

MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS EM FORMA DE DISPERSÃO SÓLIDA CONTENDO O HORMÔNIO TRIIODOTIRONINA (T3) PARA TRATAMENTO DO HIPOTIREOIDISMO: DESENVOLVIMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA

Luiza Zafani Gimenez (IC) e Marcelo Guimarães (Orientador)

Apoio: PIBIC CNPq

RESUMO

O hipotireoidismo é uma doença metabólica comum, a qual se apresenta por baixa concentração de hormônio tireoideano por síntese deficitária e/ou baixa sensibilidade aos hormônios pelos seus receptores, sendo seu tratamento normalmente feito com reposição hormonal a partir de monoterapia de Levotiroxina (L-T4), fármaco originado da molécula sintética de tiroxina que apresenta ação de pró-hormônio. O hormônio ativo para a glândula tireoide é a triiodotironina (T3), porém não é muito usado devido sua rápida degradação no organismo. Devido a isso, esse trabalho teve como objetivo desenvolver uma dispersão sólida com T3, sendo essa proposta baseada no esperado aumento de estabilidade, efeito terapêutico e, conseqüentemente, a meia-vida do fármaco através da microtecnologia. A dispersão sólida foi sintetizada com PEG 6000 e polissobato 80 e elaborada a partir do método de evaporação do solvente. Em seguida, foi parcialmente caracterizada físico-quimicamente e morfologicamente através de métodos analíticos como termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de absorção no infravermelho (IR), bem como por através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), sendo que tais análises indicaram a formação de um sistema eficaz e inovador para a liberação de fármacos.

Palavras-chave: Dispersão sólida, PEG 6000 (polietilenoglicol) e Triiodotironina (T3).

ABSTRACT

Hypothyroidism is a common metabolic disease, which presents with a low concentration of thyroid hormone due to deficient synthesis and/or low sensitivity to hormones by its receptors, and its treatment is usually done with hormone replacement from Levothyroxine monotherapy (L-T₄), a drug originated from the synthetic molecule of thyroxine that has a prohormone action. The active hormone for the thyroid gland is triiodothyronine (T₃), but it is not widely used due to its rapid degradation in the body. Because of this, this work aimed to develop a solid dispersion with T₃, this proposal being based on the expected increase in stability, therapeutic effect and, consequently, the half-life of the drug through microtechnology. The solid dispersion was synthesized with PEG 6000 and polysorbate 80 and prepared using the solvent evaporation method. Then, it was partially characterized physico-chemical and morphologically through analytical methods such as thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), infrared absorption spectroscopy (IR), as well as by scanning electron microscopy (SEM), and such analyzes indicated the formation of an effective and innovative system for drug delivery.

Keywords: Solid dispersion, PEG 6000 (polyethylene glycol) and Triiodothyronine (T₃).

1. INTRODUÇÃO

O hipotireoidismo é uma doença metabólica, em que ocorre a baixa síntese de hormônios tireoidianos pela glândula tireoide e/ou a baixa sensibilidade aos hormônios em seus receptores nucleares. Essa patologia pode ser causada por diversos fatores, como: genética, baixa ingestão dietética de iodo, síntese deficiente de hormônio hipofisários (TSH e TRH), baixa concentração de tireoglobulina e traumas cirúrgicos (OLIVEIRA et al, 2002).

O tratamento farmacológico é feito através da reposição dos hormônios tireoidianos, tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), sendo o T4 o pró-hormônio do T3, o qual é a forma biologicamente ativa do hormônio (HALL, 2011). Normalmente o tratamento é feito por monoterapia de Levotiroxina (L-T4) em que o princípio ativo é uma molécula sintética equivalente da tiroxina (BEVENGA et al, 2019). Porém, mesmo com a adesão correta ao tratamento e níveis séricos normais dos hormônios tireoidianos e hipofisários alguns pacientes relatam a persistência dos sintomas (CHAKERA et al, 2012), além de a levotiroxina poder exigir um aumento gradativo das doses, uma vez que existe diminuição da sua absorção na mucosa intestinal e de sua estabilidade que pode ser causado pela alimentação, doenças gastrointestinais e interações medicamentosas (VINAGRE et al, 2010).

Dessa forma, existem outros tratamentos farmacológicos menos usuais, como a terapia combinada de L-T4 e T3 (CHAKERA et al, 2012). Já terapias usando somente o T3 sintético ou animal não são frequentes, pois por ser o hormônio biologicamente ativo apresenta uma curta meia vida, logo se desintegra mais rapidamente (OLIVEIRA et al, 2002). Por isso ainda há busca de novas estratégias farmacoterapêuticas para o tratamento de hipotireoidismo (CHAKERA et al, 2012).

