

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE – CES

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

DANILO ANDRADE LIMA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE GÉIS APÓS INCORPORAÇÃO DE
LIPOSSOMAS DESENVOLVIDOS À BASE DE LECITINA E COLESTEROL**

CUITÉ - PB

2014

DANILO ANDRADE LIMA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE GÉIS APÓS INCORPORAÇÃO DE
LIPOSSOMAS DESENVOLVIDOS À BASE DE LECITINA E COLESTEROL**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CES, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Juliana de Souza Alencar Falcão

CUITÉ - PB

2014

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

D732a Lima, Danilo Andrade.

Avaliação da estabilidade de géis após incorporação de lipossomas desenvolvidos à base de lecitina e colesterol. / Danilo Andrade Lima. – Cuité: CES, 2014.

66 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientadora: Juliana de Souza Alencar Falcão.

1. Gel. 2. Amido da jaca. 3. Natrosol®. 4. Estabilidade – lipossomas. I. Título.

CDU 615.4

DANILO ANDRADE LIMA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE GÉIS APÓS INCORPORAÇÃO DE
LIPOSSOMAS DESENVOLVIDOS À BASE DE LECITINA E COLESTEROL**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CES, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Juliana de Souza Alencar Falcão (Orientadora)

Prof. Dr. Marciano Henrique Lucena Neto

Prof. Dr. Toshiyuki Nagashima Júnior

Dedico este trabalho à minha família, principalmente aos meus pais, João Ferreira Lima e Maria José Andrade Lima, que me apoiaram em todos os momentos da vida, deram incentivo para eu seguir em frente e nunca mediram esforços para me ajudar.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que eu nada conseguiria sem a fé que tenho nele.

Aos meus pais e minha família, que com todo apoio e orgulho me possibilitaram chegar até este ponto de minha vida.

À minha orientadora Juliana de Souza Alencar Falcão, pelo compromisso com a orientação, pelo incentivo, e pela oportunidade de poder realizar este trabalho.

À Maria da Glória Batista, pela ajuda no desenvolvimento das pesquisas.

À todos os professores do curso, que muito colaboraram em minha vida acadêmica.

Aos demais amigos e colegas que estiveram comigo nesses últimos anos.

“A mais profunda raiz do fracasso em nossas vidas é pensar, ‘Como sou inútil e fraco’. É essencial pensar poderosa e firmemente, ‘Eu consigo’, sem ostentação ou preocupação.”

Dalai Lama.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade de diferentes géis após incorporação de lipossomas. Géis são sistemas semissólidos que consistem em dispersões de moléculas em um veículo líquido aquoso que adquire consistência semelhante às geleias pela adição de um agente gelificante. Lipossomas podem ser definidos como sistemas lipídicos dispersos constituídos frequentemente por fosfolipídios os quais em meio aquoso se organizam espontaneamente em bicamadas formando vesículas esféricas. Devido sua composição, os lipossomas são altamente instáveis. O seu armazenamento na forma de suspensão aquosa é muitas vezes incompatível com a estabilidade requerida para produtos farmacêuticos. Estudos mostram que a incorporação de lipossomas em géis pode fazê-los permanecer estáveis por até 2 anos. Diante disto, foram avaliados géis de amido (de milho e da semente de jaca) e gel de natrosol[®], incorporados por formulações lipossômicas constituídas de lecitina e colesterol. Foi realizada a extração do amido da semente de jaca, que apresentou um rendimento de 10,51% p/p, e a extração da lecitina do ovo de galinha, que resultou na obtenção de um produto líquido, viscoso e de cor amarela, utilizado para produção dos lipossomas. Os lipossomas MLVs formados apenas por lecitina apresentaram valores de absorvância menores que os lipossomas formados por lecitina e colesterol. Foram realizados os estudos de estabilidade preliminar e acelerado, onde se avaliou as características macroscópicas, pH e viscosidade. Após o estudo de estabilidade preliminar observou-se que as amostras não incorporadas em géis sofreram fenômeno de cremagem. As formulações incorporadas em géis de amido mostraram-se instáveis devido ter ocorrido o fenômeno de sinérese (perda de água); o gel de natrosol[®] mostrou-se estável por não apresentar alterações. Todos apresentaram variação do pH. Quanto ao estudo de estabilidade acelerada, após 48 h foi possível observar ocorrência de cremagem nas amostras de lipossomas que não foram incorporadas em géis. Em 7 dias foi possível observar que os géis formados por amido foram instáveis pela ocorrência da sinérese e deformação do gel. O gel de natrosol[®] só se mostrou instável em 15 dias, quando sua viscosidade diminuiu e o gel se desestruturou. Em todas as formulações incorporadas em gel não se observou o fenômeno de cremagem ou coalescência das vesículas lipídicas, indicando que embora instáveis após 15 dias, todos impediram que estes fenômenos ocorressem. O gel de natrosol[®] foi o mais estável dentre os géis estudados.

Palavras-chave: Gel. Amido da jaca. Natrosol[®]. Estabilidade. Lipossomas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the stability of different gels after incorporation of liposomes. Gels are semisolid systems consisting of dispersions of molecules in an aqueous liquid vehicle that acquires the gel like consistency by the addition of a gelling agent. Liposomes may be defined as dispersed lipid systems often consist of phospholipids in aqueous media which are organized spontaneously form bilayered spherical vesicles. Due to its composition, the liposomes are highly unstable. The storage in the form of an aqueous suspension is often incompatible with the stability required for pharmaceutical products. Studies show that the incorporation of liposome gels can make them remain stable for up to 2 years. Given this, starch gels (corn and jackfruit seeds) and natrosol[®] gel, incorporated by liposomal formulations composed of lecithin and cholesterol were assessed. The extraction of starch from jackfruit seeds, which showed a yield of 10.51 % w/w, and the extraction of lecithin from egg to chicken, which resulted in obtaining a liquid, viscous yellow product was performed, used to production of the liposomes. The MLVs lecithin liposomes formed only showed values lower than liposomes comprised of lecithin and cholesterol absorbance. Preliminary studies and accelerated stability, which evaluated the macroscopic characteristics, pH and viscosity were performed. After the preliminary stability study it was observed that the samples suffered not incorporated in gels creaming phenomenon. The formulations incorporated in starch gels proved to be unstable due to have occurred the phenomenon of syneresis (water loss); natrosol[®] gel was stable not to submit changes. All showed varying pH. As for the accelerated stability, study after 48 h was observed in the occurrence of creaming liposome samples were not incorporated in gels. Within 7 days we observed that the gels formed by starch were unstable by the occurrence of syneresis and deformation of the gel. The gel natrosol[®] only were unstable in 15 days, when its viscosity decreased and the gel is disrupted. In all embedded in gel formulations was not observed the phenomenon of creaming or coalescence of lipid vesicles, indicating that although unstable after 15 days, prevented all these phenomena occur. The gel Natrosol[®] was the most stable among the studied gels.

Keywords: Gel. Starch from jackfruit. Natrosol[®]. Stability. Liposomes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura molecular do Hidroxietilcelulose	19
Figura 2 - Representação dos vários tipos de lipossomas: Lipossomas unilamelares pequenos (SUV); Lipossomas unilamelares grandes (LUV); Lipossomas oligolamelares grandes (LOV); Lipossomas multilamelares (MLV); Lipossomas multivesiculares (MVL); Lipossomas oligolamelares gigantes (GOV) e Lipossomas unilamelares gigantes (GUV)	23
Figura 3 - Comportamento de fase das membranas lipídicas e efeito do colesterol	24
Figura 4 - Representações esquemáticas, fórmula estrutural e arranjo espacial da lecitina	26
Figura 5 - Fórmula estrutural e arranjo espacial da molécula de colesterol	27
Figura 6 - Representação esquemática das metodologias de preparação de vesículas multilamelares (MLV), vesículas unilamelares pequenas (SUV) e vesículas unilamelares grandes	28
Figura 7 - Representação da formação de lipossomas pelo método de hidratação do filme lipídico	29
Figura 8 – Processo de extração do amido da semente de jaca	38
Figura 9 – Processo de extração da lecitina da gema do ovo de galinha	39
Figura 10 – Lecitina extraída da gema do ovo	47
Figura 11 - Formulações F1 e F2. (A) F1 logo após preparo; (B) F1 após os ciclos gelo-degelo; (C) F2 logo após preparo e (D) F2 após ciclos gelo-degelo	49
Figura 12 - Identificação 1 do amido: (A) Produto gelatinoso do amido da semente de jaca, (B) produto gelatinoso do amido de milho	54
Figura 13 - Identificação 2 do amido: (A) Produto gelatinoso do amido de jaca adicionado de lugol, (B) Produto gelatinosos do amido de milho adicionado de lugol, (C)	

Produto gelatinoso do amido de jaca após fervura, (D) produto gelatinoso do amido de milho após fervura.....55

Figura 14 - Identificação 3 do amido: (A) Solução de amido da semente de jaca 1%, (B) Solução de amido de milho 1%, (C) Solução de amido da semente de jaca 1% + 3 gotas de lugol, (D) Solução de amido de milho 1% + 3 gotas de lugol.....56

Figura 15 - Varredura em espectrofotômetro na região UV/VIS de 200nm a 460nm. Lipossomas formados a partir da lecitina da empresa Sigma Aldrich (linha laranja) e do produto extraído da gema do ovo (linha azul)57

Figura 16 - Géis após teste de centrifugação. (A) Gel do amido da semente de jaca; (B) Gel do amido de milho e (C) Gel de natrosol59

Figura 17 – Formulações após teste de centrifugação.....59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições estabelecidas éça ANVISA para realização de estudos de estabilidade acelerado	34
Tabela 2 - Formulação do gel de amido da semente de jaca.....	40
Tabela 3 - Formulação do gel de hidroxietilcelulose (Natrosol®).....	40
Tabela 4 – Composições das formulações desenvolvidas	42
Tabela 5 – Rendimento das extrações de amido da semente de jaca.....	46
Tabela 6 – Cronograma dos ciclos gelo-degelo	48
Tabela 7 – Parâmetros físico-químicos das amostras após ciclo gelo-degelo.....	50
Tabela 8 – Registros dos pHs das amostras durante estudo acelerado.....	53
Tabela 9 – Viscosidade das formulações.....	53
Tabela 10 – Turbidimetria das formulações lipossômicas em 370nm (n=8).....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
COL	Colesterol
cP	Centipoise
C.V.	Coefficiente de Variância
D.P.	Desvio Padrão
F1	Formulação 1
F2	Formulação 2
F3	Formulação 3
F4	Formulação 4
F5	Formulação 5
F6	Formulação 6
F7	Formulação 7
F8	Formulação 8
H/L	Hidrófilo/Lipófilo
g	Gramas
GOV	Lipossomas Oligolamelares Gigantes
GUV	Lipossomas Unilamelares Gigantes
Liso-PC	Liso-fosfatidilcolina
L/H	Lipófilo/Hidrófilo
LOV	Lipossomas Oligolamelares Grandes
LUV	Lipossomas Unilamelares Grandes

M	Molar
mL	Mililitros
MLV	Lipossomas Multilamelares
mM	Milimolar
MVL	Lipossomas Multivesiculares
Na ₂ S ₂ O ₅	Metabissulfito de sódio
nm	Nanômetros
PC	Fosfatidilcolina
PCH	Fosfatidilcolina de soja Hidrogenada
pH	Potencial Hidrogeniônico
p/p	Peso/peso
q.s.	Quantidade Suficiente
q.s.p.	Quantidade Suficiente Para
rpm	Rotações por minuto
SOV	Lipossomas Oligolamelares Pequenos
SUV	Lipossomas Unilamelares Pequenos
Tt	Temperatura de Transição de Fase
T0	Tempo zero
T7	Tempo sete
T15	Tempo quinze
UV/VIS	Ultravioleta Visível
μm	Micrômetros

LISTA DE SÍMBOLOS

$\%$	Porcentagem
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\text{\textcircled{R}}$	Marca registrada
λ	Comprimento de onda
\pm	Mais ou menos

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	17
2.0 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 Géis	18
2.1.1 Hidroxietilcelulose (Natrosol®)	18
2.1.2 Amido	19
2.1.2.1 <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	20
2.2 Fenômenos de instabilidade de géis	21
2.3 Lipossomas	21
2.3.1 Composição dos lipossomas	23
2.3.1.1 Lecitina de ovo	25
2.3.1.2 Colesterol	26
2.3.2 Farmacotécnica dos lipossomas	27
2.3.2.1 Formação do filme lipídico	28
2.3.2.2 Hidratação do filme lipídico (HFL)	29
2.3.3 Fenômenos de instabilidade dos Lipossomas	30
2.3.3.1 Método turbidimétrico	31
2.3.4 Estudo de estabilidade	32
2.3.4.1 Estudo de estabilidade preliminar	33
2.3.4.2 Estudo de estabilidade acelerada	33
3.0 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo Geral	35
3.2 Objetivos Específicos	35
4.0 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Material	36
4.1.1 Substâncias e reagentes	36
4.1.2 Equipamentos	36
4.1.3 Vidrarias e utensílios diversos	37
4.2 Métodos	37
4.2.1 Extrações	37
4.2.1.1 Extração do amido da semente de jaca	37
4.2.1.2 Extração da lecitina do ovo de galinha	38
4.2.2 Farmacotécnica dos géis	39

4.2.2.1	Gel de amido da semente de jaca e de amido de milho	39
4.2.2.2	Gel de Hidroxietilcelulose (Natrosol®).....	40
4.2.3	Farmacotécnica dos lipossomas	41
4.2.4	Formulações desenvolvidas	41
4.2.5	Estudos de estabilidade das formulações desenvolvidas.....	42
4.2.5.1	Estudo de estabilidade preliminar	43
4.2.5.2	Estudo de estabilidade acelerada	43
4.2.6	Controle de qualidade.....	43
4.2.6.1	Identificação do amido extraído da semente de jaca	43
4.2.6.2	Varredura dos lipossomas no espectrofotômetro UV/VIS	43
4.2.6.3	Turbidimetria.....	44
4.2.6.4	Teste de centrifugação.....	44
4.2.6.5	Determinação do pH.....	44
4.2.6.6	Determinação da viscosidade.....	44
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Extração do amido da semente de jaca	46
5.2	Extração da lecitina do ovo de galinha.....	47
5.3	Farmacotécnica dos géis.....	47
5.4	Farmacotécnica dos lipossomas	47
5.5	Formulações desenvolvidas.....	47
5.6	Estudos de estabilidade das formulações desenvolvidas	48
5.6.1	Estudo de estabilidade preliminar.....	48
5.6.2	Estudo de estabilidade acelerada.....	51
5.7	Controle de qualidade	54
5.7.1	Identificação do amido extraído da semente de jaca	54
5.7.2	Varredura dos lipossomas no espectrofotômetro UV/VIS	56
5.7.3	Turbidimetria	57
5.7.4	Teste de centrifugação	58
6.0	CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS	62

1.0 INTRODUÇÃO

Os géis são definidos como sistemas semissólidos constituídos por dispersões de pequenas partículas inorgânicas ou de grandes moléculas orgânicas, encerradas ou interpenetradas por um líquido (ALLEN, *et al.*, 2007). Geralmente são utilizados polímeros como substância formadora do gel, ou agente gelificante (CORRÊA, *et al.*, 2005). O amido é um polímero e possui a propriedade de formar um produto gelatinoso quando submetido ao aquecimento na presença de água. O Natrosol[®] é um derivado de celulose muito utilizado para veiculação de ativos por possuir caráter não-iônico e tolerar bem pH ácido (FERREIRA, 2000).

