	United States Patent and Trademark Office

RESUMO

As gomas exsudadas de árvores são polímeros naturais que representam uma abundante matéria-prima industrial. A goma caraia e a goma de chichá são exsudadas de árvores do gênero *Sterculia*. A primeira possui uso reconhecido e é originária da Índia, enquanto a segunda, nativa do Nordeste brasileiro, ainda é pouco explorada. Como essas gomas possuem composição bastante parecida, as modificações químicas realizadas em uma podem ser estendidas para a outra. A obtenção de gomas quimicamente modificadas amplia a possibilidade de aplicação das mesmas por inserir ou melhorar suas propriedades. Para a realização deste trabalho, inicialmente foram investigadas as modificações que vem sendo feitas nas gomas caraia e chichá, bem como as aplicações dos derivados obtidos, através de um estudo prospectivo de artigos e patentes. As principais modificações realizadas nos artigos analisados foram a desacetilação e a reticulação com aplicação principalmente na liberação de fármacos. Não foi encontrado nenhum artigo ou patente que direcionasse a modificação para melhorar a atividade antimicrobiana das gomas, indicando que esta é uma área a ser explorada. Sendo assim, este trabalho objetivou desenvolver derivados das gomas caraia e de chichá com anidrido maleico a fim de se investigar suas atividades antimicrobianas e citotóxicas. A modificação química foi comprovada por meio dos espectros de FTIR e os derivados obtidos apresentaram comportamento térmico e cristalinidade diferentes dos materiais de partida, além de apresentarem maior efeito antibacteriano contra *S. aureus* do que as formas não modificadas e não apresentarem citotoxicidade significativa, indicando que podem ser considerados seguros como agentes antibacterianos em aplicações biomédicas.

Palavras-chave: anidrido, atividade antimicrobiana, goma caraia, goma de chichá, modificação, toxicidade.

ABSTRACT

Tree gum exudates are natural polymers and represent an abundant industrial raw material. The karaya and chicha gum are exudates from *Sterculia* genus trees. The first has its use recognized and is originated from India, and the second gum, native northeastern Brazil, still remains underused. As these gums have very similar composition, chemical modifications can be made one of them and the results extended to another. Obtaining gums chemically modified increases the possibility of application of these gums by inserting or improve their properties. For this work, initially were investigated the chemical changes in the karaya and chicha gum and the applications of the derivative gums using a prospective study with articles and patents. The main changes described in the articles analyzed were deacetylation and crosslinking, with the mainly application in drug delivery. None article or patent was found related to direct modification to enhance the antimicrobial activity of the gums, indicating that this is an area to be explored. Thus, this study aimed to develop derivatives of karaya and chicha gum with maleic anhydride in order to investigate their antimicrobial and cytotoxic activities. Chemical modification was confirmed by the FTIR spectra and the obtained products showed thermal behavior and different crystallinity of the starting materials, besides, they present higher antibacterial effect against *S. aureus* than the unmodified forms and did not show significant cytotoxicity, indicating that they can be considered safe as antibacterial agents for biomedical applications.

Key-words: anhydride, antimicrobial activity, chicha gum, karaya gum, modification, toxicity.

1 INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos de exsudatos (as gomas) são heteropolissacarídeos complexos ramificados e polidispersos (Cunha et al., 2009). Na área biológica eles são aplicados em engenharia de tecidos (Ranjbar-Mohammadi, Bahrami & Joghataei, 2013), biossensores (Araújo et al., 2012), como veículo de liberação de fármacos (Das, Nayak & Nanda, 2013), ou ainda como agentes redutores e estabilizantes nas sínteses de nanopartículas com atividade antimicrobiana (Kudle et al. 2013).

A possibilidade de melhorar as propriedades antimicrobianas dessas gomas através da modificação química é muito interessante levando-se em conta que as doenças infecciosas continuam a ser um dos maiores desafios de saúde em todo o mundo, uma vez que a resistência a múltiplas drogas em patógenos bacterianos aumenta a morbidade e mortalidade em pacientes infectados e é uma ameaça à saúde pública pela sua alta capacidade de proliferação (Oteo & Aracil, 2015).

A goma caraia é um polissacarídeo complexo, parcialmente acetilado, de alto peso molecular, composto por 55-60% de resíduos neutros de monossacarídeos, 8% de grupo acetil e 37- 40% de resíduos de ácidos urônicos (Ibrahim et al., 2010). Devido às suas características reológicas, esta goma já vem sendo utilizada como matriz polimérica para liberação controlada de agente antimicrobiano em curativo de feridas (Singh & Pal, 2008) e por possuir características emulsificantes e espessantes, seu uso é bastante difundido na indústria farmacêutica e cosmética (Shekarforoush et al., 2016).

A goma do chichá é exsudada pela *Sterculia striata*, planta nativa do cerrado, encontrada no Piauí. Esta goma é composta por galactose, ramnose, ácido glicurônico, ácido galacturônico e xilose, sendo similar à goma caraia, com exceção da xilose, que não está presente nesta última (BRITO et al., 2004).

A goma caraia é uma goma originária da Índia enquanto a goma do chichá é uma goma exsudada por árvore nativa do Brasil. Como essas gomas possuem constituição química parecida acredita-se que as modificações realizadas em uma possam ser realizadas na outra. A exploração da goma do chichá para os mais diversos fins, incluindo sua aplicação para a indústria farmacêutica e biomédica, ampliaria as oportunidades de utilização do chichazeiro e beneficiaria a economia nacional pela diminuição na importação de outras gomas e aumento na oferta de emprego destinado ao manejo para a coleta da goma do chichá e dos outros derivados da planta.

Com o objetivo de conhecer as principais modificações realizadas nas sínteses de derivados das gomas caraia e chichá, bem como suas aplicações, dando ênfase à atividade antimicrobiana, um estudo prospectivo foi realizado com base em artigos e patentes.

Nenhum dos artigos ou das patentes encontradas relatou a modificação das gomas caraia ou da goma de chichá para fins de atividade antimicrobiana. Dois dos artigos encontrados modificou a goma caraia para esta ser utilizada na liberação dos fármacos antimicrobianos amoxicilina e itraconazol. Quanto às patentes, nenhuma trouxe modificação química das gomas para atividade antimicrobiana.

Apesar de ser uma área ainda pouco explorada, percebeu-se um aumento nos últimos anos no número de artigos com goma caraia modificada, o que demonstra interesse no meio científico em modificar esta goma. A partir da análise dessas publicações constatou-se que os derivados provenientes deste tipo de modificação podem ser usados nas mais diversas áreas.

Diante do exposto acima, investiu-se no desenvolvimento de derivados das gomas caraia e chichá modificadas com anidrido maleico. Estes derivados foram caracterizados por FTIR, TGA, DTG e DRX e foram analisados quanto à sua atividade antimicrobiana contra a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923 e sua citotoxicidade em células de mamíferos.

REFERÊNCIAS

Araújo, I. M. S., Zampa, M. F., Moura, J. B., Santos Jr., J. R., Eaton, P., Zucolotto, V., Veras, L. M. C., Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., Leite, J. R. S. A., & Eiras, C. (2012). Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. *Materials Science and Engineering C*, 32, 1588-1593.

Brito, A. C. F., Silva, D. A., Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2004). *Sterculia striata* exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with *Sterculia urens* (karaya) polysaccharide. *Polymer International*, 53, 1025-1032.

Cunha, P. L. R., Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2009). Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova*, 32 (3), 649-660.

Das, B., Nayak, A. K., & Nanda, U. (2013). Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: preparation and invitro skin permeation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 514-517.

Ibrahim, N. A., Abo-Shosha, M. H., Allam, E. A., & El-Zairy, E. M. (2010). New thickening agents based on tamarind seed gum and karaya gum polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 81, 402-408.

Kudle, K. R., Donda, M. R., Merugu, R., Prashanthi, Y., Kudle, M. R., & Pratag, R. M. P. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using water soluble gum of *Sterculia foetida* and evaluation of its antimicrobial activity. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 563-568.

Oteo, J. & Aracil, M. B. (2015). Caracterización de mecanismos de resistencia por biología molecular: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(2), 27-33.

Ranjbar-Mohammadi, M., Bahrami, S. H., & Joghataei, M. T. (2013). Fabrication of novel nanofiber scaffolds from gum tragacanth/poly(vinyl alcohol) for wound dressing application: in vitro evaluation and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering C*, 33, 4985-4943.

Shekarforoush, E., Mirhosseini, H., Amid, B. T., Ghazali, H., Muhammad, K., Sarker, M. Z. I., Paykary, M. (2016). Rheological properties and emulsifying activity of gum karaya (*Sterculia urens*) in aqueous system and oil in water emulsion: heat treatment and microwave modification. *International Journal of Food Properties*, 19 (3), 662-679.

Singh, B., & Pal, L. (2008). Developmente of sterculia gum based wound dressings for use in drug delivery. *European Polymer Journal*, 44, 3222-3230.

CAPÍTULO 1: ESTUDO PROSPECTIVO

APLICAÇÕES DE GOMAS DO GÊNERO *Sterculia* QUIMICAMENTE MODIFICADAS

Solranny Carla Cavalcante Costa e Silva¹, Durcilene Alves da Silva¹, Edson Cavalcanti da Silva Filho¹

*¹Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais,
Laboratório Interdisciplinar de Materiais - LIMAV*

RESUMO

As gomas naturais são polissacarídeos que representam uma das mais abundantes matérias-primas industriais, intensamente investigadas devido à sua sustentabilidade, biodegradabilidade e biossegurança, possuindo ampla variedade de composição e propriedades reológicas, podendo ser utilizadas para várias aplicações biomédicas. A possibilidade de melhorar as propriedades antimicrobianas das gomas através da modificação química é muito interessante, levando-se em conta que as doenças infecciosas continuam a ser um dos maiores desafios em saúde em todo o mundo. Este estudo prospectivo objetivou conhecer as principais aplicações dos derivados das gomas caraia e chichá, dando ênfase à atividade antimicrobiana. O trabalho foi realizado por meio do estudo de artigos e patentes. As principais modificações propostas nos artigos foram a desacetilação e a reticulação. Os derivados obtidos foram utilizados principalmente para a liberação de fármacos. Nenhum dos artigos analisados modificou a goma caraia ou a goma do chichá para melhorar a atividade antimicrobiana destas gomas. Apenas três patentes foram encontradas quando a busca foi direcionada para estas gomas modificadas, todas com a goma caraia, mas nenhuma delas se tratava de modificação visando a melhoria da atividade antimicrobiana, o que incentiva as pesquisas nesta área.

Palavras-chave: Goma caraia, goma do chichá, modificação química.

ABSTRACT

Natural gums are polysaccharides that represent one of the most abundant industrial raw materials, intensively investigated due to its sustainability, biodegradability and biosafety, since they have wide range of composition and rheological properties, can be used for various biomedical applications. The possibility of improving the antimicrobial properties of the gum by chemically modifying is very interesting, considering that infectious diseases remain a major challenge in health worldwide. This prospective study aimed to identify the main uses of derivatives karaya and chicha gum, emphasizing the antimicrobial activity. The study was conducted by studying articles and patents. The main chemical changes found in articles were deacetylation and crosslinking. The derivatives described were mainly used for drug delivery. None of the articles analyzed described the modification on the karaya gum or chicha gum aiming the improvement of antimicrobial activity. Only three patents were found when the search was directed to these modified gums, all with karaya gum, however, none of them were modified in order to improve the antimicrobial activity, which encourages research in this area.

Key-words: chemical modification, chicha gum, karaya gum.

1. INTRODUÇÃO

As gomas naturais são polissacarídeos que representam uma das mais abundantes matérias-primas industriais, intensamente investigadas devido à sua sustentabilidade, biodegradabilidade e biossegurança, sendo frequentemente produzidas por plantas superiores como resultado dos seus mecanismos de proteção pós-lesão (Rana et al., 2011).

As gomas possuem uma ampla variedade de composição e propriedades reológicas podendo ser utilizadas para várias aplicações biomédicas (Kumar et al., 2012). No entanto, existem alguns problemas associados com seu uso como, por exemplo, taxas descontroladas de hidratação, solubilidade dependente do pH e queda da viscosidade durante o armazenamento (Rana et al., 2011). Com o objetivo de minimizar estes inconvenientes e ampliar as possibilidades de aplicação dessas gomas, modificações químicas e/ou estruturais como a reticulação, para aumentar o tempo de liberação de fármacos (Kumar, Gopal & Moin, 2014) e a carboximetilação, para diminuir a viscosidade e melhorar propriedades mucoadesivas (Munir et al., 2016; Kumar & Ahuja, 2012), já foram realizadas.

A modificação química proporcionada pela introdução de grupos hidrofóbicos na estrutura das gomas é uma estratégia que vem sendo utilizada para melhorar características emulsificantes (Wang, Williams & Senan, 2014), para auxiliar na dispersão de nanotubos de carbono (Skender, Hadj-Ziane-Zafour & Flahaut, 2013) ou para inserir atividade antibacteriana em membrana (Padil et al., 2015).

Membranas de nanofibras de PVA e goma kondagogu modificada com anidrido dodecenil succínico foram sintetizadas e reticuladas por aquecimento a 130°C e tratamento com plasma de oxigênio. Estas membranas foram testadas contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, obtendo melhores resultados para bactérias Gram-positivas, podendo ser

aplicada como membrana de alimentos, no tratamento de água ou descontaminação ambiental (Padil et al., 2015).

A possibilidade de melhorar as propriedades antimicrobianas das gomas através da modificação química é muito interessante levando-se em conta que as doenças infecciosas continuam a ser um dos maiores desafios de saúde em todo o mundo, uma vez que a resistência a múltiplas drogas em patógenos bacterianos aumenta a morbidade e mortalidade em pacientes infectados e é uma ameaça à saúde pública pela sua alta capacidade de proliferação (Oteo & Aracil, 2015).

Os principais inconvenientes dos agentes antimicrobianos convencionais são o desenvolvimento de resistência a múltiplas drogas e efeitos colaterais adversos. A resistência aos medicamentos impõe a administração de altas doses de antibióticos, muitas vezes gerando toxicidade intolerável, desenvolvimento de novos antibióticos e investimentos econômicos significativos. Por isso, agentes antibióticos não tradicionais têm sido de enorme interesse para superar a resistência contra a maioria dos antibióticos comumente utilizados (Huh & Kwon, 2011; Riley et al., 2012).

A goma caraia é um polissacarídeo extraído comercialmente da *Sterculia urens*, árvore cultivada na Índia, pertencente à família Sterculiaceae, e que cresce em regiões secas e rochosas (Galla & Dubasi, 2010). Esta goma já foi utilizada na síntese de membranas com potencial de aplicação na área médica como agente antimicrobiano (Padil, Senan & Cerník, 2015) e na síntese de nanopartículas de prata com atividade antibacteriana contra cepas de *Escherichia coli* e *Micrococcus luteus* (Venkatesham et al., 2014). Além de ser utilizada para a liberação de fármacos com atividade antibacteriana como a clorexidina (Labovitiadi, Lamb & Matthews, 2012).