Uma estratégia farmacêutica para aprimorar a absorção de fármacos lipofílicos é usar microcarreadores ou nanotecnologia hidrofílicos. Uma dessas estratégias é chamada de dispersão sólida. Nesse sistema há a dispersão de um fármaco pouco solúvel em um microcarreador hidrofílico (DE AGUIAR, 2016), promovendo melhor dissolução e, consequente, melhor absorção desses fármacos incorporados nesses carreadores (LIRA, 2019).

A dispersão sólida é considerada um sistema de liberação de fármacos (*drug delivery system*), no qual há a associação de um fármaco com um sistema de liberação farmacêutica, apresentando vantagens sobre os fármacos não associados. Isto ocorre por proteger os princípios ativos e, dessa forma, promover maior estabilidade a eles. Assim pode haver maior absorção do fármaco, aumentar a meia vida, diminuir a

toxicidade, diminuir os efeitos adversos e pode modular a liberação no organismo (SOUTO et al, 2018).

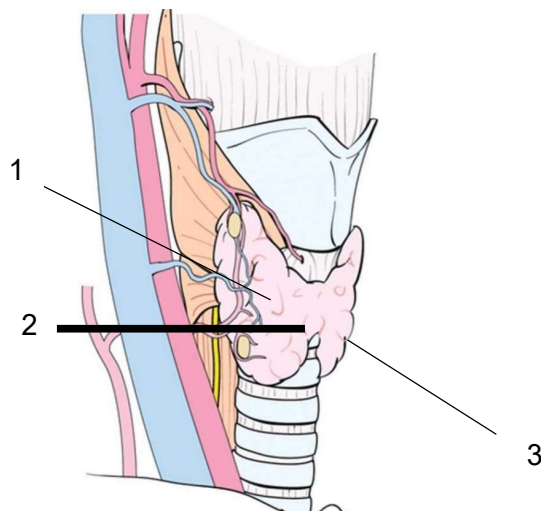
Dessa maneira, acredita-se que o desenvolvimento de uma dispersão sólida contendo o hormônio T3 seja uma estratégia promissora para estabilizar a triiodotironina, aumentar sua meia vida e, conseqüentemente, aumentar a eficácia do fármaco. Sendo assim, visa-se obter um sistema de liberação de fármaco com melhor farmacocinética e maior estabilidade do que as farmacoterapias convencionais empregadas para o hipotireoidismo.

Este trabalho propõe desenvolver e caracterizar, de acordo com os parâmetros físico-químicos e morfológicos, micropartículas poliméricas na forma de uma dispersão sólida contendo o hormônio triiodotironina (T3), visando interesse para futuras aplicações no tratamento do hipotireoidismo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A tireoide é um órgão endócrino bilobulado anterior a traqueia (figura 1), composto por células epiteliais cuboides, as quais formam folículos onde contém uma substância secretora denominada coloide, a qual apresenta a tireoglobulina (Tg). Essa é a substância precursora dos hormônios tireoidianos – tiroxina (T4) e triiodotironina (T3). Os hormônios tireoidianos são essenciais para a regulação metabólica do organismo humano. Eles são responsáveis por regular o sistema cardiovascular, o metabolismo celular, desenvolvimento do sistema nervoso central, bem como o crescimento e síntese proteica (HALL, 2011).

Figura 1. Anatomia da tireoide. Visão latero-frontal direita da glândula tireoide. 1 – Lóbulo direito, 2 – Istmo e 3 – Lóbulo esquerdo.



Fonte: Adaptado de MOHEBATI (2012)

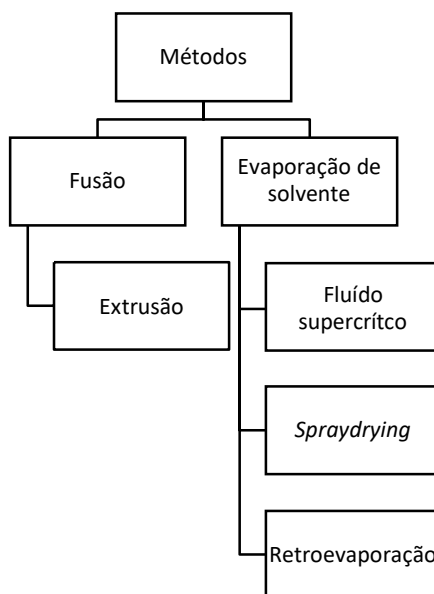
O hipotireoidismo é uma doença caracterizada por baixos níveis séricos e baixa expressão dos hormônios tireoidianos (HALL, 2011). Os sintomas causados por essa patologia são característicos do hipometabolismo, uma vez que esses hormônios são responsáveis pelo aumento da atividade metabólica celular (BRENTA et al 2013).