Existem estudos que utilizam o gel de hidroxietilcelulose (Natrosol[®]) como veículo para vesículas lipídicas, os lipossomas. Estes, podem ser definidos como sistemas lipídicos dispersos, constituídos por fosfolipídios que em meio aquoso se organizam espontaneamente em bicamadas formando vesículas esféricas. (GIUBERTI, 2007). Devido sua composição, os lipossomas são altamente instáveis, sendo afetados por processos químicos, físicos e biológicos. O seu armazenamento na forma de suspensão aquosa é muitas vezes incompatível com a estabilidade requerida para produtos farmacêuticos, sendo a forma liofilizada uma alternativa viável, desde que se adicionado um agente crioprotetor. Segundo Chorilli (*et al.*, 2004), os lipossomas em um sistema gel são estáveis por aproximadamente 2 anos, mas quando misturados com componentes de emulsões, como óleos e tensoativos, eles são estáveis somente por meses ou semanas. Acredita-se que os géis formados a partir dos polímeros de amido, assim como o gel de hidroxietilcelulose (Natrosol[®]), possam ser bons veículos para incorporação de lipossomas devido a formação de uma “malha” constituída por uma rede de polímeros que passará a protegê-los de fenômenos geradores de instabilidade após sua incorporação.

Relata-se que as sementes do fruto da planta *Artocarpus heterophyllus* Lam. contém muito amido. Segundo o procedimento realizado por BOBBIO (1978) para o isolamento do amido, há um rendimento médio de 10-15% das sementes frescas, significando que esta é uma fonte amilácea bastante viável, embora seja normalmente descartada após o consumo do fruto. Dessa forma, este trabalho teve como foco avaliar a estabilidade de géis de amido (do milho e da semente de jaca) e hidroxietilcelulose (Natrosol[®]) para incorporação de lipossomas.

2.0 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Géis

Géis são sistemas semissólidos que consistem em dispersões de pequenas ou grandes moléculas em um veículo líquido aquoso que adquire consistência semelhante às geleias pela adição de um agente gelificante (ALLEN, *et al.*, 2007). Os géis hidrossolúveis frequentemente são muito utilizados em produtos cosméticos e dermatológicos, por apresentarem fácil espalhamento, não serem gordurosos e poderem veicular ativos hidrossolúveis. As substâncias formadoras de géis, geralmente são polímeros, que quando dispersos em meio aquosos, conferem viscosidade a formulação (CORRÊA, *et al.*, 2005).

Entre os agentes gelificantes usados estão as macromoléculas sintéticas, sendo que estas podem ser divididas em três classes: os derivados de celulose, como a carboximetilcelulose, hidroxietilcelulose (Natrosol[®]), hidroxipropilmetilcelulose e metilcelulose; polímeros não celulósicos naturais ou semissintéticos: gomas naturais, ágar e pectina; e polímeros de ácido acrílico, ou carbômeros: Carbopol 940 (LOPES, *et al.*, 2005; ALLEN, *et al.*, 2007). A viscosidade dos polímeros depende de sua composição, compatibilidade e concentração, sendo frequentemente utilizados como agentes gelificantes em concentrações de 0,5 a 2,0% em água. Além de agente gelificante e da água, as formulações de gel podem conter fármacos, solventes, como álcool e/ou propilenoglicol; conservantes antimicrobianos, como metil e propilparabenos; e estabilizantes, como EDTA sódico. Géis medicamentosos podem ser preparados para administração por diversas vias, incluindo percutânea, ocular, nasal, vaginal e retal (ALLEN, *et al.*, 2007).

2.1.1 Hidroxietilcelulose (Natrosol[®])

Este composto tem grupos hidroxietila ligados à cadeia de celulose (figura 1), e se encontra disponível em diferentes viscosidades. Este polímero tem a vantagem de ser solúvel tanto na água quente quanto na água fria. O gel formado por este derivado de celulose é o de maior interesse para veiculação de ativos em dermatologia por possuir caráter não-iônico e tolerar bem pH ácido (FERREIRA, 2000).

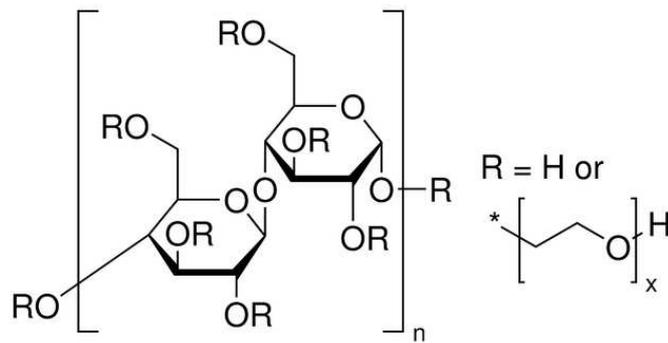


Figura 1 – Estrutura molecular do Hidroxietilcelulose.

Fonte: retirado de <http://www.sigmaaldrich.com> Acesso em 18/02/2014.

É um produto sólido de coloração que varia de branco a creme, é higroscópico, inodoro e essencialmente insolúvel em solventes orgânicos. Quando ocorre interação com solventes orgânicos pode ocorrer um simples intumescimento ou dissolução parcial. É estável em uma faixa de pH de 2 a 12, e como se trata de um polímero não-iônico, é compatível com um grande número de substâncias solúveis em água, o que inclui a maioria dos sais e praticamente todos os polímeros solúveis em água e gomas naturais (VIA FARMA, 2014).

2.1.2 Amido

O amido é um dos principais componentes dos vegetais. Os termos amido e fécula indicam se o material é proveniente das partes aéreas ou subterrâneas dos vegetais, respectivamente, sendo comum, apenas, o uso do termo amido.

O amido é composto por unidades de glucose, organizadas em dois homopolissacarídeos, a amilose e a amilopectina. A amilose praticamente não apresenta ramificações, sendo que as unidades de glucose são conectadas por ligações glicosídicas do tipo α (1,4) e a porcentagem de ramificações α (1,6) é menor do que 1%. A amilopectina, uma das maiores biomoléculas conhecidas, é altamente ramificada e possui cadeias de resíduos de glucose ligados entre si por ligações glicosídicas do tipo α (1,4) com aproximadamente 5% de ramificações α (1,6). Dependendo da origem, o amido possui diferentes proporções de amilose e de amilopectina. Normalmente as proporções variam em torno de 1:3 e 1:4, mas há extremos encontrados em mutantes, como nos mutantes “waxy” de milho, cujo amido não possui amilose (NELSON & PAN, 1995, *apud*, AMARAL, 2007).

Uma das propriedades mais importantes do amido é a gelificação, que possibilita absorção, no aquecimento, de até 2,5 mil vezes seu peso em água. O aquecimento em excesso de água causa o intumescimento irreversível, porém limitado, dos grânulos, os quais se tornam muito sensíveis a estresses mecânico e térmico ou à acidez do meio. Mas, uma vez resfriado, ou ainda, congelado, os polímeros de amido nativo se reagrupam, liberando água e danificando o gel formado (SILVA, *et al*, 2006).

O amido extraído da jaca apresenta baixa concentração de amilose quando comparada com outras sementes amiláceas. O amido é estável quando aquecido à temperatura de 80°C, sendo que a temperaturas superiores os grânulos se desorganizam (DA SILVA, *et al*, 2008).

2.1.2.1 *Artocarpus heterophyllus* Lam.

A jaca pertence à família *Moraceae*, ao gênero *Artocarpus* e possui quatro sinônimas: *Artocarpus integra* Merr., *Artocarpus integrifolia* Linn. F., *Artocarpus brasiliensis* Lam. e *Artocarpus heterophyllus*, Lam. É um fruto originário da Ásia (Índia, Malásia, Filipinas), que foi introduzido e difundido no Brasil pelos portugueses durante o século XVIII, adaptou-se tão bem, que uma de suas classificações (*Artocarpus brasiliensis*) foi dada por um botânico brasileiro (OLIVEIRA, 2009).

Classificação taxonômica segundo Prakash (*et al*, 2009):

- Reino: *Plantae*
- Subreino: *Tracheobionta*
- Divisão: *Magnoliophyta*
- Classe: *Magnoliopsida*
- Subclasse: *Hamamelidae*
- Ordem: *Urticales*
- Família: *Moraceae*
- Gênero: *Artocarpus*
- Espécie: *Artocarpus heterophyllus* Lam.

2.2 Fenômenos de instabilidade dos géis

Uma das análises mais impactantes no estudo de um gel, é a análise de reologia, que, segundo Allen (*et al.*, 2007) pode ser definida pelo estudo do fluxo levando-se em conta as características de viscosidade. O tipo de polímero empregado na formulação do gel pode influenciar o comportamento reológico desta e, portanto, pode influenciar na estabilidade física do produto (CORRÊA, *et al.*, 2005).

Em geral, os géis hidrossolúveis possuem comportamento reológico do tipo pseudoplástico e tixotrópico, ou seja, deformam-se durante a aplicação de uma força (sua viscosidade diminui com o aumento de cisalhamento) tornando-se mais fluidos, facilitando o espalhamento e recuperando a viscosidade inicial no momento que se encerra a aplicação da força (AULTON, 2005).

2.3 Lipossomas

Lipossomas são estruturas formadas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas concêntricas, organizadas em torno de um compartimento aquoso interno. Podem exercer a função de carreadores de fármacos, biomoléculas ou agentes de diagnóstico. Formulações lipossomais têm mostrado a capacidade de melhorar a farmacocinética e farmacodinâmica das moléculas encapsuladas, uma vez que essas formulações podem induzir a rápida absorção e retenção do fármaco no tecido-alvo (CAVALCANTI, *et al.*, 2011, *apud*, GAYOSO, 2011).

Na área dermocosmética, os lipossomas vêm sendo utilizados tanto para aumentar a incorporação de substâncias ativas às células, quanto como veículo para liberação controlada de princípios ativos (CHORILLI, *et al.*, 2004). Existem vários tipos de lipossomas no que se diz respeito à sua composição molecular, estruturação e tamanhos. Lipossomas clássicos ou convencionais, formados apenas por uma ou por mais de uma membrana fosfolipídica, são diferenciados de acordo com seus tamanhos, morfologias, número e disposição das bicamadas fosfolipídicas. Os lipossomas mais comumente produzidos são distinguidos pelas seguintes categorias, e ilustrados na Figura 2 (MERTINS, 2004):

- Lipossomas unilamelares pequenos (*Small Unilamellar Vesicles* – SUVs): a membrana é formada por uma única bicamada fosfolipídica; são os menores na escala de tamanhos, com diâmetros variando entre 20 e 80nm.

- Lipossomas oligolamelares pequenos (*Small Oligolamellar Vesicles* – SOVs): membrana formada por mais de uma bicamada fosfolipídica, mas com diâmetro semelhante aos SUVs.
- Lipossomas unilamelares grandes (*Large Unilamellar Vesicles* – LUVs): a membrana é formada por uma única bicamada fosfolipídica; são intermediários na escalada de tamanhos, com diâmetros variando entre 80 nm e 1µm.
- Lipossomas oligolamelares grandes (*Large Oligolamellar Vesicles* – LOVs): A membrana é formada por mais de uma bicamada fosfolipídica, tem tamanho intermediário e diâmetros semelhantes aos LUVs.
- Lipossomas multilamelares (*Multilamellar Vesicles* – MLVs): a membrana é formada por várias bicamadas fosfolipídicas dispostas de forma concêntrica; apresentam um diâmetro médio que varia entre 400 nm e alguns micrômetros.
- Lipossomas multivesiculares (*Multivesicular Lipossomes* – MVLs): de certa forma são semelhantes aos MLVs, porém as bicamadas não são concêntricas, o que torna a vesícula uma estrutura mais complexa, com um lipossoma que contém vários lipossomas encapsulados de forma aleatória e inclusive com membranas bastante curvadas ou deformadas; também podem ser chamados de sistemas de vesícula em vesícula e normalmente são estruturas mal formadas nos processos de obtenção dos outros tipos; a faixa de diâmetros também varia como para MLVs, entre 400 nm e alguns micrômetros.
- Lipossomas gigantes (*Giant Vesicles* – GVs): normalmente são formados por uma única bicamada fosfolipídica, sendo assim designados como lipossomas unilamelares gigantes (*Giant Unilamellar Vesicles*– GUVs) ou lipossomas oligolamelares gigantes (*Giant Oligolamellar Vesicles*– GOVs); são os maiores com diâmetros superiores a 1µm podendo chegar a dezenas de micrômetros.