A goma do chichá também é exsudada por uma árvore da família Sterculiaceae, a *Sterculia striata*, planta nativa do cerrado, encontrada no Piauí. Esta goma é composta por

galactose, ramnose, ácido glicurônico, ácido galacturônico e xilose, sendo similar à goma caraia, com exceção da xilose, que não está presente nesta última (Brito et al., 2004).

A goma caraia já é comercializada e possui uso reconhecido, mas se trata de uma goma importada, enquanto a goma do chichá é uma goma nacional pouco conhecida. Como essas duas gomas possuem composição e características parecidas, as modificações químicas realizadas em uma delas poderiam ser propostas para a outra, o que seria interessante para a economia nacional uma vez que a goma do chichá poderia ser utilizada em detrimento da goma caraia, diminuindo-se, assim, a importação e aumentando-se a oferta de emprego destinado ao manejo para a coleta da goma do chichá.

Levando-se em conta a importância do desenvolvimento de novos derivados da goma caraia e da goma do chichá para os mais diversos fins, este estudo prospectivo objetivou conhecer as principais aplicações dos derivados dessas gomas dando ênfase à atividade antimicrobiana.

2. METODOLOGIA

Esta prospecção foi realizada em março de 2016 através da busca de artigos e patentes em bancos de dados utilizando-se as palavras-chave listadas na Tabela 1. Os bancos de dados utilizados na busca dos artigos foram: Scielo, Web of Science e Scopus. Já para a busca das patentes consultou-se os pedidos de depósitos do Banco Europeu de Patentes (*European Patent Office* - EPO), do Banco Americano de Marcas e Patentes (*United States Patent and Trademark Office* - USPTO) e do Banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil - INPI. Resumos, palavras-chave e títulos foram os campos utilizados para as buscas. Não houve delimitação de tempo.

Tabela 1. Combinações de palavras-chave utilizadas para a busca de artigos e patentes.

Busca realizada em Março de 2016.

Palavras-chave
<i>Gum</i>
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>)
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>) AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>)
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>) AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)

FONTE: Autoria própria (2016).

Para a busca dos artigos no banco Scielo utilizou-se as palavras-chave em espanhol e português, já para a busca dos depósitos de patentes no banco INPI, utilizou-se as palavras-chave em português.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise dos Artigos

Na Tabela 2 encontra-se o resultado das buscas de artigos publicados nos bancos de dados Scopus, Web of Science e Scielo.

Tabela 2. Número de artigos encontrados nos bancos de dados Scopus, Web of Science e Scielo. Busca realizada em Março de 2016.

Palavras-chave	Scopus	Web of Science	Scielo
<i>Gum</i>	25.000	20.446	257
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>)	354	161	1
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)	44	23	0
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>) AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)	02	0	0
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>)	05	09	00
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)	02	02	00
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)	00	00	00

FONTE: Autoria própria (2016).

Considerando-se a base de dados *Scopus*, que foi a que retornou um maior número de publicações para quase todas as palavras-chave utilizadas, percebeu-se que dos 25.000 artigos publicados sobre gomas, apenas 354 se tratavam da caraia, o que corresponde a 1,42% do total, e destes 354, apenas 44 retornaram à busca quando se acrescentou as palavras-chave *modified* OR *modification*, ou seja 12,43%, o que indica que a modificação da goma caraia ainda é um assunto pouco explorado.

Como o objetivo deste trabalho foi o de conhecer a aplicação dos derivados das gomas caraia e chichá enfatizando sua atividade antimicrobiana, delimitou-se este estudo à análise dos artigos que retornaram à busca com as palavras-chaves listadas na Tabela 3. Artigos repetidos, prospectivos, de revisão ou que não se tratavam das gomas modificadas, bem como aqueles artigos que não possuíam o texto completo disponível, foram excluídos.

Tabela 3. Número de artigos selecionados para análise após a exclusão dos artigos repetidos, prospectivos, de revisão ou que não se tratavam das gomas modificadas. Busca realizada em Março de 2016.

Palavras-chave	Total de artigos	Artigos excluídos	Artigos Analisados
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)	67	57	10
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>) AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)	02	01	01
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)	04	03	01

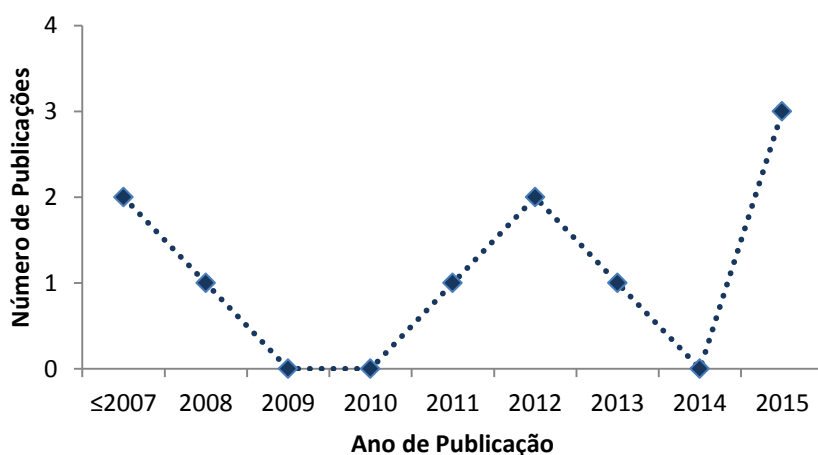
FONTE: Autoria própria (2016).

Na Tabela 3 encontra-se o detalhamento do número de artigos excluídos e do número de artigos selecionados para análise.

Dos 67 artigos que retornaram à busca com as palavras-chave *Gum* AND (“*Sterculia urens*” OR *karaya*) AND (*modified* OR *modification*), 18 estavam repetidos, 08 não possuíam texto completo disponível, 02 eram de revisão e 29 não se tratavam da goma caraia modificada. Ao final, apenas 10 artigos foram analisados. As figuras e gráficos confeccionados para aquele conjunto de palavras-chave foi baseado nestes 10 artigos.

A Figura 1 mostra a evolução anual do número de publicações que utilizaram a goma caraia modificada. Nela pode-se perceber que o interesse em se trabalhar com a goma modificada cresceu nos últimos 5 anos, com 70% das publicações sendo pertencentes a este período (2011 a 2015).

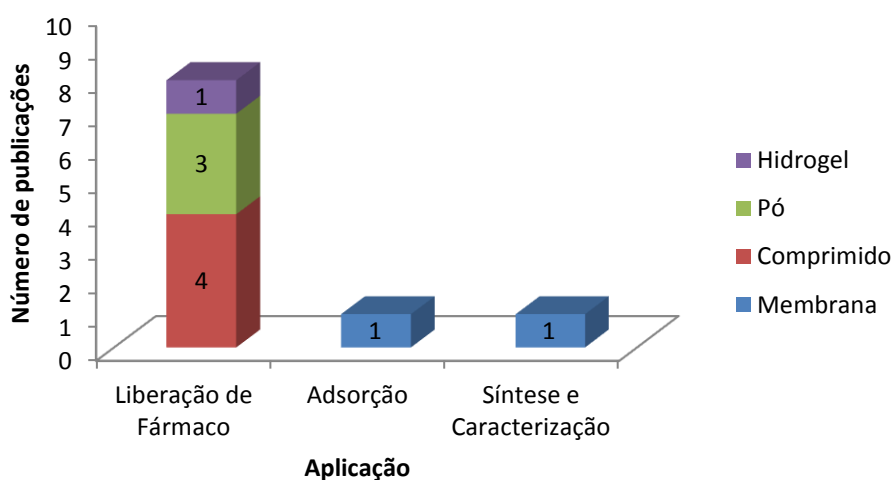
Figura 1 – Evolução anual do número de publicações com as palavras-chave *gum* AND (“*Sterculia urens*” OR *karaya*) AND (*modified* OR *modification*). Busca realizada em Março de 2016.



Fonte: Autoria própria (2016).

O principal interesse em se modificar a goma caraia nos artigos analisados foi para aplicá-la na liberação de fármacos, na forma de pó, hidrogel e, principalmente, comprimido (Figura 2).

Figura 2 – Aplicações e forma de utilização da goma caraia modificada nos 10 artigos analisados.



Fonte: Autoria própria (2016).

Os resumos dos 10 artigos analisados com as palavras-chave *gum* AND (“*Sterculia urens*” OR *karaya*) AND (*modified* OR *modification*) encontram-se na Tabela 4. As modificações químicas propostas nestes artigos foram a desacetilação e a reticulação. Um dos artigos encontrados nos bancos de dados utilizando-se como palavras-chave as já mencionadas acima, se referia à modificação física da goma visando o aumento de sua porosidade. A desacetilação foi realizada quando o objetivo foi melhorar a biodisponibilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, enquanto o aumento da porosidade foi utilizado para acelerar a liberação do fármaco. Já a reticulação foi proposta para prolongar o tempo de liberação do fármaco ou para aumentar a

hidrofobicidade de membranas que seriam utilizadas para a remoção de nanopartículas metálicas de meio aquoso.

Tabela 4: Resumos dos artigos que utilizaram a goma caraia modificada. Busca realizada em Março de 2016.

Referência	Modificação	Aplicação	Resumo
Badu et al. (2002)	Desacetilação	Liberação de fármaco	A goma caraia foi modificada através de tratamento térmico promovendo a desacetilação da goma para melhorar a biodisponibilidade oral da nimodipina. Testes <i>in vivo</i> foram realizados para demonstrar o aumento da dissolução do fármaco quando formulado com a goma modificada.
Badu, Prasad & Murthy (2002)	Desacetilação	Liberação de fármaco	A goma caraia foi modificada através de tratamento térmico promovendo a desacetilação da goma com o objetivo de diminuir sua viscosidade, mantendo-se seu índice de entumescimento. O derivado obtido melhorou a taxa de dissolução da nimodipina, fármaco pouco solúvel em água, quando comparado com a goma não modificada.
Singh & Sharma (2008)	Reticulação	Liberação de fármacos	A partir da reticulação da goma foram desenvolvidos hidrogéis de goma caraia reticulada com ácido metacrílico para a liberação de cloridrato de ranitidina. Os hidrogéis sintetizados possuíam potencial para atuarem como dispositivos de liberação controlada de drogas.

Bansal & Sharma (2011)	Aumento da porosidade	Liberação de fármacos	O pó da goma caraia foi suspenso em água destilada e a massa inchada obtida foi seca, triturada e utilizada em formulações de comprimidos de ondansetron. Este processo levou à formação de uma estrutura mais porosa com propriedades superdesintegrantes.
Aggarwal, Gupta & Chaudhary (2012)	Desacetilação	Liberação de fármacos	A goma caraia foi modificada por tratamento térmico promovendo a desacetilação da goma para aumentar a solubilidade e dissolução do fármaco antiolesterêmico atorvastatina cálcica em formulações orais. Estudos <i>in vivo</i> indicaram que a dispersão sólida utilizando a goma caraia modificada obteve melhor desempenho para a redução do colesterol do que a de atorvastatina cálcica pura.
Reddy et al. (2012)	Reticulação	Liberação de fármacos	A goma caraia foi reticulada com trimetafosfato de sódio e utilizada na formulação de comprimidos de liberação sustentada de cloridrato de diltiazem. A reticulação aumentou a rigidez da matriz, prolongando o tempo de liberação do fármaco quando comparado com matriz de goma não modificada.
Garg, Sachdeva & Kapoor (2013)	Desacetilação	Liberação de fármacos	Investigou o efeito de carreadores cristalinos e amorfos no melhoramento do perfil de dissolução do agente antifúngico itraconazol. O aumento da

			solubilidade e da taxa de dissolução do fármaco foi associado à transição polimórfica da forma cristalina para a amorfa do fármaco nas formulações testadas.
Biswas & Majee (2015)	Desacetilação	Liberação de fármacos	Investigou a cinética do padrão de liberação do fármaco trihidrato de amoxicilina em comprimidos bucais expansíveis. Ocorreu mudança significativa no padrão de liberação da droga associada à variação da concentração da goma modificada.
Padil & Cerník (2015)	Reticulação	Adsorção	Membranas de nanofibras de PVA/goma caraia foram reticuladas por tratamento de plasma com metano para remoção de nanopartículas metálicas de meio aquoso. A reticulação aumentou a hidrofobicidade e a área superficial da membrana.
Patra et al. (2015)	Desacetilação /Reticulação	Caracterização de material	A goma caraia desacetilada e o PVA foram utilizados para a síntese de nanofibras compósitas. As nanofibras produzidas foram expostas a tratamento térmico a 150° por 15 min. As nanofibras sintetizadas foram mais cristalinas, mais uniformes, livres de microesferas e possuíam menor diâmetro.

FONTE: Autoria própria (2016).

Os artigos apresentados na Tabela 4 onde os autores modificaram a goma caraia por desacetilação utilizaram a mesma metodologia para a realização da modificação da goma.

Basicamente, o pó da forma bruta ou da forma comercial da goma foi aquecido a 120°C por 2h em banho de areia. Estas condições de aquecimento diminuíram sua viscosidade sem alterar significativamente sua capacidade de entumescimento e sua atuação como agente desintegrante de comprimidos, o que é interessante do ponto de vista de uma liberação mais rápida para fármacos.

A alta viscosidade da goma caraia foi considerada um fator limitante para a sua utilização em formulações de comprimidos envolvendo fármacos pouco solúveis em água. Isso porque ela diminui a taxa de difusão do fármaco (Badu, Prasad & Murthy, 2002). A desacetilação foi uma alternativa para superar este problemas. Como a viscosidade dessa goma é diretamente proporcional ao seu conteúdo acetil volátil, a remoção desse conteúdo reduz sua viscosidade (Aggarwal, Gupta & Chaudhary, 2012).

Apenas com essa simples modificação conseguiu-se melhorar a taxa de dissolução da nimodipina (Badu, Prasad & Murthy, 2002; Badu et al., 2002), da atorvastatina cálcica (Aggarwal, Gupta & Chaudhary, 2012), do trihidrato de amoxicilina (Biswas & Majee, 2015) e do itraconazol (Garg, Sachdeva & Kapoor, 2013).

Nos artigos analisados na Tabela 4, a reticulação da goma caraia foi realizada com PVA, ácido metacrílico e trimetafosfato de sódio. A reticulação com PVA originou nanofibras mais cristalinas, mais uniformes, livres de microesferas e com menor diâmetro (Patra et al., 2015), além de aumentar a hidrofobicidade e a área superficial de membranas (Padil & Cernik, 2015). O Hidrogel proposto a partir da goma caraia reticulada com ácido metacrílico prolongou o tempo de liberação do cloridrato de ranitidina (Singh & Sharma, 2008). Já a reticulação com trimetafosfato de sódio aumentou a rigidez da matriz, prolongando o tempo de liberação do cloridrato de diltiazem (Reddy et al., 2012). Ou seja, a reticulação seria indicada para prolongar a liberação de fármacos ou para aumentar a hidrofobicidade e a área superficial da goma caraia. Segundo Rana e colaboradores (2011), a

reticulação diminui a capacidade de inchaço por conduzir à formação de uma rede macromolecular densa, servindo como estratégia para aumentar o tempo de permanência do fármaco no trato gastrointestinal.

