

Artigo Original

SISTEMAS MICROESTRUTURADOS EMPREGANDO DISPERSÕES SÓLIDAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO: DESENVOLVIMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA

Autores: Beatriz Rodrigues Siviero¹; Bruno Batista da Silva²; Marcelo Guimarães^{3,A}

¹Graduanda – curso de Farmácia da Universidade Presbiteriana Mackenzie. São Paulo, Brasil. E-mail beatriz.1994.br@gmail.com

²Farmacêutico – laboratório Semi-industrial do curso de Farmácia da Universidade Presbiteriana Mackenzie. São Paulo, Brasil E-mail: bruno.silva@mackenzie.br

³Orientador e Professor - curso de Farmácia da Universidade Presbiteriana Mackenzie. São Paulo Brasil.

Informações do artigo

Palavras Chave:

Dispersões sólidas. *Thymus vulgaris*. Microtecnologia.

As dispersões sólidas constituem hoje um importante campo de pesquisa para o desenvolvimento de um sistema de liberação de fármacos que tenham como característica a hidrofobia, propriedade essa que dificulta a sua biodisponibilidade, fazendo com que sejam descartados de novas pesquisas. As vantagens proporcionadas são uma maior hidrossolubilidade através da dispersão em carreador hidrofílico e a diminuição micrométrica das partículas. Aliada ao aprimoramento de sistemas medicamentosos inovadores, essa pesquisa é uma alternativa no emprego de uma nova droga antiparasitária, campo que precisa urgentemente de melhoras devido à presença de resistência a farmacoterapia usual e a possibilidade de efeitos colaterais graves. Portanto, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de dispersões sólidas utilizando o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*), conhecido por sua atividade antiparasitária, sendo considerado um novo sistema de liberação medicamentosa. O método de preparo escolhido foi a técnica fusão-solvente, empregando o polietilenoglicol (PEG) como carreador. Sua caracterização deu-se por testes de espectrofotometria de infravermelho, análise térmica diferencial e termogravimetria, difração de raio-X e microscopia eletrônica. A análise de microscopia eletrônica demonstrou uma diminuição do tamanho de partículas, além do aumento no número destas partículas. As análises comparativas de infravermelho e difração de raios-X, sugerindo a correta encapsulação do óleo. Além disso, a análise térmica comparativa demonstrou uma interação positiva entre o fármaco e o carreador.

^AAutor correspondente:

Marcelo Guimarães: E-mail: marcelo.guimaraes@mackenzie.br <https://orcid.org/0000-0002-9480-2957>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i2.55> - Artigo recebido em: 29 de abril de 2019 ; aceito em 06 de maio de 2019 ; publicado em 29 de maio de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.2, maio 2019. Disponível online a partir de 29 de maio de 2019, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC- BY: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:

Solid dispersions. *Thymus vulgaris*. Microtechnology.

Abstract

Nowadays the solid dispersions are an important field of research for the development of a drug delivery system that has hydrophobia as one of the most important characteristics, that hinders its bioavailability, causing them to be discarded of new research. The advantages provided are increased water solubility through the hydrophilic carrier dispersion and the micrometric decrease of the particles. Combined with the improvement of innovative drug systems, this research is an alternative in the use of a new antiparasitic drug, a field that urgently needs improvement due to the presence of resistance to the usual pharmacotherapy and the possibility of serious side effects. Therefore, the objective of this work is the development of solid dispersions using the essential oil of Thyme (*Thymus vulgaris*), known for its antiparasitic activity, being considered a new system of drug release. The chosen preparation method was the melt-solvent technique, using polyethylene glycol (PEG) as the drug carrier. Its characterization occurred by tests of infrared spectrophotometry, differential thermal analysis and thermogravimetry, X-ray diffraction and electron microscopy. Electron microscopy analysis showed a decrease in particle size, in addition to the increase in the number of these particles. The comparative analyzes of infrared and X-ray diffraction, suggesting the correct encapsulation of the oil. In addition, comparative thermal analysis demonstrated a positive interaction between the drug and the carrier.

Introdução

No desenvolvimento de novos sistemas de liberação de medicamentos, um dos objetivos principais colocados é o aprimoramento da biodisponibilidade de fármacos com concentrações terapêuticas insuficientes. No caso de fármacos que possuem uma ótima permeabilidade, a solução para este problema seria o aumento em sua solubilidade aquosa, melhorando sua disponibilidade em ser absorvido (ALVES et al., 2012).

