OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ALGINATO CONTENDO EXTRATO DE *CALENDULA OFFICINALIS L.*

Caroline Orejana Ghizzi Bentos (PIBIC/Fundação Araucária/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. Pesquisa de compostos com atividade biológica.

Palavras-chave: Alginato, filme, calêndula, análises físico-químicas**.**

Resumo

O alginato é um polissacarídeo extraído de algas marrons que apresenta uma gama de aplicações tecnológicas devido à propriedade de formar um hidrogel biodegradável e insolúvel em água, quando reticulado com cálcio. *Calendula officinalis L.*, conhecida popularmente como calêndula, é uma planta medicinal preconizada no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira para o emprego como anti-inflamatório e cicatrizante de uso tópico. Neste trabalho, descrevemos a obtenção e a caracterização das propriedades físico-químicas de filmes de alginato de sódio contendo extratos (aquoso e hidroalcoólico) de calêndula com potencial emprego como curativo de feridas cutâneas. Os filmes de alginato foram preparados pela técnica de evaporação do solvente com a adição de diferentes concentrações de plastificante e extratos de calêndula e caraterizados por análises físico-químicas (resistência à tração, elasticidade, capacidade de hidratação, solubilidade) MEV, FTIR e ensaio de atividade antimicrobiana. Os filmes alginato-calêndula apresentaram características adequadas para o emprego como curativos em feridas cutâneas apesar de não inibirem cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeroginosa* e *Streptococcus pyogenes*.

Introdução

A pele é o órgão de revestimento do organismo que desempenha a função de isolar os demais órgãos do meio exterior (SAMPAIO, 2008). Em resposta às lesões, o corpo humano se regenera por um processo chamado de cicatrização. Há pesquisas de novos compostos ativos com características adequadas para a fabricação de curativos especiais. O alginato é um biopolímero utilizado na fabricação de diversos curativos por possuir baixo custo de produção e permitir a obtenção de filmes ou micropartículas, aos quais podem ser adicionados compostos cicatrizantes e anti-inflamatórios (KIM *et al*., 2008). Os filmes de alginato podem liberar os compostos bioativos que auxiliam o processo de cicatrização.
A *Calendula officinalis L.* é uma planta medicinal inclusa no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (2011) e recomendada como fitoterápico no Sistema Único de Saúde. É utilizada topicamente para inflamações causadas por contusões e queimaduras por possuir atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante e cicatrizante (BRASIL, 2010). O principal emprego da calêndula é por via tópica na forma de pomadas ou tinturas em infecções da pele e como cicatrizante. Neste último, o efeito principal é estimular a produção do tecido de granulação.

A proposta desse trabalho foi a obtenção e o estudo de propriedades físico-químicas de filmes de alginato contendo extrato de calêndula com potencial emprego como curativos de lesões cutâneas.

Materiais e Métodos

Análise macroscópica e microscópica das folhas de Calendula officinalis L.
As flores de calêndula foram identificadas segundo os critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. Fragmentos das flores foram corados com azul de astra e fucsina e analisados utilizando um microscópio eletrônico OLYMPUS CX31.
Preparo do extrato aquoso e hidro alcoólico de calêndula
Os extratos aquoso e hidroalcoólico de calêndula formam obtidos por infusão e percolação com água e álcool 70^{o} GL, respectivamente.
Determinação do teor de flavonoides no extrato
Determinado pelo método espectrofotométrico por complexação com $AlCl_3$ com leitura das absorbâncias em 425 nm. Foi preparada uma curva de calibração, utilizando soluções de quercetina nas concentrações de 5 a 50 µg/mL.
Preparo dos filmes
Foram preparados por evaporação de misturas de alginato, glicerina e extratos calêndula (aquoso e hidroalcoólico). A seguir, formam reticulados com uma solução de cloreto de cálcio.
Espessura
A espessura dos filmes foi medida com um paquímetro marca Mytutoyo.
Análise por espectroscopia no infravermelho (FTIR)
O alginato de sódio e os filmes alginato-calêndula foram caracterizados quimicamente por FTIR na região de 4000 a 400 cm^{-1} utilizando um espectrofotômetro marca SHIMADZU modelo PRESTIG 21.
Ensaio mecânico
O ensaio de resistência à tração e elasticidade foi realizado com máquina servo-elétrica SHIMADZU® AG-I com velocidade do teste de 5 mm min^{-1}.
Grau de hidratação e solubilidade
Foi realizado por pesagem de fragmentos do filme mantidos em água destilada a 37°C.
Microscopia eletrônica de varredura MEV-FEG (Field Emission Gun (FEG))
As características das superfícies dos filmes alginato-calêndula reticulados e sem reticulação foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG).
Ensaio de atividade antimicrobiana
A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em ágar utilizando-se cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeroginosa* e *Streptococcus pyogenes*.

Resultados e Discussão

Análise macroscópica e microscópica das folhas de Calendula officinalis
As flores apresentaram as características típicas estabelecidas para a espécie, em conformidade com a Farmacopeia brasileira (2010). Apresentaram capítulos florais largos em média com 4 cm de diâmetro (SCHEFFER, 1989), corolas amareladas com 15-25 mm de comprimento e 3 mm de largura e no centro escassas e

pequenas. Ainda, as amostras apresentaram odor fraco e aromático e sabor levemente salgado e amargo (BRITISH PHARMACOPEIA, 1953).