Já o aumento da porosidade na estrutura da goma foi uma estratégia proposta por Bansal & Sharma (2011) para tornar a goma caraia um agente superdesintegrante capaz de acelerar a liberação do andansetron, um fármaco utilizado por pacientes de quimioterapia para o alívio de enjoos, náuseas e vômitos. A goma foi modificada seguindo uma metodologia bem simples que consiste na imersão do pó da goma bruta em água, sob agitação, por 24 h, seguida de secagem controlada (40°C/72h). Segundo os autores, o procedimento leva ao inchaço tridimensional da goma até um valor de equilíbrio conduzindo ao aprisionamento de uma porção significativa de água dentro da estrutura. A secagem nesta fase leva a evaporação da água deixando uma estrutura porosa. Esta modificação estrutural não permite a formação de massa gelatinosa do polissacarídeo na água, no entanto, as partículas individuais facilitam a absorção de água por sofrerem expansão independente, o que os tornam agentes superdesintegrantes quando utilizados em formulações de comprimidos.

Dos dois artigos que retornaram à busca com as palavras-chave *gum* AND (“*Sterculia urens*” OR *karaya*) AND (*modified* OR *modification*) AND (*antimicrobial* OR *antibacterial* OR *antifungal*), um não possuía o texto completo disponível, e o outro é o artigo de Garg, Sachdeva & Kapoor (2013), cujo resumo pode ser lido na Tabela 4. Estes autores utilizaram a goma caraia para transportar o fármaco antifúngico itraconazol. A modificação proposta teve como objetivo a liberação do fármaco e não a melhoria da atividade antimicrobiana da goma caraia em si.

Quando se analisou os artigos que retornaram à busca com as palavras-chave *gum* AND (“*Sterculia striata*” OR *chicha*) AND (*modified* OR *modification*), percebeu-se que os

dois artigos encontrados na base *Scopus* eram os mesmo encontrados na *Web of Science*. Considerando-se os 2 artigos que não estavam repetidos, um apenas citava o chichá, mas o experimento era conduzido com outras gomas, já no outro artigo os autores realizaram a síntese de nanocompósito eletroativo de goma do chichá com fitocianina para a detecção de dopamina (Zampa et al., 2007).

Em nenhum dos artigos analisados se testou os efeitos das gomas modificadas como um agente antimicrobiano, deixando esse campo do conhecimento descoberto para novas investigações.

3.2 Análises das Patentes

Na Tabela 5 encontram-se as combinações de palavras-chave utilizadas na busca das patentes nos bancos de depósitos EPO, USPTO e INPI, bem como o número de patentes encontradas para cada combinação. As buscas foram realizadas nos campos de título e abstract. O banco EPO foi o que apresentou maior número de depósitos de patentes para todas as combinações de palavras-chave consultadas.

A Tabela 5 nos mostra que existem muitas patentes depositadas que utilizam gomas em geral e mais de 500 que utilizam a goma caraia, no entanto, quando se delimita a busca para a goma caraia modificada utilizando-se as palavras-chave *gum* AND (“*Sterculia urens*” OR *karaya*) AND (*modified* OR *modification*), 42 patentes são encontradas (39 patentes no banco EPO e 3 no banco USPTO). Analisando-se estas patentes, percebe-se que as 3 que estavam depositadas no banco USPTO também estavam depositadas no banco EPO e que das 39 patentes depositadas neste último banco, apenas 3 utilizavam a goma caraia modificada. Na Tabela 6 encontra-se a referência, o número de depósito e o resumo dessas 3

patentes. Não foram encontradas patentes com a goma caraia modificada para atividade antimicrobiana

Tabela 5. Número de depósitos de patentes encontradas nas bases EPO, USPTO e INPI. Março de 2016.

Palavras-chave	Número de patentes depositadas por base		
	EPO	USPTO	INPI
<i>Gum</i>	+ 10.000	4.084	573
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>)	488	40	3
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)	39	3	0
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia urens</i> ” OR <i>karaya</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>) AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)	0	0	0
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>)	0	0	0
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)	0	0	0
<i>Gum</i> AND (“ <i>Sterculia striata</i> ” OR <i>chicha</i>) AND (<i>modified</i> OR <i>modification</i>)AND (<i>antimicrobial</i> OR <i>antibacterial</i> OR <i>antifungal</i>)	0	0	0

FONTE: Autoria própria (2016).

Tabela 6. Resumos das patentes depositadas no banco de depósito de patentes da EPO. Busca realizada em Março/2016.

Referência/Número do Depósito	Classificação Internacional	Resumo
Staba, E. A. (1977) US4001060	C06B C08B C08L	A goma caraia foi suspensa em álcool anidro e tratada com um reagente solúvel em álcool para ser aplicada como solução de escorva para extrusão. Este tratamento tornou a goma menos sensível à presença de certas composições iniciadoras, e a goma exibiu, quando usada com composições iniciadoras, características de extrusão e estabilidade reológica melhoradas.
Kichijima, H. (2007) JP2007039477	A61K A61Q C08B	A goma caraia cationicamente modificada foi obtida por substituição de uma parte dos grupos hidroxilas contidos na goma por grupos contendo nitrogênios quaternários específicos. Esse composto foi desenvolvido para melhorar a capacidade de absorção do cabelo ou da pele para o condicionamento durante a lavagem.
Minnesota Mining & MFG (1963) GB944013	A44B C09J D21H H02G	A goma caraia foi desacetilada adicionando-se uma solução aquosa diluída de amoníaco. A mistura foi envelhecida durante três horas à temperatura ambiente para se tornar um líquido viscoso sensível à pressão que pode ser utilizado para a fabricação de etiquetas.

FONTE: Autoria própria (2016).

De acordo com sua classificação internacional, a patente americana US4001060 se trata de composição (C08L) e preparação (C08B) de polissacarídeos ou de seus derivados que são definidos pela estrutura ou arranjo de componentes de produto que compreendem

partículas sólidas dispersas em solução sólida ou matriz, onde a matriz consiste, essencialmente, de hidratos de carbono (C06B). Já a patente japonesa JP2007039477 trata de preparação de polissacarídeos e seus derivados (C08B) com finalidade médica, odontológica ou higiênica (A61K) para uso específico de cosméticos ou similares (A61Q), enquanto a invenção do Reino Unido, depositada sob número GB944013, pode ser utilizada para a confecção de botões, alfinetes, fivelas, fechos e corrediços (A44B), como adesivo (C09J), na preparação, impregnação ou revestimento do papel, ou tratamento do papel acabado (D21H) e, ainda, para a instalação de cabos ou linhas elétricas ou combinação de cabos e linhas elétricas com dispositivos ópticos (H02G). Isto indica que, apesar de existirem poucas patentes com a goma caraia modificada, estas possuem uma variedade de aplicações, indicando que a modificação pode beneficiar diversos setores industriais.

As buscas não retornaram nenhum resultado para combinações de palavras-chave que contivessem a palavra “*chicha*”.

Estes resultados, aliados à análise dos artigos, justificam o interesse em se modificar quimicamente as gomas caraia e chichá direcionando-se sua aplicação para a atividade antimicrobiana, uma vez que, ainda não existem patentes sobre a modificação destas gomas para esta finalidade e, a exemplo de outras gomas exsudadas de árvores, a atividade antimicrobiana pode ser melhorada através de modificação química e os derivados ainda poderiam trazer como vantagem a possibilidade de liberarem fármacos para potencializarem a ação do sistema, além de possuírem versatilidade para serem utilizados de diversas formas, como por exemplo, hidrogéis, comprimidos e filmes.

4. CONCLUSÃO

Os derivados obtidos a partir da modificação da goma caraia podem ser utilizados para diversos fins, nas mais diversas áreas, como na indústria do papel, cosmética, farmacêutica e alimentar, além da área ambiental. Sua principal aplicação tem sido para a liberação de fármacos. Já a goma do chichá foi pouco explorada, mesmo na forma não modificada. A modificação química destas gomas visando melhorias da atividade antimicrobiana ainda é um campo em aberto o que incentiva as pesquisas nesta área.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aggarwal, S., Gupta, G. D., & Chaudhary, S. (2012). Solubility and dissolution enhancement of poorly aqueous soluble drug atorvastatin calcium using modified gum karaya as carrier: *In vitro-In vivo* evaluation. *International Journal of Drug Delivery*, 4, 341-365.

Badu, G. V. M. M., Kumar, N. R., Sankar, K. H., Ram, B. J., Kumar, N. K., & Murthy, K. V. R. (2002). In vivo evaluation of modified gum karaya as a carrier for improving the oral bioavailability of a poorly water-soluble drug, nimodipine. *AAPS PharmSciTech*, 3 (2), 1-9.

Badu, G. V. M., Prasad, Ch. D. S., & Murthy, K. V. (2002). Evaluation of modified gum karaya as carrier for the dissolution enhancement of poorly water-soluble drug nimodipine. *International Journal of Pharmaceutics*, 234, 1-17.

Bansal, N., & Sharma, G. (2011). Formulation and Evaluation of orally disintegrating tablets of Ondansetron Hydrochloride using Natural Superdisintegrants. *International Journal of PharmTech Research*, 3, 1616-1621.

Biswas, G. R., & Majee, S. B. (2015). Modeling of drug-diffusion kinetics of amoxicillin trihydrate from buccal tablets. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6(2), 859-866

Brito, A. C. F., Silva, D. A., Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2004). *Sterculia striata* exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with *Sterculia urens* (karaya) polysaccharide. *Polymer International*, 53, 1025-1032.

Galla, N. R., & Dubasi, G. R. (2010). Chemical and functional characterization of gum karaya (*Sterculia urens* L.) seed meal. *Food Hydrocolloids*, 24, 479-485.

Garg, A. K., Sachdeva, R. K., & Kappor, G. (2013). Comparison of crystalline and amorphous carriers to improve the dissolution profile of water insoluble drug itraconazole. *International journal of pharma and bio sciences*, 4 (1), 934 – 948.

Huh, A. J., & Kwon, Y. J. (2011). “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*, 156, 128–145.

Kichijima, H. (2007). Cationically modified karaya gum and cosmetic composition containing the same substance. JP2007039477.

Kumar, A., & Ahuja, M. (2012). Carboxymethyl gum kondagogu: Synthesis, characterization and evaluation as mucoadhesive polymer. *Carbohydrate Polymers*, 90, 637-643.

Kumar, A., Gopal, A. R. U. M., & Moin, A. (2014). Development of cashew gum and its derivatives for sustained released drug delivery system: By response surface methodology. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 476-484.

Kumar, A., Moin, A., Shruthi, R., Ahmed, A., & Shivakumar, G. (2012). Cashew gum a versatile hydrophilic polymer: a review. *Current Drug Therapy*, 7, 2-12.

Labovitiadi, O., Lamb, A. J., & Matthews, K. H. (2012). Lyophilised wafers as vehicles for the topical release of chlorhexidine digluconate – Release kinetics and efficacy against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Pharmaceutics*, 439, 157-164.

Minnesota Mining & MFG. (1963). Improvement in paper. GB944013.

Munir, H., Shahid, M., Anjum, F., & Mudgil, D. (2016). Structural, thermal and rheological characterization of modified Dalbergia sissoo gum-A medicinal gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 236-245.

Oteo, J. & Aracil, M. B. (2015). Caracterización de mecanismos de resistencia por biología molecular: Staphylococcus aureus resistente a meticilina, lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(2), 27-33.

Padil, V. V. T., & Cerník, M. (2015). Poly (vinyl alcohol)/gum karaya electrospun plasma treated membrane for the removal of nanoparticles (Au, Ag, Pt, CuO and Fe₃O₄) from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*, 287, 102-110.

Padil, V. V. T., Nguyen, N. H. A., Rozek, Z., & Sevcu, A. (2015). Synthesis, fabrication and antibacterial properties of a plasma modified electrospun membrane consisting of gum

Kondagogu, dodeceny succinic anhydride and poly (vinyl alcohol). *Surface and Coatings Technology*, 271(15), 32-38.

Padil, V. V. T., Senan, C., & Cerník, M. (2015). Dodeceny succinic anhydride derivatives of gum karaya (*Sterculia urens*): preparation, characterization, and their antibacterial properties. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 63, 3757-3765.

Patra, N., Martinová, L., Stuchlik, M., & Cerník, M. (2015). Structure-property relationships in *Sterculia urens*/polyvinyl alcohol electrospun composite nanofibres. *Carbohydrate Polymers*, 120, 69-73.

Rana, V., Rai, P., Tiwary, A. K., Singh, R. S., Kennedy, J. F., & Knill, C. J. (2011). Modified gums: approaches and applications in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 83, 1031-1047.

Reddy, M. M., Reddy, J. D., Moin, A., & H. G, Shivakumar. (2012). Formulation of Sustained-Release Matrix Tablets Using Cross-linked Karaya gum. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11, 185-192.

Riley, M. A., Robinson, S. M., Roy, C. M., Dennis, M., Liu, V., & Dorit, R. L. (2012). Resistance is futile: the bacteriocin model for addressing the antibiotic resistance challenge. *Biochemical Society Transactions*, 40, 1438-1442.

Singh, B., & Sharma, N. (2008). Modification of stercuria gum with methacrylic acid to prepare a novel drug delivery system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43, 142-150.

Skender, A., Hadja-Ziane-Zafour, A., & Flahaut, E. (2013). Chemical functionalization of xanthan gum for the dispersion of double-walled carbon nanotubes in water. *Carbon*, 62, 149-156.

Staba, E. A. (1977). Method for preparing na extrudable priming mixture containing modified karaya gum. US4001060.

Venkatesham, M., Ayodhya, D., Madhusudhan, A., Kumari, A. S., Veerabhadram, G., & Mangatayaru, K. G. A. (2014). Novel green synthesis of silver nanoparticles using gum karaya: characterization, antimicrobial and catalytic activity studies. *Journal Clust Science*, 25, 409-422.

Wang, H., Williams, P. A., & Senan, C. (2014). Synthesis, characterization and emulsification properties of dodecyl succinic anhydride derivatives of gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, 37, 143-148.

Zampa, M. Z., Brito, A. C., Kitagawa, I. L., Constantino, C. J. L., Oliveira Jr. O. N., Cunha, H. N., Zucolotto, V., Santos Jr, J. R., & Eiras, C. (2007). Natural gum-assisted phthalocyanine immobilization in electroactive nanocomposites: physicochemical characterization and sensing applications. *Biomacromolecules*, 8, 3408-3413.

**CAPÍTULO 2: ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CITOTÓXICA DE DERIVADOS
DE GOMAS DO GÊNERO *Sterculia***

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CITOTÓXICA DE DERIVADOS DE GOMAS

DO GÊNERO *Sterculia*

*Solranny Carla Cavalcante Costa e Silva¹, Durcilene Alves da Silva¹, Edson Cavalcanti da
Silva Filho¹*

*¹Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais,
Laboratório Interdisciplinar de Materiais - LIMAV*

RESUMO

As gomas são heteropolissacarídeos complexos ramificados e polidispersos que podem ter suas aplicações ampliadas através da inserção ou melhoramento de características por meio de modificações químicas. O objetivo deste trabalho foi modificar as gomas caraia e chichá com anidrido maleico e avaliar a atividade antibacteriana e a citotoxicidade dos derivados obtidos. A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada pelo método de contato direto contra a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923, enquanto a citotoxicidade foi avaliada pelos testes de MTT e hemólise. A incorporação do anidrido à estrutura das gomas foi comprovada analisando-se os espectros de FTIR. Os materiais derivados apresentaram comportamento térmico e cristalinidade diferentes das gomas não modificadas, inibiram quase 100% do crescimento bacteriano e não apresentaram citotoxicidade significativa nas concentrações estudadas (100 a 0,78 µg/mL).

