Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2010;31(2):193-197
ISSN 1808-4532

Avaliação da espalhabilidade e do teor de flavonoides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae)

Borella, J.C. [1,2*]; Ribeiro, N.S.[1]; Teixeira, J.C.L.[2]; Carvalho, D.M.A.[1]

[1]Disciplina de Farmacognosia, Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP.
[2] Laboratório de Manipulação Farmacêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto.

Recebido 01/01/2010 / Aceito 09/08/2010

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a característica reológica (espalhabilidade) e quantificar os princípios ativos (flavonoides) de preparações semissólidas (pomadas) contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). A partir da droga vegetal dessa espécie, foram obtidos dois tipos de extratos preparados por percolação na proporção de 1:5 utilizando-se mistura hidroalcóolica (etanol:água 62:38) e hidroglicólica (propilenoglicol:água 9:1). As pomadas contendo esses extratos, além de excipientes lanolina e vaselina, foram preparadas por duas técnicas distintas: solução (a quente) e suspensão (a frio). Análises para determinar a espalhabilidade através das relações entre área, esforço limite e teor de flavonoides foram realizadas a partir de amostras das pomadas preparadas. Os resultados demonstraram que as pomadas contendo extratos hidroalcoólicos e hidroglicólicos, preparadas por suspensão (a frio), exibiram as maiores relações entre área e esforço limite (0,34 e 0,33 $mm^2\ g^{-1}$, respectivamente). No entanto, as pomadas preparadas com extratos hidroalcoólicos por suspensão resultaram nos maiores valores de flavonoides totais (0,004% m/m calculados como hiperosídeos).

*Palavras-chave: Calendula officinalis***.** Pomada. Reologia. Flavonoides. fitoterápicos.

INTRODUÇÃO

Preparações à base de espécies vegetais sempre foram utilizadas pelo homem a fim de sanar seus problemas de saúde. Em meados do século passado, com a ascensão de uma terapêutica centrada na utilização de fármacos sintéticos, o uso de fitoterápicos passou por um declínio. Nas últimas décadas, eles renasceram e, atualmente, são muito utilizados tanto em países em desenvolvimento como em países desenvolvidos (Calixto, 2001).

Autor correspondente: Júlio Cézar Borella - Curso de Ciências Farmacêuticas (Bloco J) – UNAERP - Av. Costabile Romano n. 2201 - CEP.14096-380 - Ribeirão Preto - SP - Brasil - tel. +55-16-3603-6748 e-mail: jborella@unaerp.br.

No Brasil, uma política de incentivo ao uso da fitoterapia, entre outras terapêuticas, foi apresentada pelo governo federal (Brasil, 2006a, 2006b). Essa política pública tem como objetivo garantir o acesso seguro e correto de plantas medicinais e fitoterápicos pela população, além de estimular projetos de produção e dispensação desses produtos.

A legislação brasileira (Brasil, 2004) considera preparações à base de espécies medicinais como medicamentos, já que a composição química da planta é a responsável por seus efeitos terapêuticos e, por isso, devem passar pelos crivos de eficácia, segurança e qualidade assim como qualquer medicamento. Sendo assim, há necessidade de se desenvolver metodologias analíticas específicas para tais produtos, desde a matéria-prima até a forma farmacêutica.

No entanto, quando se tem uma espécie vegetal como matéria-prima para produção de um medicamento, a situação, em termos de controle de qualidade, é extremamente particular. Há vários pontos no processo produtivo em que se pode haver problemas, como, por exemplo, durante cultivo, colheita, secagem, moagem, extração e formulação. Se essas etapas não forem realizadas de forma satisfatória, poderão ocorrer alterações na composição química das substâncias ativas, vindo a interferir na qualidade do produto final (Wijesekera, 1984).

Uma das espécies medicinais relacionadas pelo Ministério da Saúde com grande potencial para uso, inclusive no SUS, é a *Calendula officinalis* (Brasil, 2009). Calêndula é uma herbácea da família Asteraceae, originária da Europa meridional, sendo hoje cultivada em diversos países, tanto do velho mundo como da América. Possui atividades anti-inflamatórias (Della-Loggia et al., 1994) e antimicrobianas (Volpato, 2005). Essas indicações fazem com que seja muito utilizada em preparações tópicas e no tratamento de feridas crônicas na fase de avermelhamento (Lorenzi & Matos, 2002; Newall et al., 2002). Em sua composição química, figuram classes de substâncias como óleos voláteis (monoterpenos), terpenoides (saponinas, esteróis e carotenos) e flavonoides (Gazim et al., 2008; Neukirch et al., 2004; Bilia et al, 2001). Em termos de utilidade terapêutica, parece que todas essas classes desempenham relevantes papéis. No entanto, para fins de

controle de qualidade, os flavonoides foram eleitos para serem testados (Brasil, 2008).

