

## Estudo da Estabilidade de Lipossomas Compostos de Fosfatidilcolina de Soja e Fosfatidilcolina de Soja Hidrogenada Adicionados ou Não de Colesterol por Método Turbidimétrico

Marlus CHORILLI <sup>1,2\*</sup>, Thereana Cristina RIMÉRIO <sup>1</sup>,  
Anselmo Gomes de OLIVEIRA <sup>1</sup> & Maria Virgínia SCARPA <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas –  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Departamento de Fármacos e Medicamentos,  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rodovia Araraquara-Jaú, Km 1,  
14801-902, Araraquara – SP, Brasil.

<sup>2</sup> Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba,  
Rodovia do Açúcar, Km 156, 13400-911, Piracicaba – SP, Brasil.

**RESUMO.** Os lipossomas são estruturas compostas por fosfolipídios, como fosfatidilcolina de soja (PC) e fosfatidilcolina de soja hidrogenada (PCH). Dentre os métodos usados para verificação da estabilidade dos lipossomas, o método turbidimétrico tem sido largamente utilizado. O objetivo deste trabalho foi estudar a estabilidade de lipossomas contendo PC ou PCH adicionados ou não de colesterol (CHOL) por método turbidimétrico. Os lipossomas foram estocados a 30 °C durante 90 dias e periodicamente foram realizadas leituras de absorbância por espectrofotometria em 410 nm para verificação de possíveis alterações na turbidez. Verificou-se aumento da turbidez com o decorrer do tempo para lipossomas de PC. Na presença de CHOL maior turbidez foi obtida provavelmente refletindo o aumento no tamanho dos lipossomas. Para lipossomas de PCH a presença de CHOL não afetou a turbidez sugerindo maior estabilidade física das estruturas.

**SUMMARY.** “Study of Liposomes Stability Containing Soy Phosphatidylcholine and Hydrogenated Soy Phosphatidylcholine Adding or Not Cholesterol by Turbidity Method”. Liposomes are structures composed by phospholipids as soy phosphatidylcholine (PC) and hydrogenated soy phosphatidylcholine (PCH). Among the methods used to prove liposomes stability, turbidity method is widely used. The objective of this work was to study the liposomes stability containing PC or PCH with and without cholesterol (CHOL) by turbidity method. Liposomes were stored a 30 °C during 90 days and periodically absorbance readings at 410 nm were made to verify possible turbidity alterations. Increases in the turbidity with time occurred for PC liposomes. In the presence of CHOL higher turbidity was obtained probably reflecting the increase in the size of liposomes. For PCH liposomes the presence of CHOL did not affect the turbidity suggesting higher physical stability of the structures.

### INTRODUÇÃO

Lipossomas podem ser definidos como estruturas esféricas, fechadas, nas quais uma ou várias membranas concêntricas, compostas por moléculas de fosfolipídios, encapsulam uma fase aquosa em seu interior. As moléculas de fosfolipídios, quando em contato com excesso de água, geralmente se agregam espontaneamente para formar bicamadas, que se fecham sobre si mesmas formando estruturas esféricas onde uma ou várias bicamadas fosfolipídicas englobam parte do solvente no seu interior. Seu tamanho pode variar de cerca de 20 nm até algumas dezenas de  $\mu\text{m}$  e a espessura da membrana é de aproximadamente 4-5 nm <sup>1</sup>.

Segundo Mozafari (2005) <sup>2</sup>, os lipossomas podem ser classificados em três principais grupos: a) lipossomas multilamelares (MLV), formados por várias bicamadas concêntricas, intercaladas por compartimentos aquosos, com diâmetro entre 400 a 3.500 nm, b) lipossomas pequenos unilamelares (SUV), que são os menores lipossomas possíveis de serem obtidos, constituídos por apenas uma bicamada como membrana e um pequeno compartimento aquoso, com diâmetro variando de 20 a 50 nm e c) lipossomas grandes unilamelares (LUV), constituídos por apenas uma bicamada, mas com grande cavidade aquosa, apresentando diâmetro entre 200 a 1.000 nm.