Nesse contexto, esse trabalho apresenta, como alternativa para a resolução do problema apresentado anteriormente, o desenvolvimento de um sistema carreador na forma de uma dispersão sólida, formado pelo encapsulamento de um fármaco ou droga por um carreador hidrofílico inerte, assim, aumentando sua solubilidade aquosa através do carreador desse revestimento e de sua nova forma amorfa (BARÃO DE AGUIAR, 2016).

O componente ativo deste sistema deve então ser selecionado de acordo com sua baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade. O composto selecionado foi o óleo essencial derivado de uma planta, já que

sua principal característica, por se tratar de um óleo, é ser imiscível em água. É importante aliarmos às novas tecnologias farmacêuticas com novas drogas vegetais para formarmos um leque maior de opções terapêuticas acompanhando então a evolução dos agentes patógenos (ROBBERS et al., 1997).

Esta droga oriunda da planta *Thymus vulgaris*, conhecida popularmente como tomilho, produz o óleo essencial empregado, há alguns anos, devido à sua propriedade antiparasitária, usada no combate contra alguns patógenos, a saber, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica* (MIRANDA et al., 2012).

Baseando-se nas informações apresentadas, essa pesquisa teve como objetivo o delineamento de um novo sistema de liberação na forma de dispersão sólida, através da seleção de seus componentes inertes e de sua metodologia de preparo, assim como, sua caracterização e sugestão de eficácia de encapsulamento demonstrada pela análise dos resultados apresentados nas análises empregando espectrofotometria de infravermelho, análise térmica diferencial e termogravimetria (DTA/TG), difração de raio-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Material e método

Preparo da dispersão sólida

Levando em conta a degradação do óleo essencial de tomilho em altas temperaturas optou-se por empregar como método de preparo de dispersões sólidas a técnica de fusão-solvente. O carreador também foi selecionado pensando nesta característica do óleo essencial, por isso foi escolhido o PEG 6000 que possui o ponto de fusão em torno de 60°C, evitando então a degradação dos componentes do óleo essencial (TAMBOSI, 2016).

O objetivo das técnicas de análise realizadas é demonstrar ou sugerir uma real dispersão ou encapsulamento do fármaco incorporado, por meio de comparação entre amostras distintas, sejam elas análises da superfície da amostra ou análises das diferenças entre as interações demonstradas.

Para a formação do sistema de dispersão, foi utilizado então o PEG 6000 como carreador hidrofílico, o álcool etílico como solvente orgânico do óleo essencial e o próprio óleo essencial como princípio ativo. Em um béquer, aqueceu-se o PEG, em torno de 65°C, com auxílio de uma manta aquecedora. Paralelamente, o óleo essencial foi solubilizado em uma quantidade mínima de álcool etílico. O PEG então foi transferido para um balão de fundo redondo e, em seguida, foi adicionado o óleo essencial solubilizado. A mistura foi então homogeneizada, com auxílio de um rota evaporador, que também auxiliou na remoção de algum vestígio do solvente orgânico.

O produto resultante, após sua solidificação, foi iniciado o processo de raspagem com auxílio de espátulas de metais. Em seguida, as espátulas foram utilizadas para triturar a dispersão sólida. Por último, para a calibração de pós foram utilizadas malhas metálicas de tamanho 20 na escala ABNT. A manipulação da dispersão branca, microestrutura sem o óleo essencial, foi realizada de maneira idêntica a manipulação da dispersão sólida, porém sem adição do óleo essencial de tomilho.

Após a análise dos resultados das primeiras amostras foi realizada uma nova manipulação de dispersão sólida, sob a mesma técnica. Adicionou-se 2 mL do óleo essencial para cada 20g de PEG.

Esta nova análise foi realizada em triplicata, porém a análise ocorreu somente com auxílio da microscopia eletrônica.

Espectrofotometria de infravermelho

De acordo com a técnica de espectrofotometria de infravermelho, toda ligação covalente entre dois átomos possui uma energia de vibração ou de rotação. O espectrofotômetro irradia, superficialmente, sobre a amostra estes raios infravermelhos que aumentam essa energia resultando em uma variação no momento dipolar da molécula a qual é detectada pelo aparelho e traduzida para a forma de picos em um gráfico de acordo com a respectiva transmitância. Podemos então correlacionar os picos de absorbância no infravermelho com as bandas de absorção de compostos já conhecidas (EWING, 2011).

