OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ALGINATO CONTENDO EXTRATO DE CALÊNDULA E PRATA

Bruna Letícia Manarin (PROVIC/UEPG), Airton Vicente Pereira (Orientador), e-mail: airton_v_p@hotmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Farmácia; Análise e Controle de Medicamentos

Palavras-chave: biofilme, curativo, antimicrobiano

Resumo

O alginato é polissacarídeo natural utilizado na fabricação de curativos que auxiliam na cicatrização de feridas cutâneas ao formar um hidrogel na superfície da lesão. A propriedade de formar filmes maleáveis e flexíveis é uma característica do alginato. Nesse trabalho foram obtidos filmes de alginato contendo extrato de calêndula (*Calendula officinalis* L.) e prata. A calêndula apresenta efeito anti-inflamatório e a prata coloidal possui ação antibacteriana. As propriedades físico-químicas dos filmes foram avaliadas por ensaios de tração, hidratação, espectroscopia de energia dispersiva (EDS) espectroscopia infravermelho (FTIR) e difração de raio X (DXR). Os filmes alginato-calêndula apresentaram características adequadas para o uso com curativos como resistência à tração, elasticidade e elevado grau de hidratação. A EDS permitiu quantificar os percentuais de carbono, oxigênio, cloro, prata e cálcio nos filmes. Os filmes de alginato com calêndula e prata apresentaram espectros de FTIR e DXR semelhantes ao do alginato. O ensaio de atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar comprovou que os filmes com prata inibem o crescimento de cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis*.

Introdução

Um curativo é um material utilizado para cobrir uma ferida com a finalidade de favorecer o processo de cicatrização e protegê-la contra agressões externas. A utilização de curativos depende de fatores inerentes à lesão como o tipo e profundidade e também das condições financeiras do paciente ou dos recursos existentes em unidades de saúde (FRANCO; GONÇALVES, 2008). Curativos especiais utilizados em feridas de difícil cicatrização são caros, sendo um fator limitante nos casos de tratamentos prolongados. O custo do tratamento aumenta com a idade e a presença de comorbidades.

A aplicação de curativos pode auxiliar na cicatrização e evitar complicações de feridas crônicas. Atualmente, verifica-se a necessidade de novos curativos de fácil obtenção e baixo custo para tratamento de feridas crônicas e infectadas.

O alginato é um polímero natural biodegradável e biocompatível com elevada capacidade de hidratação. O hidrogel formado na superfície da lesão mantém o ambiente úmido no leito da ferida e induz a hemostasia. Além disso, evita a aderência e não causa dor durante a troca do curativo (KIM *et al.*, 2008, FRANCO; GONÇALVES, 2008, YUDANOVA; RESHETOV, 2006).

O Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira preconiza o uso de formulações de extratos das flores de calêndula (*Calendula offininalis L.*) como antisséptico, anti-inflamatório e cicatrizante (ANVISA, 2011). As preparações tópicas de calêndula são encontradas nas formas de infusão, tintura e gel. Apesar da

descrição de que o extrato etanólico da calêndula possui atividade antibacteriana (PARENTE *et al*., 2009), principalmente contra bactérias gram-positivas, esse efeito parece limitado para o tratamento de feridas infeccionadas.

Os curativos contendo prata coloidal são utilizados em feridas crônicas e infectadas enquanto as preparações de prata na forma de gel servem como uma cobertura antimicrobiana que evita a contaminação (HONG, 2006). Os filmes de alginato podem ser impregnados com nanopartículas de prata para apresentarem efeito antimicrobiano.

Material e Métodos

Os filmes de alginato foram obtidos por evaporação de uma solução de alginato de sódio contendo plastificante, extrato de calêndula e $AgNO_3$ em diferentes concentrações. Os filmes foram submetidos a ensaios para caracterizar as propriedades as físico-químicas.

O ensaio de hidratação foi feito em água destilada à 37°C. O teste de perda por dessecação em estufa a 120ºC.