**PALAVRAS CHAVE:** Lipossomas, Fosfatidilcolina de soja, Fosfatidilcolina de soja hidrogenada, Turbidez.  
**KEY WORDS:** Liposomes, Hydrogenated soy phosphatidylcholine, Soy phosphatidylcholine, Turbidity.

\* Autor a quem correspondência deve ser enviada: E-mail: chorilli@fcar.unesp.br

Na preparação de lipossomas, as principais matérias-primas utilizadas são os fosfolipídios, principalmente a fosfatidilcolina, e os esteróides, entre eles o colesterol.

A estrutura química geral dos fosfolipídios tem como base uma molécula de glicerol, na qual as hidroxilas das posições 1 e 2 estão esterificadas por ácidos graxos de cadeia longa e a da posição 3 pelo ácido fosfórico (Fig. 1). Um dos oxigênios presentes no ácido fosfórico pode se esterificar com várias moléculas orgânicas, como glicerol, colina, etanolamina, serina, etc, sendo que a região do grupamento fosfato representa a cabeça polar do fosfolipídio <sup>3</sup>.

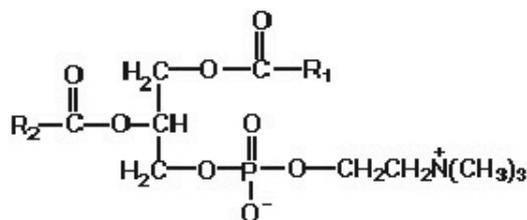


Figura 1. Estrutura química básica das lecitinas.

Lima <sup>4</sup> cita que o fosfolipídio mais abundante em plantas e animais é a fosfatidilcolina (lecitina), a qual representa o principal constituinte estrutural da maioria das membranas biológicas. Esta pode ser extraída da gema de ovo ou do óleo de soja, se diferenciando pela proporção relativa dos ácidos graxos esterificantes, o que vai determinar um maior número de insaturações nas cadeias carbônicas da lecitina de soja <sup>3</sup>.

Com o propósito de aumentar a estabilidade das membranas lipídicas, pode-se empregar fosfatidilcolina de soja hidrogenada (PCH) ou colesterol às formulações lipossomais <sup>5</sup>. Pietzyk & Henschke <sup>5</sup> citam ainda que a PCH é menos susceptível à degradação por oxidação.

Chou *et al.* <sup>6</sup> verificaram o efeito da composição na estabilidade de irinotecan veiculado em lipossomas e concluíram que lipossomas compostos de lipídios com alta temperatura de transição de fase (acima de 60 °C), como PCH, foram mais estáveis que aqueles compostos por lipídios com baixas temperaturas de transição de fase, como a fosfatidilcolina do ovo.

Já o colesterol, cuja estrutura química encontra-se na Fig. 2, é um esteróide encontrado nas membranas animais, podendo ser utilizado na preparação de lipossomas com o objetivo de melhorar as características da bicamada <sup>7</sup>. Fidorra *et al.* <sup>8</sup> menciona que, como o colesterol apresenta propriedades lipofílicas, ele orienta-se na bicamada lipídica entre as moléculas de fosfolipídio com o grupo hidroxila dirigido para a

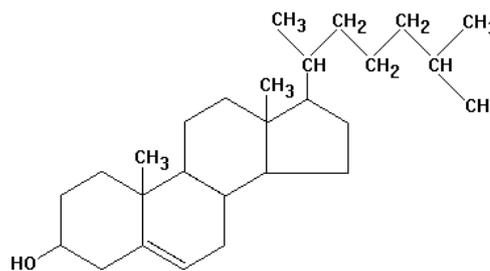


Figura 2. Estrutura química do colesterol.

fase aquosa e o anel tricíclico ancorado entre os carbonos das cadeias graxas, resultando num efeito de empacotamento de moléculas na bicamada <sup>9</sup>. Além disso, o colesterol modula a fluidez da membrana fosfolipídica, reduzindo a permeabilidade através da bicamada e melhorando a estabilidade na presença de fluidos biológicos <sup>3</sup>.