Palavras-chave: anidrido maleico, atividade antibacteriana, toxicidade, goma modificada, *Sterculia urens*, *Sterculia striata*.

ABSTRACT

Gums are branched heteropolysaccharide and polydisperse, which may have their applications expanded by inserting or improvement of characteristics by chemical modifications. The aim of this study was to modify the karaya and chicha gum with maleic anhydride and evaluate the antibacterial activity and cytotoxicity of the obtained derivatives. Evaluation of antibacterial activity was carried out by the direct contact method using the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain, while the cytotoxicity was evaluated by MTT and hemolysis methods. The incorporation of the anhydride into the structure of the gums was confirmed analysing the FTIR spectra. The derived materials showed thermal behavior and crystallinity different than unmodified gum, besides, they inhibited almost 100% of bacterial growth and showed no significant cytotoxicity at the concentrations studied (from 100 to 0.78 ug / ml).

Key-words: antibacterial activity, maleic anhydride, modified gum, *Sterculia urens*, *Sterculia striata*, toxicity.

1. INTRODUÇÃO

A resistência microbiana é considerada um problema de saúde pública mundial, sendo consequência do uso indiscriminado de antibióticos (Oliveira & Silva, 2008; Riley et al, 2012). O aumento dessa resistência frente aos agentes antimicrobianos convencionais tem estimulado a busca por novas substâncias com atividade antimicrobiana, especialmente substâncias de origem natural (Campos et al., 2012), que possuem baixo custo e são, na maioria das vezes, biocompatíveis e biodegradáveis.

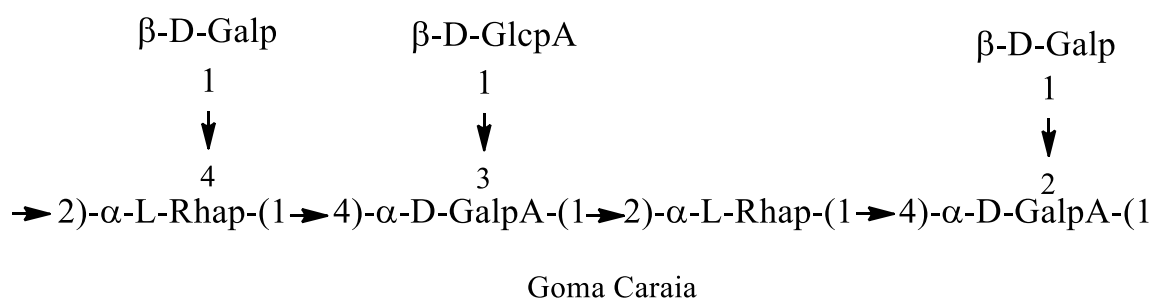
As plantas têm excepcional habilidade para produzir compostos citotóxicos os quais atuam como uma forma de autodefesa contra micróbios patogênicos (Stavri, Piddock, & Gibbons, 2007; Zampa et al., 2007). Como exemplo desse tipo de substância, temos os polissacarídeos de exsudatos (as gomas), que são heteropolissacarídeos complexos ramificados e polidispersos (Cunha et al., 2009). Na área biológica eles são aplicados em engenharia de tecidos (Ranjbar-Mohammadi, Bahrami & Joghataei, 2013), biossensores (Araújo et al., 2012), como veículo de liberação de fármacos (Das, Nayak & Nanda, 2013), ou ainda como agentes redutores e estabilizantes nas sínteses de nanopartículas com atividade antimicrobiana (Kudle et al. 2013).

As gomas possuem uma ampla variedade de composição e propriedades reológicas apresentando diversas aplicações biomédicas e possuindo como vantagens o baixo custo e a ausência de efeitos colaterais (Kumar et al., 2012). Com o objetivo de ampliar as possibilidades de aplicação dessas gomas, modificações estruturais têm sido realizadas como, por exemplo, a inserção de grupos carboxilato, oxidação dos grupos hidroxila a ácidos e enxertia com acrilamida (Cunha et al., 2009), além de esterificação com anidridos (Padil, Senan & Cerník, 2015). Esta última modificação, foi proposta pelos autores, com o

objetivo de melhorar as propriedades antibacterianas da goma caraia contra cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Árvores do gênero *Sterculia* são conhecidas por suas gomas ácidas com alta viscosidade em solução e características de gelificação (Brito et al., 2004). A goma caraia é um polissacarídeo extraído comercialmente da *Sterculia urens*, árvore cultivada na Índia, pertencente à família Sterculiaceae, e que cresce em regiões secas e rochosas (Galla & Dubasi, 2010). A goma caraia é um polissacarídeo complexo, parcialmente acetilado, de alto peso molecular, composto por 55-60% de resíduos neutros de monossacarídeos, 8% de grupo acetil e 37- 40% de resíduos de ácidos urônicos (Ibrahim et al., 2010). Devido às suas características reológicas, esta goma já vem sendo utilizada como matriz polimérica para liberação controlada de agente antimicrobiano em curativo de feridas (Singh & Pal, 2008). A estrutura dessa goma pode ser visualizada na Figura 1.

Figura 1: Estrutura da goma caraia. Adaptada de Rana et al. (2011). β -D-Galp (β -D-galactose); β -D-GlcpA (Ácido β -D-glucurônico); α -L-Rhap (α -L-ramnose); α -D-GalpA (α -D-ácido galacturônico).



Tradicionalmente, a Índia é o maior produtor e exportador de goma caraia, enquanto a Europa é o maior importador dessa goma (Verbeken, Dierckx & Dewettinck, 2003). O Brasil também importa a goma caraia, mas na flora brasileira existe uma árvore pertencente

à família Sterculiaceae que exsuda goma com composição muito semelhante à goma caraia, o chichá.

A árvore do chichá, também conhecida como chichazeiro-do-cerrado, xixá-do-cerrado, arachachá, chechá-do-norte, castanha-de-macaco, é uma fruteira não cultivada, porém abundante na natureza, em seu habitat natural na mata semidecídua e nos cerradões do Brasil central, além do sul do Pará até o Piauí, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul (Lorenzi et al., 2006). Apesar de ainda pouco estudada, trabalhos recentes apontam que o extrato etanólico da casca de seu caule possui atividade anti-inflamatória e anticonceptiva (Silva et al., 2014), além de atividade gastroprotetora (Sousa et al., 2012). Seu fruto possui atividade antioxidante, indicada pela presença de licopeno e conteúdo fenólico total (Rocha et al., 2013) e ainda apresenta potencial para a produção de biodiesel e bio-óleo (Mangas et al., 2012).

A goma do chichá contém ácido urônico (42,2-49,2%), ramnose (23,8-28,8%), galactose (19,3-23,4%), xilose (5,6-7,7%) e grupos acetil (9,6-10,7%). Sua composição, em termos qualitativos, se diferencia da goma caraia pela presença de xilose (Brito et al., 2004; Brito et al., 2005).

A exploração da goma do chichá para os mais diversos fins, incluindo sua aplicação para a indústria farmacêutica e biomédica, ampliaria as oportunidades de utilização do chichazeiro e beneficiaria a economia nacional pela diminuição na importação e aumento na oferta de emprego destinado ao manejo para a coleta da goma e dos outros derivados da planta.

Assim, este trabalho teve como objetivo modificar quimicamente as gomas caraia e chichá com anidrido maleico, analisar a atividade antimicrobiana dos derivados obtidos contra a cepa de *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e a atividade citotóxica frente a células de mamíferos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS E REAGENTES

A goma caraia, com peso molecular aproximado de 9.500.000 u, foi obtida na forma comercial fornecida pela Sigma Aldrich enquanto a goma do chichá foi isolada a partir de exsudato bruto coletado de árvores pertencentes ao plantio da EMBRAPA Meio-Norte, em Teresina-PI. Para a modificação de ambas as gomas foi utilizado o anidrido maleico (Sigma-Aldrich) de grau analítico. O solvente N-N'-dimetilacetamida (Sigma-Aldrich) com grau analítico foi utilizado sem tratamento prévio. A água utilizada para os processos de síntese foi obtida pela purificação em um sistema Milli-Q (Millipore Corporation).

2.2 ORIGEM E ISOLAMENTO DAS GOMAS

A goma do chichá foi isolada a partir de nódulos livres coletados das cascas de árvores de chichá (*Sterculia striata*), plantadas na EMBRAPA-Meio Norte, localizada na cidade de Teresina-PI e registradas no Herbário Graziela Barroso com o número TEPB:30418. A goma do chichá foi isolada na forma de sal, seguindo o método Rinaudo-Milas, com algumas modificações (Costa, Rodrigues, & Paula, 1996). Inicialmente, o polissacarídeo bruto (1,0 g) foi dissolvido em água destilada sob agitação (100,0 mL) à temperatura ambiente por 24h. Em seguida, adicionou-se 1,0 g de NaCl e, após dissolução deste, filtrou-se a solução e ajustou-se seu pH para 7,0 com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹. O polissacarídeo foi precipitado com etanol, lavado com acetona, seco à temperatura de 40° C em estufa com fluxo de ar quente por 24 h e macerado para sua obtenção em forma de pó.

A goma caraia (*Sterculia urens*) foi obtida já isolada, na forma comercial, fornecida pela Sigma Aldrich.

2.3 MODIFICAÇÃO DAS GOMAS CARAIA E CHICHÁ

As gomas isoladas foram modificadas seguindo o método descrito por Vieira e colaboradores (2010), na proporção de 1:2 (w/w) do polissacarídeo para o anidrido. Ao polissacarídeo (1,0 g) foi adicionado 2,0 g de anidrido maleico, sob agitação vigorosa, à 53 °C (temperatura de fusão do anidrido), por 30 e por 60 minutos. Em seguida foi adicionado 5,0 mL de N,N-dimetilacetamida e os derivados obtidos foram lavados várias vezes com água destilada, para a remoção de subprodutos da reação, postos para secar em estufa com fluxo de ar quente à temperatura de 40 °C e macerados para sua obtenção em forma de pó. Os derivados das gomas caraia e chichá obtidos com tempo de síntese de 30 min foram denominados KM30 e CM30, respectivamente, enquanto os derivados obtidos com tempo de 60 min foram denominados KM60 e CM60.

2.4 CARACTERIZAÇÕES

2.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR das gomas e dos materiais modificados foram obtidos usando o espectrofotômetro Varian 660-IR pelo método da pastilha em KBr 1% (m/m) de amostra, em 32 varreduras na região de 400 a 4000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} .

2.4.2 Termogravimetria (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas no aparelho SDT Q600 V20.9 Build 20 da TA Instruments utilizando aproximadamente 5 mg de amostra com razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹ em atmosfera de Argônio com fluxo de 100,0 mL min⁻¹ em porta amostra de alumina na faixa de temperatura de 25 a 1000 °C.

2.4.3 Difração de raios-X (DRX)

A difração de raios-X foi realizada em um difratômetro da marca Shimadzu, modelo XR-D600 A, na faixa 2θ entre 5 a 75°. A velocidade de varredura foi de 5° min⁻¹, utilizando a fonte de radiação CuKα, com comprimento de onda 154,06 pm.

2.5. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA CEPA PADRÃO DE *Staphylococcus aureus*

2.5.1. Linhagem Bacteriana

Foi utilizada a cepa bacteriana padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fornecida pelo Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da UFPI. A cepa foi mantida em ágar nutriente a 4 °C.

2.5.2 Preparo do Inóculo

As culturas foram obtidas transferindo-se uma alçada do crescimento bacteriano em ágar nutriente para um tubo falcon contendo 3,0 mL do meio Brain Heart Infusion a 3% (BHI), seguido de incubação a 37 °C por 24 h. A partir desta cultura em BHI, preparou-se uma suspensão bacteriana padronizada para uma densidade equivalente a 0,5 na escala Mac Farland, aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias - UFC). Procedeu-se, então, à diluição desta suspensão a $5,6 \times 10^7$ UFC/mL em salina fisiológica.

2.5.3 Teste de Contato Direto

O teste de contato direto em meio sólido foi realizado de acordo com Zheng e Zhu (2003). Para realização destes ensaios, transferiu-se 2000 µg do material a ser testado e 2000 µL de suspensão bacteriana para um eppendorf, seguido de homogeneização em agitador vórtex. Em seguida, 200 µL desta suspensão foi transferida para placas de Petri contendo agar Mueller Hinton, as quais foram semeadas com o auxílio de uma alça de Drigalsky pelo método *spread plate*, seguido de incubação a 37 °C por 24h. Como controle positivo semeou-se apenas os inóculos nas placas. Os ensaios foram realizados em quintuplicata.

O efeito inibitório produzido por cada solução-teste foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\eta = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100\% \quad \text{Equação (01)}$$

Onde η é definido como o efeito inibitório, N_1 é a média aritmética das unidades formadoras de colônia das placas controle e N_2 é a média aritmética das unidades formadoras de colônia de cada uma das soluções testadas.

2.5.4 Análise Estatística

Os ensaios foram realizados em quintuplicata. Foram realizadas análise de variância ANOVA seguida de teste de Bonferroni no GraphPad Prism 5.0 tomando-se o valor de $p < 0,05$ como nível máximo de significância estatística.

2.6. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE MAMIFEROS.

2.6.1 Animais

Para o desenvolvimento do trabalho foram utilizados 10 camundongos BALB/c (20-30g), machos e fêmeas de 4 a 5 semanas de vida, provenientes do biotério setorial do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM/UFPI), mantidos a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e ciclo claro escuro de 12h com água e ração *ad libitum*. Os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical após tranquilização e sedação por injeção intraperitoneal de uma associação de cloridrato de xilazina (10 mg/Kg de peso vivo) e cloridrato de cetamina (100 mg/Kg de peso vivo) de acordo com a Resolução N° 714, de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), sendo as eutanásias realizadas sob a responsabilidade do Médico Veterinário Fernando Aécio de Amorim Carvalho, CRMV-PI N° 0335. O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética da UFPI, protocolo n° 050/2015.