As amostras das dispersões foram selecionadas a partir da calibração dos pós e, então, encaminhadas para análise empregando o espectrofotômetro de infravermelho. Entretanto, o óleo essencial não pode ser analisado por este aparelho, pois as análises são realizadas basicamente com amostras sólidas, sendo o óleo essencial um composto líquido. De acordo com os resultados desta análise podemos evidenciar ou não o recobrimento do óleo pelo carreador.

Análise térmica diferencial e termogravimetria (DTA/TG)

A análise térmica diferencial (DTA) é um método de análise térmica, no qual uma determinada amostra é submetida a uma razão de aquecimento e em uma atmosfera específica. Nesta faixa de aquecimento é possível observar, no gráfico resultante, picos endotérmicos e exotérmicos, os quais são relacionados às reações químicas ocorridas durante o ensaio. A termo gravimetria também se trata de uma análise térmica e necessita de uma razão de aquecimento e atmosfera específica, porém tem como objetivo observar a variação de massa da amostra que pode ser resultante de reações de decomposição, desidratação, oxidação, combustão, entre outras (STORPIRTIS, 2011).

As amostras selecionadas foram separadas, em frascos Eppendorf®, destinadas ao laboratório de engenharia de materiais e submetidas a duas razões de aquecimento que são de 2°C/min e 5°C/min em uma atmosfera de nitrogênio (TAMBOSI, 2016).

Apesar da interação entre fármaco-carreador ser constituída por ligações fracas como ligação de hidrogênio espera-se que esta interação produza diferenças entre os gráficos resultantes dos ensaios.

Difração de raio X (DRX)

Durante o ensaio de raio X, a amostra é bombardeada por feixes de raios X os quais excitam a amostra, assim cada elemento desta emite uma frequência específica que é lida pelo aparelho, sendo esta frequência única de cada elemento independente de sua ligação. Entretanto, somente moléculas na forma cristalina emitem essa frequência, sendo uma técnica muito útil para verificar a cristalinidade de uma determinada amostra, assim como a interação entre fármaco-carreador evidenciada pela alteração em picos característicos (MEIRELLES, 2012).

As amostras foram separadas novamente em frascos Eppendorf® e analisadas, em atmosfera de nitrogênio, apenas as amostras sólidas da dispersão sólida contendo óleo de tomilho e a dispersão branca contendo somente o PEG.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada

no estudo da superfície de estruturas de compostos, fornecendo uma imagem que apresenta relevos e demonstra a forma tridimensional (TAMBOSI, 2016).

As amostras foram selecionadas após a etapa de calibração de pós e acondicionadas em frascos Eppendorf®. Foram então analisadas no aparelho de microscopia eletrônica, no aumento de 30x a 5000x.

Resultado e discussão

Espectrofotometria de infravermelho

De acordo com os resultados, podemos perceber que as Figuras 1 e 2 são semelhantes entre si, devido ao apresentado. Lembrando que a espectrofotometria de infravermelho se trata de uma análise da superfície da amostra e sendo a Figura 2, referente ao da dispersão controle, contendo somente o PEG, semelhante à Figura 1, referente ao da dispersão sólida com o óleo de tomilho, podemos sugerir que o óleo de tomilho está disperso corretamente em seu carreador hidrofílico e/ou foi encapsulado de forma aceitável.

Figura 1: Gráfico resultante da análise da amostra de dispersão sólida contendo óleo de tomilho por Espectrofotometria de infravermelho.