Ao se estudar a estabilidade de lipossomas, deve-se considerar não somente o ambiente biológico com o qual os lipossomas entram em contato e a formulação à qual o lipossoma será veiculado, mas também as características estruturais dos fosfolipídios <sup>4</sup>.

A estabilidade de uma preparação de lipossomas é determinada, em parte, pelos fosfolipídios. Assim, fosfolipídios que contêm duplas ligações são mais sensíveis a peroxidação e, portanto, são mais instáveis <sup>8</sup>.

Brisaert *et al.* <sup>10</sup> atentam para o fato de que a decomposição química dos fosfolipídios (hidrólise ou oxidação) causa instabilidade física das dispersões de lipossomas, visto que os fosfolipídios podem ser hidrolisados a lisofosfolipídios. Os lisofosfolipídios, por sua vez, também estão sujeitos a hidrólise, originando 2-lisofosfolipídio <sup>11</sup>.

Diversos autores relatam que a medida de turbidez e determinação do tamanho dos lipossomas por espalhamento dinâmico de luz (*light scattering*) são técnicas utilizadas para avaliar a estabilidade de lipossomas <sup>12-15</sup>. Alguns autores ao caracterizarem opticamente lipossomas por espalhamento dinâmico de luz e por turbidez concluíram que, embora a turbidez seja um método menos sensível, é superior ao espalhamento dinâmico de luz para o estudo da estabilidade de lipossomas <sup>16</sup>.

Logo, o objetivo desta pesquisa foi estudar a estabilidade de lipossomas compostos de fosfatidilcolina de soja e fosfatidilcolina de soja hidrogenada adicionados ou não de colesterol por método turbidimétrico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção dos lipossomas

Os lipossomas foram preparados em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5  $\mu = 0,1$ . Os anfifílicos estruturais (fosfatidilcolina de soja (PC) e fosfatidilcolina de soja hidrogenada (PCH)) foram empregados nas concentrações de 40 mM e 34 mM e o volume de cada preparação foi de 5 mL. A composição da bicamada lipídica dos lipossomas também incluiu colesterol (CHOL).

A Tabela 1 apresenta as composições dos lipossomas obtidos.

Preparações de lipossomas	PC	PCH	CHOL
1	40 mM	–	–
2	34 mM	–	6 mM
3	–	40 mM	–
4	–	34 mM	6 mM

**Tabela 1.** Composições dos lipossomas obtidos.

### Formação do filme lipídico

Em tubo de sonicação foram pesadas quantidades adequadas de PC ou PCH, adicionados ou não de CHOL, dependendo da composição do lipossoma, os quais foram dissolvidos em clorofórmio. A evaporação do solvente foi realizada sob uma corrente de gás nitrogênio, promovendo a formação de filme lipídico nas paredes do tubo. Para assegurar a total remoção do clorofórmio, o tubo com o filme lipídico permaneceu em dessecador à vácuo por 2 horas.

### Hidratação e dispersão do filme lipídico

Após ser retirado do dessecador, o tubo contendo o filme lipídico foi hidratado com 5 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5,  $\mu = 0,1$  durante 30 min. A dispersão foi agitada em vórtex por 1 min a cada 10 min, até desprendimento total do filme.

### Padronização do monitoramento

#### espectrofotométrico para avaliação da obtenção de lipossomas unilamelares pequenos (SUVs)

Após a hidratação, a dispersão foi sonicada em sonicador Sonicator – Ultrasonic Liquid Processor, Heat Systems – Mod. XL 2020, potência nominal de 400W. O protocolo de obtenção de SUV foi acompanhado por medidas de espalhamento de luz em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm com o objetivo de padronizar o tempo necessário para a formação de SUV. Assim, as amostras foram sonicadas durante um minuto e em seguida lidas em espec-

trofotômetro, repetindo-se tal procedimento até os valores de absorbância tornarem-se constantes, obtendo-se assim um patamar, o qual indica a obtenção de SUV. Devido à presença de resíduos de titânio obtidos pela sonicação, a dispersão de SUV foi submetida à centrifugação a 3500 rpm, utilizando rotor H400 com raio de 14,9 cm (2039 x g), 25 °C, durante 10 min para a remoção dos mesmos.