2.6.2 Citotoxicidade em macrófagos de camundongos pelo teste do MTT

Foi avaliada a citotoxicidade das gomas caraia, chichá e de seus derivados utilizando o teste do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-zil]-2,5-difeniltetrazolio (Sigma-Aldrich,

St. Louis, EUA). Em microplaca de 96 poços foram adicionados 100 µL de meio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640) suplementado com soro fetal bovino e cerca de 2×10^5 macrófagos por poço. Essas células foram incubadas a 37 °C e 5% de CO₂ por 4h para adesão celular. Após esse tempo, foram feitas duas lavagens com meio RPMI suplementado para retirada das células que não aderiram. Posteriormente, foram adicionados 100 µL de RPMI 1640 suplementado juntamente com as soluções das gomas caraia e chichá, e de seus derivados, diluídas nas concentrações de 100 a 0,78 µg/mL. Em seguida foram incubadas por 48h e, ao final da incubação, foram adicionados 10 µL de MTT diluído em PBS (Tampão fosfato-salino) a 5 mg/mL. Foram incubados por mais 4 h em estufa a 37 °C com 5% de CO₂, e em seguida o sobrenadante foi descartado e foi adicionado 100 µL de DMSO (dimetilsulfóxido) em todos os poços. Em seguida, a placa foi colocada sob agitação por cerca de 30 min em agitador de Kline (modelo AK 0506), à temperatura ambiente, para dissolução completa do formazan. Por último, foi realizada a leitura a 550 nm em leitora de placa. Os resultados foram expressos em porcentagem de viabilidade celular, sendo considerado como grupo controle, com 100% de viabilidade, aquele em que as células foram incubadas apenas com o meio de cultura, sem a presença de nenhuma substância teste (Nogueira et. al., 2007).

2.6.3 Citotoxicidade em eritrócitos pelo teste de hemólise

Para a avaliação da atividade hemolítica foram utilizados 5,0 mL de sangue de carneiro, coletado com o anticoagulante EDTA (Ácido etilenodiamino tetra-acético). Após a coleta, os eritrócitos foram diluídos em 80 µL de PBS, ajustando a concentração do sangue para 5% de hemácias. Em seguida foram adicionadas as substâncias testes, nas concentrações de 100 a 0,78 µg/mL, diluídas num volume de 20 µL de PBS. Logo após,

foram incubadas durante 1h a 37 °C e a reação foi interrompida pela adição de 200 µL de PBS. As suspensões foram, então, centrifugadas a 1000 rpm, por 10 min à temperatura ambiente. O sobrenadante foi submetido à espectrofotometria a um comprimento de onda de 550 nm para quantificar a atividade hemolítica. A ausência (controle negativo) e 100% de hemólise (controle positivo) foram determinadas, substituindo a solução da amostra testada com igual volume de PBS e água Milli-Q estéril, respectivamente. Os resultados foram expressos em porcentagem de hemólise (Löfgren et al., 2008). A porcentagem hemolítica foi determinada usando a seguinte equação (Rodrigues et al., 2015):

$$\text{Hemólise (\%)} = \frac{\text{Absorbância da amostra} - \text{Absorbância do branco controle}}{\text{Absorbância da lise máxima} - \text{Absorbância do branco controle}} \times 100$$

Equação (02)

2.6.4 Análise estatística

Os ensaios foram realizados em duplicata, para a atividade hemolítica, e em triplicata para o teste de MTT com macrófagos. Foram realizadas análises de variância ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni no GraphPad Prism 5.0 tomando-se o valor de $p < 0,05$ como nível máximo de significância estatística (Sokal & Rohlf, 1996).

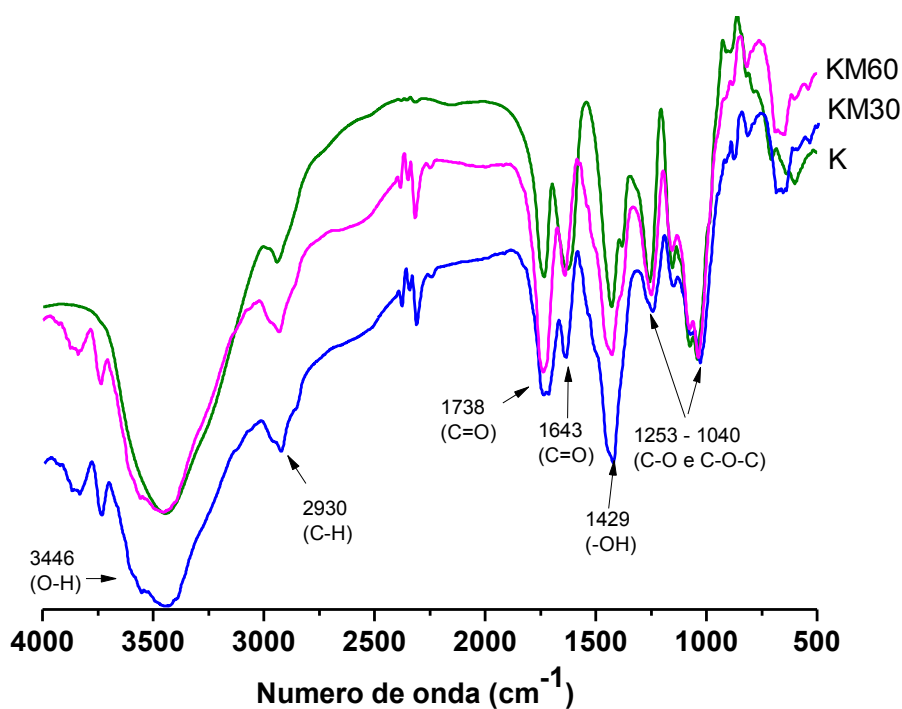
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CARACTERIZAÇÕES DAS GOMAS E DOS DERIVADOS

3.1.1 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros de FTIR da goma caraia (K) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30 e KM60) encontram-se na Figura 2.

Figura 2 - Espectros na região do infravermelho da goma caraia não modificada K e das formas quimicamente modificada KM30 e KM60.



O espectro de FTIR da goma caraia apresentou uma banda larga a 3446 cm^{-1} relativa ao alongamento O-H dos anéis galactopiranosose e glucopiranosose (Singh & Pal, 2008; Venkatesham et al., 2014), e uma banda a 2930 cm^{-1} relativa à vibração de alongamento C-H dos grupos alifáticos (Singh & Pal, 2008; Padil, Senan & Cerník, 2015). Este espectro também apresentou as bandas características das gomas do gênero *Sterculia*. Gomas deste gênero são ricas em ácidos urônicos, que são caracterizados por grupos carboxílicos, que podem gerar três bandas diferentes: uma banda a aproximadamente 1750 cm^{-1} e as bandas a cerca de 1630 e 1425 cm^{-1} (Lenzi et al., 2013). A banda em 1738 cm^{-1} presente no espectro da goma caraia, além de estar associado à vibração de alongamento C=O do grupo ácido carboxílico livre e éster metílico do ácido galacturônico (Singh & Pal, 2011), também representa o grupo acetil (Brito et al., 2004; Padil & Cerník, 2013). Já a banda em 1643 cm^{-1} representa o alongamento simétrico e assimétrico do C=O dos ácidos glucurônicos e galacturônicos (Singh & Pal, 2008) e a banda a 1429 cm^{-1} é relativa ao OH do grupo ácido carboxílico (Venkatesham et al., 2014). As bandas na região de $1250\text{-}1040\text{ cm}^{-1}$, devidas às vibrações de alongamento C-O e C-O-C, são características dos polissacarídeos naturais (Singh & Pal, 2011).

O espectro da goma do chichá não modificada apresentou perfil semelhante ao da goma caraia (Figura 3).

Mudanças estruturais das gomas caraia e chichá foram confirmadas nos espectros de FTIR dos materiais KM30, KM60, CM30 e CM60 (Figuras 2 e 3). Maior intensidade da banda em torno de $2926\text{ - }2930\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuída ao alongamento C-H do $-\text{CH}=\text{CH}-$ do maleato (Xiong et al., 2014). O aumento de intensidade da banda em torno de $1727\text{ - }1738\text{ cm}^{-1}$ nos materiais KM30, KM60, CM30 e CM60 está relacionado ao aumento da presença de grupos ésteres e grupos ácidos carboxílicos provenientes do anidrido maleico (Xiong et al., 2014). O aumento da intensidade da banda em torno de $1426\text{ - }1429\text{ cm}^{-1}$

também evidenciou o aumento de grupos ácidos carboxílicos (Lenzi et al, 2013), pois cada segmento do anidrido anexado à estrutura da goma contém um éster e um grupo ácido carboxílico (Hamcerencu et al 2008). A Figura 4 representa uma proposta da reação entre as gomas e o anidrido maleico.

Figura 3 - Espectros na região do infravermelho da goma de chichá não modificada (C) e das formas quimicamente modificadas com anidrido maleico CM30 e CM60.

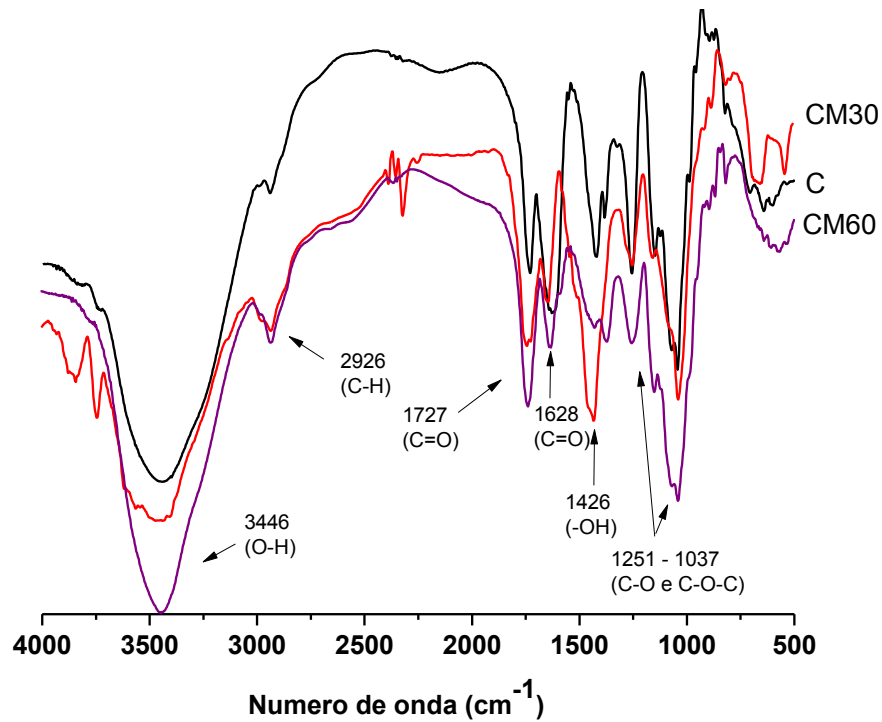
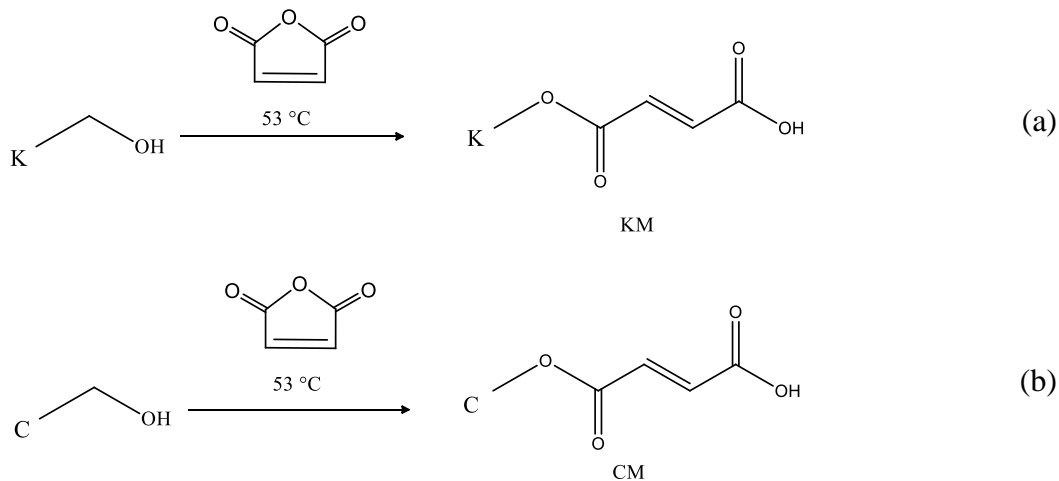


Figura 4 – Representação esquemática da reação entre as gomas caraia (K) e chichá (C) com o anidrido maleico e formação dos derivados KM (KM30/KM60) e CM (CM30/CM60).



3.1.2 Análise Térmica

As curvas de TGA e DTG da goma caraia e de seus derivados com anidrido maleico estão ilustradas nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

A partir da curva de TGA (Figura 5) observa-se que os derivados KM30 e KM60 foram decompostos em três eventos de perda de massa enquanto o seu precursor, a goma caraia, se decompôs em dois eventos. Os estágios de decomposição desses materiais foram mais evidentes através das curvas de DTG (Figura 6), com o aparecimento de dois picos para a goma caraia e três picos para os derivados KM30 e KM60.

Figura 5 - Curvas termogravimétricas (TGA) da goma caraia (K) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30 e KM60).

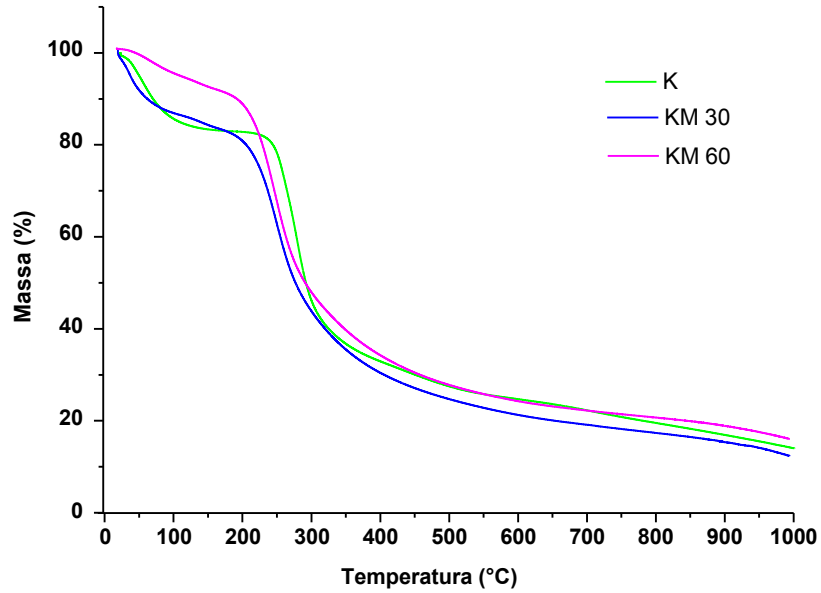
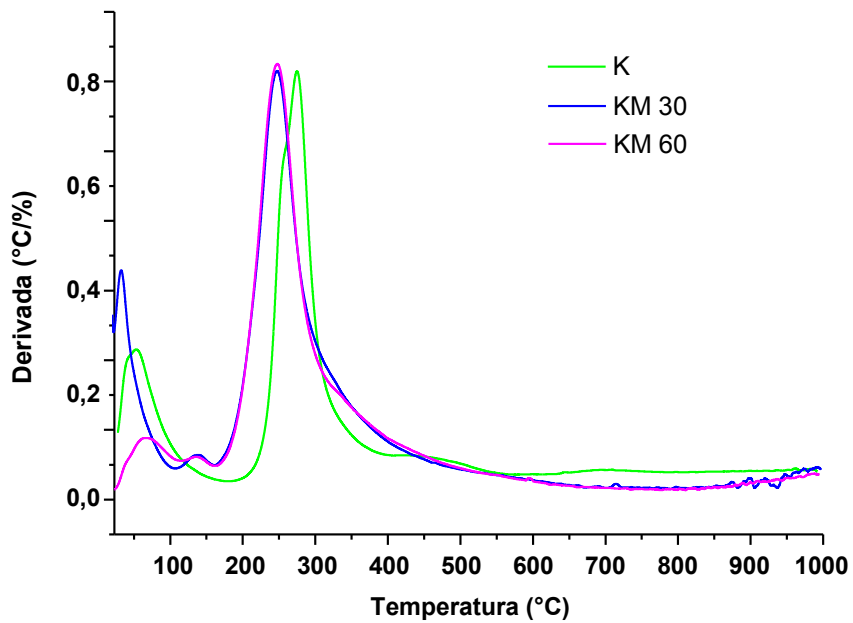


Figura 6 - Curvas derivadas (DTG) da goma caraia (K) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30 e KM60).