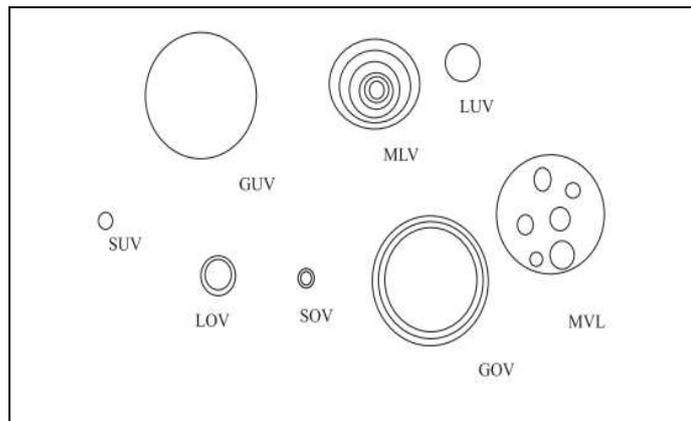


Figura 2 - Representação dos vários tipos de lipossomas: Lipossomas unilamelares pequenos (SUV); Lipossomas unilamelares grandes (LUV); Lipossomas oligolamelares grandes (LOV); Lipossomas multilamelares (MLV); Lipossomas multivesiculares (MVL); Lipossomas oligolamelares gigantes (GOV) e Lipossomas unilamelares gigantes (GUV)

Fonte: SANTOS, *et al*, 2002.

2.3.1 Composição dos lipossomas

Os lipossomas, classicamente são preparados a partir do glicerofosfolípido fosfatidilcolina e do esteroide colesterol. De uma forma mais ampla, lipossomas podem ser obtidos a partir de qualquer substância formadora de fase lamelar. Quando formada de lipídeo de temperatura de transição de fase (T_t) menor que a temperatura do meio estudado, a membrana dos lipossomas se encontra na fase cristal-líquido ou “fluida” e os lipídeos e suas cadeias de hidrocarboneto têm grande liberdade de movimento. Quando formada de lipídeo de T_t maior que a temperatura do meio estudado, a membrana dos lipossomas se encontra na fase gel ou “rígida” e os lipídeos têm movimento restrito e suas cadeias de hidrocarboneto apresentam conformação “*toda-trans*”. O colesterol aumenta a rigidez das membranas no estado “cristal-líquido” e reduz a rigidez e os defeitos estruturais das membranas no estado “gel”, como pode ser observado na Figura 3. Lipídeos apresentando carga efetiva negativa ou positiva podem também ser incluídos na composição da membrana o que pode influenciar a taxa de incorporação de substâncias, impedir a agregação/fusão das vesículas lipídicas e modular o seu destino no organismo (FRÉZARD, *et al*, 2005).

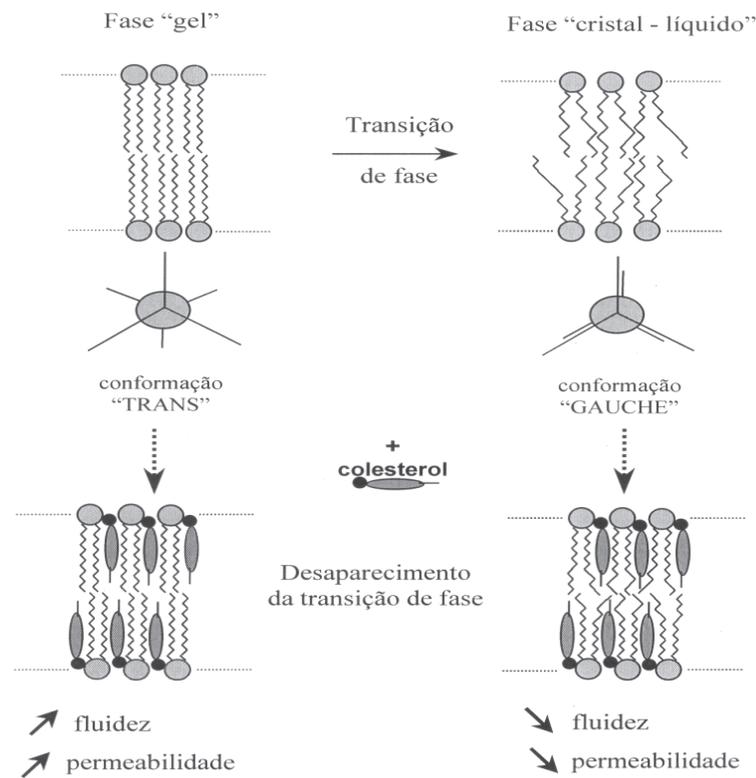


Figura 3 – Comportamento de fase das membranas lipídicas e efeito do colesterol

FONTE: FRÉZARD, *et al*, 2005.

A incorporação de um antioxidante na formulação dos lipossomas visa evitar a degradação oxidativa dos fosfolipídios estruturais, visto que a maioria das dispersões de fosfolipídios contém lipídios insaturados como parte da cadeia molecular. Esses lipídios insaturados submetem-se à degradação oxidativa ou peroxidação lipídica, que podem ocorrer durante a preparação, estocagem ou uso. Estas degradações oxidativas podem ser minimizadas por várias maneiras, sendo mais comum a adição de antioxidantes como o alfa-tocoferol (Vitamina E), pois protege adequadamente os fosfolipídios da oxidação (VEMURI, RHODES, 1995, *apud*, TORRES, 2008).

CHORILLI, *et al*, (2007), revelaram que a estabilidade destes sistemas lipídicos pode ser melhorada com o emprego de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (PCH) às formulações lipossomais, uma vez que os lipossomas constituídos por PCH e colesterol apresentaram-se mais estáveis que os lipossomas constituídos por fosfatidilcolina (PC) e colesterol.

2.3.1.1 Lecitina de ovo

Os fosfolipídios são os principais componentes estruturais das membranas biológicas e são de dois tipos. O fosfolipídio mais comum é a fosfatidilcolina, um fosfoglicerídeo que contém duas moléculas de ácido graxo esterificadas ao primeiro e ao segundo grupomhidroxila do glicerol. O terceiro grupo hidroxila do glicerol forma uma ligação éster com o ácido fosfórico. Possui um segundo álcool (colina), que também é esterificado à ácido fosfórico e está localizado na cabeça polar da molécula do fosfoglicerídeo (VEMURI, 1995; NEW, 1990, *apud*, BRAGA, 2010).

As fosfatidilcolinas (figura 4), também conhecidas como lecitinas, podem derivar de fontes naturais ou sintéticas e são usadas, com frequência, como principal constituinte dos lipossomas, por seu baixo custo, por serem quimicamente inertes e não possuírem carga (BETZ *et al*, 2001; NEW, 1990, *apud*, BRAGA, 2010).

A lecitina bruta é a designação dada a uma mistura de glicolipídios, triglicerídios e fosfolipídios, por exemplo: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol. No entanto, em bioquímica, o termo lecitina é, usualmente, utilizado como sinônimo de fosfatidilcolina pura, um fosfolípido que constitui o principal componente da fração fosfatada que se obtém da gema de ovo ou de grãos de soja, de onde é extraída por meios mecânicos ou químicos, utilizando hexano (MERTINS, 2004).

Em diferentes temperaturas, membranas constituídas de fosfatidilcolina assumem diferentes estados e transitam do estado gel ao estado de cristal-líquido de acordo com a temperatura. A temperatura de transição é influenciada pelo tipo de fosfolipídio presente e este comportamento da membrana determina propriedades importantes do lipossoma, que afetam diretamente a sua estabilidade e o seu comportamento em sistemas biológicos. Lipossomas na forma líquido-cristalina possuem maior flexibilidade da bicamada e liberdade de movimento das moléculas de fosfolipídios (BERGH, VRIES & BOUWSTRA, 1998; NEW, 1990, *apud*, BRAGA, 2010).

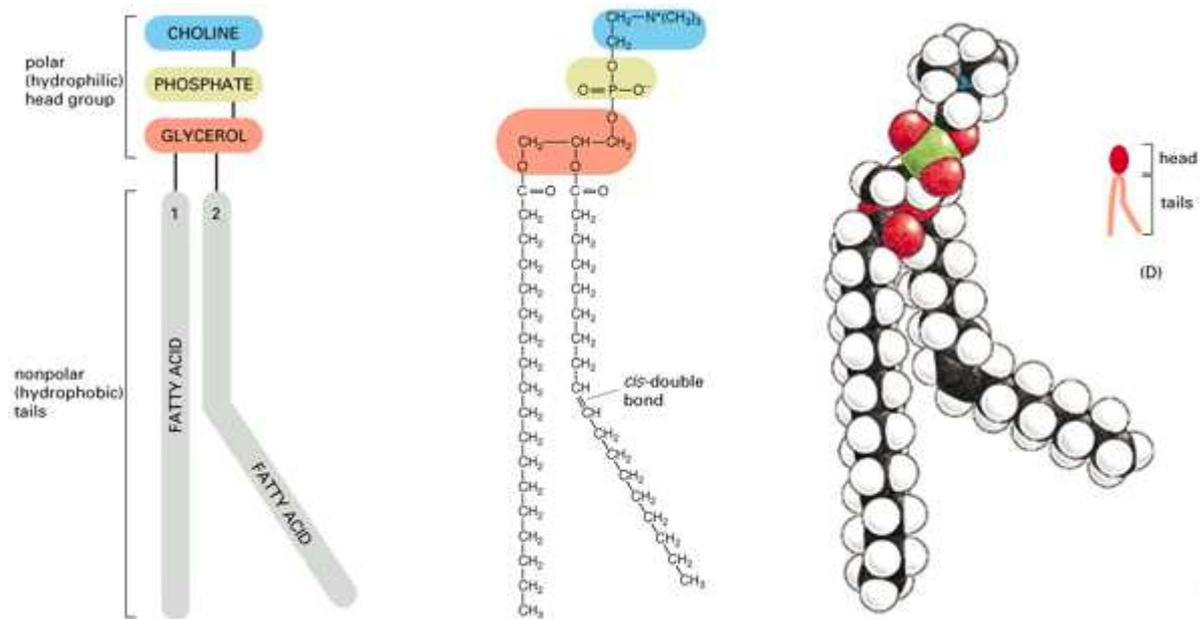


Figura 4 – Representações esquemáticas, fórmula estrutural e arranjo espacial da lecitina.

FONTE: TORRES, 2008.

2.3.1.2 Colesterol

Esteróis são importantes constituintes da maioria das membranas naturais e sua incorporação nos lipossomas pode mudar propriedades da membrana. A adição do colesterol (Figura 5) na membrana de fosfatidilcolina influencia na temperatura de transição e o aumento de sua concentração pode induzir alteração na fluidez da membrana (VEMURI, 1995; SULKOWSKI *et al.*, 2005; CODERCH *et al.*, 2000, *apud*, BRAGA, 2010).

O colesterol é um esteróide encontrado nas membranas animais, podendo ser utilizado na preparação de lipossomas com o objetivo de melhorar as características da bicamada, como já citado. O colesterol apresenta propriedades lipofílicas, ele orienta-se na bicamada lipídica entre as moléculas de fosfolípido com o grupo hidroxila dirigido para a fase aquosa e o anel tricíclico entre os carbonos das cadeias graxas, resultando num efeito de empacotamento de moléculas na bicamada. Além disso, o colesterol modula a fluidez da membrana fosfolipídica, reduzindo a permeabilidade através da bicamada e melhorando a estabilidade na presença de fluídos biológicos (CHORILLI, *et al*, 2007).

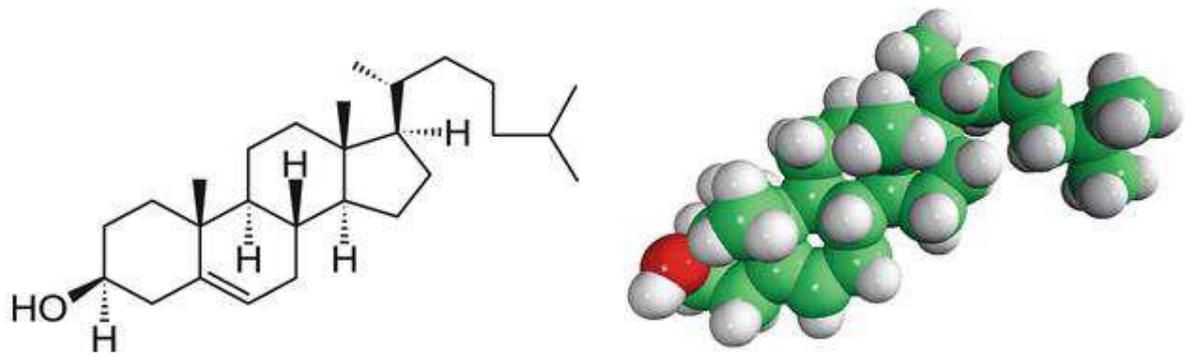


Figura 5 – Fórmula estrutural e arranjo espacial da molécula de colesterol

Adaptado de <http://www.avantilipids.com> Acesso em: 29/05/2013.