### Estudo da estabilidade dos lipossomas

#### Avaliação da integridade dos lipossomas através de método turbidimétrico

Adotou-se como protocolo para o estudo o teste de prateleira, também conhecido como estudo de estabilidade de longa duração ou *shelf life*. O estudo para avaliação da integridade dos lipossomas foi realizado por um período de 3 meses, uma vez que os produtos manipulados em farmácias de manipulação com lipossomas geralmente tem prazo de validade em torno deste.

Amostras das diferentes composições de lipossomas foram preparadas por sonicação e adequadamente diluídas em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5  $\mu = 0,1$ . Assim, 200  $\mu$ L da dispersão de lipossomas compostos por PC e 50  $\mu$ L da dispersão de lipossomas contendo PC/CHOL foram adicionados a 2 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5  $\mu = 0,1$ . Para lipossomas compostos por PCH, as diluições foram as seguintes: 500 mL de dispersão de lipossomas compostos por PCH e 100  $\mu$ L de dispersão de lipossomas compostos por PCH/CHOL foram adicionados a 2 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5  $\mu = 0,1$ .

As diferentes composições de lipossomas foram armazenadas em estufa incubadora BOD a 30 °C durante 90 dias, sendo que periodicamente alíquotas eram retiradas e a sua absorbância em 410 nm verificada utilizando espectrofotômetro UV-VIS, Hewlett Packard, Mod. 8453.

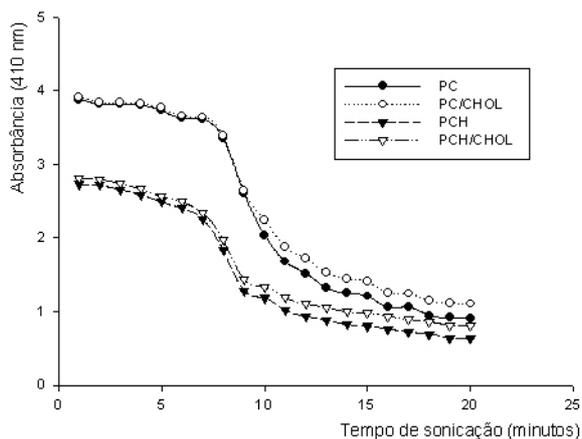
## RESULTADOS

### Obtenção dos lipossomas

#### Padronização do monitoramento

#### espectrofotométrico para avaliação da obtenção de SUVs

A medida espectrofotométrica da absorbância em 410 nm foi utilizada para avaliação da obtenção de SUV após período de sonicação. Os dados obtidos mostraram diminuição da absorbância em função do tempo de sonicação (Fig. 3), indicando que as estruturas de lipossomas formaram-se em aproximadamente 15 min.

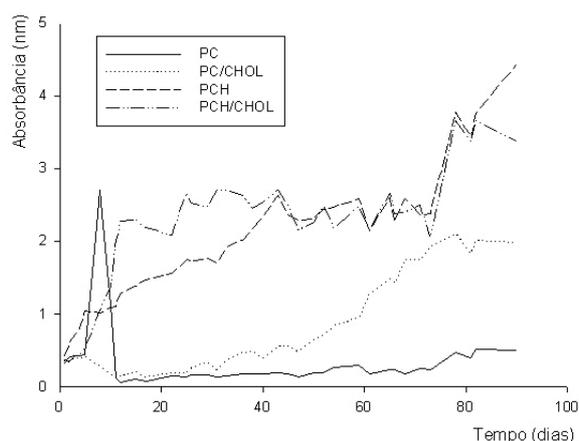


**Figura 3.** Monitoramento espectrofotométrico em 410 nm para avaliação da obtenção de SUV contendo PC 40 mM, PC 34 mM/CHOL 6 mM, PCH 40 mM e PCH 36 mM/CHOL 6 mM após período de sonicação (sonicação com potência nominal de 400W).