Os tratamentos farmacológicos dessa doença são através da reposição hormonal. O mais comum é o uso de um medicamento oral contendo L-T4 (hormônio T4 sintético) (BEVENGA et al, 2019). Há também terapias combinadas de L-T4 e T3, mas é indicada normalmente para tentativa de regeneração de tecido tireoidiano normal que foi danificado (CHAKERA et al, 2012). Já o uso do hormônio ativo sintético ou animal (T3), não é comum, devido à sua menor meia vida (OLIVEIRA et al, 2002).

Os sistemas de liberação de fármacos ou *drug delivery systems* são estratégias farmacotécnicas para melhorar a estabilidade, solubilidade, biodisponibilidade e até diminuir os efeitos adversos de alguns fármacos (MORAES, 2008). A dispersão sólida é uma dessas estratégias, normalmente aplicada a fármacos lipofílicos, pois apresentam baixa biodisponibilidade e baixa solubilidade em água. Ao agregar-se a microcarreadores hidrossolúveis ou hidrodispersíveis apresentados no estado sólido há melhora do efeito sistêmico desse hormônio (DE AGUIAR, 2016).

A escolha do carreador para a dispersão sólida depende de alguns fatores, tais como: solubilidade em água, compatibilidade ao fármaco, não apresentação de atividade farmacológica, baixa toxicidade e boa estabilidade em dispersão, além de ser necessário a aprovação da ANVISA e comprovação de sua segurança (DE AGUIAR, 2016). Dessa forma, os carreadores são divididos em quatro gerações, sendo a *primeira geração* de carreadores cristalinos, a *segunda geração* de carreadores amorfos – como PEG (polietilenoglicol) e PVP (polivinilpirrolidona), os quais apresentam melhor estabilidade termodinâmica (KIM, 2011); a *terceira geração* caracterizada pela adição de um ou mais tensoativos para melhorar a estabilidade do sistema; e a *quarta geração* caracterizada, pelo uso de polímeros insolúveis em água, responsáveis por controlar a liberação de fármacos lipofílicos e de baixa meia vida (DE AGUIAR, 2016).

O preparo de dispersões sólidas ocorre a partir, principalmente, de dois métodos: fusão e evaporação do solvente, os quais apresentam subdivisões conforme apresentados na figura 2 (LIRA, 2019).

Figura 2. Métodos para obtenção de dispersão sólida

Fonte: Adaptado de LIRA (2019)

A escolha do método é feita visando atingir a maior estabilidade do sistema, sendo, dessa forma, necessário avaliar as características físico-químicas dos fármacos e carreadores, tendo em vista que alguns carreadores necessitam de aquecimento vigoroso podendo inativar fármacos termossensíveis. Para validar a qualidade e eficácia da dispersão sólida ela precisa ser caracterizada através das suas propriedades físico-químicas. Os métodos mais comumente empregados para a caracterização físico-química e morfológica dessas estruturas são: calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), difração de raio-X, espectroscopia do infravermelho (IR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), solubilidade e dissolução da dispersão sólida, entre outros (DE AGUIAR, 2016).

3. METODOLOGIA

3.1 Preparo dispersão sólida de PEG branca (DSB)

O preparo e desenvolvimento da dispersão sólida branca (DSB) foram realizados no Laboratório Semi-industrial do curso de Farmácia, empregando 18g de PEG 6000 (microcarreador), 2g de polissorbato 80 (tensoativo não-iônico) e 30 ml de acetona (solvente orgânico). O método de síntese escolhido foi de fusão do solvente, método esse no qual há inicialmente a fusão do microcarreador no balão de fundo redondo e seguidos da homogeneização do sistema, adição do solvente orgânico e acoplamento do balão de fundo redondo ao rotaevaporador até eliminação do solvente através do calor fornecido e alta volatilidade da acetona.

Após a retirada do balão do rotaevaporador foi necessário esperar o resfriamento e solidificação do sistema para realizar a retirada do material do balão por raspagem e homogeneização por pulverização, feita com gral e pistilo de porcelana.

3.2 Preparo da dispersão sólida com T3 (DST3)

O preparo e desenvolvimento da dispersão sólida contendo T3 (DST3) são semelhantes ao preparo da amostra branca (DSB), sendo também realizados no Laboratório Semi-industrial do curso de Farmácia. Porém, após a solubilização do PEG 6000 e do polissorbato 80 são adicionados 5,9µg de solução T3 e, em seguida, são adicionados 30ml de acetona. Na sequência o balão é acoplado ao rotaevaporador até a evaporação total do solvente.

Após a retirada do balão do sistema espera-se o resfriamento e solidificação do sistema para fazer a retirada do material por raspagem e homogeneização por pulverização, com auxílio do gral e pistilo de porcelana.

3.3 Análises para caracterização físico-química e morfológica das amostras:

3.3.1 Caracterização organoléptica

A análise foi caracterizada pelo método de observação da manipulação finalizada, sendo observadas as características macroscópicas como forma, cor e odor e comparadas com as características dos excipientes usados (polissorbato 80 e PEG 6000).