2.3.2 Farmacotécnica dos lipossomas

A larga aceitação da utilização de lipossomas para os mais diversos fins criou a necessidade de desenvolver métodos preparativos eficientes, reprodutíveis e com a simplicidade possível, à escala laboratorial e industrial (SANTOS, *et al.*, 2002).

Existem várias técnicas que podem ser utilizadas na preparação de lipossomas. De acordo com a técnica a ser utilizada, podem-se obter lipossomas com vários tamanhos e formas. Dentre as principais técnicas de preparação de lipossomas, tem-se extrusão, microfluidização, desidratação-reidratação, hidratação do filme lipídico e sonificação, (LIMA, 1995). Essas técnicas são exemplificadas na Figura 6.

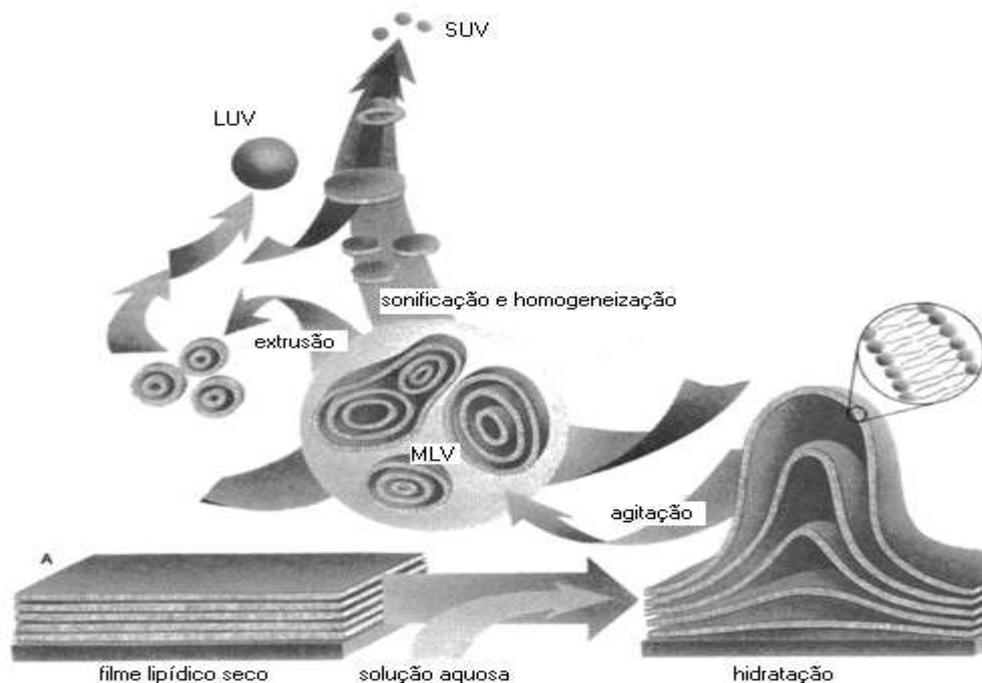


Figura 6 - Representação esquemática das metodologias de preparação de vesículas multilamelares (MLV), vesículas unilamelares pequenas (SUV) e vesículas unilamelares grandes (LUV)

Fonte: SANTOS, *et al.*, 2002.

A composição química, número de camadas, distribuição de tamanhos, número de lamelas e o volume encapsulado do ativo são fatores que podem influenciar na aplicação lipossomas, assim o método de preparação deverá ser sempre escolhido criteriosamente. De um modo geral, a preparação de vesículas lipídicas pode ser dividida em três fases consecutivas: preparação das fases aquosa e lipídica, hidratação do lipídio e ainda, para a maioria dos sistemas, um processamento secundário (sonicação ou extrusão, por exemplo) necessário para a obtenção do produto final (SANTOS, *et al.*, 2002).

2.3.2.1 Formação do filme lipídico

Quando se preparam lipossomas com uma mistura de lipídios (fosfatidilcolinas, colesterol, entre outros), estes devem estar inicialmente dissolvidos e misturados num solvente orgânico para assegurar a homogeneidade da mistura lipídica. Usualmente, este processo é levado a cabo usando clorofórmio, de forma a obter uma solução pura de lipídios ou uma mistura completa de lipídios. Por norma, as soluções lipídicas são preparadas com uma concentração até 20 mg de lípido/ml de solvente orgânico (ESTEVES, 2011).

2.3.2.2 Hidratação do filme lipídico (HFL)

A preparação de vesículas multilamelares por hidratação de filme lipídico foi primeiramente descrita por Bangham *et al.*, (1965) consistindo até hoje em um método básico de preparação de lipossomas contendo substâncias ativas. Esse método é baseado no conceito de formação de lipossomas por dispersão mecânica (Figura 7). É o mais simples e amplamente usado para a preparação de MLV, no qual um filme fino de lipídios é depositado nas paredes de um recipiente (balão de fundo redondo) após a evaporação do solvente orgânico. As vesículas são formadas quando a fase aquosa a uma temperatura acima da temperatura de transição do lipídio é adicionada em excesso ao sistema, sob agitação. O fármaco a ser encapsulado está incluído ou no tampão aquoso de hidratação (para fármacos hidrofílicos) ou no filme lipídico (para fármacos lipofílicos). Esse método produz uma população homogênea de MLV (1 – 5 μm de diâmetro), os quais podem ser sonicados ou extrusados através de filtros de policarbonato para produzir uma população de pequenos e mais uniformes SUV (SHARMA E SHARMA, 1997, *apud*, TORRES, 2008).

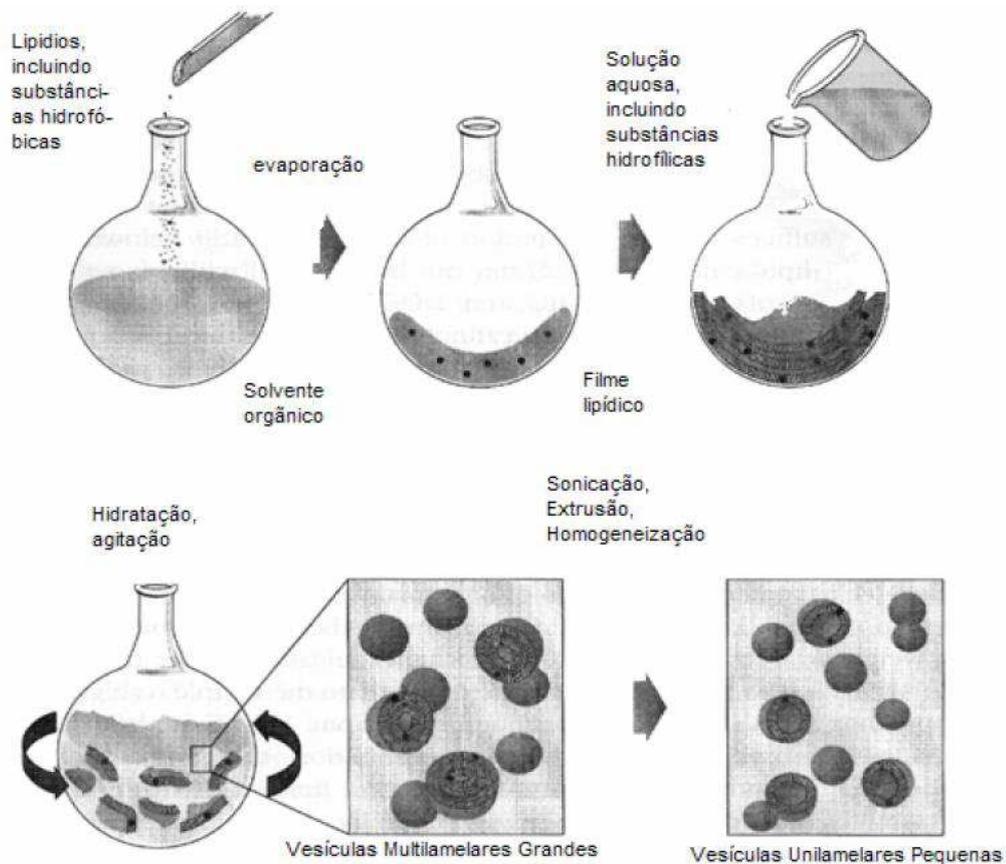


Figura 7 – Representação da formação de lipossomas pelo método de hidratação do filme lipídico
 FONTE: TORRES, 2008.

2.3.3 Fenômenos de instabilidade dos lipossomas

A estabilidade de lipossomas pode ser afetada por processos químicos, físicos e biológicos. Dependendo da sua composição, as formulações finais dos lipossomas podem apresentar um curto tempo de meia-vida, em parte devido à instabilidade física e química. A avaliação da estabilidade deve incluir a caracterização do produto final e o acompanhamento da estabilidade durante o armazenamento da formulação lipossômica (VEMURI, *et al*, 1995, *apud*, BATISTA, *et al*, 2007). Os lipossomas não são estáveis em veículos que contenham emulsificantes L/H ou H/L. Quando incorporados em gel os lipossomas são estáveis por aproximadamente 2 anos, mas quando misturados com componentes de emulsões, como óleos e tensoativos, eles são estáveis por meses ou semanas (CHORILLI, *et al*, 2004).

Instabilidade química – Os processos químicos de instabilidade são dependentes da composição dos lipossomas, a qual implica na prevenção da hidrólise do éster e da oxidação da insaturação localizada na cadeia lipídica. A hidrólise lipídica leva à formação de um produto intermediário, a liso-fosfatidilcolina (liso-PC). A presença da liso-PC acentua a permeabilidade dos lipossomas, o que prejudica a integridade da formulação. Os autores afirmaram ainda que a variação de pH favorece a hidrólise dos lipídeos e que um pH em torno de 6,0 é mais favorável para manter a estabilidade da formulação (SAERTEN, *et al*, 2005, *apud*, BATISTA, *et al*, 2007)

Esses problemas podem ser superados pela conservação dos lipossomas em atmosfera de nitrogênio e argônio, pelo uso de antioxidantes como alfa-tocoferol na preparação, como também pela liofilização da formulação final com a ajuda de um crioprotetor. A liofilização aumenta a meia-vida da formulação lipossômica, pela maior estabilidade em estado seco, podendo ser reconstituída com veículo na hora da administração (CACELA, HINCHA, 2006; SHARMA, SHARMA, 1997, *apud*, BATISTA, *et al*, 2007).

Instabilidade física – Alguns dos principais processos que causam a instabilidade dos lipossomas são a agregação e fusão das vesículas e o extravasamento do fármaco encapsulado. A inclusão de uma pequena quantidade de lipídeos com carga (p.ex., estearilamina ou dicetilfosfato) na preparação de lipossomas produz repulsão eletrostática entre as vesículas, reduzindo a agregação e a fusão das vesículas. O acréscimo de colesterol e esfingomiélin na formulação pode diminuir a permeabilidade e o extravasamento do fármaco encapsulado e pode ainda aumentar a temperatura de transição

de fase (T_t), melhorando desta forma a estabilidade. O colesterol pode ser adicionado, reduzindo a fluidez e deformação da membrana. Em altas concentrações ($> 30 \text{ mol\%}$), o colesterol pode diminuir a fluidez da membrana a temperatura maior que a T_t , com produção de lipossomas mais estáveis e com pouco extravasamento após administração sistêmica (SHARMA, SHARMA, 1997, *apud*, BATISTA, *et al*, 2007).

De acordo com MERTINS (2008), lipossomas em suspensão aquosa, assim como outros sistemas coloidais, podem apresentar diversos comportamentos no que se referem a fenômenos de agregação, e uma maneira de investigar a estabilidade coloidal dessas partículas é a partir da determinação do Potencial Zeta das mesmas que, dependendo da sua veemência, pode contribuir significativamente nos processos de agregação ou não agregação. A amplitude deste potencial permite avaliar a estabilidade de partículas em suspensão levando em conta que, se todas as partículas apresentam um valor altamente positivo ou altamente negativo de Potencial Zeta, elas irão repelir umas às outras evitando a agregação. No caso dos valores de Potencial Zeta próximos a zero, a ausência de carga superficial pode favorecer, algumas vezes, interações entre partículas o que promove processos de agregação ou floculação.

Instabilidade biológica – Um dos maiores pré-requisitos para o uso de lipossomas como carreadores de fármacos *in vivo* é que eles devem circular e reter o fármaco por tempo suficiente para o acesso efetivo e interação com o alvo, normalmente no sangue, nas paredes dos capilares e, em certos casos, em células de áreas extra vasculares. A estabilidade biológica depende da presença de agentes endógenos (opsoninas e sistema complemento) que interagem com os lipossomas, estando, portanto, vinculada com a via de administração (BATISTA, *et al*, 2007).

2.3.3.1 Método turbidimétrico

O método turbidimétrico ou espectroscopia de absorção no UV/VIS, está baseado na medida da transmitância (T) ou absorbância (a) de soluções contidas em células transparentes. De forma comum, a concentração de um analito absorvente está relacionada linearmente à transmitância e à absorbância (SKOOG, *et al*, 2002). O espectrofotômetro é o instrumento utilizado nas análises espectrofotométricas, ele permite comparar a radiação absorvida ou transmitida por uma solução com substâncias que podem absorver energia radiante. As informações sobre a absorção de uma amostra são obtidas quando ela é inserida no caminho

óptico do aparelho. A luz UV e/ou Visível, em determinado comprimento de onda (ou uma faixa de comprimentos de ondas) é passada pela amostra e o espectrofotômetro mede o quanto de luz foi absorvida.