**Estudo de estabilidade dos lipossomas**

*Avaliação da integridade dos lipossomas por método turbidimétrico*

A Tabela 2 apresenta os valores de absorbância em 410 nm das amostras de lipossomas constituídos de PC 40 mM; PC 34 mM/CHOL 6 mM; PCH 40 mM e PCH 34 mM/CHOL 6 mM em função do tempo (dias), armazenados a 30 °C durante 90 dias. Já a Fig. 4 avalia a integridade dos lipossomas de PC e PCH acrescidos ou não de CHOL armazenados a 30 °C durante 90 dias em função do tempo (dias),  $\lambda = 410$  nm, utilizando método turbidimétrico.



**Figura 4.** Integridade dos lipossomas de PC e PCH acrescidos ou não de CHOL armazenados a 30 °C durante 90 dias em função do tempo (dias),  $\lambda = 410$  nm, utilizando método turbidimétrico.

Dias	PC	PC/CHOL	PCH	PCH/CHOL
1	0,3684	0,355	0,4286	0,3201
2	0,3601	0,34	0,6079	0,406
3	0,4205	0,4021	0,7203	0,4201
4	0,4211	0,3903	0,8037	0,4527
5	0,4413	0,4137	1,039	0,5202
8	2,7093	0,2732	1,0118	1,0633
10	1,1246	0,1645	1,0873	1,3767
11	0,1239	0,1846	1,1034	1,9479
12	0,0596	0,1457	1,2762	2,2779
15	0,1053	0,2057	1,3865	2,2972
17	0,0767	0,131	1,4654	2,1865
22	0,1478	0,1946	1,5565	2,0841
25	0,1356	0,1883	1,7443	2,6706
26	0,1609	0,2657	1,7249	2,521
29	0,1658	0,3391	1,7581	2,4722
31	0,1336	0,2352	1,6956	2,7003
33	0,1474	0,3743	1,9263	2,6981
36	0,1829	0,4715	2,0193	2,6355
38	0,1702	0,4804	2,1754	2,4514
40	0,1784	0,3915	2,3272	2,5486
43	0,1952	0,5618	2,6381	2,7072
45	0,1734	0,5624	2,3676	2,4947
47	0,1368	0,4793	2,2915	2,1554
50	0,1911	0,6437	2,3106	2,2585
52	0,1885	0,7097	2,4397	2,487
54	0,2603	0,8421	2,4762	2,1761
59	0,2931	0,9567	2,5815	2,4859
61	0,1828	1,2689	2,1512	2,158
65	0,2357	1,4868	2,5966	2,6668
66	0,2411	1,4281	2,2738	2,3858
68	0,1726	1,7452	2,5859	2,4003
71	0,2429	1,7425	2,3631	2,4997
73	0,236	1,9321	2,3877	2,0752
78	0,4754	2,1096	3,7769	3,6529
81	0,3939	1,8336	3,4432	3,3757
82	0,5096	2,0129	3,7577	3,658
90	0,5035	1,9809	4,4356	3,3732

**Tabela 2.** Valores de absorbância em 410 nm das amostras de lipossomas constituídos de PC 40 mM; PC 34 mM/CHOL 6 mM; PCH 40 mM e PCH 34 mM/CHOL 6 mM em função do tempo (dias), armazenados a 30 °C durante 90 dias.

**DISCUSSÃO**

Os lipossomas vêm sendo empregados em terapêutica a mais de 40 anos, apresentando inúmeras vantagens, principalmente relacionadas com a biocompatibilidade, já que os lipossomas apresentam os mesmos constituintes es-

truturais presentes nas membranas biológicas, principalmente os fosfolipídios.

A concentração de fosfolipídios interfere diretamente na encapsulação de substâncias ativas lipofílicas<sup>17</sup>. As concentrações de fosfatidilcolina empregadas neste estudo foram de 30 mg/mL ou de 25,5 mg/mL, sendo utilizadas fosfatidilcolina de soja (PC) e fosfatidilcolina de soja hidrogenada (PCH). Normalmente, utiliza-se concentrações na faixa de 1 a 100 mg/mL, sendo suficiente concentrações entre 10 e 50 mg/mL<sup>18</sup>.