3.3.2 Caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a análise foram analisadas as dispersões sólidas branca e com T3 como descrito nos itens 3.1 e 3.2, sem fazer a trituração completa, e as amostras foram enviadas aos laboratórios do MackGraphe onde as análises foram conduzidas com auxílio de um microscópio óptico com feixe de elétron. A caracterização das amostras por MEV é feita para analisar as micropartículas formadas de DSB e DST3.

3.3.3 Caracterização por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG)

As análises de DSC e TG foram realizadas em um Netzsch STA 449F3, no intervalo de 25 a 600°C, com utilização de cadinhos de alumínio com massa variada para cada amostra. No equipamento, as amostras foram colocadas em um dos cadinhos de alumínio presentes no equipamento e aquecidas até sua total degradação, tendo sua massa compara em uma balança termogravimétrica presente no equipamento, além da observação do fluxo energético durante o mesmo período. Para tal comparação e feita

a diferença de massa entre um cadinho vazio e o cadinho contendo o analito. As amostras foram inicialmente preparadas e trituradas conforme descrito no item 3.1 e 3.2. Na sequência, foram enviadas aos laboratórios do MackGraphe, para análise.

3.3.4 Caracterização por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IR)

Para a análise pelo espectro, as amostras passaram por processo de transformação em pastilhas de KBr para leitura adequada no aparelho, houve a secagem do KBr com pureza FTIR. Para isso foi usado um cadinho de porcelana em mufla a 600°C por 4h e triturou-se 0,8g de KBr seco e dessecado com 0,2g de amostra seca com auxílio de um gral e pistilo de ágata. Após isso houve a transferência da mistura do pó para a prensagem a frio com uma prensa uni axial gerando a pastilha a ser analisada no Espectrometro Vibracional (figura 3).

Figura 3. Aparelho Espectrometro Vibracional



Fonte: Os autores

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise organoléptica

A caracterização organoléptica é feita através da análise da cor, odor e aspecto que a amostra apresenta. Esse método é simples, mas eficaz para análise das características gerais e macroscópicas do produto obtido (DE SOUZA, 2019).

As dispersões sólidas DSB e DST3 apresentam aspecto de estruturas amorfas de coloração branca a amarelada, com odor levemente adocicado, sendo que essas características possivelmente observadas devido ao uso do polissorbato 80 para ajudar na solubilização do hormônio ao PEG (figura 4).