Vários trabalhos utilizando 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. Alterações na turbidez das preparações de lipossomas podem ser devidas a alterações no tamanho (diâmetro) dos mesmos. Também, o aumento de turbidez pode estar relacionado à agregação e/ou fusão de vesículas (CHORILLI, *et al*, 2007a).

2.3.4 Estudos de estabilidade

De acordo com o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos – ANVISA (2004), o estudo da estabilidade fornece informações que indicam o grau de estabilidade relativa de um produto nas variadas condições a que possa estar sujeito desde sua fabricação até o término de sua validade.

Essa estabilidade é relativa, pois varia com o tempo e em função de fatores que aceleram ou retardam alterações nos parâmetros do produto. Modificações dentro de limites determinados podem não configurar motivo para reprovar o produto.

O estudo da estabilidade contribui para:

- Orientar o desenvolvimento da formulação e do material de acondicionamento adequado;
- Fornecer subsídios para o aperfeiçoamento das formulações;
- Estimar o prazo de validade e fornecer informações para a sua confirmação;
- Auxiliar no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica, produzindo informações sobre a confiabilidade e segurança dos produtos.

Os testes devem ser conduzidos sob condições que permitam fornecer informações sobre a estabilidade do produto em menos tempo possível. Para isso, amostras devem ser armazenadas em condições que acelerem mudanças passíveis de ocorrer durante o prazo de validade. Deve-se estar atento para essas condições não serem tão extremas que, em vez de acelerarem o envelhecimento, provoquem alterações que não ocorreriam no mercado.

2.3.4.1 Estudo de estabilidade preliminar

O estudo de estabilidade preliminar consiste na realização do teste na fase inicial do desenvolvimento do produto, utilizando-se diferentes formulações de laboratório e com duração reduzida. Emprega condições extremas de temperatura com o objetivo de acelerar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de sinais que devem ser observados e analisados conforme as características específicas de cada tipo de produto. Devido às condições em que é conduzido, este estudo não tem a finalidade de estimar a vida útil do produto, mas sim de auxiliar na triagem das formulações. Geralmente as amostras são submetidas a aquecimento em estufas, resfriamento em refrigeradores e a ciclos alternados de resfriamento e aquecimento (ANVISA, 2004).

Os valores geralmente adotados para os ciclos são:

- Ciclos de 24 horas a $40 \pm 2^\circ\text{C}$, e 24 horas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ - durante quatro semanas;
- Ciclos de 24 horas a $45 \pm 2^\circ\text{C}$, e 24 horas a $-5 \pm 2^\circ\text{C}$ - durante 12 dias (6 ciclos);
- Ciclos de 24 horas a $50 \pm 2^\circ\text{C}$, e 24 horas a $-5 \pm 2^\circ\text{C}$ - durante 12 dias (6 ciclos).

Os parâmetros que frequentemente são avaliados devem ser definidos pelo formulador e dependem das características da formulação em estudo e dos componentes utilizados nesta formulação. No caso da forma farmacêutica lipossomas em gel, estes são armazenados em baixas temperaturas (4°C), e devido a isso, o estudo de estabilidade preliminar deve ser realizado em condições de temperatura adaptáveis à referida formulação (Ciclos de 24 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e 24 horas a $-5 \pm 2^\circ\text{C}$ - durante 12 dias). De modo geral, avaliam-se características organolépticas: aspecto, cor, odor e sabor, quando aplicável; características físico-químicas: valor de pH, viscosidade e densidade, ou outros (ANVISA, 2004).

2.3.4.2 Estudo de estabilidade acelerada

Este teste é empregado também na fase de desenvolvimento do produto utilizando-se lotes produzidos em escala laboratorial e piloto de fabricação, podendo estender-se às primeiras produções. Emprega geralmente condições menos extremas que o teste anterior. Serve como auxiliar para a determinação da estabilidade da formulação. É um estudo preditivo que pode ser empregado para estimar o prazo de validade do produto. Pode ser realizado, ainda, quando houver mudanças significativas em ingredientes do produto e ou do

processo de fabricação, em material de acondicionamento que entra em contato com o produto, ou para validar novos equipamentos ou fabricação por terceiros (ANVISA, 2004).

Geralmente tem duração de noventa dias e, em alguns casos, a duração deste teste pode ser estendida por seis meses ou até um ano, dependendo do tipo de produto. As amostras podem ser submetidas a aquecimento em estufas, resfriamento em refrigeradores, exposição à radiação luminosa e ao ambiente (ANVISA, 2004).

Os valores geralmente adotados para o estudo de estabilidade acelerado são descritos na tabela 1, abaixo:

Tabela 1 – Condições estabelecidas pela ANVISA para realização de estudos de estabilidade acelerado.

Forma Farmacêutica	Condição de armazenamento (*)	Embalagem	Temperatura e umidade Acelerado (**)
Sólido	15°C -30°C	Semi-permeável	40°C ± 2°C / 75% UR ± 5% UR
Sólido	15°C -30°C	Impermeável	40°C ± 2°C
Semi-sólido ***	15°C -30°C	Semi-permeável	40°C ± 2°C / 75% UR ± 5% UR
Semi-sólido	15°C -30°C	Impermeável	40°C ± 2°C
Líquidos ***	15°C -30°C	Semi-permeável	40°C ± 2°C / 75% UR ± 5% UR
Líquidos	15°C -30°C	Impermeável	40°C ± 2°C
Gases	15°C -30°C	Impermeável	40°C ± 2°C
Todas as formas farmacêuticas	2°C - 8°C	Impermeável	25°C ± 2°C
Todas as formas farmacêuticas	2°C - 8°C	Semi-permeável	25°C ± 2°C / 60 % UR ± 5% UR
Todas as formas farmacêuticas	-20 °C	Todas	- 20°C ± 5°C

Fonte: Adaptado da RE nº 1, de 29 de julho de 2005, ANVISA.

A radiação luminosa pode alterar significativamente a cor e o odor do produto e levar à degradação de componentes da formulação. A periodicidade da avaliação das amostras pode variar conforme experiência técnica, especificações do produto, características especiais de algum componente da formulação ou sistema conservante utilizado, porém o mais usual neste estudo acelerado é que sejam avaliadas inicialmente no tempo zero, 24 horas e aos 7°, 15°, 30°, 60° e 90° dias. De modo geral, avaliam-se características organolépticas: aspecto, cor, odor e sabor, quando aplicável; características físico-químicas: valor de pH, viscosidade e densidade, entre outros; e características microbiológicas: estudo do sistema conservante do produto por meio do teste de desafio efetuado antes e ou após o período de estudo acelerado (ANVISA, 2004).

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a estabilidade preliminar e acelerada de géis após incorporação de lipossomas desenvolvidos a base de lecitina e colesterol.

3.2 Objetivos específicos

- Extrair o amido contido na semente de jaca;
- Extrair lecitina da gema do ovo de galinha;
- Incorporar os lipossomas em gel de amido ou natrosol[®];
- Avaliar a estabilidade das formulações desenvolvidas.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Substâncias e reagentes

- Acetato de sódio - (P.A. Labimpex);
- Acetona P.A. - (Vetec Química Fina Ltda.)
- Água destilada;
- Amido da semente de Jaca - (Camaragipe – PE);
- Amido de milho - (MAIZENA®);
- Colesterol - (Sigma-Aldrich Ltda., lote 8TBC4511V);
- Clorofórmio - (Cinética Reagentes e Soluções);
- Etanol 80% v/v - (Cinética Reagentes e Soluções);
- Fosfatidilcolina de ovo - (Sigma Aldrich Ltda, P3556);
- Hidroxietilcelulose - Natrosol® - (Codossal Ltda);
- Metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) - (Vetec Química Fina Ltda.);
- Metilparabeno - (Codossal Ltda));
- Ovos de galinha
- Trietanolamina - (Codossal Ltda)

4.1.2 Equipamentos

- Agitador tipo vórtex - (AP59, Phoenix);
- Balança Analítica - (Bioprecisa FA-2104N)
- Balança semi-analítica - (Bioprecisa, JH2102));
- Centrífuga - (EEQ – 90041B. Eduotec astral científica);
- Estufa - (BIOPAR, S80ST 800W);
- Espectrofotômetro UV/VIS - (Biospectro SP-220);
- Liquidificador Industrial - (POLI LS-08);
- pHmetro - (QUIMIS Q400MT);
- Rota-evaporador - (QUIMIS Q344B2);
- Viscosímetro Rotativo Analógico - (QUIMIS Q-860A21)

4.1.3 Vidrarias e utensílios diversos

- Balões de fundo redondo;
- Bastões de vidro;
- Béqueres de 250, 600 e 1000 mL;
- Cubetas de Quartzo;
- Erlenmeyers 100 e 500 mL;
- Espátulas de inox;
- Filtro de papel;
- Funis de vidro;
- Placas de Petri;
- Tubos de ensaio;

4.2 Métodos

4.2.1 Extrações

4.2.1.1 Extração do amido da semente de jaca

Seis amostras de sementes de jaca foram submetidas ao processo de extração do amido de acordo com a metodologia descrita por Bobbio, *et al.*, (1978), e ilustrado pela figura 8. Primeiramente foram separadas manualmente do fruto, em seguida se realizou a remoção das películas que as revestem. Posteriormente foram trituradas em um liquidificador industrial, juntamente com uma mesma massa de solução de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) a 0,5% p/v durante cerca de 5 minutos. A solução resultante foi filtrada com auxílio de tamis e filtro de papel para eliminar as fibras das sementes. A suspensão leitosa resultante foi centrifugada por cerca de 10 minutos a uma rotação de 3500 rpm, o precipitado lavado 3 vezes com água destilada para eliminar açúcares solúveis e em seguida lavado com etanol 80% v/v, secado à temperatura ambiente (amostra 6) e em estufa BIOPAR à 45°C durante 12 horas. Ao final, as amostras obtidas foram lacradas com filme PVC e armazenadas em prateleira (temperatura $\pm 25^\circ\text{C}$).

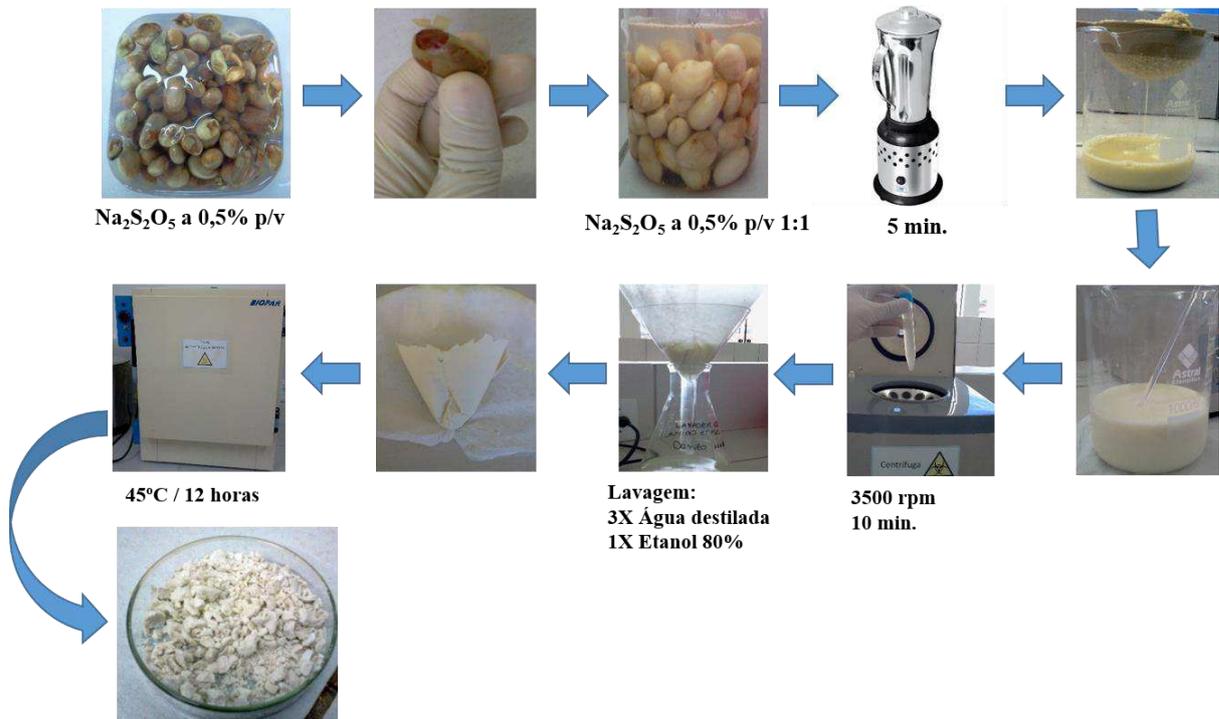


Figura 8 – Processo de extração do amido da semente de jaca.

Fonte: Do autor.

4.2.1.2 Extração da lecitina do ovo de galinha

A extração da lecitina se deu através do tratamento da gema do ovo de galinha com os solventes orgânicos acetona pura e clorofórmio puro, devido se tratar de um fosfolípido solúvel nestes meios e insolúvel em água. O processo está ilustrado pela figura 9.

A gema foi separada da clara e colocada em um béquer, em seguida adicionou-se o dobro de sua massa de acetona, misturou-se bem até homogeneização da mistura e em seguida deixou-se em repouso por 10 minutos. Após decantação do precipitado, filtrou o sobrenadante em papel de filtro mantendo o precipitado no béquer. Adicionou-se mais uma vez o dobro da massa do precipitado de acetona repetindo o processo por mais 4 vezes, até que o precipitado ficasse esbranquiçado. Ao resíduo se adicionou uma massa igual de acetona e verteu todo o conteúdo para filtração em papel de filtro.