As soluções extrativas mais comumente utilizadas para veicular estes princípios ativos são as tinturas (extratos hidroalcoólicos preparados com uma parte da droga que é extraída com mais de duas partes e menos de dez partes de líquido extrator. Normalmente, usa-se a proporção 1:5), preparadas conforme descrito na 2ª edição da Farmacopeia Brasileira (1959) e extratos glicólicos ou hidroglicólicos (mistura de propilenoglicol e água), os quais não são farmacopêicos.

Esses extratos podem ser veiculados em formas farmacêuticas tópicas, como pomadas. Elas se constituem em preparações semissólidas, de consistência mole, destinadas ao uso na pele e mucosas. Devem ser plásticas para que modifiquem sua forma com pequeno esforço mecânico e se adaptem ao relevo do local onde estão sendo aplicadas. Um dos excipientes utilizados nessas composições é a associação de vaselina sólida e lanolina anidra, que resulta em uma mistura de excipiente hidrófobo e áquo-oleoso, causando, ao mesmo tempo, efeito oclusivo (vaselina) e ação endodérmica (lanolina) com penetração cutânea, o que melhora a ação dos princípios ativos em camadas tissulares mais profundas, mas sem atingir a corrente circulatória (Prista et al., 1981).

Reologia é a parte da física que estuda as propriedades de fluidez das substâncias. O estudo das características reológicas no desenvolvimento de formulações de pomadas, como a espalhabilidade, tem fundamental importância, podendo ser utilizado como meio de seleção entre diferentes maneiras de produção da forma farmacêutica (Mazzarino & Knorst, 2007). Desse modo, as pomadas podem ser produzidas por solução em que o ativo é solúvel no excipiente. Promove-se a fusão do excipiente elevando-se a temperatura e, aos poucos, o ativo é incorporado. O preparo por suspensão prevê a dispersão do ativo insolúvel no excipiente e a mistura se dá mecanicamente, à temperatura ambiente (Prista et al., 1981).

Sendo assim, após analisarmos vários tópicos no processo produtivo do fitoterápico à base de extratos de *C. officinalis*, objetivou-se avaliar suas características reológicas (espalhabilidade) e químicas (teor de princípios ativos) em função do tipo de extrato utilizado na formulação e modo de preparo da pomada.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos extratos

A espécie medicinal foi cultivada a partir das sementes. As inflorescências, depois de colhidas, foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante (Marconi), a temperatura de 35º C, até que seu teor de umidade fosse inferior a 12% (p/p). Em seguida, foram manipuladas de tal forma que a droga vegetal fosse separada das inflorescências e, posteriormente, moídas em moinho de facas (Marconi), obtendo-se um pulverizado com granulometria de 0,8 mm. Essas drogas foram quantificadas em relação aos flavonoides, obtendo-se valores em torno de 0,7% (m/m) calculados como hiperosídeos. Esse valor está acima do mínimo exigido (0,4% m/m) pela Farmacopeia Brasileira 4ª edição (2001).

Os extratos foram preparados através de percolação, conforme descrito no Processo Geral P (para obtenção de tinturas) da 2ª edição da Farmacopeia Brasileira (1959). Foram obtidos dois tipos de extratos utilizando-se essa técnica e variando-se os líquidos extratores. No primeiro, foi utilizado como líquido extrator uma mistura de etanol:água (62:38), o que corresponde ao álcool 70, e, no segundo, utilizou-se como líquido extrator uma mistura de propilenoglicol:água (9:1). A percolação foi desenvolvida em uma velocidade de gotejamento de 1 mL min^{-1} para cada 100 g de droga extraída, até que se conseguisse um volume de solução extrativa que obedecesse a proporção de uma parte da droga para cinco partes do líquido extrator. Dessa forma, foram obtidos extratos hidroalcoólicos (n=18) e extratos hidroglicólicos (n=18).

Obtenção das pomadas

A partir dos extratos, foram manipuladas pomadas de lanovaselina conforme formulação abaixo:

Lanolina anidra..... 30%
Extrato de *C. officinalis* (1:5).....10%
BHT.....0,02%
Vaselina sólida qsp.....100g

A formulação teve, como base, uma mistura de lanolina anidra e vaselina sólida acrescida do antioxidante e do próprio extrato (lanolina anidra e BHT adquiridos da Ely Martins; vaselina sólida adquirida da DEG).