Determinação do teor de flavonoides no extrato

Os principais flavonoides das flores de *Calendula officinalis* L. são a quercetina e rutina. O resultado foi de 0,41 %. De acordo com a Farmacopéia brasileira 5ª edição (2010) a quantidade de flavonoides preconizada é de no mínimo 0,40%.

Espectroscopia no infravermelho (FTIR) - alginato de sódio

As bandas em 1620 e 1421 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxílico, respectivamente. Outras bandas que auxiliam na identificação do alginato (1051 cm^{-1} (ligação C-O-C), 3400 cm^{-1} (grupo OH) e 2925 cm^{-1} (estiramento C-H de carbono sp3)) também estão presentes. O espectro FTIR permitiu a identificação do alginato de sódio utilizado na obtenção dos filmes.

Filmes de alginato contendo extrato aquoso e hidroalcoólico de calêndula

Os filmes com extrato hidroalcoólico não apresentaram as caraterísticas desejadas em termos de maleabilidade. A limitada maleabilidade desses filmes dificultaria a adaptação à superfície corporal no caso do emprego como curativos. Testes foram conduzidos com extratos aquoso e glicólico de calêndula. O extrato glicólico limitou a quantidade final de extrato no filme porque a glicerina atua como plastificante e há uma quantidade ideal para se obter filmes com características adequadas. O extrato aquoso permitiu obter filmes com características adequadas e com maiores proporções na formulação. Além disso, o extrato aquoso de calêndula pode ser utilizado no preparo da solução alginato de sódio.

Espessura

Não houve diferença na espessura dos filmes com extratos aquoso e alcoólico de calêndula. A média das análises com três fragmentos dos filmes foi de 0,25 mm. Os filmes reticulados e não reticulados preparados com alginato a 2% são finos e transparentes.

Ensaio de tração

Os filmes preparados com solução aquosa de alginato e diferentes proporções de extrato de calêndula suportaram uma força média de 1,15 N com distensão média 30,38 mm, com uma tendência de aumento de acordo com a proporção do extrato utilizado. Os filmes preparados com o alginato de sódio dissolvido no próprio extrato aquoso de calêndula não apresentaram diferença significativa quanto à resistência a tração e a distensão quando comparados com os filmes obtidos com solução aquosa de alginato.

Grau de hidratação e solubilidade

Foram avaliados os filmes de alginato com extrato aquoso de calêndula em diferentes proporções de extrato e filmes de alginato com a solução preparada no próprio extrato. Foi possível observar nos dois casos que, quanto maior a quantidade de extrato no filme, maior a variação entre a absorção de água e a perda de massa. Nos filmes preparados no próprio extrato de calêndula, a correlação entre a concentração e a absorção de água se mostrou mais evidente, sendo que quanto maior a proporção do extrato, maior o ganho de massa. Além disso, pode-se observar que a hidratação possui taxas decrescentes de crescimento até o ponto de saturação. Desta forma, de modo geral, os filmes com maiores proporções de extrato ficam mais hidratados que os demais e após este intumescimento inicial, a massa se mantém praticamente constante seguido de um decréscimo, indicando que são ligeiramente solúveis após atingir o pico de hidratação.

Ensaio de atividade antimicrobiana

Não houve aparecimento de halo de inibição em nenhum dos filmes, ou seja, nenhuma atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar. Para formar halos é preciso que haja liberação dos componentes das membranas, sendo assim, por esse método, é difícil que seja formado. Certos materiais apresentam atividade antimicrobiana por contato e assim formam halo, porém, não é o caso das membranas em estudo.

Field Emission Gun (FEG)

O filme que não contém extrato de *Calendula officinalis*, chamado de branco da amostra, apresentou superfície rugosa e homogênea. A obtenção de imagens realizada por Pistola de Emissão de Campo evidenciou que a membrana com menor adição de extrato de calêndula, possui superfície menos rugosa em comparação com as demais. Uma característica em escala nanométrica é que quanto menor a concentração de extrato na amostra, a topografia se mostra mais regular e homogênea. A irregularidade observada com o aumento da adição de extrato pode ter ocorrido pela deposição dos compostos do extrato de calêndula no filme de alginato.

Conclusões

Os filmes de alginato de sódio contendo extrato aquoso de *Calendula officinalis* apresentaram características mais adequadas em termos de maleabilidade, elasticidade, capacidade de hidratação, limitada solubilidade aquosa e elevada proporção de extrato. Apesar de não apresentarem atividade antimicrobiana, os filmes de alginato-calêndula podem ser avaliados como curativos de feridas cutâneas.

Agradecimentos

Ao C-Labmub da UEPG por possibilitar a execução físico-químicos e a Fundação Araucária pela bolsa de Iniciação Científica.

Referências

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 1ª Ed. Brasília, 2011.

BRASIL. Resolução RDC n° 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras províncias. **Diário Oficial da União** de 10 de março de 2010.

KIM, I. Y. SEO, S. J. MOON, H. S. PARKE, I. Y. KIM, B. C. CHO,C. S. Chitosan and its derivates for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 1, p. 1-21, jan-Feb.2008.

SAMPAIO, S. A.P; RIVITTI, E. A. Dermatologia. **Anatomia e fisiologia**. 3. ed. São Paulo, SP. Artes Médicas, 2008.

SCHEFFER, M. C. Recomendações técnicas para o cultivo das plantas medicinais selecionadas pelo projeto de fitoterapia do SUDS / PR. Curitiba: Secretaria do Estado da Saúde. Fundação Caetano Munhoz da rocha. **Projeto de Fitoterapia do SUDS**. 1989, p. 8.