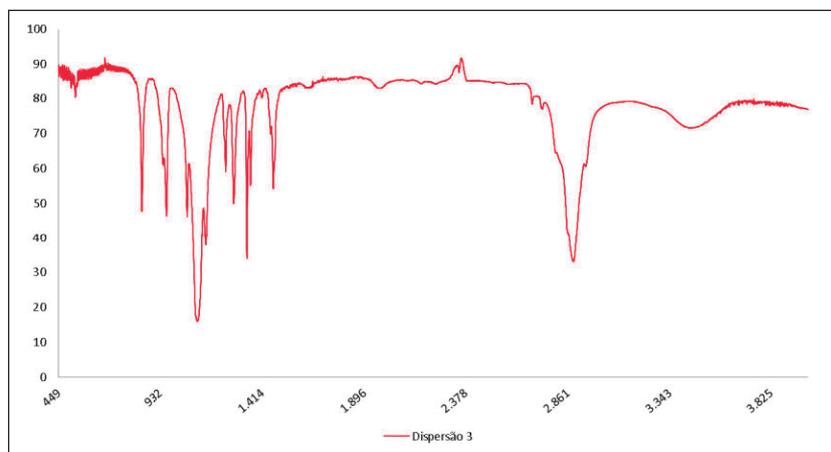
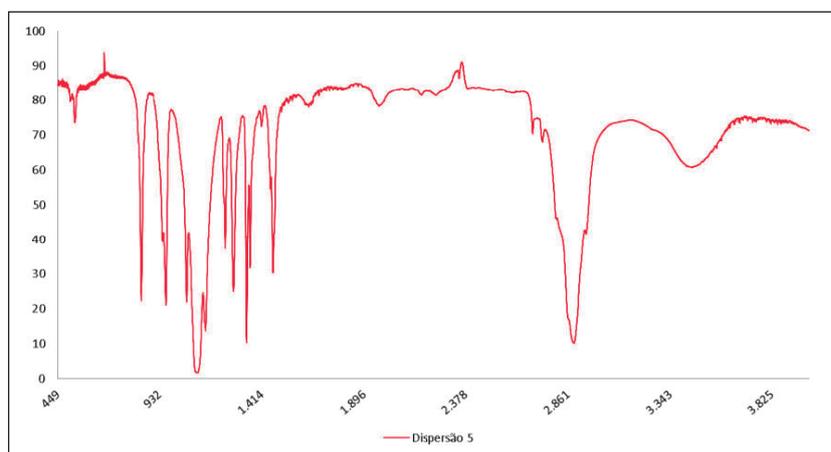


Figura 2: Gráfico resultante da análise da amostra de dispersão sólida controle por Espectrofotometria de infravermelho.



Análise térmica diferencial e termogravimetria (DTA/TG)

No ensaio DTA/TG, as duas amostras foram submetidas a duas razões de aquecimento, 2°C/min e 5°C/min. A amostra contendo o óleo essencial puro

foi analisada somente na razão de 5°C/min. Sendo uma análise comparativa devemos comparar as respectivas razões separadamente. Primeiramente, comparamos a razão de 2°C/min, pela análise das Figuras 3 e 4.

Figura 3: Gráfico resultante da análise da amostra da dispersão sólida (PEG + óleo de tomilho) por análise térmica diferencial e termogravimetria, empregando razão de aquecimento de 2°C/min.

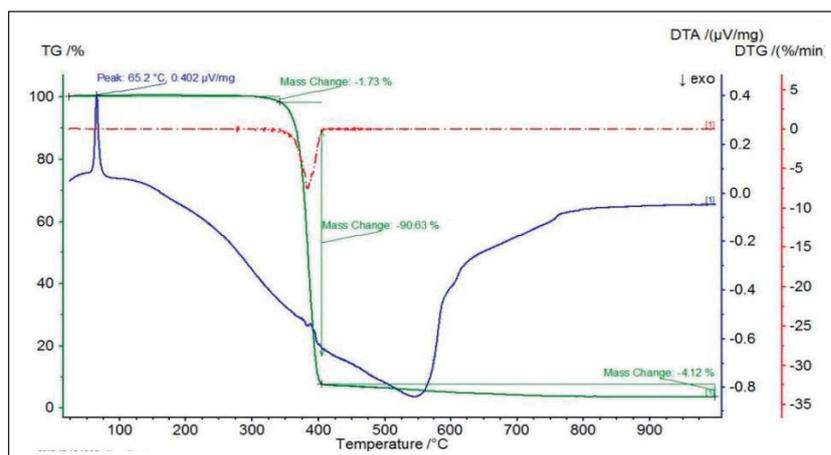
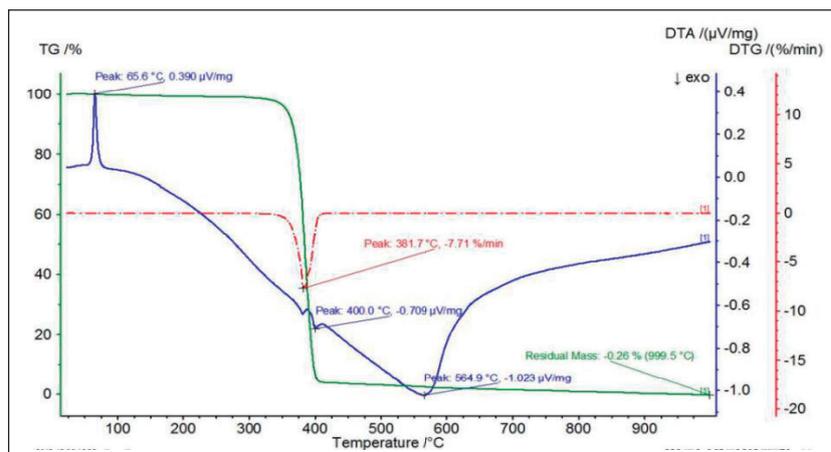


Figura 4: Gráfico resultante da análise da amostra da dispersão sólida controle por análise térmica diferencial e termogravimetria, empregando razão de aquecimento de 2°C/min.