Foram seguidos dois protocolos de produção:

Método I: Preparo por solução, com a fusão dos excipientes à 45ºC, através da elevação da temperatura em chapa de aquecimento e posterior adição e homogeneização do extrato e antioxidante.

Método II: Preparo por suspensão, quando o extrato e o antioxidante são suspensos no excipiente através da incorporação a frio. A incorporação das soluções extrativas foi realizada com auxílio do agitador mecânico, que previamente homogeneizou a mistura de lanolina anidra e vaselina sólida com o antioxidante.

Assim, as pomadas foram preparadas pelas técnicas distintas, sendo que 36 foram produzidas com os extratos hidroalcoólicos (18 por solução e 18 por suspensão) e outras 36 foram produzidas com extratos hidroglicólicos (18 por solução e 18 por suspensão).

Avaliação da espalhabilidade das pomadas

O teste de aferição da consistência por espalhabilidade foi realizado empregando-se metodologia proposta por Knorst (1991). Por esse método, torna-se possível representar a espalhabilidade em gráficos, bem como a obtenção da espalhabilidade máxima, que é conceituada como o ponto no qual a adição de massa não provoca alterações significativas nos valores das áreas. Para determinação desses valores, foram utilizados testes de análise de variância, seguidos do teste de Bonferroni ($p<0,05$), para comparações múltiplas entre as médias dos diferentes pontos de espalhabilidade. O esforço-limite

corresponde à massa adicionada no valor de espalhabilidade máxima (Milan, et al., 2007; Borghetti & Knorst, 2006). Os testes foram realizados em triplicada para cada tipo de pomada e as médias calculadas.

Avaliação do teor de princípios ativos nas pomadas

A monografia de *C. officinalis*, na 4ª edição da Farmacopeia Brasileira (2001), descreve a técnica espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides totais (estimados como hiperosídeos), tendo como amostras as drogas vegetais derivadas dessa espécie. De Paula (1996) adaptou essa metodologia para determinar a quantidade de flavonoides presentes em extratos e em preparações semissólidas contendo *Achyrocline satureiodes*. Nela, há uma etapa inicial em que os flavonoides são extraídos da forma farmacêutica através do etanol em banho de água. Determinou-se a quantidade de flavonoides segundo a equação TF = (A.fd)/(550.p), sendo TF = teor de flavonoides totais (% m/m), A = absorvância medida na amostra, p = massa da amostra e fd = fator de diluição (625). Todas as análises foram realizadas em triplicada e as médias foram calculadas.

Os resultados das determinações descritas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer ($p<0,05$).

RESULTADOS

Os testes de espalhabilidade realizados mostraram que a relação entre as áreas e o esforço-limite das pomadas preparadas por solução (a quente), com os extratos hidroalcoólicos e hidroglicólicos, foram estatisticamente iguais (Tabela 1). O mesmo se observou com as pomadas preparadas por suspensão (a frio) com esses mesmos extratos. Porém, quando são comparados esses dois tipos de procedimento para obtenção das pomadas, observa-se que, estatisticamente, os valores são diferentes. As pomadas produzidas por suspensão possuem valores superiores àquelas produzidas por solução. Isso também pode ser observado nas curvas de espalhabilidade destes grupos de pomadas (Figura 1). Observa-se, ainda, que os tipos de extratos utilizados não foram determinantes para a espalhabilidade da forma farmacêutica.

Com relação à quantidade de marcador nas preparações, observa-se, na Tabela 2, que as preparações produzidas por solução (a quente), utilizando-se os dois tipos de extratos, e por suspensão (a frio), utilizando-se extrato hidroglicólico, se mostraram estatisticamente iguais. Por outro lado, as pomadas preparadas com extratos hidroalcoólicos, por suspensão (a frio), foram as que continham maiores teores do marcador.

Tabela 1. Relação entre as áreas e o esforço-limite ($mm^2\ g^{-1}$) para as pomadas preparadas com os extratos de *Calendula officinalis*

Tipo de Extrato	Modo de Preparo	
	Solução (a quente)	Suspensão (a frio)
Hidroalcoólico (álcool 70)	0,25ª (0,0057; 2,24)	0,34ᵇ (0,0139; 4,15)
Hidroglicólico(PEG:H_2O 9:1)	0,26ª (0,0128; 5,01)	0,33ᵇ (0,0214; 6,57)

n= 18; p<0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si. Números entre parênteses referem-se, respectivamente, ao desvio padrão e coeficiente de variação x 100.

