

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE LIPOSSOMAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* L.

Isadora Seron da Fonseca (PIC/Uem), Karen de Mello Silva Jorge Silva (PIC/Uem), Marli Miriam de Souza Lima (Co-orientador), Bruna Luíza Pelegrini (Orientador), e-mail: pelegrinib@gmail.com.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Farmácia / Farmacotécnica

Palavras-chave: lipossomas, *Rosmarinus officinalis* L., atividade antioxidante.

Resumo:

Lipossomas são nanopartículas semelhantes às bicamadas lipídicas celulares, facilitando a interação entre lipossomas-células, aumentando a permeação de substâncias na epiderme e intensificando a entrega no local desejado. São sistemas vesiculares, compostos por fosfolipídios anfifílicos organizados em bicamadas, que circundam compartimentos aquosos e, devido à sua composição, permitem a incorporação de óleos vegetais, por possuírem afinidade com substâncias de caráter hidrofílico e lipofílico. A encapsulação de ativos provenientes de *Rosmarinus officinalis* L., conhecido como alecrim, é de grande interesse devido à capacidade do óleo essencial desta espécie em atuar na prevenção do estresse oxidativo, conferindo, portanto, aplicações nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e cosméticas. Este trabalho teve o propósito de desenvolver sistemas lipossomais em condições experimentais que permitissem a obtenção de lipossomas com propriedades ideais. Foi realizado um planejamento fatorial, buscando avaliar simultaneamente o comportamento de diferentes variáveis que compõem estes sistemas, como fosfolipídeos, colesterol e óleo essencial de alecrim. A síntese das formulações se deu pelo método de injeção etanólica. A caracterização das vesículas foi realizada em termos de tamanho médio, potencial zeta, e eficiência de encapsulação, exibindo nanopartículas com tamanho médio de $114,4 \pm 1,5$ a $216,14 \pm 5,4$, após serem extrusadas, e potencial zeta com um valor absoluto alto, além de demonstrar boa eficiência de encapsulação. Sendo assim, foi possível caracterizar parcialmente as vesículas, corroborando com a encapsulação do óleo essencial de alecrim.

Introdução

O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L, conhecido popularmente como Alecrim, pertencente à família Lamiaceae, além de aromático, possui diversos efeitos terapêuticos e propriedades antioxidantes. As atividades

antioxidantes conferidas aos extratos de alecrim se devem principalmente à presença de compostos fenólicos, voláteis e não voláteis, como os flavonoides, os ácidos fenólicos e os diterpenos fenólicos, tais como o ácido carnósico, o carnosol, o ácido rosmarínico e o rosmanol (JUSTO et al., 2008).

O estresse oxidativo ocorre pelo desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes do organismo, induzindo à degeneração de biomoléculas, processo que representa um acentuado fator para o envelhecimento cutâneo. Neste contexto, produtos cosméticos com ações antioxidantes são desenvolvidos a fim de combater os efeitos de radicais livres, preservando o equilíbrio cutâneo (MOUAD; PORTO, 2014). Ademais, fatores como aumento da preocupação com a aparência visual e o avanço da tecnologia na área cosmética estão refletindo em produções mais eficazes e estáveis (SCHMALTZ; GUTERRES, 2005), como lipossomas.

Os lipossomas são vesículas de formato esférico, com diâmetro de 5 a muitas centenas de nanômetro, constituídos por uma ou mais membranas como bicamadas fosfolipídicas que envolvem um meio aquoso interno. Para a sua constituição, o componente lipídico mais utilizado é o fosfatidilcolina. Com o propósito de obter lipossomas mais rígidos e garantir estabilidade à estrutura, é usualmente incluído colesterol em sua composição. Os lipossomas são estruturas lamelares, termodinamicamente estáveis, podendo ser formados por pequenas e grandes vesículas unilamelares e multilamelares. Além disso, são capazes de carregar substâncias hidrofílicas e/ ou lipofílicas e não apresentam toxicidade ao organismo (DAUDT et al., 2013).

Portanto, este trabalho visou ao desenvolvimento de lipossomas, nos quais o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. foi encapsulado, a fim de investigar a organização dos sistemas nanométricos e a capacidade de encapsulação do óleo, bem como a estabilidade das formulações no que tange aos parâmetros morfológicos, dimensionais e resposta térmica.

Materiais e métodos

Preparação de lipossomas contendo o óleo essencial de Rosmarinus officinalis L. pelo método de injeção de etanol

Os lipossomas (A1 a A8) foram obtidos pelo método de injeção de etanol em água deionizada, após solubilização dos lipídios dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) e colesterol e do ativo (óleo essencial de alecrim) em etanol à 50° C (temperatura acima da temperatura de transição de fase (T_c) dos fosfolipídios) em agitação, seguido de evaporação do solvente durante 15 minutos. A formulação foi acondicionada em frasco âmbar e armazenada em geladeira (4 °C).

Padronização do tamanho dos lipossomas

Foi utilizado o método de extrusão em mini extrusora (Avanti Polar Lipids, USA). A amostra foi filtrada por um disco de drenagem e membrana de policarbonato com poros de tamanho controlado (100 nm). Os lipossomas

obtidos ficaram em repouso a temperatura de 4 °C para seu intumescimento (*swelling*) e organização por 24 horas.