Inicialmente, foram realizados ensaios de padronização do monitoramento espectrofotométrico em 410 nm para avaliação da obtenção de SUVs. O comprimento de onda de 410 nm foi escolhido, pois permite observar o espalhamento de luz. Os fosfolipídios não exibem picos de absorção específicos, porém devido à presença de insaturações e de grupos funcionais como carboxila e fosfato, há uma absorção razoável na região de comprimento de onda entre 203-214 nm. Como esta região é crítica, pois muitas substâncias são absorvidas nesta faixa, optou-se por acompanhar o espalhamento de luz<sup>17</sup>.

Desse modo, a Fig. 3 representa o acompanhamento por espectrofotometria da absorbância em 410 nm para avaliação da obtenção de SUV constituídos por PC, PC/CHOL, PCH, PCH/CHOL à medida que a dispersão lipídica foi submetida ao ultra-som.

Vários trabalhos relatam medidas de turbidez como uma maneira paralela de obter informações sobre o comportamento dos fosfolipídios nas dispersões<sup>16,17,20</sup>.

Pela Fig. 3, observa-se que a adição de 15% de CHOL aos lipossomas não acarretou profundas alterações no tempo de formação dos lipossomas. Tal resultado corrobora os de Lima<sup>4</sup>, que não observou alteração do perfil de formação dos lipossomas ao adicionar 5 e 15% de CHOL. Todavia, ao adicionar 25% de CHOL, observou-se aumento no tempo de formação dos lipossomas.

Os fosfolipídios e CHOL são os principais componentes das bicamadas lipídicas das membranas celulares, sendo que o CHOL é um dos principais moduladores das propriedades físicas das membranas. A proporção entre estes componentes e o nível de insaturação dos fosfolipídios determina o estado físico da membrana com relação à sua organização e dinâmica<sup>4</sup>.

Para Lee *et al.*<sup>21</sup>, a incorporação de CHOL à bicamada dos lipossomas proporciona uma influência positiva na sua estabilidade, exercendo

um maior empacotamento das moléculas fosfolipídicas, aumentando significativamente a temperatura de transição de fase e induzindo à formação de uma estrutura organizada, mais rígida e com menor mobilidade.

Assim, uma molécula de CHOL interage com duas moléculas de fosfolipídios, impedindo que estas sofram a transição da fase gel para líquido cristalino. Além disso, tais autores afirmam que nas membranas ricas em colesterol, as moléculas de CHOL estão distribuídas em ambas as monocamadas, entre os fosfolipídios, em um empacotamento bastante fechado, deixando praticamente nenhum volume livre, sendo que quando a concentração de CHOL supera 15 mol % ocorre uma diminuição na permeabilidade da bicamada à água<sup>22</sup>.

Em relação aos estudos de estabilidade, Gabriels & Plaizier-Vercammen<sup>23</sup> afirmam que os lipossomas constituem sistema inerentemente estável, desde que não submetidos a condições extremas. Segundo tais autores, lipossomas constituídos por PC não apresentaram degradação química após 6 meses em pH 7,4 a 22 °C, ao abrigo do oxigênio e da luz.

Logo, a avaliação da integridade dos lipossomas é importante e dentre os métodos utilizados tem-se o turbidimétrico. Assim, lipossomas foram mantidos em estufa incubadora BOD a 30 °C durante 90 dias e periodicamente a absorbância foi verificada. Vários trabalhos utilizando os valores de absorbância para verificar a estabilidade de lipossomas são citados, acompanhando as mudanças na preparação de lipossomas também por medidas de absorbância ao espectrofotômetro<sup>24</sup>.

Segundo a literatura, dentre os parâmetros mais importantes na caracterização de lipossomas tem-se a aparência visual e a turbidez<sup>25</sup>. Diversos autores relatam que a medida da turbidez e a determinação do tamanho dos lipossomas por espalhamento dinâmico de luz (*light scattering*) são técnicas utilizadas para avaliar a estabilidade de lipossomas<sup>12-15</sup>. Para Matsuzaki *et al.*<sup>16</sup>, a turbidez, embora seja um método menos sensível, é superior ao espalhamento dinâmico de luz para o estudo de estabilidade dos lipossomas.