Após filtração, o resíduo foi levado à estufa até que ficasse bem seco, eliminando qualquer resquício de acetona. Em seguida, o resíduo foi transferido para um béquer, adicionou-se solvente clorofórmio em quantidade referente ao dobro de sua massa, misturou-se até homogeneização. A mistura foi filtrada através de um papel de filtro e o extrato clorofórmico foi recolhido em um balão de fundo redondo. Ao resíduo retido no filtro, foi

adicionado o mesmo massa de clorofórmio, misturou-se bem e novamente filtrou-se, tendo recolhido o extrato no mesmo balão de fundo redondo utilizado anteriormente. O extrato clorofórmico foi evaporado em evaporador rotatório por 2 horas até que se obtivesse somente o produto lipídico, livre de solventes orgânicos.

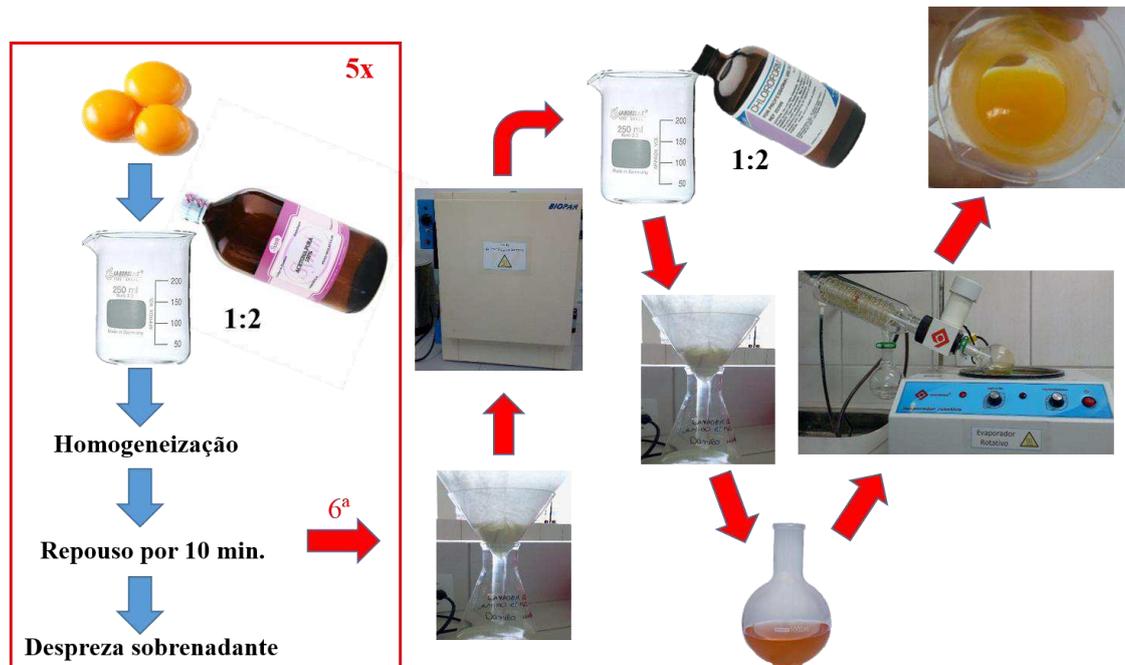


Figura 9 – Processo de extração da lecitina da gema de ovo de galinha.
Fonte: Do autor.

4.2.2 Farmacotécnica dos géis

Foram produzidos três tipos de géis para avaliação de suas estabilidades quando incorporados de lipossomas. Um deles teve como agente gelificante o amido da semente de jaca, outro teve o amido de milho como agente formador de gel e o terceiro se utilizou do Hidroxietilcelulose (Natrosol®).

4.2.2.1 Gel de amido da semente de jaca e gel do amido de milho

Os géis foram obtidos a partir da dissolução do amido a semente de jaca ou do amido de milho em 12% do q.s.p. de tampão acetato de sódio juntamente com o metilparabeno (conservante). Em seguida fez-se a adição do restante de tampão acetato de sódio em ponto de ebulição. As misturas foram submetidas a agitação sob fervura branda por 2 minutos, em seguida deixou resfriar até formação dos produtos gelatinosos. Para cada formulação foram

utilizados 50g de gel de amido para incorporação dos lipossomas. A tabela 2 contempla todos os componentes e as respectivas concentrações utilizadas para produção do gel de amido da semente de jaca e do gel de amido de milho.

Tabela 2 – Formulação dos diferentes géis de amido.

Componentes	Concentração (% p/p)
Amido da semente de jaca ou amido de milho	8,88
Metilparabeno	0,15
Tampão acetato de sódio	q.s.p 100g

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.2.2 Gel de Hidroxietilcelulose (Natrosol[®])

O gel foi obtido a partir da pesagem do hidroxietilcelulose e sua dissolução em tampão acetato de sódio juntamente com o metilparabeno, e posterior adição de trietanolamina. A mistura foi levada à agitação em agitador mecânico até adquirir viscosidade. Para cada formulação foram utilizados 25g de gel de hidroxietilcelulose (Natrosol[®]). A tabela 3 contempla todos os componentes e concentrações utilizadas para produção deste gel.

Tabela 3 – Formulação do gel de hidroxietilcelulose (Natrosol[®])

Componentes	Concentração (% p/p)
Hidroxietilcelulose (Natrosol [®])	2
Metilparabeno	0,15
Trietanolamina	q.s.
Tampão acetato de sódio	q.s.p 100g

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.3 Farmacotécnica dos lipossomas

Os lipossomas foram preparados de acordo com a metodologia de hidratação do filme lipídico descrita por Bangham, *et al.*, (1965), onde os componentes lipídicos (lecitina, colesterol), foram dissolvidos em clorofórmio em um balão de fundo redondo. A mistura foi submetida à evaporação por meio de um evaporador rotatório, até que se observou a completa remoção do solvente e formação do filme lipídico nas paredes do balão. Após retirar o balão de fundo redondo do rota-evaporador, foi adicionado 25 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5, hidratando o filme lipídico por 30 minutos. A dispersão foi agitada em vórtex por 1 min a cada 10 min, até desprendimento total do filme.

4.2.4 Formulações desenvolvidas

Seis amostras de lipossomas previamente preparados foram incorporados à diferentes tipos de géis. O volume de lipossomas incorporado nos géis foi de 25 mL. No caso dos géis de amido, os lipossomas foram incorporados no momento de preparo do gel, na fase em que se realiza a agitação sob fervura branda. Após aproximadamente 2 minutos, deixou-se as misturas resfriarem até que houvesse a formação do produto gelatinoso. No caso dos géis de hidroxietilcelulose (Natrosol[®]), os lipossomas foram incorporados após o gel já ter adquirido viscosidade, no entanto, estando ainda sob agitação em agitador mecânico.

As formulações desenvolvidas com suas respectivas composições seguem conforme a tabela 4:

Tabela 4 – Composições das formulações desenvolvidas.

Formulações	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Composição								
Lecitina (mM)	40	34	40	40	40	34	34	34
Colesterol (mM)	---	6	---	---	---	6	6	6
Gel do amido de milho (g)	---	---	50	---	---	50	---	---
Gel do amido da semente de jaca (g)	---	---	---	50	---	---	50	---
Gel de Hidroxietilcelulose (Natrosol®) (g)	---	---	---	---	25	---	---	25

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.5 Estudos de estabilidade das formulações desenvolvidas

Foi realizado o estudo de estabilidade preliminar e o estudo de estabilidade acelerada das formulações descritas de forma a avaliar a influência dos diferentes componentes.

4.2.5.1 Estudo de estabilidade preliminar

As formulações em triplicata foram submetidas a condições de estresse, visando acelerar o aparecimento de possíveis sinais de instabilidade. De acordo com o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA), o estudo de estabilidade preliminar foi realizado durante 12 dias, sendo as amostras, submetidas a ciclos alternados de congelamento em refrigerador e descongelamento em temperatura ambiente.

Os valores adotados para temperaturas elevadas foi $T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$ e os valores adotados para baixas temperaturas (refrigerador) foi $T = -5 \pm 2^\circ\text{C}$. Foram realizados ciclos de 24 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e 24 horas a $-5 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 12 dias (06 ciclos).

4.2.5.2 Estudo de estabilidade acelerada

Foi realizado o estudo de estabilidade acelerada, onde as amostras, em triplicata, foram armazenadas em prateleira à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) por 15 dias. As análises macroscópicas e parâmetros físico-químicos (viscosidade e pH) foram analisados no tempo T0 (logo após a preparação), T7 (7 dias) e T15 (15 dias).

4.2.6 Controle de qualidade

4.2.6.1 Identificação do amido extraído da semente de jaca

Para a identificação do amido foram realizados três testes, descritos pela Farmacopéia Brasileira 5^a edição. Neste testes foram analisadas amostras de amido de milho (padrão secundário) e amido da semente de Jaca.

- Identificação 1: misturou-se 1g da amostra de amido com 2 mL de água fria, verteu-se sobre 15 mL de água fervente. Ferveu-se, brandamente, durante 2 minutos, sob agitação. Ao resfriar resulta em um produto gelatinoso, claro e translúcido.
- Identificação 2: com a mistura gelatinosa obtida no primeiro teste de identificação, adicionou-se uma gota de iodo SR. Desenvolve-se uma coloração azul, que desaparece pela fervura e retorna pelo resfriamento.
- Identificação 3: com uma solução 1% de amido, foi realizada a titulação de 3 gotas de uma solução de lugol forte, obtém-se uma mistura de coloração escura, tendendo para o roxo.

4.2.6.2 Varredura dos lipossomas no espectrofotômetro UV/VIS

Foi realizada uma varredura no intervalo de 200 a 460 nm a uma temperatura de 25°C para identificar o melhor comprimento de onda da amostra. Alíquotas de $100\mu\text{L}$ das dispersões de lipossomas foram adicionados a 4 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5, transferidas para uma cubeta de quartzo e lidas as absorbâncias.

4.2.6.3 Turbidimetria

CHORILLI, *et al.*, utilizou a turbidimetria para monitorar a formação de lipossomas unilamelares pequenos (SUV) enquanto estes eram sonicados até que se obtivesse valores de absorvância constantes, indicando homogeneidade das dispersões de lipossomas. Neste trabalho a turbidimetria foi utilizada para avaliar a formação dos lipossomas constituídos de lecitina e colesterol, visando identificar se houve homogeneidade na formação dos lipossomas MLVs no tempo 0 (T0), em comprimento de onda determinado durante a varredura no espectrofotômetro UV/VIS, utilizando o espectrofotômetro Biospectro SP-220.

4.2.6.4 Teste de centrifugação

Em tubos de ensaio específicos para centrífuga foram adicionados 03 gramas das formulações, medidos em balança semi-analítica, e submeteu-os a um ciclo de 3000 rpm durante 30 minutos visando avaliar seus comportamentos.

4.2.6.5 Determinação de pH

Através do método potenciométrico, foi realizada a aferição do pH das amostras. O pH das amostras foi verificado em triplicata em temperatura ambiente, inserindo o eletrodo do pHmetro (QUIMIS Q400MT) em cada amostra.

4.2.6.6 Determinação de viscosidade

A viscosidade foi realizada em triplicata utilizando-se para determiná-la, um viscosímetro Rotativo Analógico Quimis, modelo Q-860. Dependendo da faixa de viscosidade da amostra, selecionou o rotor (spindle) adequado. A seguir, mergulhou o rotor diagonalmente na amostra, conforme especificado, isenta de bolhas, até a marca (sulco) da

haste do rotor, e nivelou o aparelho. Verificada a ausência de bolhas junto ao fuso, procedeu-se à leitura da viscosidade, de acordo com o procedimento operacional do aparelho.

Cálculo:

$$\eta = k \cdot \alpha$$

Onde:

η = Viscosidade da amostra em centipoises (cps);

k = Coeficiente;

α = Leitura indicada pelo ponteiro do viscosímetro.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração do amido da semente de Jaca

Foram realizadas 6 extrações de amido das sementes de jaca, onde se obteve os rendimentos descritos na tabela 5. O processo de extração apresentou um rendimento médio de 10,51% p/p em relação ao peso das sementes após serem descascadas, valor compreendido na faixa de rendimento médio (10-15% p/p) descrito por Bobbio, *et al.*, (1978), e superior ao rendimento de 8,91% descrito no trabalho de Silva, *et al.*, (2008).

Tabela 5 - Rendimento das extrações do amido da semente de jaca.

Amostras das Sementes descascadas (g)	Amido obtido após secagem (g)	Rendimento (%)
A1 - 297,71	20,62	6,92
A2 - 330,00	27,90	8,45
A3 - 348,75	48,07	13,78
A4 - 493,27	34,06	6,90
A5 - 530,85	71,24	13,41
A6 - 540,21	73,51	13,60
MÉDIA 423,46g	45,90g (± 22,41)	10,51 (± 3,43)

FONTE: Dados da pesquisa.

Como pode ser observado, o rendimento de cada extração não foi dependente da quantidade de sementes utilizadas, já que as amostras A3, A5 e A6 tiveram rendimentos com valores próximos, embora a amostra A3 tenha sido composta por uma menor quantidade de sementes de jaca descascadas. O mesmo ocorre com as amostras A1, A2 e A4.

Alguns fatores podem ter contribuído para a diferença entre os rendimentos obtidos, dentre eles podemos citar o tempo de congelamento das sementes, a origem do fruto, características inerentes ao solo da região da árvore produtora do fruto (que podem ter influenciado na composição das sementes), além dos possíveis erros no processo de extração.