O primeiro estágio de perda de massa da goma caraia se iniciou em aproximadamente 27 °C, com temperatura máxima de decomposição em 48,65 °C, onde 16,53% da massa do material foi degradada. Este evento foi referente à perda de água da goma através de possíveis reações de desidratação. A segunda etapa de decomposição teve início em 191 °C, com temperatura máxima de decomposição de 271,90 °C, com degradação de 68,90% de massa do material (Tabela 1).

O derivado KM30 perdeu 11,79% em porcentagem de massa na primeira etapa, 2,84% na segunda etapa e 70,83% na terceira etapa de degradação térmica. Já o material KM60 perdeu 5,80%, 2,92%, e 75,14%, respectivamente, em seus três eventos de decomposição. Comportamento semelhante foi encontrado por Padil, Senan & Cerník (2015) ao modificarem a goma caraia com o anidrido dodecenilsuccínico.

Na Tabela 1 pode-se observar que, as maiores variações de massa ocorreram em temperaturas mais elevadas para a goma caraia em comparação com os derivados KM30 e KM60. Além disso, os derivados da goma caraia exibiram menor perda de massa no primeiro evento de decomposição, referente à perda de água, devido possivelmente à redução na absorção de água do material modificado.

As curvas de TGA e DTG da goma de chichá (C) e de seu derivado com anidrido maleico (CM30 e CM60) estão ilustradas nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

Tabela 1 - Temperaturas Máximas de decomposição e variação da massa em porcentagem nos estágios 1°, 2° e 3° para as amostras K, C e seus derivados KM30, KM60, CM30 e CM60.

Amostra	Temperaturas Máximas de decomposição(°C)			Variação da massa (%)		
	1°	2°	3°	1°	2°	3°
K	48,65	271,90	-	16,53	68,90	-
KM30	34,82	141,20	248,47	11,79	2,84	70,83
KM60	66,21	135,50	247,71	5,80	2,92	75,14
C	55,07	264,50	-	14,35	72,43	-
CM30	36,14	237,76	-	13,53	69,60	-
CM60	46,32	239,20	-	7,98	73,73	-

Figura 7 - Curvas termogravimétricas (TGA) da goma do chichá (C) e de seu derivado com anidrido maleico (CM30 e CM60).

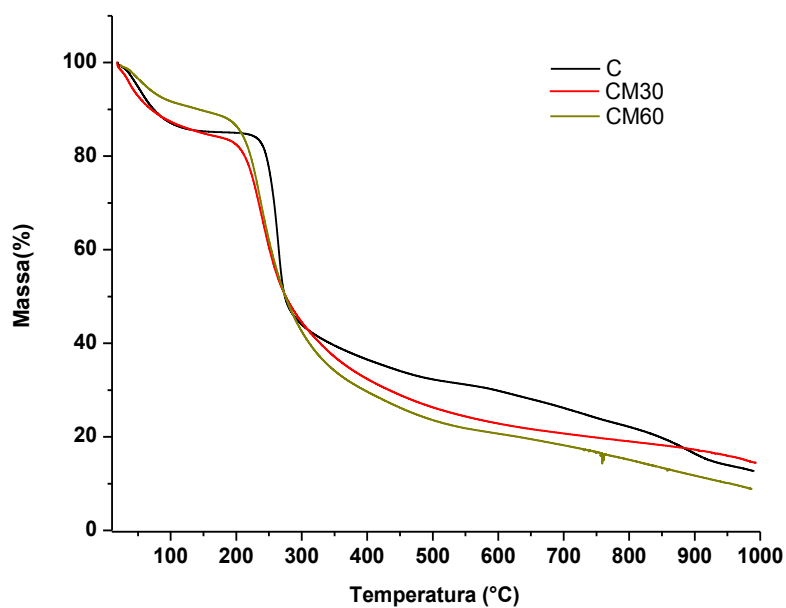
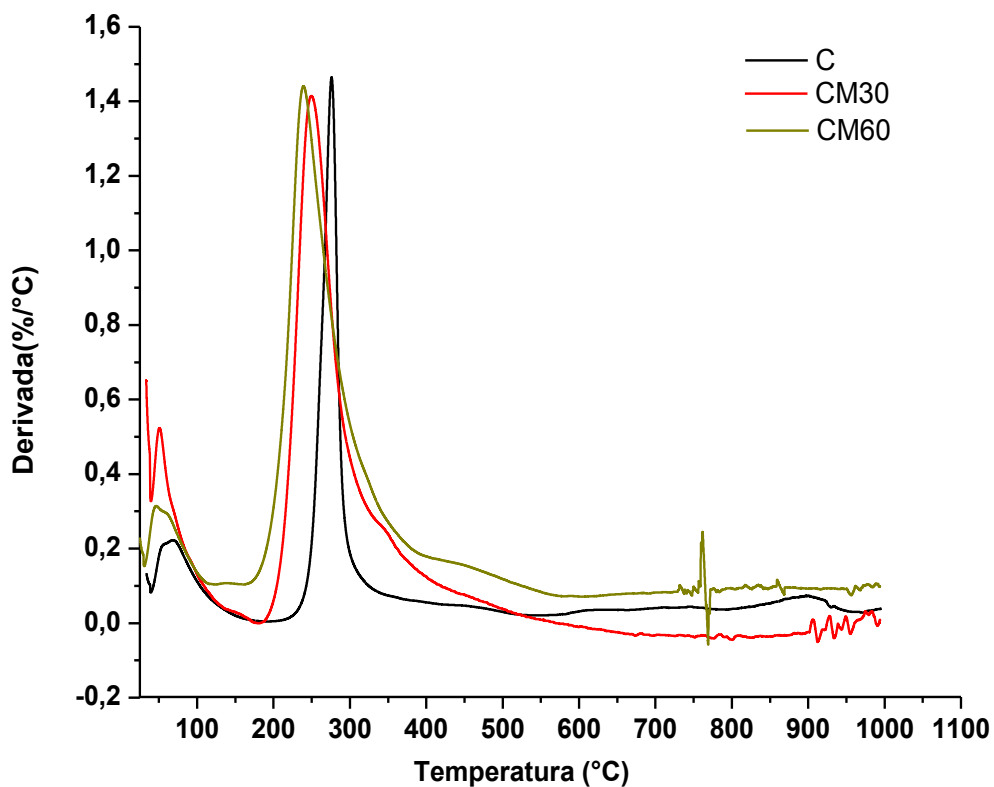


Figura 8 - Curvas derivadas (DTG) da goma do chichá (C) e de seu derivado com anidrido maleico (CM30 e CM60).



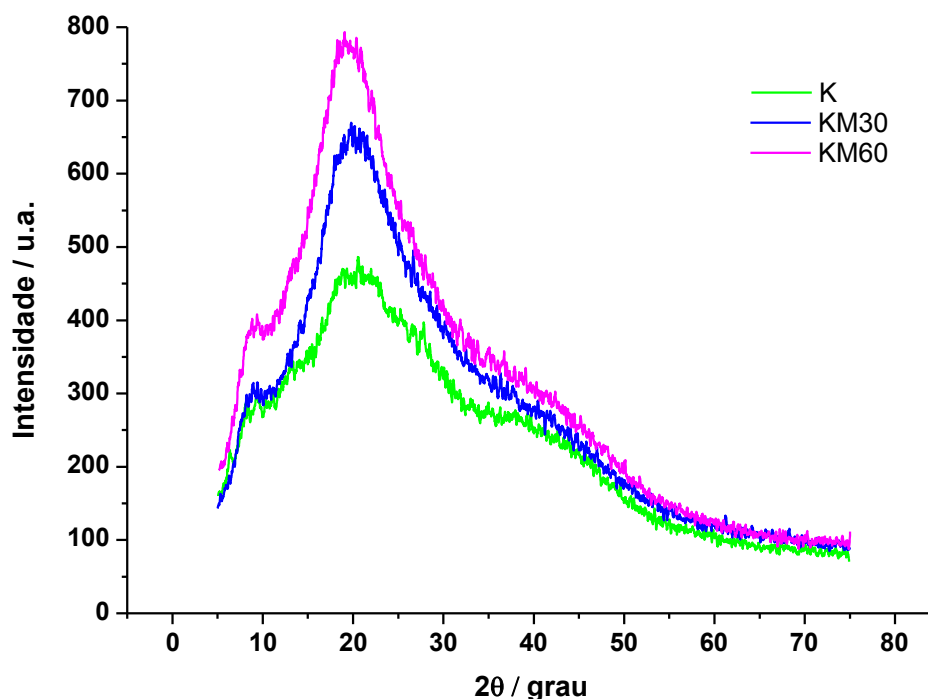
Assim como a goma caraia, a goma do chichá apresentou dois estágios de degradação térmica, com perda de massa de 14,35% no primeiro evento e 72,43% no segundo evento (Tabela 1). Os derivados CM30 e CM60 também apresentaram dois estágios de decomposição. O derivado CM30 apresentou perda de massa de 13,53% no primeiro evento e 69,60% no segundo evento, enquanto o derivado CM60 apresentou perdas de massa de 7,98 e 73,73%, no primeiro e no segundo eventos, respectivamente. A exemplo dos resultados obtidos para a modificação da goma caraia com o anidrido maleico, o derivado da goma do chichá também apresentou maior variação de massa em uma temperatura máxima de decomposição menor do que à da goma isolada.

3.1.3 Difração de raios X

A difratometria de Raios-X é uma técnica de análise estrutural importante para se determinar as mudanças de cristalinidade sofridas por materiais após processos de modificação química. A natureza estrutural das gomas caraia e chichá e de seus derivados foram determinados usando seus padrões de difração de raios-X.

A Figura 9 mostra os Difrátogramas de Raios-X da goma caraia e de seus derivados KM30 e KM60 com anidrido maleico.

Figura 9 - Difrátogramas de raios-X da goma caraia (K) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30 e KM60).

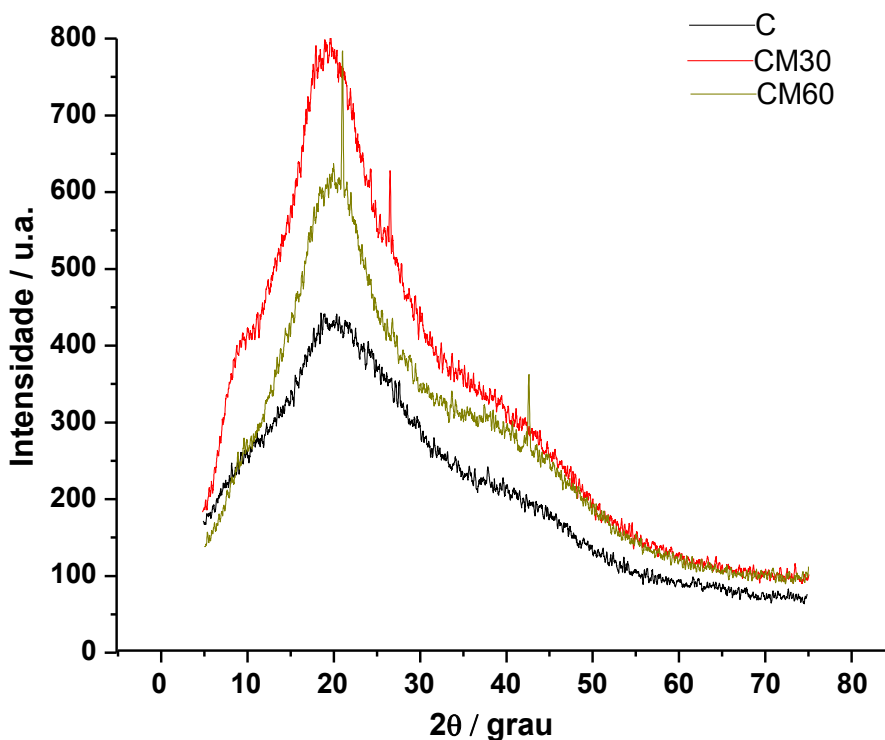


A goma caraia apresentou um padrão de difração com baixa cristalinidade, com um pico em torno de 19° , semelhante ao descrito na literatura por Babu, Prasad & Murthy (2002) e Padil & Cerník (2013). Após a modificação, através da reação com o anidrido

maleico, o material KM30 e KM60 apresentou um padrão de difração de raios-X diferente do material de partida, com aumento de intensidade do pico em torno de 19° devido ao surgimento de novas ligações de H inter e intramoleculares do ácido formado e a goma.

Os padrões de difração de raios-X da goma de chichá e dos derivados CM30 e CM60 estão ilustrados na Figura 10. A goma do chichá, assim como a goma caraia, também apresentou um padrão de difração de raios-X com pequena cristalinidade e os materiais CM30 e CM60 também apresentaram um aumento na intensidade do pico em 2θ em torno de 19° . Estes resultados indicam que a síntese proposta aumentou a cristalinidade nos materiais modificados com o anidrido.

Figura 10 - Difratoogramas de raios-X da goma do chichá (C) e de seus derivados com anidrido maleico (CM30 e CM60).



3.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

Na Tabela 2 e nas Figuras 11 e 12 encontram-se os resultados da atividade antibacteriana das gomas caraia (K) e chichá (C) e de seus derivados (KM30, KM60, CM30 e CM60) contra *S. aureus* obtidos através do teste de contato direto.

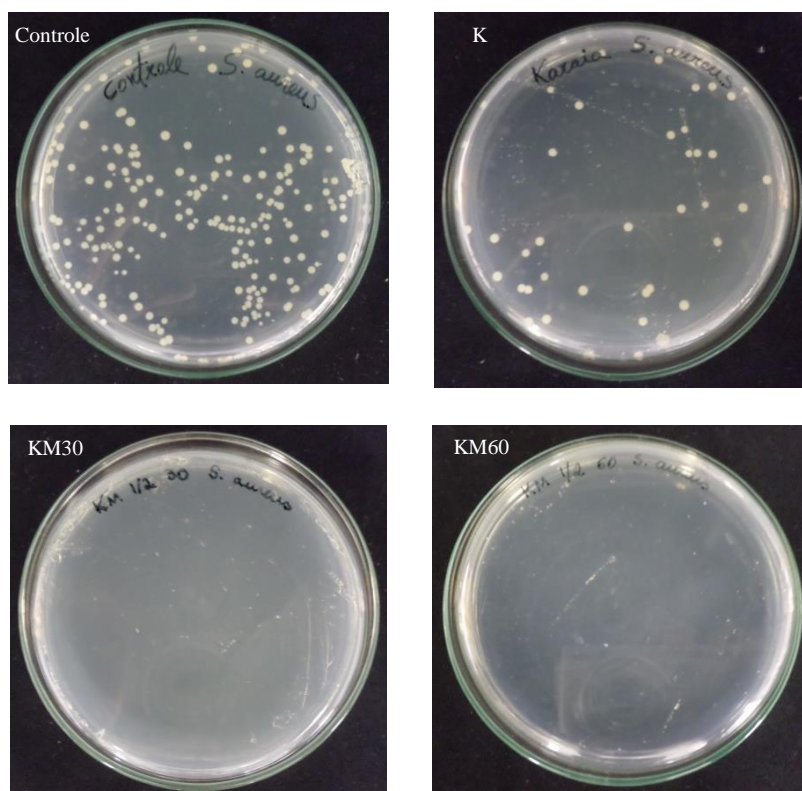
Tabela 2. Efeito inibitório das gomas caraia (K) e chichá (C) e de seus derivados (KM30, KM60, CM30 e CM60) sobre a cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.