Na escala de 2°C/min para a Figura 3, podemos perceber uma perda de massa em torno de 65°C, o que de acordo com a baixa temperatura de evaporação do óleo, pode indicar a presença do óleo já que esta perda de massa não está presente na Figura 4, contendo a amostra com a dispersão controle. Comparando-se os dois gráficos, o primeiro apresenta ausência do primeiro pico na temperatura de 400°C, da análise de DTA, presente no segundo gráfico. E na Figura 3, o segundo pico, da análise de DTA, apresenta-se em torno de 540°C, diferentemente do segundo pico da Figura 4 que está em 565°C.

Estas diferenças e a perda de massa na temperatura de 65°C podem sugerir que não só o óleo está pre-

sente, mas também interagindo com seu carreador.

Em seguida, são apresentados os resultados da análise das mesmas amostras e do óleo essencial, empregando razão 5°C/min.

As diferenças entre os gráficos de razão 5°C/min também existem, porém talvez devido a diferente escala de temperatura estas diferenças se apresentam mais sutis. Como por exemplo, o pico de 582°C, na Figura 6 e o pico de 618°C na Figura 7. Podemos observar também que a Figura 5, referente à análise do óleo essencial puro, se apresenta distinta das demais amostras referentes à dispersão sólida, demonstrando a presença majoritária do carreador composto pelo PEG.

Figura 5: Gráfico resultante da análise do óleo essencial puro por análise térmica diferencial e termogravimetria, empregando razão de aquecimento de 5°C/min.

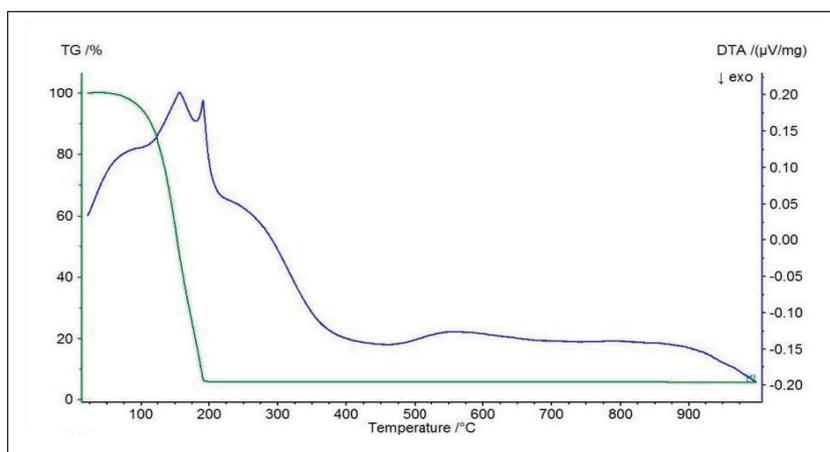


Figura 6: Gráfico resultante da análise da amostra da dispersão sólida (PEG + óleo de tomilho) por análise térmica diferencial e termogravimetria, empregando razão de aquecimento de 5°C/min.