5.2 Extração da lecitina do ovo

Foi obtido um produto lipídico líquido, viscoso e de cor amarela (figura 10), que foi utilizado como matéria-prima para produção de lipossomas seguindo a metodologia da hidratação do filme lipídico.



Figura 10 – Lecitina extraída da gema do ovo.
Fonte: Arquivo próprio.

5.3 Farmacotécnica dos géis

Foram obtidos três tipos de géis: gel de amido da semente de jaca, gel de amido de milho e gel de hidroxietilcelulose (Natrosol[®]).

5.4 Farmacotécnica dos lipossomas

Foram obtidas dispersões leitosas formadas por misturas heterogêneas de vesículas multilamelares (MLVs).

5.5 Formulações desenvolvidas

Todas as formulações lipossômicas apresentaram-se como soluções leitosas de coloração amarelada. Após incorporação nos géis, as formulações F3 e F6 formaram um produto de cor amarelo claro, e aparência de creme. As formulações F4 e F7, formaram um

produto de coloração mais escura, tendendo ao castanho, devido à cor do gel de amido da semente de jaca. As formulações F5 e F8 formaram um produto de cor amarelada, viscoso, com ponto de “liga” e aparência de gel-creme.

5.6 Estudos de Estabilidade das formulações desenvolvidas

5.6.1 Estudo de estabilidade preliminar

O estudo de estabilidade preliminar seguiu conforme o cronograma descrito na tabela 6.

Tabela 6 - Cronograma dos ciclos gelo-degelo

Ciclo 24h a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 24h a $-5 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 12 dias

DATAS DAS ANÁLISES (dd/mm/aaaa)

	Temperatura ($-5 \pm 2^\circ\text{C}$)	Temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$)
1° Ciclo	04/01/2014	05/01/2014
2° Ciclo	06/01/2014	07/01/2014
3° Ciclo	08/01/2014	09/01/2014
4° Ciclo	10/01/2014	11/01/2014
5° Ciclo	12/01/2014	13/01/2014
6° Ciclo	14/01/2014	15/01/2014

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao fim do ciclo gelo-degelo se observou que as formulações de lipossomas que não foram incorporadas em géis (F1 e F2) foram instáveis, uma vez que se observou o fenômeno de separação de fases em ambas amostras. É importante ressaltar que o fenômeno de separação de fases já era possível de ser observado logo após o primeiro ciclo. Na formulação F1 se observou a formação de um anel oleoso/lipídico na superfície da amostra e, na formulação F2 se observou a formação de um conteúdo com aparência de massa encobrindo toda a superfície das amostras, como pode ser visto na figura 11. A diferença entre os

produtos formados nas duas formulações provavelmente é decorrente da presença do colesterol utilizado na preparação da formulação F2.

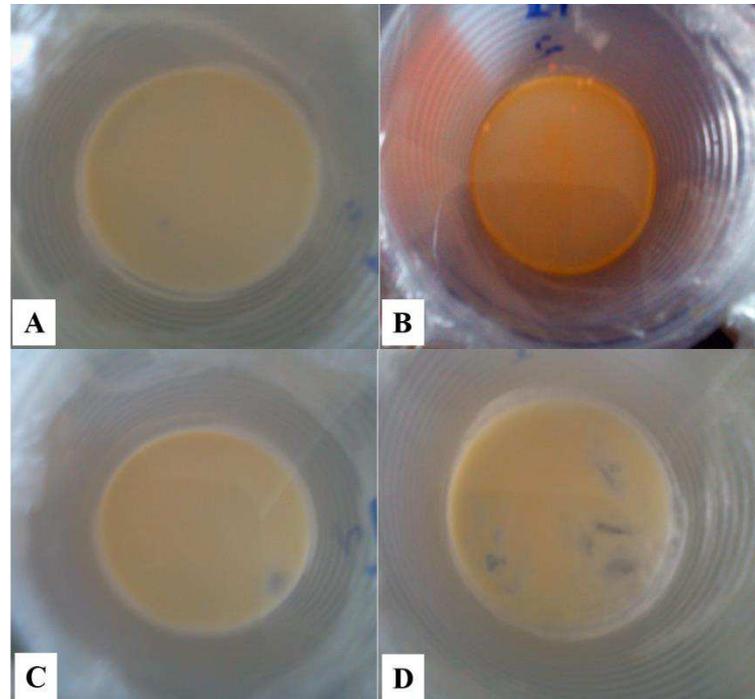


Figura 11 – Formulações F1 E F2. (A) F1 logo após preparo; (B) F1 após os ciclos gelo-degelo; (C) F2 logo após preparo e (D) F2 após ciclos gelo-degelo.

Fonte: Arquivo próprio.

As formulações em que os lipossomas foram incorporados em géis de amido (F3, F4, F6 e F7) apresentaram comportamento semelhante durante a passagem dos ciclos de gelo-degelo. Ao final de cada ciclo era possível notar a presença de um conteúdo aquoso liberado pelos géis e a formação de uma estrutura com aspecto de esponja. Essa perda de água se trata do fenômeno de sinérese, que ocorre devido à retrogradação e mudanças na textura de géis de amido que são submetidos a processos de congelamento e descongelamento (WEBER, *et al*, 2008). Após os 6 ciclos gelo-degelo o conteúdo aquoso liberado pelos géis foi bem evidente. Isso deve-se ao fato de que uma vez resfriados, ou ainda, congelados, os polímeros de amido se reagrupam liberando água e danificando o gel formado (SILVA, *et al*, 2006). No entanto, não se observou acúmulo, separação ou liberação de conteúdo lipídico nas amostras, levando a crer que embora os géis tenham se apresentado instáveis perante o estresse de alternância de temperaturas, eles não permitiram que ocorressem fenômenos de cremagem ou fusão das vesículas lipídicas como foi observado nas amostras F1 e F2, que não foram incorporadas em géis.

As formulações que continham gel de hidroxietilcelulose (Natrosol®) em sua composição (F5 e F8) se mostraram mais estáveis, se comparadas com as demais amostras, uma vez que suas características macroscópicas foram mantidas, e por não ter havido liberação de conteúdo aquoso nem separação de fases.

Para realização da análise da viscosidade após os ciclos gelo-degelo, foi necessário que se submetesse as formulações que continham géis de amido a aquecimento para que estas retomassem ao estado de gel, pois como exposto anteriormente, essas formulações resultaram na formação de uma estrutura com aspecto esponjoso, o que impossibilitou a análise da viscosidade.

Os resultados do controles de pH e viscosidade das amostras estão apresentados na tabela 7. Se observou um aumento no pH de todas as amostras avaliadas no estudo de estabilidade preliminar.

Tabela 7 –Parâmetros físico-químicos avaliados no estudo de estabilidade preliminar

Amostras	pH		Viscosidade (cPs)	
	T0	Após ciclos	T0	Após os ciclos
F1	6,84 (± 0,09)	7,77 (± 0,08)	----	----
F2	6,99 (± 0,01)	7,88 (± 0,28)	----	----
F3	6,40 (± 0,04)	7,03 (± 0,06)	1413 (± 46,18)	2566 (± 57,73)
F4	6,53 (± 0,07)	6,61 (± 0,03)	2740 (± 60,00)	2316 (± 76,37)
F5	6,16 (± 0,08)	7,10 (± 0,06)	2563 (± 55,07)	2388 (± 49,11)
F6	6,44 (± 0,05)	6,86 (± 0,07)	1706 (± 90,18)	2300 (± 100,00)
F7	6,09 (± 0,01)	6,53 (± 0,04)	3326 (± 70,23)	2966 (± 57,47)
F8	6,61 (± 0,03)	7,05 (± 0,07)	3526 (± 23,09)	3040 (± 80,00)

Fonte: Dados da pesquisa.

Nesta tabela fica evidente que ocorre uma diferença significativa na viscosidade das formulações formadas pelo mesmo tipo de gel, mas com diferentes formulações lipossômicas incorporadas. Em T0 se observa que a viscosidade é maior nas formulações em que lipossomas constituídos de lecitina e colesterol foram incorporados, apresentando uma diferença de 293 cPs entre as formulações F3 e F6, 586 cPs entre as formulações F4 e F7 e

963 cPs entre as amostras F5 e F8, indicando que a presença do colesterol nas formulações F6, F7 e F8 contribuiu para um aumento da viscosidade destas.

A análise da viscosidade após os ciclos evidencia que as formulações F3 e F6 tiveram uma elevação da viscosidade após o aquecimento a que foram submetidas, ao contrário das formulações F4 e F7, que tiveram valores de viscosidade mais baixos do que os obtidos no T0. Sendo estas formulações constituídas de géis de amido, a explicação para essa diferença de viscosidade se baseia no fato de que o amido da semente de jaca tenha menor concentração de amilose do que o amido de milho, o que pode ter influenciado na reorganização do gel após passar pelo reaquecimento e conseqüentemente na sua viscosidade.

Se observou que a incorporação dos lipossomas nestes géis possibilitou que não ocorresse o fenômeno de cremagem nas formulações lipossômicas, indicando que, embora as condições de temperatura submetidas no estudo de estabilidade preliminar sejam inviáveis para sua estabilidade, estes seriam bons veículos para tais vesículas uma vez que atribuiriam estabilidade pela prevenção de fenômenos de instabilidade. O gel de natrosol, como apresentou características inalteradas após o estudo preliminar, pode ser considerado um possível candidato a veículo de lipossomas, pois ao evitar o fenômeno de cremagem das vesículas, estará atribuindo estabilidade a elas.

5.6.2 Estudo de estabilidade acelerada

Sete dias após o início do estudo de estabilidade acelerada, foi possível observar a proliferação de microorganismos na triplicata 2 da formulação F1. Este fenômeno pode ser atribuído às condições em que se encontrava a amostra, pois o alto conteúdo aquoso, ausência de conservantes e a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) possibilitaram o crescimento microbiano. Também se observou a formação de um anel lipídico na superfície da amostra e a presença de precipitado, indicando a instabilidade desta formulação. É importante destacar que a instabilidade pôde ser observada após 24 horas de sua manipulação, pois foi possível visualizar discreta separação de fases pela aglomeração de partículas lipídicas na superfície.

A formulação F2 também se mostrou instável, uma vez que após 48 horas de sua manipulação já era possível perceber que na superfície da amostra havia um acúmulo de partículas parecidas com flocos, admitindo-se que se trata do fenômeno de floculação, o que gera a agregação e deformação das partículas lipídicas. Não houve a presença de

precipitados. Passados 7 dias, se observou a completa separação de fases, com a presença de uma camada “massenta” na superfície da amostra.

As formulações F4 e F7, que continham lipossomas incorporados em gel de amido da semente de jaca se mostraram instáveis passados 7 dias de seu preparo, uma vez que se observou a completa desestruturação do gel, liberação de bastante conteúdo aquoso e aglomeração do amido no centro da amostra (fenômeno de sinérese). As formulações F3 e F6, que continham lipossomas incorporados em gel de amido de milho se mostraram estáveis passados 7 dias, pois não se observou liberação de líquidos nem alteração em suas características macroscópicas, ou seja, não se observou a ocorrência de sinérese nestas formulações. A sinérese ocorre além dos casos em que há congelamento das amostras, uma vez que com o passar do tempo as cadeias de amido tendem a interagir mais fortemente entre si, ocorrendo um rearranjo das moléculas por ligações de hidrogênio, favorecendo a retrogradação e obrigando a água a sair (MUNHOZ, *et al*, 2004; ADITIVOS, 2014).

As formulações F5 e F8, formadas por lipossomas incorporados em gel de natrosol também se mostraram estáveis após o 7º dia, visto que não se observou alteração em suas características macroscópicas.

Quinze dias após à submissão ao estudo acelerado, as formulações F3 e F6 tiveram uma maior liberação de conteúdo aquoso do que o observado no 7º dia, havendo também a aglomeração de amido no centro das amostras, o que ocorreu também com as formulações F4 e F7. A formulação F5 apresentou uma diminuição da viscosidade também após 15 dias, como se ocorresse a desestruturação do gel. Na formulação F8 ocorreu desestruturação do gel, separação de fases, acúmulo de líquido transparente na parte inferior da amostra durante este mesmo período de estudo. O pH de todas as amostras apresentou variações durante o estudo de estabilidade acelerada (tabela 8).

Tabela 8 - Registros do pHs das formulações durante estudo acelerado.

Formulações	T0	T7	T15
F1	7,11 (\pm 0,03)	8,04 (\pm 0,09)	8,23 (\pm 0,02)
F2	7,18 (\pm 0,01)	7,98 (\pm 0,01)	8,29 (\pm 0,07)
F3	6,49 (\pm 0,03)	6,61 (\pm 0,01)	5,86 (\pm 0,06)
F4	6,16 (\pm 0,07)	6,98 (\pm 0,13)	6,88 (\pm 0,15)
F5	6,63 (\pm 0,05)	7,10 (\pm 0,01)	7,06 (\pm 0,20)
F6	6,37 (\pm 0,06)	6,85 (\pm 0,11)	5,97 (\pm 0,11)
F7	6,13 (\pm 0,01)	7,00 (\pm 0,14)	6,63 (\pm 0,18)
F8	6,67 (\pm 0,02)	7,26 (\pm 0,06)	7,11 (\pm 0,08)

Fonte: Dados da pesquisa.