Amostras	Efeito Inibitório (%)
	<i>S. aureus</i>
K	83,29 ± 2,96 a
KM 30	99,93 ± 0,14 b
KM 60	100,00 ± 0,00 b
C	56,20 ± 4,32 c
CM 30	99,86 ± 0,27 b
CM 60	99,15 ± 1,11b

Médias ± erro padrão seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Bonferroni a 5% de probabilidade.

A goma caraia exibiu efeito antibacteriano de 83,29%. Após a modificação com anidrido maleico, esse efeito inibitório aumentou para 99,93% e 100%, com os materiais KM30 e KM60, respectivamente (Figura 11).

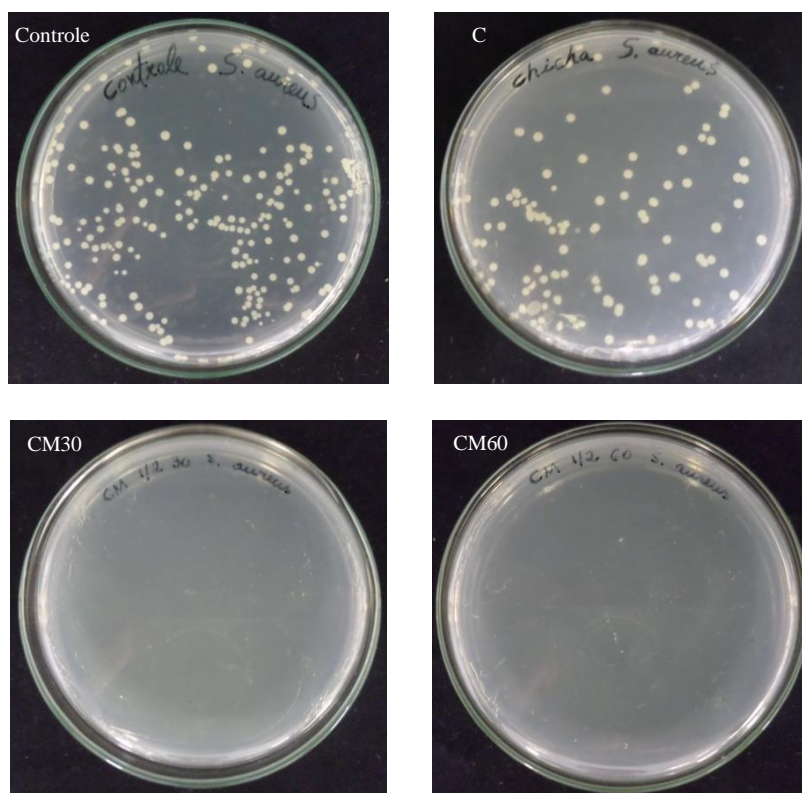
Figura 11 - Teste do contato direto para K e seus derivados KM30 e KM60 com a cepa padrão da bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.



O mesmo pode ser observado para a goma do chichá, que antes da modificação exibía efeito inibitório contra *S. aureus* de 56,20% e, após a modificação, teve esse efeito elevado para quase 100% (Figura 12).

A goma caraia exibiu efeito inibitório contra *S. aureus* maior do que a goma do chichá, no entanto, os derivados de ambas as gomas apresentaram efeitos inibitórios iguais, uma vez que não houve diferença estatística entre os efeitos inibitórios dos materiais KM30, KM60, CM30 e CM60, indicando que o aumento no tempo de síntese de 30 para 60 min não interferiu no efeito inibitório dos materiais modificados.

Figura 12 - Teste do contato direto para C e seus derivados CM30 e CM60 com a cepa padrão da bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.



A incorporação do grupo hidrofóbico maleato na estrutura das gomas, confirmado pelo FTIR, melhorou sua atividade antibacteriana contra *S. aureus*. No entanto, mais estudos são necessários para o entendimento do mecanismo de ação antibacteriana destes derivados.

Padil e colaboradores (2015), estudando a atividade antibacteriana de derivados da goma caraia com anidrido dodecenilsuccínico, atribuíram a melhoria da atividade antibacteriana dos derivados contra cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* ao balanço de hidrofiliidade/hidrofobicidade e ao aumento da rugosidade da superfície da estrutura da goma depois da obtenção dos derivados com o anidrido, o que auxiliaria no aumento do contato entre a superfície do material e a bactéria.

Já Campos e colaboradores (2012), procurando entender o mecanismo de ação antimicrobiana da goma de caju (que assim como a goma caraia e chichá, é aniônica) através

de análise de microscopia de força atômica relataram que as bactérias apresentaram redução de tamanho celular e aumento de rugosidade na membrana após o tratamento com a goma, indicando que a goma de caju interage com a parede celular bacteriana e provoca sua ruptura, levando à lise celular e consequente liberação do conteúdo intracelular.

Estes dois relatos estão de acordo com os resultados aqui expostos, pois as gomas caraia e chichá puras demonstraram possuir atividade antibacteriana contra uma cepa de bactéria Gram-positiva e, após associação com o anidrido maleico, melhoraram esse poder de ação, provavelmente devido à incorporação de grupo hidrofóbico que possibilitou a melhoria da aderência das gomas à parede celular bacteriana.

Os trabalhos que relatam o uso da goma caraia direcionado para a atividade antibacteriana utilizam esta goma como coadjuvante do processo e não como o agente antimicrobiano em si. Esta goma e outras obtidas de espécies do mesmo gênero são utilizadas como agentes redutores e estabilizantes de nanopartículas de prata para aplicação antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Kudle et al., 2013; Venkatesham et al., 2014) ou na liberação de drogas como a tetraciclina, que já é um antibiótico amplamente utilizado (Singh & Pal, 2008). Padil e Cerník (2013), por exemplo, sintetizaram nanopartículas de óxido de cobre com significativa ação antibacteriana contra cepas de *S. aureus* e *E. coli* e atribuíram a boa atividade do material ao tamanho e à forma de síntese das nanopartículas.

Em todos estes casos, os autores associaram o efeito bactericida às propriedades antibacterianas já conhecidas das nanopartículas metálicas ou dos fármacos incorporados.

Como sugerido por Padil e colaboradores (2015), os materiais derivados das gomas naturais com anidridos podem ser desenvolvidos como o principal agente antibacteriano, substituindo os materiais poliméricos baseados em nanomateriais de metais, além disso, como as gomas são amplamente usadas em alimentos e aplicações farmacêuticas como

estabilizantes e agentes emulsificantes, esse tipo de modificação ampliaria a utilização desse tipo de material em aplicações alimentares ou não alimentares através da associação desses efeitos com a atividade antibacteriana.

Existem poucos trabalhos sobre a goma do chichá e nenhum deles estuda a atividade antimicrobiana desse material, mas como esta goma possui composição e características muito parecidas com as da goma caraia, atribuiu-se a melhoria da ação antibacteriana desta goma, após a modificação com o anidrido maleico, às mesmas modificações ocorridas na goma caraia.

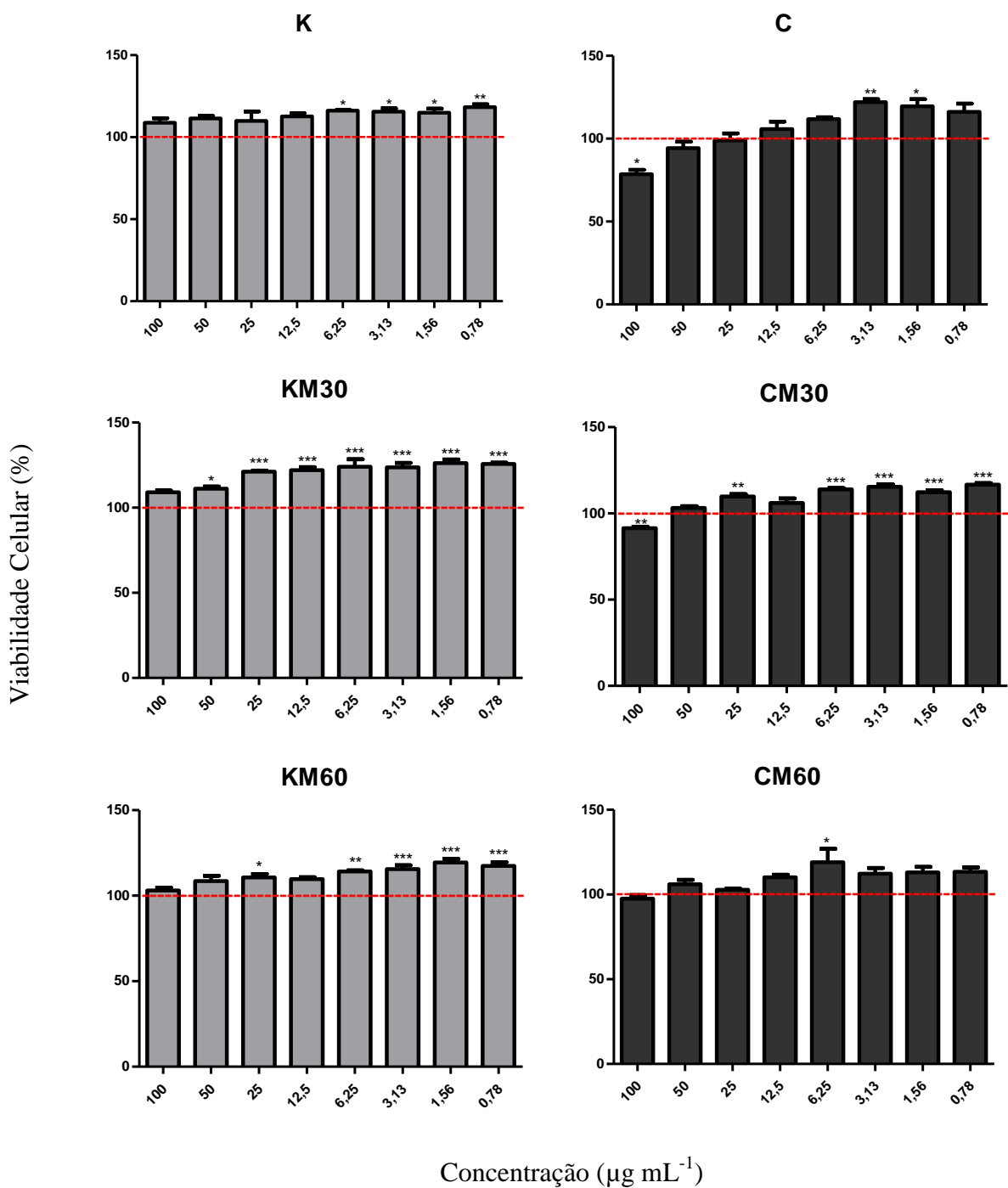
3.3 CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE MAMÍFEROS

Com o objetivo de estudar a biocompatibilidade das gomas e dos seus derivados em células de mamíferos, foi avaliada a citotoxicidade das substâncias em macrófagos e eritrócitos.

3.3.1 Citotoxicidade em macrófagos de camundongos pelo teste do MTT

Os resultados das avaliações dos testes de citotoxicidade das gomas e de seus derivados em células de macrófagos estão ilustrados nas Figuras 13 e 14.

Figura 13 – Efeito citotóxico das gomas caraia (K) e chichá (C) e de seus derivados (KM30, KM60, CM30 e CM60) sobre macrófagos de camundongos. A figura representa a média \pm erro padrão da média de experimento realizado em triplicata. One-way ANOVA foi realizado para comparar os grupos com o controle, sendo * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$.



A goma caraia e seus derivados não apresentaram citotoxicidade contra macrófagos nas concentrações estudadas, de 100 a 0,78 µg/mL (Figura 13), já a goma de chichá, na concentração de 100 µg/mL, apresentou citotoxicidade de 21,47% e o seu derivado CM30, na mesma concentração, apresentou citotoxicidade de 8,6%.

Comparando-se a viabilidade celular em macrófagos da goma do chichá com a viabilidade de seus derivados CM30 e CM60 (Figura 13) na concentração de 100 µg/mL, única concentração em que houve citotoxicidade, pode-se perceber que ocorreu uma diminuição gradativa da citotoxicidade, o que sugere que a modificação proposta além de melhorar a atividade antibacteriana contra *S. aureus*, também diminuiu a citotoxicidade do chichá frente às células de macrófagos.

