



AValiação DA INTERAÇÃO LIPOSSOMAS-TENSOATIVOS PELA TÉCNICA DE ESPALHAMENTO DE LUZ

FERREIRA, Fabrícia Saba¹; ALVES, Carina Pimentel Itapema²; LIMA, Eliana Martins³.

Palavras-Chaves: Lipossomas, Tensoativos, Solubilização.

1. INTRODUÇÃO

Lipossomas são estruturas esféricas, em que uma fase aquosa é totalmente cercada por uma ou mais bicamadas de fosfolipídeos em forma de vesículas, sendo amplamente utilizadas como modelo simplificado de membranas proporcionando a encapsulação de substâncias ativas hidrofílicas e lipofílicas. (Gregoriads,1995; Lasic, 1989; Chorilli et al, 2004). Tensoativos são moléculas anfifílicas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. A porção apolar é freqüentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a porção polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica ou anfotérica (Nitschke M. et al, 2002). A solubilização de bicamadas lipídicas por tensoativos promove um desarranjo na estrutura lamelar sendo acompanhada por mudanças morfológicas na bicamada e surgimento de micelas mistas. Diferentes estruturas intermediárias podem ser formadas durante a solubilização das vesículas lipídicas, o que está relacionado a uma série de fatores, tais como, tipo de tensoativo, concentração do tensoativo e condições experimentais (temperatura, pH e força iônica) (Lasch, J., 1995). Muitas técnicas têm sido empregadas para o acompanhamento das estruturas intermediárias formadas na interação tensoativo - vesícula lipídica, como microscopia eletrônica, espectroscopia, ressonância nuclear magnética entre outros. Neste estudo foi utilizada a técnica de espalhamento de luz dinâmica, uma técnica não invasiva, que permite a análise da distribuição e medida do tamanho das vesículas formadas neste processo de interação (Pecora, 1985; Kaszuba, 2004). Este trabalho teve como objetivo realizar um estudo comparativo do comportamento dos lipossomas frente a tensoativos com propriedades e concentrações diferentes e também em relação ao tempo de exposição das vesículas lipídicas aos tensoativos.

2. METODOLOGIA

A preparação de lipossomas foi realizada a partir do método de injeção de clorofórmio (IC) utilizando-se fosfatidilcolina (Epikuron 200) na concentração de 10mM, resultando em vesículas unilamelares grandes (LUVs), que após 10 minutos de sonicação em processador ultrassônico Misonix XL2020 se apresentaram como

vesículas unilamelares pequenas (SUVs). O tamanho das vesículas foi determinado empregando a técnica de espalhamento de luz, em equipamento ZetaSizer Nano (Malvern Instruments, UK). Na análise foi obtido o *Z-average*, que corresponde ao diâmetro aproximado dos lipossomas. A distribuição das populações lipossomais foi caracterizada utilizando o índice de polidispersibilidade, o qual é medido pela extensão da distribuição do tamanho das vesículas [Muller, M. et al, 2004]. Após determinar o tamanho das vesículas obtidas, dividiu-se a preparação em tubos de ensaio para que cada amostra fosse submetida ao tratamento com soluções de diferentes tensoativos em várias concentrações (1mM; 2mM; 5mM; 10mM; 20mM; 30mM; 40mM; 50mM; 60mM; 70mM; 80mM; 90mM; 100mM). Os tensoativos estudados foram o lauril sulfato de sódio, um tensoativo aniônico, o cloreto de cetil trimetil amônio, tensoativo catiônico e ainda Tween 80, Tween 20 e Triton X 100, tensoativos não aniônicos. A medida do tamanho foi realizada logo após a adição do tensoativo e repetida após decorridas 02 e 24 horas, a fim de verificar qualquer alteração das estruturas em decorrência do tempo de interação lipídeo - tensoativo.