Logo, alterações na turbidez das preparações de lipossomas podem ser devidas a alterações no tamanho (diâmetro) dos mesmos<sup>26,27</sup>. Também, o aumento de turbidez pode estar relacionado à agregação e/ou fusão de vesículas pequenas sonificadas. Isto nos permite correlacionar

diretamente a turidez com o diâmetro dos lipossomas na dispersão, independente do fenômeno envolvido <sup>28</sup>.

A Tabela 2 apresenta os valores de absorvância em 410 nm das amostras de lipossomas constituídos de PC 40 mM e PC 34 mM/CHOL 6 mM em função do tempo (dias), armazenados a 30 °C durante 90 dias. Já a figura 4 apresenta a avaliação da integridade das amostras de lipossomas de PC armazenados a 30 °C durante 90 dias em função do tempo (dias) por método turbidimétrico em  $\lambda = 410$  nm.

Observou-se pela Fig. 4, inicialmente, um aumento da turbidez para os lipossomas constituídos por PC. Com o passar dos dias, verificou-se diminuição da absorvância até se atingir praticamente um patamar. Tal perfil de turbidez praticamente indica ruptura dos lipossomas. Há de se salientar que os lipossomas constituídos por PC, por conterem duplas ligações, são mais sensíveis a peroxidação e, portanto, mais instáveis <sup>8</sup>.

Para os lipossomas constituídos por PC/CHOL, não se observou aumento inicial da turbidez, mas um aumento gradual da mesma (Tabela 2). Tal resultado pode estar relacionado à presença do CHOL. Lee *et al.* <sup>21</sup> verificaram que a incorporação de CHOL à bicamada dos lipossomas proporciona uma influência positiva na sua estabilidade, exercendo um maior empacotamento das moléculas fosfolipídicas e induzindo à formação de uma estrutura organizada, mais rígida e com menor mobilidade. Isso parece indicar que lipossomas acrescidos de CHOL são mais estáveis <sup>21</sup>. O aumento da turbidez pode estar relacionado, então, a agregação e/ou fusão de vesículas pequenas sonicadas como citado anteriormente.

A Tabela 2 apresenta também os valores de absorvância em 410 nm das amostras de lipossomas constituídos de PCH 40 mM e PCH 34 mM/CHOL 6 mM em função do tempo (dias), armazenados a 30 °C durante 90 dias. A Figura

4 avalia também a integridade dos lipossomas de PCH armazenados a 30 °C durante 90 dias em função do tempo (dias),  $\lambda = 410$  nm, utilizando método turbidimétrico.

Observou-se, pela Fig. 4, aumento gradual da turbidez para todas as composições de lipossomas. Todavia, esse aumento foi menos evidente nas amostras acrescidas de CHOL. Talvez isto tenha ocorrido justamente pelo fator da menor mobilidade proporcionada pelo CHOL na bicamada <sup>21</sup>. Outro ponto interessante é que não houve aumento inicial da turbidez com posterior queda como para os lipossomas compostos por PC. Isso indica, provavelmente, maior estabilidade deste fosfolipídio. Pietzyk & Henschke <sup>5</sup> citam que a PCH é menos susceptível à degradação por oxidação. Além disso, Chou *et al.* <sup>6</sup> verificaram o efeito da composição na estabilidade de irinotecan encapsulado em lipossomas e concluíram que lipossomas compostos de lipídios com alta temperatura de transição de fase (acima de 60 °C), como PCH, foram mais estáveis que aqueles compostos por lipídios com baixas temperaturas de transição de fase, como a fosfatidilcolina do ovo.

## CONCLUSÕES

Diante das condições experimentais, pode-se concluir que: a padronização do monitoramento espectrofotométrico em 410 nm mostrou-se um método eficaz para avaliação da obtenção de SUVs; a presença de CHOL na concentração de 15% não alterou o perfil de formação dos lipossomas; o método turbidimétrico mostrou adequado para avaliação da estabilidade dos lipossomas; lipossomas constituídos por PCH apresentaram-se mais estáveis que lipossomas constituídos por PC; a adição de CHOL em lipossomas compostos por PC e PCH aumentou a estabilidade dos mesmos.