O ensaio de resistência à tração e elasticidade dos filmes foi realizado com fragmentos dos filmes utilizando-se uma máquina servo-elétrica.

Foram realizados testes de teor de flavonoides e de prata nos filmes. O teor de flavonoide foi determinado por espectrofotometria no visível por complexação com cloreto de alumínio e leitura das absorbâncias em 425 nm. O teor de prata foi determinado pelo método volumétrico de Mohr.

Os filmes de alginato de sódio com extrato de calêndula e prata coloidal foram caracterizados por FTIR, EDS e difração de raio-X.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em ágar Muller Hinton utilizando-se cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Escherichea coli*.

Resultados e Discussão

Inicialmente foi estudado o efeito da mistura de soluções de $AgNO_3$ com a infusão de flores de calêndula. A redução da prata foi monitorada pela espectrofotometria e de varredura na região do UV-visível. Observou-se que as amostras após a adição de prata escurem em aproximadamente 20 minutos, indicando redução da prata ($Ag^+ \rightarrow Ag^0$).

Os testes preliminares foram realizados para avaliar as condições ideais de redução da prata e planejar o preparo dos filmes de alginato com o extrato de calêndula e partículas de prata. Avaliou-se o efeito da luz e da temperatura.

O efeito da luz na redução da prata foi avaliado através da mistura de extrato de calêndula e solução de nitrato de prata na ausência e presença de luz. O ensaio evidenciou que a redução do íon Ag^+ a Ag^0 é catalisada pela luz e que os compostos da calêndula intensificam a reação. A temperatura também foi avaliada nessa etapa. A temperatura ideal para redução da prata nas condições experimentais avaliadas foi de 40 ºC.

Para obtenção dos filmes foram utilizados alginato de sódio, extrato de calêndula e nitrato de prata. Foram avaliadas diferentes concentrações de $AgNO_3$ e diversos ensaios de obtenção de filmes de alginato sem adição de prata, com adição de prata e diferentes proporções de plastificante e extrato de calêndula para a definição da formulação ideal.

Para determinar o teor de prata dos filmes de alginato foi realizado o teste de liberação de prata pela imersão do filme em água deionizada. A titulação do íon Ag^+

foi feita com NaCl 0,01 M. Não possível detectar íons Ag^+ na solução, sugerindo que toda a prata adicionada ao filme de alginato foi reduzida a Ag^0.

O teste de hidratação foi realizado pela imersão do filme em água destilada a 37 ºC, onde foi realizado a pesagem dos filmes secos e depois imersos em água por 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90 e 120 minutos. No gráfico 1 se observa o intumescimento dos filmes com o passar do tempo sem ocorrer a solubilização. Essa capacidade de absorção de água é essencial para curativos visto que ocorre absorção de exsudato em feridas. Os filmes mostraram um aumento de massa de 255% a 600%.

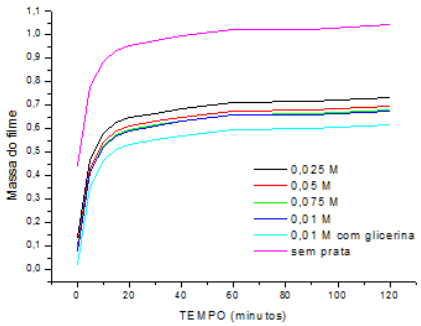


Gráfico 1- Perfil de hidratação dos filmes alginato-calêndula e prata.
Fonte: A autora

O teste de dessecação foi feito em estufa a 120ºC e determinada a massa após 2 horas. A perda de massa foi de 31% a 72,7%.

O teste de teor de flavonoides foi realizado através de curva de calibração com quercetina analisada por espectrofotometria sendo feita a leitura em absorbância de 425 nm. O teor no extrato de calêndula foi 2,53 µg/mL.