Figura 4. Amostra de (A) DSB e (B) DST3



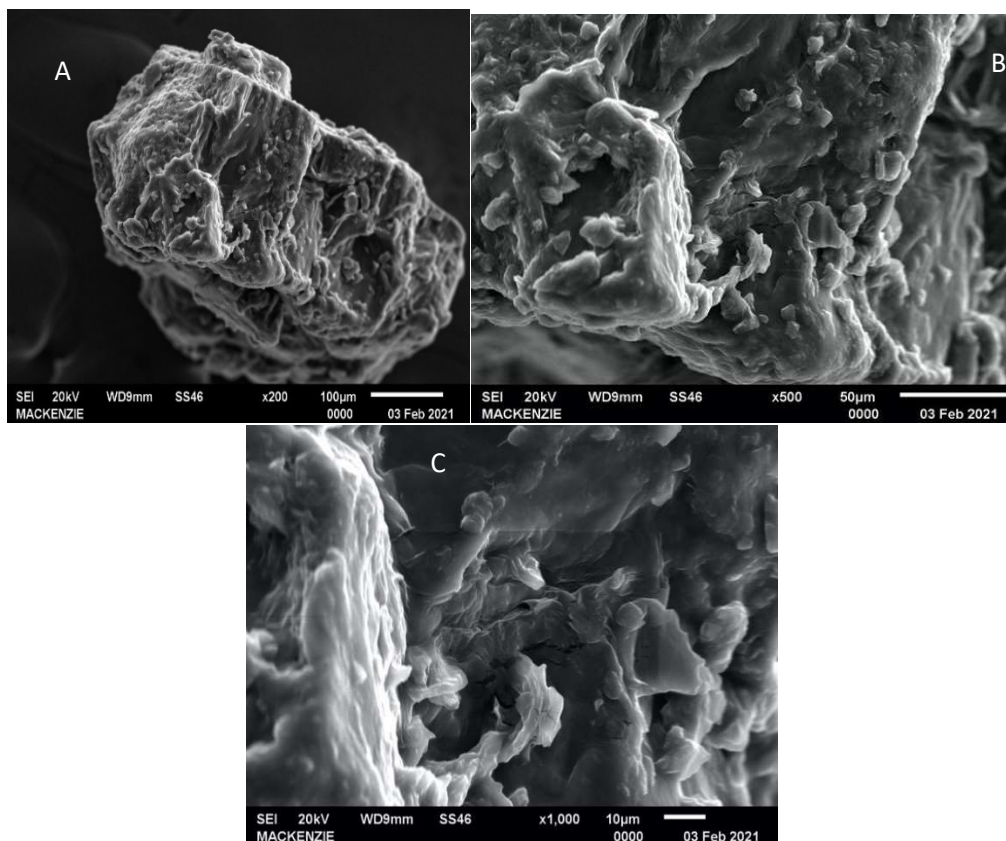
Fonte: Os autores

4.2 Análise da microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A técnica é realizada com auxílio de um microscópio óptico convencional com feixe de elétron, isso ocorre por esse feixe permitir a visualização de partículas menores, o qual é o caso da dispersão sólida que apresenta partículas na faixa de micrometros. A microscopia eletrônica por varredura é essencial pois fornece conhecimento sobre a morfologia tridimensional das partículas (DEDAVID et al, 2007).

A primeira análise conduzida por MEV foi para analisar as características morfológicas do PEG6000. Na qual é possível observar que não há fragmentos na superfície do material e há grânulos espalhados na superfície, o que confere aspecto rugoso ao material, assim como observado nas imagens a seguir (figura 5):

Figura 5. Microscopia eletrônica do PEG 6000 (A) PEG aumento em 200x; (B) PEG aumento em 600x; (C) PEG aumento em 1000x

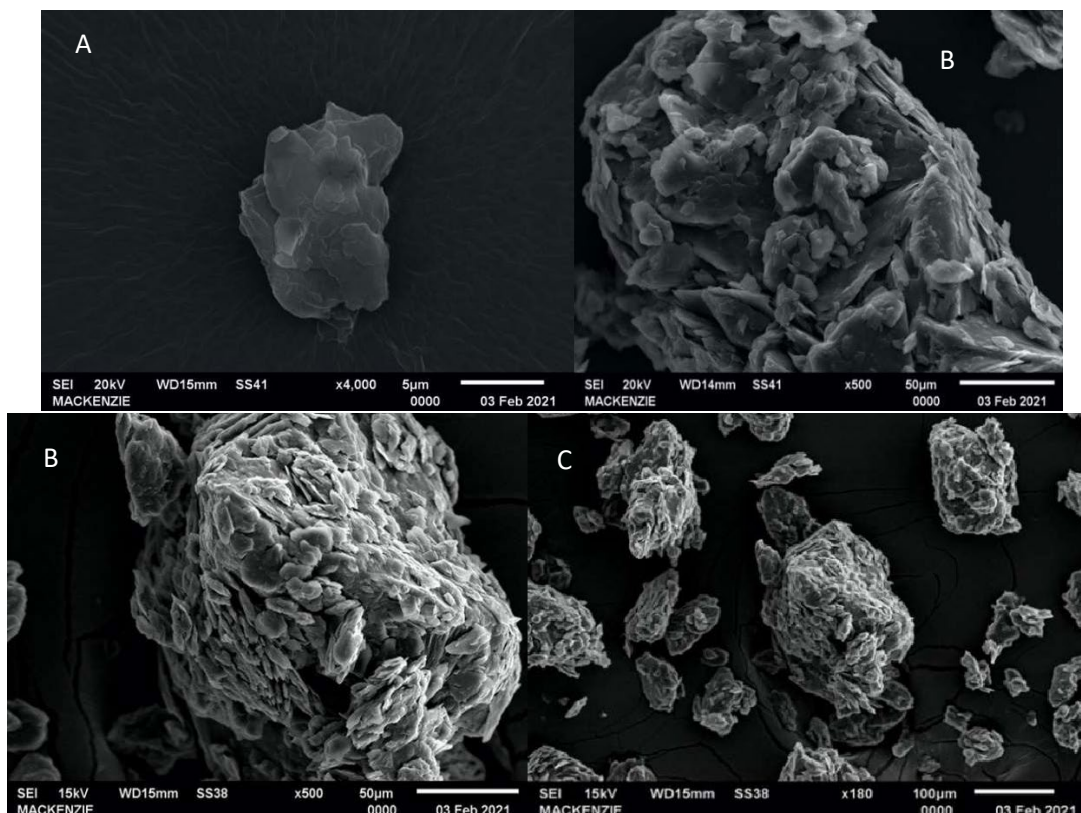


Fonte: Os autores

Após a análise do excipiente microcarreador, presente em maior quantidade na formulação, foi realizada a análise da dispersão sólida branca (DSB). A sequência conduzida foi essa para poder verificar a mudança gerada pelo processo através do método comparativo da amostra de dispersão branca e da amostra de PEG isolado (figura 5).