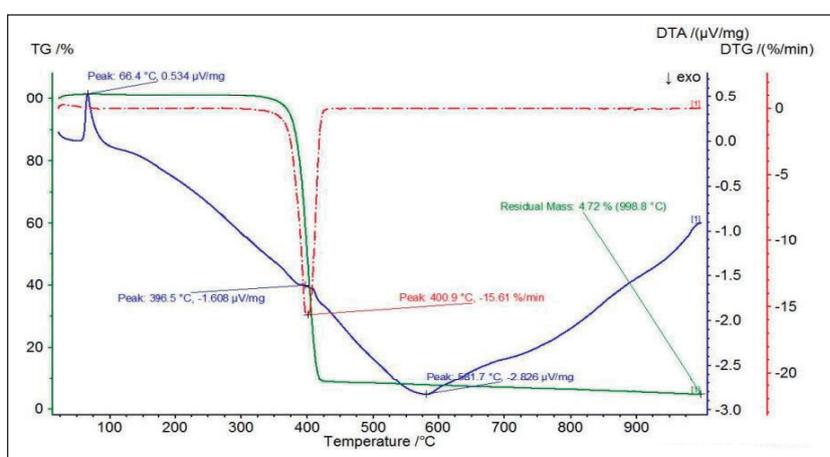
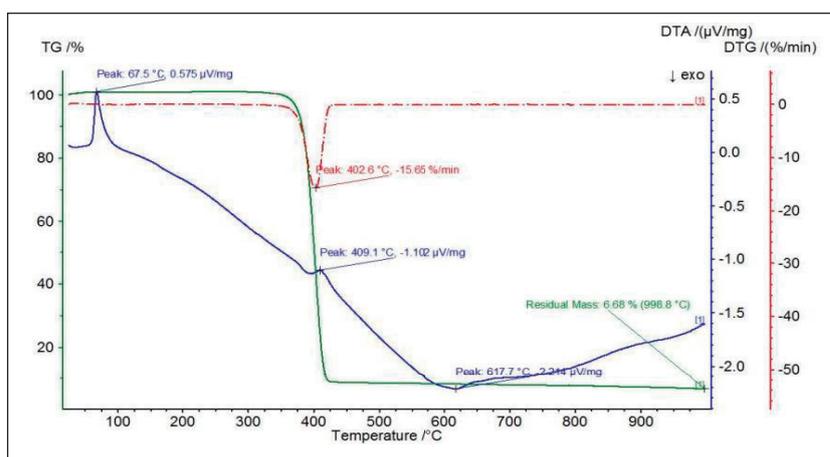


Figura 7: Gráfico resultante da análise da amostra da dispersão sólida controle por análise térmica diferencial e termogravimetria, empregando razão de aquecimento de 5°C/min.



Difração de raio-X (DRX)

Como a técnica do raio-X também se trata de uma análise da superfície da amostra, o resultado mostra-se coerente já que os gráficos sugerem que o óleo esteja recoberto pelo seu carreador. Esta sugestão é demonstrada através do mesmo padrão de picos em ambos os gráficos, concluindo-se que o PEG está presente em toda a superfície da amostra, ou seja, não há

indício da presença de tomilho nessa superfície, avaliando-se os resultados apresentados no Gráfico 8 e 9.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As duas amostras foram analisadas em um aparelho de microscopia eletrônica em aumentos que variam de 30 a 5000 vezes. As imagens (Figuras 10, 11 e 12) resultantes seguem-se abaixo de forma comparativa.

Figura 8: Ensaio empregando difração em raio-X da dispersão sólida com óleo de tomilho.

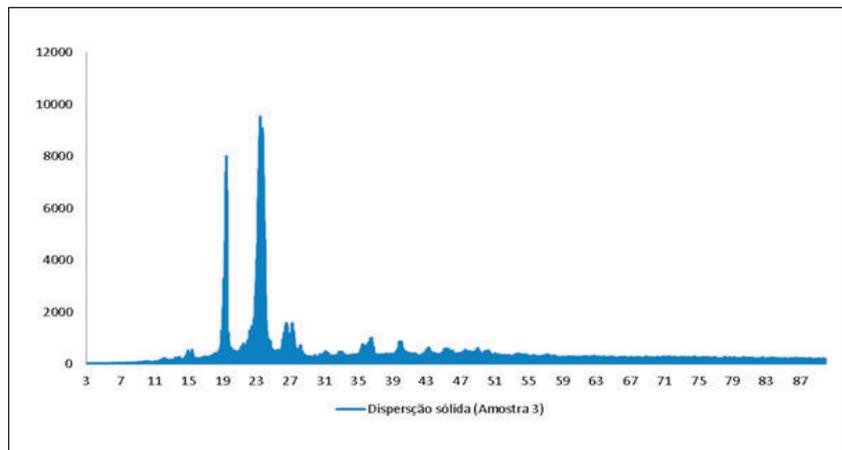


Figura 9: Ensaio empregando difração em raio-X da dispersão sólida controle.