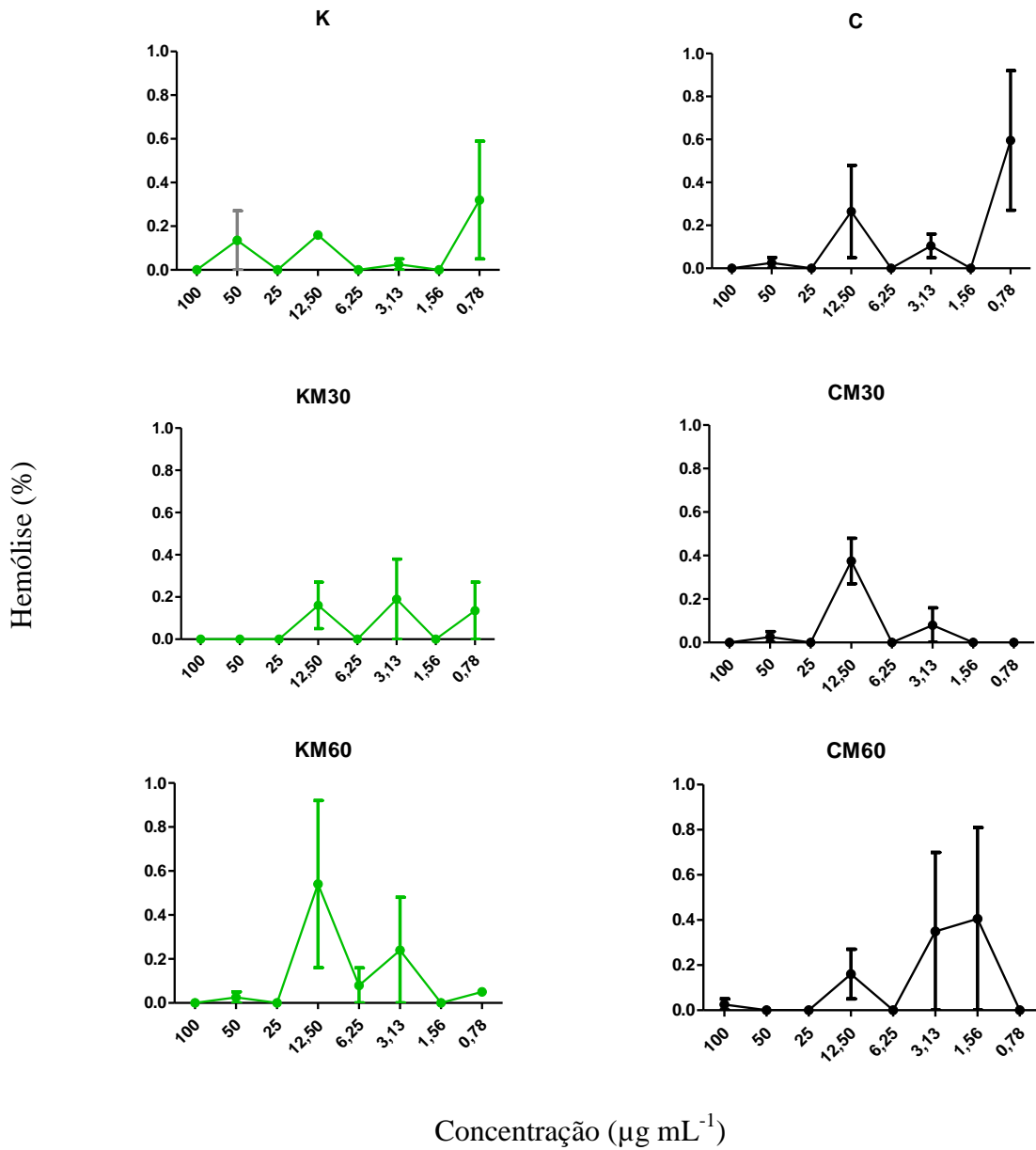
3.3.2 Citotoxicidade em eritrócitos pelo teste de hemólise

A Figura 14 representa o efeito citotóxico das gomas e de seus derivados em células de eritrócitos, expresso em porcentagem de hemólise.

Todas as amostras analisadas neste trabalho tiveram índices de hemólise inferiores a 1%, indicando que nenhuma delas foi hemolítica nas concentrações estudadas (100 a 0,78 µg/mL). O que reforça o potencial uso das gomas e dos seus derivados em aplicações biomédicas.

Pooja e colaboradores (2015) testaram a atividade hemolítica de nanopartículas de ouro estabilizadas com a goma caraia e concluíram que esta goma tem um potencial significativo na síntese de nanopartículas de ouro biocompatíveis que podem ser utilizadas como veículo para entrega de fármacos com atividade anticâncer, uma vez que as nanopartículas sintetizadas exibiram efeito hemolítico de apenas 1,4% na concentração mais elevada de ensaio (250 µg/mL).

Figura 14 - Efeito citotóxico da goma caraia (K), da goma de chichá (C) e de seus derivados com anidrido maleico (KM30, KM60, CM30 e CM60) sobre a viabilidade de eritrócitos de carneiro. Cada ponto representa a média \pm erro padrão da média de experimento realizado em duplicata, com limite de confiança de 95%.



A citotoxicidade de 8,6% do derivado CM30 em células de macrófagos na concentração de 100 µg/mL não inviabiliza seu uso como agente antimicrobiano uma vez que essa citotoxicidade pode ser considerada baixa frente à sua potencialidade antibacteriana contra *S. aureus* (efeito inibitório de quase 100%), além de ter sido enquadrado como material hemocompatível.

4. CONCLUSÕES

As técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho mostraram que o processo de síntese proposto para a obtenção de novos derivados de goma caraia e de goma de chichá com anidrido maleico foi realizado com sucesso.

A incorporação do anidrido maleico às gomas foi comprovada através de mudanças nos espectros de FTIR. As gomas modificadas apresentaram aumento de intensidade das bandas em torno de $2926 - 2930 \text{ cm}^{-1}$, $1727 - 1738 \text{ cm}^{-1}$ e $1426 - 1429 \text{ cm}^{-1}$, relacionadas ao aumento de cadeias alifáticas e à presença de grupos ésteres e grupos ácidos carboxílicos provenientes do anidrido maleico.

As gomas modificadas apresentaram maior variação de massa em menores temperaturas máximas de decomposição e apresentaram maior cristalinidade do que as gomas não modificadas.

Os derivados KM30, KM60, CM30 e CM60 apresentaram efeito inibitório mais elevado contra cepas de *S. aureus* do que as gomas não modificadas e não apresentaram citotoxicidade significativa em células de mamíferos em nenhuma das concentrações estudadas (100 a $0,78 \mu\text{g/mL}$), indicando que podem ser considerados seguros como agentes antibacterianos em aplicações biomédicas.

Os efeitos inibitórios contra *S. aureus* dos derivados obtidos não diferiram estatisticamente entre si indicando que o aumento no tempo de síntese dos derivados das gomas caraia e chichá não alterou a eficiência da atividade antimicrobiana.

A modificação química das gomas com anidrido maleico proporcionou aumento do efeito inibitório contra *S. aureus* de 16,64% para KM30 e de 16,71% para KM60, enquanto que para a CM30 e para a CM60 esse aumento foi de 43,66% e de 42,95%, respectivamente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, I. M. S., Zampa, M. F., Moura, J. B., Santos Jr., J. R., Eaton, P., Zucolotto, V., Veras, L. M. C., Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., Leite, J. R. S. A., & Eiras, C. (2012). Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. *Materials Science and Engineering C*, 32, 1588-1593.

Babu, G. V. M. M., Prasad, C. D. S., & Murthy, K. V. R. (2002). Evaluation of modified gum karaya as carrier for the dissolution enhancement of poorly water-soluble drug nimodipine. *International Journal of Pharmaceutics*, 234, 1-17.

Brito, A. C. F., Silva, D. A., Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2004). *Sterculia striata* exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with *Sterculia urens* (karaya) polysaccharide. *Polymer International*, 53, 1025-1032.

Brito, A. C. F., Sierakowski, M. R., Reicher, F., Feitosa, J. P. A., & De Paula, R. C. M. (2005). Dynamic rheological study of *Sterculia striata* and karaya polysaccharides in aqueous solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 861-867.

Campos, D. A., Ribeiro, A. C., Costa, E. M., Fernandes, J. C., Tavarina, F. K., Araruna, F. B., Eiras, C., Eaton, P., Leite, J. R. S. A., & Pintado, M. M. (2012). Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. *Carbohydrate Polymers*, 90, 270-274.

Costa, S. M. O., Rodrigues, J. F., & Paula, R. C. M. (1996). Monitorização do processo de purificação de gomas naturais: Goma de cajueiro. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2, 49–55.

Cunha, P. L. R., Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2009). Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova*, 32 (3), 649-660.

Das, B., Nayak, A. K., & Nanda, U. (2013). Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: preparation and invitro skin permeation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 514-517.

Galla, N. R., & Dubasi, G. R. (2010). Chemical and functional characterization of gum karaya (*Sterculia urens* L.) seed meal. *Food Hydrocolloids*, 24, 479-485.

Hamcerencu, M., Desbrieres, J., Khoukh, A., Popa, M., & Riess, G. (2008). Synthesis and characterization of new unsaturated esters of gellan gum. *Carbohydrate Polymers*, 71, 92-100.

Ibrahim, N. A., Abo-Shosha, M. H., Allam, E. A., & El-Zairy, E. M. (2010). New thickening agents based on tamarind seed gum and karaya gum polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 81, 402–408.

Kudle, K. R., Donda, M. R., Merugu, R., Prashanthi, Y., Kudle, M. R., & Pratag, R. M. P. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using water soluble gum of *Sterculia foetida*

and evaluation of its antimicrobial activity. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 563-568.

Kumar, A., Moin, A., Shruthi, R., Ahmed, A., & Shivakumar, G. (2012). Cashew gum a versatile hydrophylic polymer: a review. *Current Drug Therapy*, 7, 2-12.

Lenzi, R. M., Campestrini, L. H., Okumura, L. M., Bertol, G., Kaiser, S., Ortega, G. G., Gomes, E. M., Bovo, F., Zawadzki-Baggio, S. F., Stevan-Hancke, F. R., & Maurer, J. B. B. (2013). Effects of aqueous fractions of *Uncaria tomentosa* (Willd.) D. C. on macrophage modulatory activities. *Food Research International*, 53, 767-779.

Löfgren, S. E., Miletti, L. C., Steindel, M., Bachère, E., & Barracco, M. A. (2008). Trypanocidal and leishmanicidal activities of different antimicrobial peptides (AMPs) isolated from aquatic animals. *Experimental Parasitology*, 118(2), 197–202.

Lorenzi, H., Sartori, S. F. S., Bacher, L. B., & Lacerda, M. T. C. (2006). Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: (de consumo *in natura*). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.

Mangas, M. B. P., Rocha, F. N. Suarez, P. A. Z., Meneghetti, S. M. P., Barbosa, D. C., Santos, R. B., Carvalho, S. H. V., & Soletti, J. I. (2012). Characterization of biodiesel and bio-oil from *Sterculia striata* (chicha) oil. *Industrial Crops and Products*, 36, 349-354.

Nogueira, I. A. L., Leao, A. B. B., Vieira, M. S., Benfica, P. L., & Bozinis, M. C. V. (2007). Efeito citotóxico do *Synadenium bellatum*. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 4, 50-53.

Oliveira, A. C., & Silva, R. S. (2008). Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, 10(1), 189-197.

Padil, V. V. T., & Cerník, M. (2013). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 889-898.

Padil, V. V. T., Nguyen, N. H. A., Sevcu, A., & M. Cernik. (2015). Fabrication, characterization, and antibacterial properties of electrospun membrane composed of gum karaya, polyvinyl lcohol, and silver nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2015, 1-10.

Padil, V. V. T., Senan, C., & Cerník, M. (2015). Dodecenylsuccinic anhydride derivatives of gum karaya (*Sterculia urens*): preparation, characterization, and their antibacterial properties. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 63, 3757-3765.

Pooja, D., Panyaram, S., Kulhari, H., Reddy, B., Rachamalla, S. S., & Sistla, R. (2015). Natural polysaccharide functionalized gold nanoparticles as biocompatible drug delivery carrier. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80, 48-56.

Rana, V., Rai, P., Tiwary, A. K. Singh, R. S., Kennedy, J. F., & Knill, C. J. (2011). Modified gums: approaches and applications in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 83, 1031-1047.

Ranjbar-Mohammadi, M., Bahrami, S. H., & Joghataei, M. T. (2013). Fabrication of novel nanofiber scaffolds from gum tragacanth/poly(vinyl alcohol) for wound dressing application: in vitro evaluation and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering C*, 33, 4985-4943.

Riley, M. A., Robinson, S. M., Roy, C. M., Dennis, M., Liu, V., & Dorit, R. L. (2012). Resistance is futile: the bacteriocin model for addressing the antibiotic resistance challenge. *Biochemical Society Transactions*, 40, 1438-1442.

Rocha, M. S., Figueiredo, R. W., Araújo, M. A. M., & Moreira-Araújo, R. S. R. (2013). Caracterização físico-química e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(4), 933-941.

Rodrigues, K. A. F., Amorim, L. V., Dias, C. N., Moraes, D. F. C., Carneiro, S. M. P., & Carvalho, F. A. A. (2015). *Syzygium cumini* (L.) skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-*Leishmania* activity through immunomodulation in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 160, 32-40.

Silva, F. V., Oliveira, I. S., Figueiredo, K. A., Melo Júnior, F. B., Costa, D. A., Chaves, M. H., Amaral, M. P. M., Almeida, F. R. C., Oliveira, F. A., & Oliveira, R. C. M. (2014). Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Sterculia striata* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae) in Rodents. *Journal of Medical Food*, 17(6), 694-700.

Singh, B., & Pal, L. (2008). Developmente of sterculia gum based wound dressings for use in drug delivery. *European Polymer Journal*, 44, 3222-3230.

Singh, B., & Pal, L. (2011). Radiation crosslinking polymerization of sterculia polysaccharide-PVA-PVP for making hydrogel wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48, 501-510.

Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1996). *Biometria: principios y metodos estadisticos en la investigacion biologica*. H. Blume Ediciones, Madrid, 832p.

Sousa, J. A., Oliveira, I. S., Costa, D. A., Chaves, M. H., Oliveira, F. A., Nunes, P. H. M., & Oliveira, R. C. M. (2012). Gastroprotective activity of *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) in Rodents. *Zeitschrift fur Naturforschung – Section C Journal of Biosciences*, 67 C(3-4), 163-171.

Stavri, M., Piddock, L. J., & Gibbons, S. (2007). Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. *Journal Antimicrobial Chemotherap*, 59, 1247-1260.

Venkatesham, M., Ayodhya, D., Madhusudhan, A., Kumari, A. S., Veerabhadram, G., & Mangatayaru, K. G. A. (2014). Novel green synthesis of silver nanoparticles using gum karaya: characterization, antimicrobial and catalytic activity studies. *Journal Clust Science*, 25, 409-422.

Verbeken, D., Dierckx S., & Dewettinck, K. (2003). Exudate gums: occurrence, production, and applications. *Applic Microbiological Biotechnology*, 63(1), 10-21.

Vieira, A. P., Santana, S. A. A., Bezerra, C. W. B., Silva, H. A. S., Melo, J.C.P., Silva Filho, E. C., & Airoidi, C. (2010). Copper sorption from aqueous solutions and sugar cane spirits by chemically modified babaçu coconut (*Orbignya speciosa*) mesocarp. *Chemical Engineering Journal*, 161, 99-105.

Xiong, X., Li, M., Xie, J., Xue, B., & Sun, T. (2014). Preparation and antioxidant activity of xanthan oligosaccharides derivatives with similar substituting degrees. *Food Chemistry*, 164, 7-11.

Zampa, M. Z., Brito, A. C., Kitagawa, I. L., Constantino, C. J. L., Oliveira Jr. O. N., Cunha, H. N., Zucolotto, V., Santos Jr, J. R., & Eiras, C. (2007). Natural gum-assisted phthalocyanine immobilization in electroactive nanocomposites: physicochemical characterization and sensing applications. *Biomacromolecules*, 8, 3408-3413.

Zheng, L. & Zhu, J. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with diferente molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, 54, 527-530.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A modificação química das gomas caraia e de chichá visando melhorias da atividade antimicrobiana ainda é um campo a ser explorado. As gomas modificadas com anidrido maleico apresentaram atividade antibacteriana de quase 100% e não apresentaram citotoxicidade significativa em células de mamíferos. Os efeitos inibitórios de todos os derivados foram estatisticamente iguais o que sugere que o tempo de 30 min de síntese é suficiente para melhorar a atividade antibacteriana dessas gomas.

7. PERSPECTIVAS

- Associar os derivados com fármaco de ação anti-inflamatório.
- Efetuar ensaios de liberação.
- Obter um novo derivado na forma de membrana ou hidrogel para uso tópico.
- Efetuar caracterizações químicas e morfológicas.
- Realizar testes *in vitro* e *in vivo*.