Ao observar as imagens (figura 6) é possível perceber as diferenças em relação a figura 5, comprovando morfologicamente que houve mudança entre o PEG 6000 isolado e da dispersão sólida branca. É possível observar que há diversas partículas e fragmentos do material, o qual apresenta uma superfície com aspecto escamado gerado por pequenos fragmentos aglomerados. Porém, ao analisar uma partícula isolada é notável a diferença da superfície, a qual se apresenta por aspecto lamelar, formado por fragmentos sobrepostos.

Figura 6. Microscopia eletrônica da DSB (A) DSB aumento em 4000x; (B) DSB aumento em 500x; (C) DSB aumento em 180x.



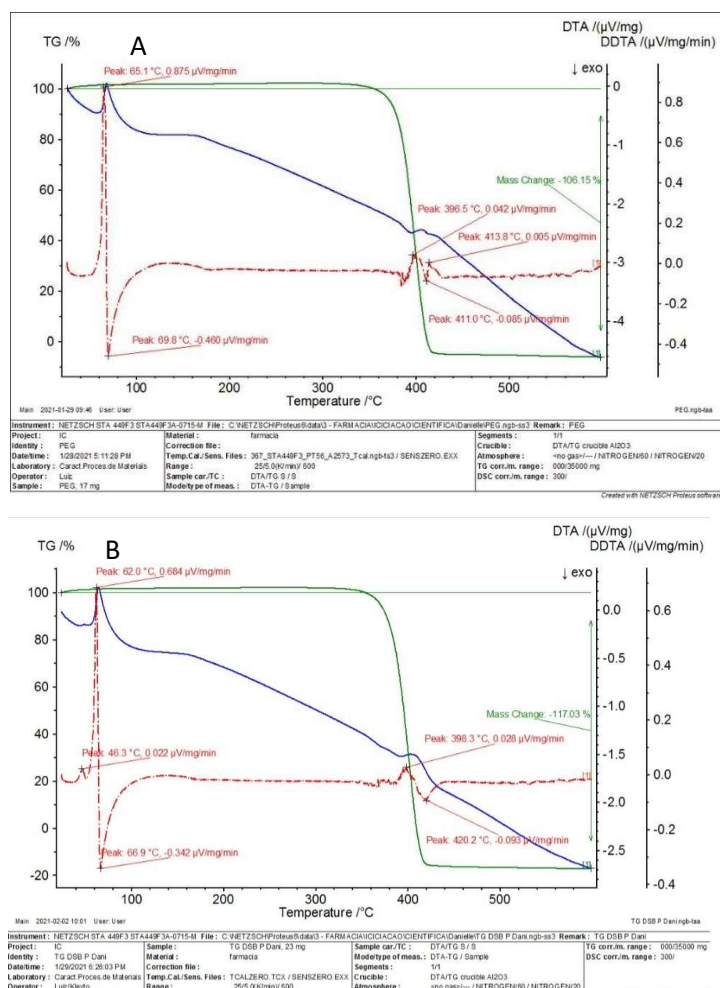
Fonte: Os autores

4.3 Análise da calorimetria diferencial de varredura (DSC) e termogavimetria (TG)

A análise térmica foi conduzida empregando calorimetria diferencial de varredura (DSC) e termogavimetria (TG), técnicas essas conduzidas para avaliação da propriedade física da amostra em função da temperatura, controlando a mudança de temperatura sob uma atmosfera especificada. A DSC é uma técnica derivada da análise térmica diferencial (DTA), logo são técnicas complementares e similares.

A análise foi conduzida primeiramente sobre o PEG 6000 e a DSB por fins comparativos, sendo que a partir da figura 7 é possível observar que a curva de TG (verde) demonstra a estabilidade do PEG 6000 até a 320°C, após essa temperatura ocorre sua degradação total até 420°C, o que demonstra a estabilidade dos componentes da formulação. Na curva de DTA (azul), existe um pico endotérmico que corresponde com o início da análise.

Figura 7. Resultado DSC e TG (A) PEG 6000; (B) DSB



Fonte: Os autores.