Tabela 2. Teor de flavonoides totais (% p/p) para as pomadas preparadas com os extratos de *Calendula officinalis*

Tipo de Extrato	Modo de Preparo	
	Solução (a quente)	Suspensão (a frio)
Hidroalcoólico (tintura – álcool 70)	0,003ª (0,0007; 24,23)	0,004ᵇ (0,0004; 8,81)
Hidroglicólico (PEG:H_2O 9:1)	0,003ª (0,0005; 16,75)	0,003ª (0,0004; 13,70)

n=18; p<0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si. Teor de flavonoides totais estimados como Hiperosídeos. Números entre parênteses referem-se, respectivamente, ao desvio padrão e coeficiente de variação x 100.

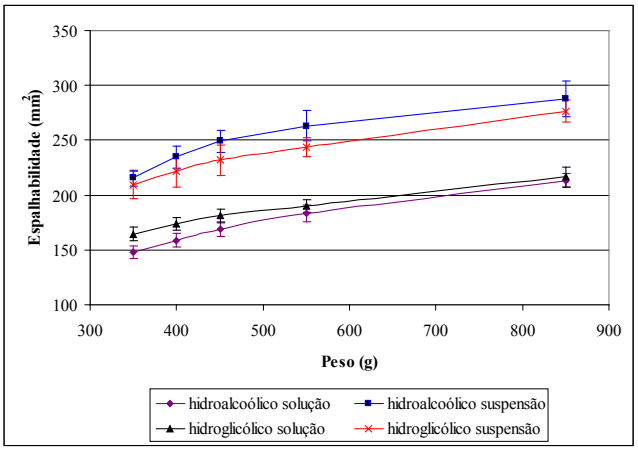

Figura 1. Espalhabilidade das pomadas (a 25º C) preparadas através de solução e suspensão com extratos hidroalcoólicos (tintura – álcool 70) e extratos hidroglicólicos (PEG:H_2O 9:1) de *Calendula officinalis* em função do peso adicionado**.**

DISCUSSÃO

Os dados referentes à espalhabilidade são importantes, pois se a pomada produzida tiver melhores características reológicas, ela poderá ser utilizada de maneira mais agradável no momento de sua aplicação sobre a pele lesada e em menor quantidade, levando a uma redução do consumo dessa preparação com a mesma eficácia terapêutica. Assim, as formulações desenvolvidas podem ser divididas em dois grupos de produtos em função dos resultados para as características reológicas: o primeiro grupo, com preparação por solução (a quente), que apresentou relação entre área e o esforço limite em torno de 0,25 mm g^{-1}, e o segundo grupo, com preparação por suspensão (a frio), que apresentou valores em torno de 0,34 mm g^{-1}. Desse modo, observa-se que as preparações obtidas sem aquecimento têm melhores características de espalhabilidade que aquelas obtidas com aumento da temperatura. No mesmo sentido, Patil & Ravindra (2009) avaliaram formulações semissólidas contendo óleo de alho (*Allium sativum*) e concluíram que preparações produzidas a quente foram as mais duras, com os menores níveis de espalhabilidade.

A atual legislação referente às bulas dos fitoterápicos (Brasil, 2008) preconiza que preparações à base de *C. officinalis* devem estar padronizadas de forma a conter 1,6 a 5,0 mg de flavonoides totais expressos em hiperosídeos por 100 g do produto, ou seja, 0,0016 a 0,0050% de flavonoides. Avaliando-se por esse parâmetro, percebe-se que todas as preparações produzidas estão com as concentrações de flavonoides na faixa estipulada pela legislação (0,0030 a 0,0040%). No entanto, as formulações preparadas por

suspensão com extrato hidroalcoólico resultaram nas maiores concentrações do marcador.

Pamar et al. (2009), testando preparações semissólidas utilizando-se extratos vegetais de várias espécies, entre elas *Azadirachta indica* e *Solanum zenthocarpum*, concluíram que as melhores formulações, tendo como base parâmetros físico-químicos, foram formuladas com extratos alcoólicos. Patil & Ravindra (2009) concluíram que o aquecimento utilizado na preparação da forma farmacêutica contendo óleo de alho afetava diretamente a atividade da droga. Sendo assim, a utilização de extratos hidroalcoólicos de *C. officinalis* e preparações semissólidas preparadas a frio podem ser indicadas como melhor conduta para preparo no sentido de preservar os princípios ativos na preparação e de lhes dar melhores características de espalhabilidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Ministério da Saúde pelo apoio financeiro que nos concederam para a realização deste projeto.