Determinação do tamanho e da morfologia dos lipossomas

O tamanho, a polidispersibilidade e o potencial zeta foram avaliados em Nanoplus zeta/nano Particle Analyzer. A determinação da morfologia foi investigada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) com equipamento EOL JEM 1400 (Peabody, MA, USA), em voltagem de aceleração de elétrons de 80Kv.

Ensaio termoanalítico: Calorimetria de Varredura Micro Diferencial (μ -DSC)

Os experimentos em μ -DSC foram realizados de 5 a 100 ° C sob 1 bar de N₂ em um micro calorímetro Setaram Micro DSC III (França), usando vasos de 1 cm³ e taxas de aquecimento e resfriamento iguais a 0,2 °C min⁻¹. Os dados foram coletados com o software Setsoft 2000 (Setaram).

Resultados e Discussão

O tamanho médio (\emptyset) das vesículas antes do processo de extrusão variou de 195,4 \pm 1,5 a 3057,9 \pm 521,3 e após a extrusão de 114,4 nm \pm 1,5 a 216,14 nm \pm 5,4, admitindo-se então a eficácia do procedimento de redução do tamanho das vesículas (diminuição de aproximadamente 58,54 a 92,93 %), por meio do método de extrusão com membrana de 100 nm. Outra característica importante para a estabilidade dos sistemas lipossomais foi a análise do potencial zeta, na qual obteve-se valores na faixa de -12,03 \pm 0,19 a 2,98 \pm 0,14.

Tabela 1 - Potencial zeta (ζ) e tamanho médio (\emptyset) dos sistemas lipossomais obtidos por DLS

	DPPC: DMPC: COL (mg/mL)	OEA (mg/mL)	\emptyset (nm) \pm DP		ζ (mV) \pm DP
			Não extrusado	Extrusado	
A1	11,2:2,8:0	0	2493 \pm 38,7	216,14 \pm 5,4	2,98 \pm 0,14
A2	5,6:1,4:0	7,000	209,1 \pm 29,9	131,0 \pm 4,1	- 3,11 \pm 0,34
A3	9,8:2,45:1,75	0	656,4 \pm 102,1	150,6 \pm 8,5	- 0,02 \pm 0,22
A4	5,6:1,4:1,75	5,250	1001,1 \pm 55,2	147,1 \pm 3,4	-12,03 \pm 0,19
A5	8,4:2,1:0	3,500	3057,9 \pm 521,3	114,4 \pm 1,5	2,08 \pm 0,35
A6	10,5:2,625:0,875	0	1337,2 \pm 84,3	190,6 \pm 4,6	2,68 \pm 0,18
A7	5,6:1,4:0,875	6,125	195,4 \pm 1,5	136,6 \pm 1,1	- 3,29 \pm 0,28
A8	7,7:1,925:1,75	2,625	905,3 \pm 10,0	174,8 \pm 0,4	- 3,01 \pm 0,44

DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina, DMPC: Dimiristoilfosfatidilcolina, COL: Colesterol, OEA: Óleo essencial de alecrim, DP: Desvio Padrão, A: Amostra

A análise comparativa dos comportamentos térmicos das formulações por μ -DSC evidenciaram transição gel-líquido cristalino em aproximadamente 37 °C. Esta transição, também denominada de fusão ou transição principal, indica a alteração da organização em fase gel planar (L _{β} ') dos lipossomas,

caracterizada pela ordenação da camada lipídica hidrocarbonada com rigidez da estrutura, que assume a mesofase líquido cristalina (L_{α}), caracterizada por possuir a mesma fluidez de líquidos, com um grau de ordem molecular intermediário entre a ordem orientacional e posicional de longo alcance de sólidos cristalinos e a desordem de longo alcance de líquidos. Nesta mesofase, os radicais hidrofílicos agrupados tornam-se altamente hidratados e as moléculas adquirem maior movimentação e assumem a conformação gauche, elevando a entropia do sistema e a fluidez da membrana.

Conclusões

O método de síntese dos lipossomas permitiu o desenvolvimento de vesículas com tamanhos manométricos e com potencial zeta satisfatório para a estabilidade das vesículas. Outrossim, verificou-se transição gel-líquido cristalina das formulações em temperatura próxima à corporal ($\sim 37^{\circ}\text{C}$), evidenciando o potencial de aplicação das nanoestruturas como *drug delivery*.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Programa de Iniciação Científica (PIC/UEM) e à organização do evento XXVII EAIC.

Referências

DAUDT, R. M.; EMANUELLI, J.; GUERREIRO, I. C. K.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Ciência e Cultura** v. 65 n.3, p. 28–31, 2013.

JUSTO, O. R.; MORAES, Â. M.; BARRETO, G. P. M.; Adriana Zerlotti MERCADANTE, A. Z.; ROSA, P. T. V. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Química Nova**, Campinas v. 31, n. 7, p. 1699–1705, 2008.

MOUAD, A. M.; PORTO, A. L. M. Uma abordagem química sobre a pele e a biocatálise no desenvolvimento de moléculas antioxidantes de aplicação cosmética. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 6, p. 1642-1660, 2014.

SCHALTZ, C.; SANTOS J.V.; GUTERRES, S.S. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. **Infarma**, v.16, n. 13-14, p.80-85, 2005.