4.4 Análise da espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IR)

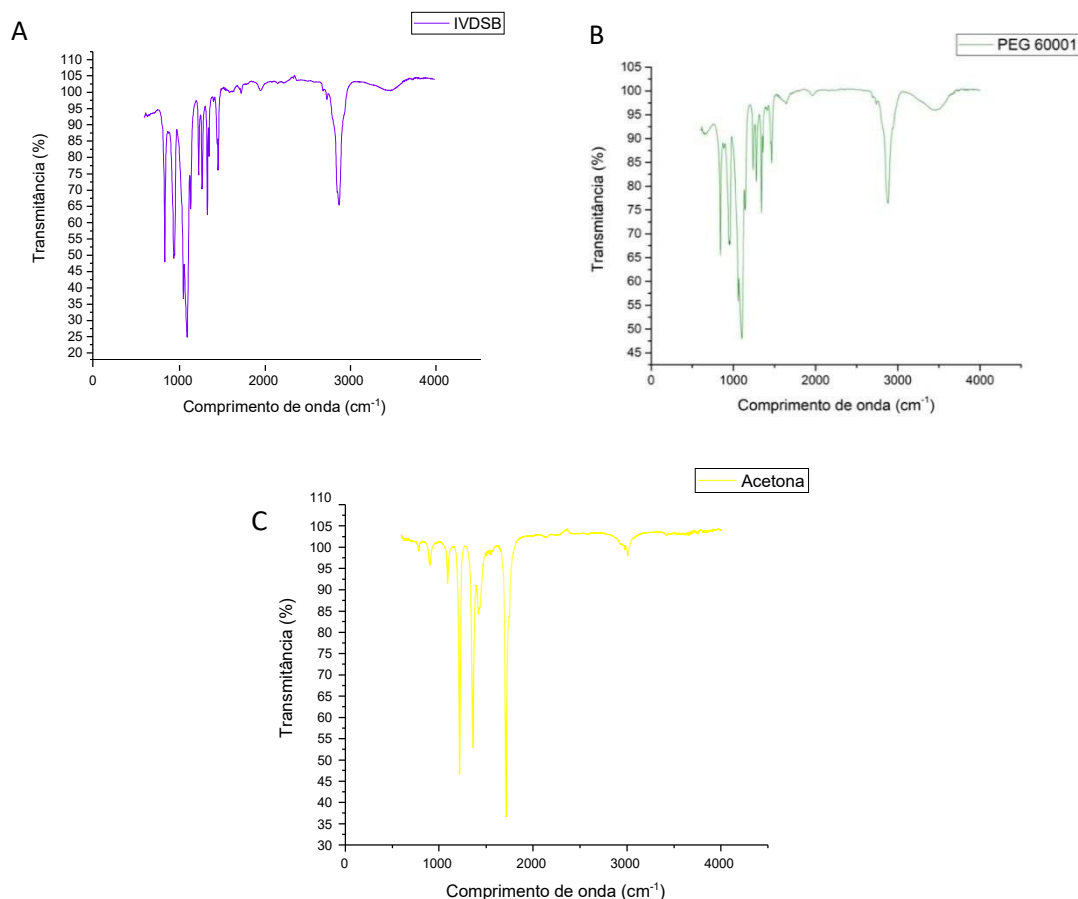
A espectroscopia de absorção na região do infravermelho é uma técnica realizada através da medição da radiação eletromagnética emitida ou absorvida pela amostra analisada, esta análise é feita com auxílio de um espectrômetro para análise físico-química e morfológica das dispersões sólidas DSB e DST3 (LEITE et al, 2012).

A análise foi conduzida através de um aparelho espectrômetro vibracional (figura 6), o qual obtém os resultados de absorção na região do infravermelho da amostra, realizados os estudos na região de 4000 a 500 cm^{-1} em temperatura ambiente. As amostras foram dispostas sobre o acessório de refletância total atenuada horizontal (ATR).

Para a análise da dispersão sólida branca foi feita análise da acetona e PEG6000 separadamente e depois da dispersão sólida branca (IVDSB). Através dos gráficos é possível observar a similaridade entre as curvas entre a IVDSB e do PEG6000 e a não

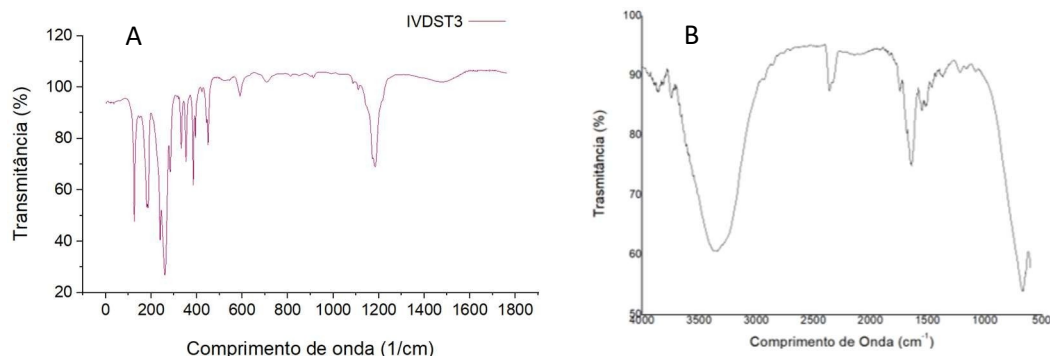
similaridade com o gráfico da acetona, podendo afirmar que a acetona como solvente, não alterou as propriedades de transmitância da amostra, isso é justificado devido a sua alta volatilidade, logo é evaporado pelo processo de rotaevaporação sem deixar resíduos na amostra. Essa análise busca mostrar possíveis alterações presentes nos sistemas da dispersão sólida, mas é possível afirmar pelos gráficos que houve a dispersão correta na dispersão sólida branca e evaporação total da acetona.