**Agradecimentos.** Agradecemos a CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Benson, H.A. (2005) *Curr. Drug Deliv.* **2**: 23-33.
2. Mozafari, M.R. (2005) *Cell. Mol. Biol. Lett.* **10**: 711-9.
3. Parks, E.J. & M.K. Hellerstein (2006) *J. Lipid Res.* **47**: 1651-60.
4. Lima, E.M. (1998) "Estudo da encapsulação do diclofenaco em lipossomas unilamelares e ava-

- liação da toxicidade tissular após administração intramuscular". Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, pág. 118.
5. Pietzyk, B. & K. Henschke (2000) *Int. J. Pharm.* **196**: 215-8.
6. Chou, T.H., S.C. Chen & I.M. Chu (2003) *J. Biosci. Bioeng.* **95**: 405-8.
7. Lehninger, A., D. Nelson & M. Cox (2000)

- "Princípios de Bioquímica". 2. ed. Ed. Sarvier, São Paulo, págs.356-8.
8. Fidorra, M., L. Duelund, C. Leidy, A.C. Simonsen & L.A. Bagatolli (2006) *Biophys. J.* **90**: 4437-51.
  9. Hashida, M., S. Kawakami & F. Yamashita (2005) *Cbem. Farm. Bull.* **53**: 871-80.
  10. Brisaert, M., M. Gabriels, V. Matthijs & J. Plaizier-Vercammen (2001) *J. Pharm. Biomed. Anal.* **26**: 909-17.
  11. Miguel, I., A. Roueche & D. Betheder (1999) *J. Chromatogr. A* **840**: 31-8.
  12. Khlebtsov, B.N., L.A. Kovler, V.A. Bogatyrev, N.G. Khlebtsov & S.Y. Shchyogolev (2003) *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* **79-80**: 825-38.
  13. Nacka, F., M. Cansell, J.P. Gouygou, C. Gerbeaud, P. Méléard & B. Entressangles (2001) *Colloid Surfaces B* **20**: 257-66.
  14. Sivakumar, P.A. & K.P. Rao (2001) *React. Funct. Polym.* **49**: 179-87.
  15. Mobed, M. & T.M.S. Chang (1998) *Biomaterials* **19**: 1167-77.
  16. Matsuzaki, K., O. Murase, K. Sugishita, S. Yoneyama, K. Akada, M. Ueha, A. Nakamura & S. Kobayashi (2000) *Biochim. Biophys. Acta* **146**: 219-26.
  17. Hao, Y.L., Y.J. Deng, Y. Chen, X.M. Wang, H.J. Zhong & X.B. Suo (2005) *Arch. Pharm. Res.* **28**: 626-35.
  18. Maestrelli, F., M.L. Gonzalez-Rodrigues, A.M. Tabasco & P. Mura (2006) *Int. J. Pharm.* **312**: 53-60.
  19. Hax, W.M.A. & W.S.M.G. Van Kessel (1977) *J. Chromatogr.* **142**: 735-41.
  20. Zuidam, N.J. & D.J.A. Crommelin (1995) *Int. J. Pharm.* **126**: 209-17.
  21. Lee, S.C., K.E. Lee, J.J. Kim & S.H. Lim (2005) *J. Liposome Res.* **15**: 157-66.
  22. Tirosh, O., R. Kohen, J. Katzhendler, A. Alon & Y. Barenholz (1997) *Cbem. Phys. Lipids* **87**: 17-22.
  23. Gabriels, M. & J. Plaizier-Vercammen (2003) *J. Pharm. Biomed. Anal.* **31**: 655-67.
  24. Paternostre, M.T., M. Roux & J.L. Rigaud (1988) *Biochemistry* **27**: 2668-77.
  25. Lasic, D.D (1997) *J. Control. Release* **48**: 203-22.
  26. Maza, A. & J.L. Parra (1996) *Biochim. Biophys. Acta* **1300**: 125-34.
  27. Maza, A. & J.L. Parra (1994) *Biochem. J.* **303**: 907-14.
  28. Komatsu, H. & S. Okada (1995) *Biochim. Biophys. Acta* **1235**: 270-80.