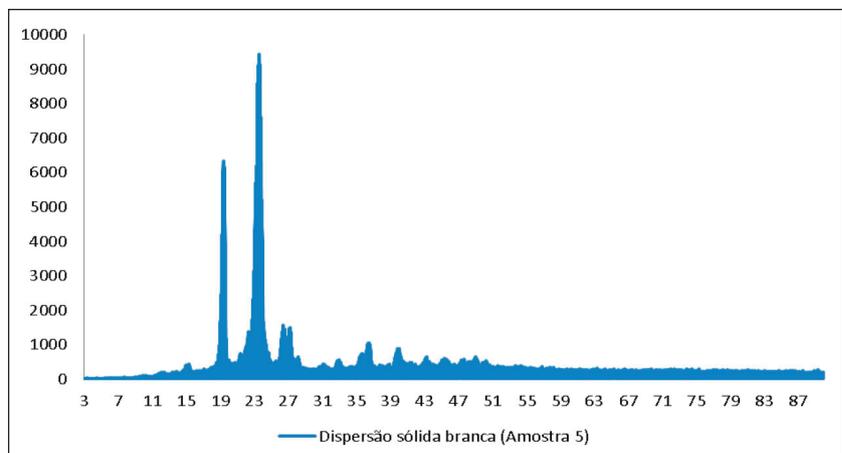


Figura 10: Dispersões sólidas no aumento de 100 vezes.

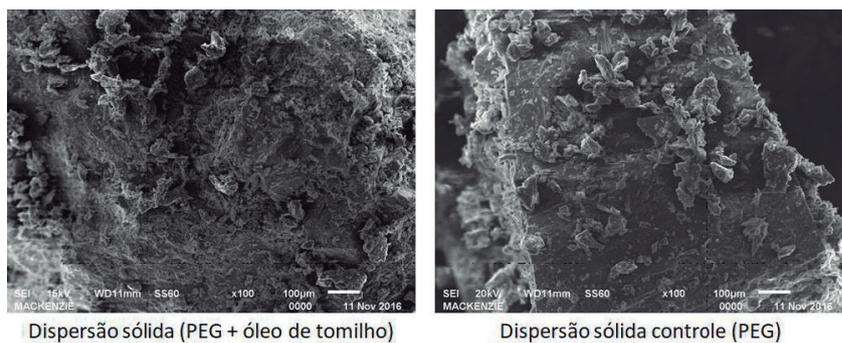


Figura 11: Dispersões sólidas no aumento de 500 vezes.

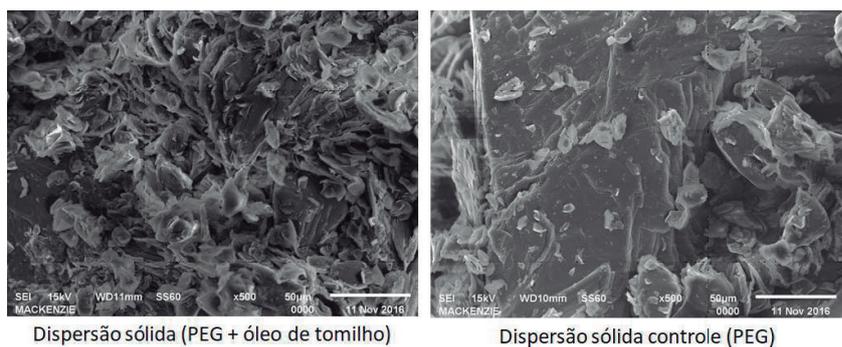
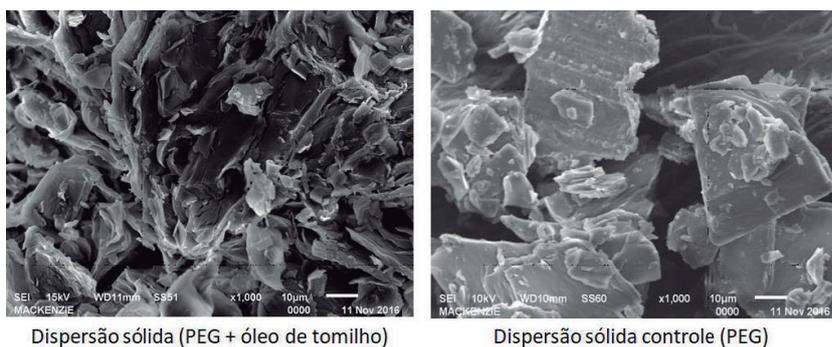


Figura 12: Dispersões sólidas no aumento de 1000 vezes.