Figura 8. Resultado análise IR (A) Análise DSB; (B) Análise PEG 6000; (C) Análise acetona



Fonte: Os autores

A análise foi realizada usando a DST3 e a solução de T3, usada como princípio ativo. As siglas usadas pelo aparelho foram IVDST3 (dispersão sólida com T3), IVS.T3 (solução de T3), para verificar se as microestruturas foram realizadas corretamente. Por método comparativo da figura 8(A) e 9(A) é possível a observação de incorporação do T3 pela dispersão sólida, tendo em vista a similaridade dos gráficos e manutenção de suas funções.

Figura 9. Resultado da IR (A) Análise DST3; (B) Análise solução de T3

Fonte: Os autores

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fármacos que apresentam baixa estabilidade em meios fisiológicos podem se beneficiar de sistemas de liberação de fármacos diferentes, como a dispersão sólida que apresenta microcarreadores, os quais aumentam a estabilidade do fármaco. Esse aumento garante maior efeito terapêutico. Tendo em vista que o hormônio T3 não é usado por ser rapidamente degradado no organismo, essa estratégia é potencialmente importante para o possível uso desse fármaco em medicamentos.

Considerando os objetivos propostos por esse trabalho de desenvolver e caracterizar físico-química e morfológicamente tais amostras, foi possível obter resultados que indicam efetividade em prolongar a estabilidade do princípio ativo. Os resultados obtidos a partir do desenvolvimento e análise da dispersão sólida branca (DSB) indicam estabilidade da base de incorporação do fármaco.

Devido ao período da Pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 o projeto foi realizado, porém por fatores relacionados a saúde pública, o projeto teve limitações relacionadas ao acesso aos laboratórios. Por isso há mais resultados de análise da DSB, por ter sido a primeira parte realizada do projeto o que garantiu a estabilidade da base de incorporação de fármaco. Ainda estamos aguardando o resultado das análises de DSC, TG e MEV da DST3. Entretanto os resultados foram satisfatórios, tendo em vista que o projeto terá continuidade na forma de TCCe sendo complementado com as novas análises, com vistas à publicação em revista científica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENVENGA, S.; CARLÉ, A. Levothyroxine formulations: pharmacological and clinical implications of generic substitution. *Advances in therapy*, v. 36, n. 2, p. 59-71, 2019.
- BIANCO, A. C. et al. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *The Journal of clinical investigation*, v. 116, n. 10, p. 2571-2579, 2006.
- CHAKERA, A. J.; PEARCE, S. HS; VAIDYA, B. Treatment for primary hypothyroidism: current approaches and future possibilities. *Drug design, development and therapy*, v. 6, p. 1, 2012.
- DE AGUIAR, M. M. G. B. Obtenção de gel mucoadesivo de nistatina para o tratamento da candidíase oral. Desenvolvimento e caracterização de dispersões sólidas de nistatina. 2016. Tese de Doutorado. Ph. D. thesis, Universidade de São Paulo.
- DE SOUSA, Thamiris Silva Bezerra et al. Análise dos parâmetros físico-químicos e organolépticos de sabonetes líquidos íntimos. 2019.
- HALL, J. E. Guyton y Hall. Tratado de fisiologia médica. Elsevier Health Sciences, 2011.
- KIM, K. et al. Solid dispersions as a drug delivery system. *Journal of pharmaceutical Investigation*, v. 41, n. 3, p. 125-142, 2011.
- LIRA, V. et al. Preparação e caracterização de dispersões sólidas de deferassirox obtidas por extrusão a quente para aumento da solubilidade. 2019.
- MOHEBATI, A.; SHAHA, A. R. Anatomy of thyroid and parathyroid glands and neurovascular relations. *Clinical Anatomy*, v. 25, n. 1, p. 19-31, 2012.
- MORAES, J. R. Avaliação reológica de nanoemulsões para sistema transdérmico de liberação de fármacos. 2008.
- OLIVEIRA, A. B. et al. O hipotireoidismo sob a ótica farmacêutica generalista. *Visão Acadêmica*, v. 3, n. 2, 2002.
- SOUTO, P. F. C.; LIMA, A. C.; CHAUD, M. V. Avaliação da solubilidade do fluconazol em dispersões sólidas obtidas por técnica de co-precipitação. 6 Amostra Acadêmica UNIMEP (Universidade Metodista de Piracicaba), 2008.
- VINAGRE, A. L. M.; SOUZA, M. V. L. Interferências na absorção de levotiroxina e dificuldades no manuseio de pacientes com hipotireoidismo na unidade de terapia intensiva: relato de dois casos e revisão de literatura. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, Rio de Janeiro, 2010.

Contatos: luizazafanigimenez@gmail.com e marcelo.guimaraes@mackenzie.br