3.RESULTADO

O comportamento das vesículas variou frente a tensoativos adicionados às amostras, com propriedades e concentrações diferentes. Este processo está diretamente relacionado às modificações na estrutura da bicamada e surgimento de micelas mistas decorrentes da interação lipídeo - tensoativo. Quando as vesículas foram tratadas com Lauril Sulfato de Sódio, observou-se aumento de tamanho até as concentrações de 50 mM, e a partir de 60mM houve o aparecimento das micelas mistas cilíndricas, cuja média do diâmetro na análise foi de 202,3 nm. O comportamento após adição do cloreto de cetil trimetil amônio foi semelhante ao Lauril Sulfato de Sódio. Já o tensoativo não iônico, Triton X 100, resultou em um diferente comportamento da bicamada. Até as concentrações de 10mM houve aumento da bicamada lipídica e a partir de 20mM observou-se o predomínio de micelas no sistema. O Tween 20 resultou em comportamento semelhante ao Triton X 100, mas as estruturas aumentaram de tamanho até as concentrações de 50mM e as micelas começaram a surgir a partir de 60mM. Já o Tween 80, não resultou em comportamento como observado para os outros tensoativos não iônicos, uma vez que não foi observada a formação de micelas, tendo as vesículas apenas aumentando de tamanho com o aumento da concentração do tensoativo até 10 vezes a concentração do fosfolipídeo estrutural dos lipossomas. O tempo de interação tensoativo-vesículas lipídicas, promoveu mudanças nas estruturas das vesículas. Após 2 horas da adição do tensoativo observou-se o aparecimento de micelas na maior parte das amostras evidenciando uma desestabilização das bicamadas lipídicas. Após 24 horas da adição do tensoativo, houve a predominância de micelas em todas as amostras nas quais o tensoativo estava em concentrações acima que 50mM.

4.CONCLUSÃO

A técnica de espalhamento de luz utilizada apresenta-se eficiente e simples para o estudo da interação lipídio – tensoativo, permitindo concluir que o tensoativo não iônico Triton X 100 apresenta uma melhor capacidade de solubilização das vesículas lipídicas, seguido do Tween 20, cloreto de cetil trimetil amônio, lauril Sulfato de sódio e tween 80. Observou-se ainda que o tempo de exposição lipossoma-tensoativo é fator que contribui para a desestabilização das vesículas lipossomais.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMGREN, M. Mixed micelles and other structures in the solubilization of bilayer lipid membranes by surfactants. *Biochim Biophys*, v.1508, p.146-163, 2000.

CHORILLI, M, et al. Lipossomas em formulações dermocosméticas. *Infarma*. V.16, p. 73-77, 2004.

EDWARDS, K.; ALMGREN, M.J. *Colloid Interface Sci*, v.147, p.1-21, 1991.

GREGORIADIS, G. Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems.

Tibtech December, v.13, p.527-537, 1995.

KASZUBA, M. et al . High concentration particle size measurements using dynamic light scattering. *LabPlus international* ,2004.

LASCH, J. Interaction of detergents with lipid vesicles. *Biochim Biophys*, v.1241 p.269-292, 1995.

LASIC, D, D. Liposome. *Farm Vestn*, v.40, p.197-208, 1989.

LICHTENBERG, D., et al. *Biochim Biophys*, v.737, p.285-304, 1983.

MAZA, A., et al. Solubilization of phosphatidylcholine liposomes by the amphoteric surfactant dodecyl betaine. *Chemistry and Physics of Lipids*. v.94, p. 71-79, 1998.

MÜLLER, M.; MACKEBEN, S.; MÜLLER-GOYMANN, C. C.. Physicochemical characterisation of liposomes with encapsulated local anaesthetics. *Int. J. Pharm*, v. 274, p.139-148, 2004.

NITSCHKE, M. E Al. Biossurfactantes: Propriedades E Aplicações. *Quimica Nova* v.25, nº 5, 2002.

PECORA R. Dynamic Light Scattering: Applications of Photon Correlation Spectroscopy. *Plenum Press*, 1985;

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/ITI, FINEP, FUNAPE

¹ Bolsista de iniciação científica. Faculdade de Farmácia- FARMATEC - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, sabafab@gmail.com Faculdade de Farmácia - UFG

² Aluna de Pós-graduação, carinaitapema@gmail.com

³ Orientadora / Faculdade de Farmácia / UFG, emlima@farmacia.ufg.br