Dispersão sólida (PEG + óleo de tomilho)

Dispersão sólida controle (PEG)

De acordo com as imagens (Figuras 10, 11 e 12) apresentadas, podemos visualizar um maior número de partículas micrométricas na dispersão sólida (PEG + óleo de tomilho), resultando em uma maior superfície de contato, motivo de contribuição para o aumento da hidrossolubilidade. Lembrando que o óleo também já se encontra disperso em um carreador hidrofílico, concluímos que a dispersão sólida em meio a estes fatores apresentados possivelmente atingirá o seu principal objetivo que é o aumento da sua biodisponibilidade.

A crescente resistência de parasitas de gênero *Trypanosoma* e *Leishmania*, entre outros traz uma urgência no desenvolvimento de novos medicamentos que tenham não só uma eficácia mais significativa, mas também menor probabilidade de apresentar efeitos colaterais e também um menor custo, já que a maior prevalência destas parasitoses se encontra na população mais carente, com residência em lugares afastados próximo a matas e com falta de saneamento básico. Sendo assim, óleos essenciais provenientes de plantas da família *Lamiaceae*, que são grandes produtoras deste composto, estão sendo analisadas e obtendo comprovação de sua finalidade antiparasitária muitas vezes para mais de uma espécie de parasita.

Conclusão

O desenvolvimento de novos medicamentos e drug-delivery systems contendo drogas vegetais pode ser auxiliado por novas tecnologias que estão em desenvolvimento atualmente. As dispersões sólidas existem para auxiliar nesse desenvolvimento e corrigir a característica hidrofóbica de algumas drogas ou fármacos que impossibilitam uma biodisponibilidade ideal.

Com base nos resultados das análises realizadas neste trabalho, podemos sugerir que a dispersão sólida final apresentou características adequadas, indicando o sucesso e alta qualidade do método de manipulação,

obtendo-se, assim, um novo sistema carreador de fármacos (drug-delivery system), podendo ser incorporado em várias formas farmacêuticas.

Referências

ALMEIDA, H.E.P.P.J. Preparação e caracterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo Ibuprofeno. Portugal. Universidade do Porto; 2009. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/20817/2/DISSERTA%C3%83O.pdf>

ALVEZ, L.D.S, De Lyra MAM, Rolim LA, Presmich GMA, Rolim-Neto PJ. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. Ver. Ciênc. Farm. Básica Apl. 2012;33(1):17-25. http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/1550/1207

BONAMICI, D. Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisencões. Universidade de São Paulo; 2009. http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-29032010-151226/publico/Dissertacao_DeniseBonamici.pdf

DE AGUIAR, M.M.BG. Obtenção de Gel Mucoadesivo de Nistatina para o Tratamento da Candidíase oral. Desenvolvimento e Caracterização de Dispersões Sólidas de Nistatina. Universidade de São Paulo; 2016. https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-06052016-102001/publico/Michelle_Maria_Goncalves_Barao_de_Aguiar_corrigida.pdf

EWING, G.W. Métodos instrumentais de análise química. Volume 1. Estados Unidos: Blucher; 2011.

MACHADO, M.; Sousa MDC, Salgueiro L, Cavaleiro C. Os óleos essenciais como agentes antiparasitários. Ver. Fitoter. 2010 Mai;10(1):35-44. https://www.fitoterapia.net/php/download_documento.php?id=4481&doc_r=n

MEIRELLES, L.M.A. Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e

dispersão sólida. Teresina. Universidade Federal do Piauí; 2012. http://leg.ufpi.br/subsiteFiles/ppgcf/arquivos/files/Lyghia_Meirelles.pdf

PÉREZ, S.; López MAR, Miranda ES, Orozco MCF, Ramos JP. Antiprotozoa activity of some essential oils. J Med Plants Res 2012 Abr;6(15):2901-2908. http://quimica.uaq.mx/docs/MCTA_2014/articulos/uaq_mcta_Perez_2012_JMPR.pdf

ROBBERS, J.E, Speedie MK, Tyler VE. Farmacognosia e farmacobiocologia. São Paulo: Premier, 1997.

STORPIRTIS, S.; Gonçalves JE, Chiann C, Gai MN. Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

TAMBOSI G. Dispersões sólidas de felodipino e cloridrato de quitosana visando aprimorar as propriedades biofarmacêuticas do fármaco. Joinville. Universidade da Região de Joinville; 2016. http://univille.edu.br/account/ppgsma/VirtualDisk.html?action=readFile&file=Dissertacao_Gabriela_Tambosi.pdf¤t=/Dissertacoes_completas/2016