Através do ensaio de resistência e elasticidade se observa que não houve diferença significativa entre as concentrações de prata avaliadas e que a presença de prata reduz ligeiramente a resistência dos filmes de alginato-calêndula.

A análise por EDS permite determinar a quantidade de cada elemento químico nos filmes de alginato. Observou-se que os filmes apresentam um perfil de abundância relativa dos átomos de carbono, oxigênio, cálcio, cloreto, sódio e prata condizentes com a estrutura de um polissacarídeo como o alginato.

O filme foi caracterizado por análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier. Na figura 1 se observa que todos os filmes apresentaram espectro semelhante. A banda entre 3500-4000 indica a presença de grupos OH, enquanto na região próxima de 1800 cm^{-1} os grupos carbonílicos, típicos do alginato.

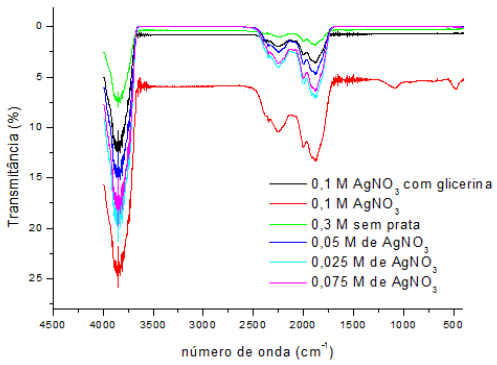


Figura 1 - Espectros FTIR dos filmes de alginato.

O espectro de DRX avalia a natureza da estrutura do filme polimérico. Através da avaliação dos resultados observou-se a semelhança entre os espectros com e sem a prata, porém quanto maior a concentração de $AgNO_3$ maior o número de fótons e consequentemente maior a energia emitida. Apesar dessas diferenças, o ângulo teta obtido é típico do alginato que apresenta uma estrutura amorfa.

O teste para avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes de alginato foi realizado através do método de difusão 4m ágar utilizando-se cepas ATCC de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* e *E. coli*. O filme alginato-prata inibiu o crescimento das cepas, exceto de *Escherichia coli* sem observação de formação de halo de inibição, indicando uma cepa resistente. Os filmes sem prata não formaram halo, indicando ausência de atividade antibascteriana. O filme de alginato sem extrato de calêndula mas com prata também inibiu as cepas sensíveis, confirmando que a prata é necessária para o efeito antimicrobiano.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram a importância da luz para formação de prata coloidal. Os filmes apresentaram as características adequadas para o uso como curativos de feridas como maleabilidade, elasticidade e elevada capacidade de hidratação, fundamentais para adaptação a diferentes regiões anatômicas e absorção de exsudato. As diferentes concentrações de $AgNO_3$ utilizadas na obtenção de prata coloidal não resultaram em mudanças significativas nas propriedades físico-químicas dos filmes alginato-calêndula. Além disso, comprovou-se que a prata coloidal é essencial para a atividade antimicrobiana dos filmes alginato-calêndula.

Agradecimentos

A UEPG e ao Programa de Iniciação Científica – PROVIC.
Ao C-LABMU pela análise de FEG, raio-X e infravermelho.
Ao CIPP pela análise de ensaio de resistência e elasticidade.

Referências

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. **Formulário de fitoterápicos**: Farmacopeia Brasileira. 1ª edição, 2011.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. **Feridas cutâneas**: a escolha do curativo adequado. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões. v. 35, n. 3, p. 203-206, 2008.

HONG, K. H. **Preparation of antimicrobial poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles**. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, v. 44, n.17, p.2468-74, 2006.

PARENTE, L.M.L. *et al*. **Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil**. Revista Brasileira de Plantas Medicinais. v.11, n.4, p.383-391, 2009.

YUDANOVA, T. N.; RESHETOV, I. V. **Modern wound dressings: manufacturing and properties**. Pharmaceutical Chemistry Journal. v. 40, n. 2, p. 85-92, 2006.