ABSTRACT

Evaluation of spreadability and flavonoid content in semisolid pharmaceutical form containing extracts of Calendula officinalis L. (Asteraceae)

The aim of this study was to assess the rheological properties (spreadability) and assay the active ingredients (flavonoids) in semi-solid preparations (ointments) containing extracts of marigold (*Calendula officinalis* L. - Asteraceae). The herbal drug from this species was separated from the dried inflorescence and two types of extracts were prepared by percolation at a ratio of 1:5, one with an ethanol:water mixture (62:38) and the other with propylene glycol: water (9:1). Ointments were prepared from these extracts, lanolin and vaseline, by two different techniques: solution (hot) and suspension (cold). Samples of each ointment were analyzed, to determine the spreadability, as the ratio between area of spread and limiting applied weight, and the flavonoid content. The results showed that ointments prepared by cold suspension, containing hydroalcoholic and hydroglycolic extract, exhibited the highest area:limiting weight ratios (0.34 and 0.33 mm^2g^{-1}, respectively). Secondly, ointments prepared by suspension, with hydroalcoholic extracts, had the highest total flavonoid content (0.004% w/w, calculated as hyperoside).

Keywords: Calendula officinalis. Ointment. Rheology. Flavonoids. herbal medicines.

REFERÊNCIAS

Bilia AR, Salvani D, Vincieri FF. Characterization of Calendula flower, milk-thistle fruit, and passion flower tinctures by HPLC-DAD and HPLC-MS. Chromatographia 2001;53:210-5.

Borghetti GS, Knorst MT. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. Rev Bras Ciên Farm 2006;42:531-7.

Brasil. Resolução RDC 48/2004 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União. 18 de março de 2004.[citado 2009 dez 16] Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=10230&wor=resolu%C3%A7%C3%A3o>.

Brasil. Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS - PNPIC-SUS / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde; 2006a. 92 p.

Brasil. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde; 2006b. 60 p.

Brasil. Resolução RDC 95/2008 de 11 de dezembro de 2008. Regulamenta o texto de bula de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União. 12 de dezembro de 2008. [citado 2009 dez 17] Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=34480&word=bula fitoter%C3%A1picos>.

Brasil. RENISUS – Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. [citado 2009 dez 16] Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>.

Calixto JB. Medicamentos fitoterápicos. In: Yunes RA, Calixto JB (orgs.). Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos; 2001. p. 297-316.

Della-Loggia R, Tubaro A, Sosa S, Becke, RH, Saar ST, Isaac D. The role of triterpenoids in the topical antiinflamatory activity of *Calendula officinalis* flowers. Planta Med. 1994;60:516-20.

De Paula IC. Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae – marcela. [Dissertação]. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1996.

Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil. 2ª ed. São Paulo: Siqueira; 1959. 1265p.

Farmacopéia Brasileira. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001. Parte II. Fascículo 3. Monografia 134.

Gazin ZC, Resende CM, Fraga SR, Dias Filho BP, Nakamura CV, Cortez DAG. Analysis of the essential oils from *Calendula officinalis* growing in Brazil using three different extraction procedures. Rev Bras Ciênc Farm. 2008;44:391-5.

Knorst MT. Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae – marcela. [Dissertação]. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1991.

Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais do Brasil – nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002. 512p.

Mazzarino L, Knorst MT. Desenvolvimento e caracterização farmacotécnica de formas farmacêuticas semi-sólidas contendo nimesulida. Lat Am J Pharm. 2007;26:415-9.

Milan ALK, Milão D, Souto AA, Corte TWF. Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. Rev Bras Ciênc Farm. 2007;43:649-657.

Neukirch H, D'Ambrosio M, Dalla Via J, Guerriero A. Simultaneous quantitative determination of eight triterpenoid monoesters from flowers of 10 varieties of *Calendula officinalis* L. and characterisation of a new triterpenoid monoester. Phytochem Anal. 2004;15:30-5.

Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Plantas medicinais - guia para profissionais de saúde. São Paulo: Editorial Premier; 2002. 308p.

Pamar RB, Baria AH, Faldu SD, Tank HM, Parekh DH. Design and evaluation of poly-herbal formulation semisolid dosage form for its antibacterial activity. J. Pharm Res. 2009;2(6):1095-7.

Patil R, Ravindra R. Formulation development and evaluation from garlic oil macerate. The Internet Journal of Nutrition and Wellness [Internet] 2009 [citado 2009 Oct 23]; 8 (1). Disponível em: <http://www.ispub.com/journal/the_internet_journal_of_ nutrition_and _wellness.html>.

Prista LN, Alves AC, Morgado R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 1981. v.2, p.1593-803.

Volpato, AMM. Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico. [Tese]. Curitiba: Programa de Pós-Graduação do Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná; 2005.

Wijesekera ROB. The medical plant industry. Rajagiriya: Intecnos Associates International Industrial Consultants; 1984. 269p.