A viscosidade está diretamente ligada ao grau de estabilidade da rede polimérica formada pelos agentes gelificantes. Sendo assim, quando se observa uma queda nos valores da viscosidade, pode-se atribuir ao fato da ocorrência do rompimento ou desestruturação dessa rede polimérica formadora de gel, que pode ser causada por uma mudança de pH do meio ou interação do agente gelificante com algum outro componente (SANTOS, 2013). No caso dos géis de amido a diminuição da viscosidade pode ser atribuída ao fenômeno de sinérese. A tabela 9 expressa os valores de viscosidade das amostras durante o tempo de estudo.

Tabela 9 – Viscosidade (cPs) das formulações durante o estudo acelerado.

Formulações	T0	T7	T15
F1	----	----	----
F2	----	----	----
F3	1466 (\pm 115,42)	1490 (\pm 10,00)	1474 (\pm 238,05)
F4	2668 (\pm 102,13)	2770 (\pm 75,49)	2580 (\pm 163,70)
F5	2866 (\pm 115,75)	2988 (\pm 102,13)	2805 (\pm 202,54)
F6	2026 (\pm 109,67)	2230 (\pm 30,00)	2134 (\pm 84,30)
F7	3200 (\pm 200,00)	3332 (\pm 303,76)	3220 (\pm 75,49)
F8	3613 (\pm 97,86)	3743 (\pm 217,70)	3350 (\pm 226,05)

Fonte: Dados da pesquisa.

5.7 Controle de qualidade

5.7.1 Identificação do amido extraído da semente de jaca

Seguindo a Farmacopéia Brasileira 5ª edição, foi realizado o teste de gelificação para identificação do amido, tendo como comparativo o amido de milho MAIZENA®. Os resultados foram semelhantes aos descritos no Código Oficial Farmacêutico, como pode ser observado na figura 12, em que do amido de milho se obteve um produto gelatinoso, claro e opaco, e do amido da semente de jaca se obteve um produto gelatinoso, opaco e com coloração que tende para o castanho. A capacidade do amido de formar esse produto gelatinoso se deve ao intumescimento dos seus grânulos, que ocorre quando são submetidos a aquecimento com excesso de água (CEREDA, 2002). O intumescimento ocorre quando a temperatura se aproxima de 65°C, no entanto a temperatura exata depende da natureza do amido. Nessa fase de intumescimento o grão tem seu volume bastante aumentado em relação ao seu volume inicial, devido à diminuição do entrecruzamento entre cadeias de amilose e amilopectina, fazendo com que a viscosidade da suspensão cresça sensivelmente (BERNARDO, *et al*, 2008).

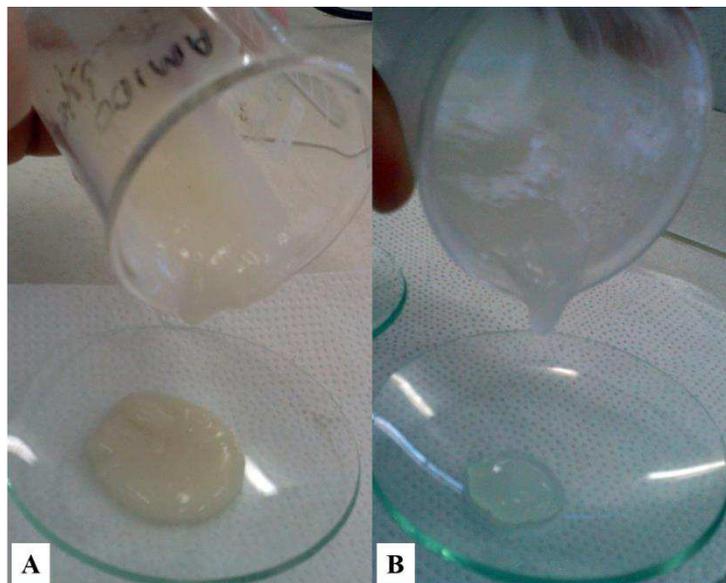


Figura 12 – Identificação 1 do amido: (A) Produto gelatinoso do amido da semente de jaca, (B) produto gelatinoso do amido de milho.

FONTE: Arquivo Próprio

Ao adicionar o lugol foi possível observar que os produtos gelatinosos adquiriram coloração azul, que desapareceu após a fervura (Figura 13). O surgimento dessa coloração é resultado de uma reação que ocorre entre o iodo e as cadeias de amilose, que forma um complexo azul, o que não acontece com as cadeias de amilopectina do amido e o iodo (DA SILVA, *et al*, 2008).

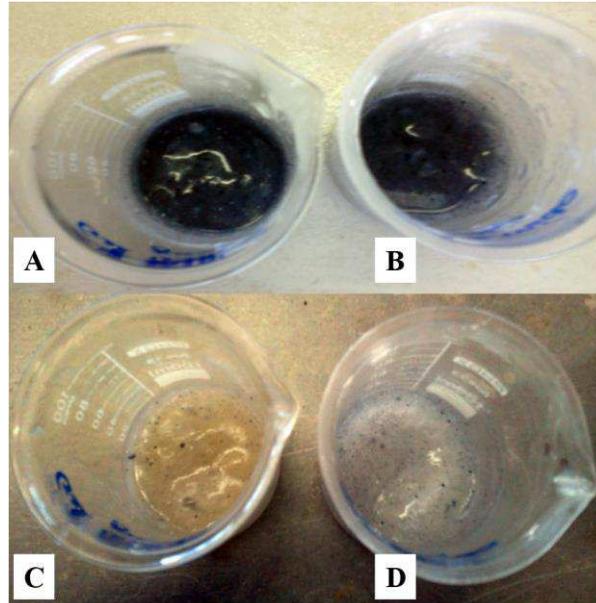


Figura 13 – Identificação 2 do amido: (A) Produto gelatinoso do amido de jaca adicionado de lugol, (B) Produto gelatinosos do amido de milho adicionado de lugol, (C) Produto gelatinoso do amido de jaca após fervura, (D) produto gelatinoso do amido de milho após fervura.

FONTE: Arquivo Próprio.

A mesma reação entre o iodo e a amilose pode ser observada com amido em solução aquosa, como pode ser visto na figura 14, em que foi preparada uma solução de amido 1% e adicionou 3 gotas de lugol, resultando numa solução de coloração escura que tende para o roxo.

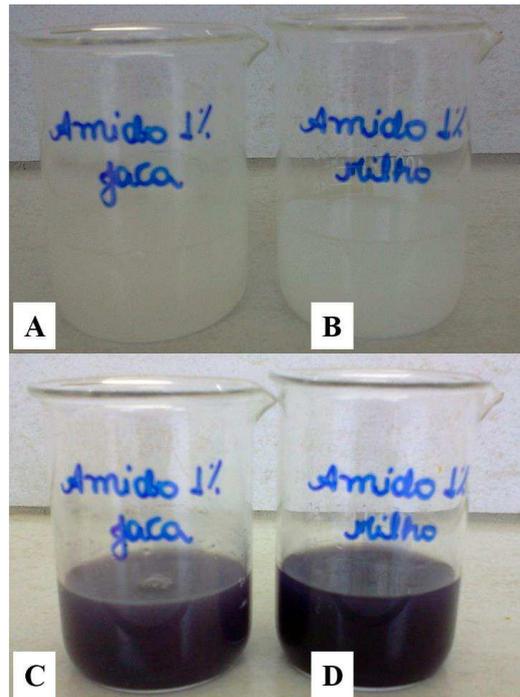


Figura 14 – Identificação 3 do amido: (A) Solução de amido da semente de jaca 1%, (B) Solução de amido de milho 1%, (C) Solução de amido da semente de jaca 1% + 3 gotas de lugol, (D) Solução de amido de milho 1% + 3 gotas de lugol.

FONTE: Arquivo Próprio

5.7.2 Varredura dos lipossomas no espectrofotômetro UV/VIS

As amostras da lecitina extraída da gema do ovo e da lecitina da empresa Sigma foram submetidas a uma varredura, em triplicata, no espectrofotômetro UV/VIS, variando o comprimento de onda de 200nm a 460nm. Comparando-as, pôde-se observar uma semelhança no comportamento do gráfico que expressa as absorbâncias dos lipossomas formados, indicando que o produto extraído da gema do ovo permite a obtenção de lipossomas com espectro de absorção semelhante à lecitina da Sigma (figura 15). A diferença nos valores das absorbâncias pode ser atribuída às impurezas presentes no produto extraído do ovo, que não passou por nenhum processo de refinamento e/ou purificação, o que possivelmente gerou interferentes no momento da leitura no espectrofotômetro ou até mesmo, possibilitou a formação de lipossomas de tamanhos diferenciados daqueles formados pela lecitina da empresa Sigma.

De acordo com o espectro de varredura, se observou que a maior absorção ocorreu na região de 200 – 220 nm. No entanto, é importante ressaltar que os fosfolípidios não exibem

picos de absorção específicos, e que devido à presença de grupos funcionais como carboxila e fosfato, há uma absorção razoável nessa região de comprimento de onda (CHORILLI, *et al*, 2007b). Como essa região é crítica pois muitas substâncias são absorvidas nesta faixa, optou-se por adotar a região de 370nm como a mais correta para avaliar a formação dos lipossomas, sendo portanto, o comprimento de onda selecionado para as análises.

Visto o alto custo para aquisição de uma lecitina industrializada e purificada, decidiu-se que os lipossomas desta pesquisa iriam ser formulados utilizando-se o produto extraído da gema do ovo, uma vez que segundo a varredura realizada, ele permite a formação de lipossomas com absorbâncias semelhantes àqueles formados pela lecitina da empresa Sigma, é de fácil obtenção e baixo custo para extração.

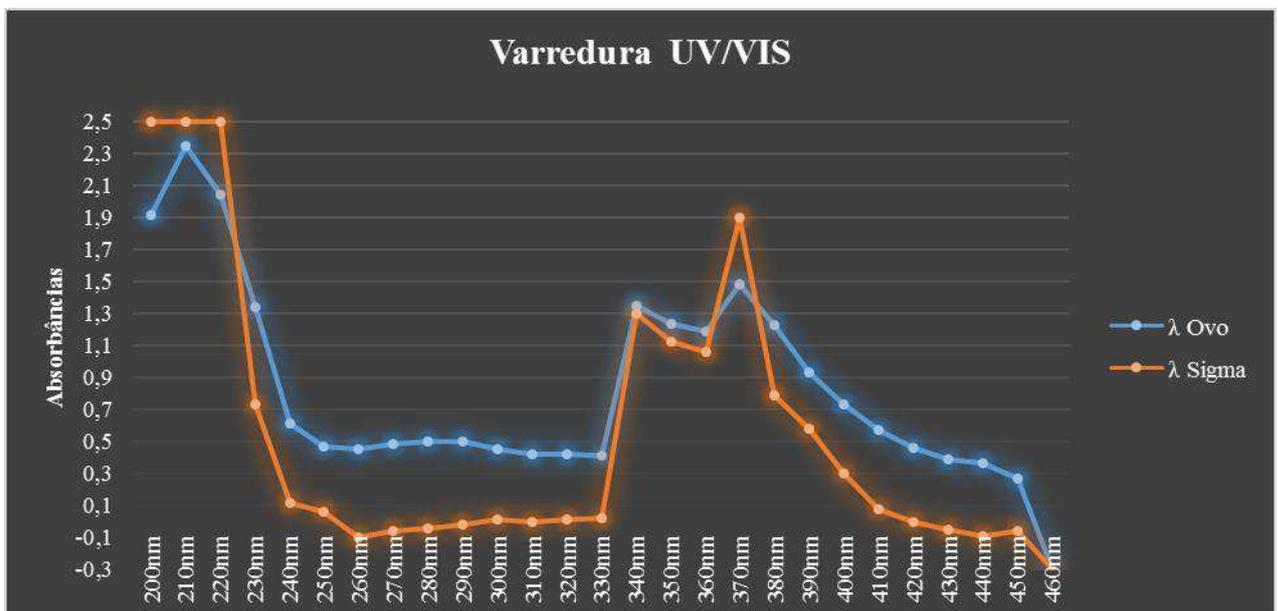


Figura 15 – Varredura em espectrofotômetro na região UV/VIS de 200nm a 460nm. Lipossomas formados a partir da lecitina da empresa Sigma Aldrich (linha laranja) e do produto extraído da gema do ovo (linha azul).

5.7.3 Turbidimetria

Se realizou a leitura das absorbâncias de todas as formulações lipossômicas logo após o preparo, visando monitorar a formação dos lipossomas.

Como pode ser observado na tabela 10, as amostras nas quais os lipossomas eram compostos apenas pela lecitina extraída da gema do ovo (L1, L3, L4 e L5) apresentaram valores de absorbância menores que aquelas em que tinham o colesterol em sua composição

(L2, L6, L7 e L8). Este fenômeno indica que as formulações constituídas por lecitina e colesterol promoveram a formação de lipossomas maiores, que assim como citado por ALVES, *et al*, (2007), este aumento do diâmetro das vesículas deve-se a melhores características de empacotamento da bicamada.

Tabela 10 – Turbidimetria das formulações lipossômicas em 370nm (n=8)

Lipossomas	Absorbâncias	D.P.	C.V. (%)
L1	1,045	0,007	0,006
L2	1,312	0,048	0,036
L3	1,045	0,017	0,016
L4	1,162	0,046	0,039
L5	1,130	0,047	0,041
L6	1,216	0,005	0,004
L7	1,235	0,051	0,041
L8	1,293	0,024	0,018

*D.P. = desvio padrão; C.V.= coeficiente de variação.

Fonte: Dados da pesquisa.

5.7.4 Teste de centrifugação

Dentre os géis sem adição de lipossomas, somente o gel de natrosol se apresentou estável frente ao teste de centrifugação. O gel de amido da semente de jaca e o gel de amido de milho liberaram pequena quantidade de água após o teste (figura 16).

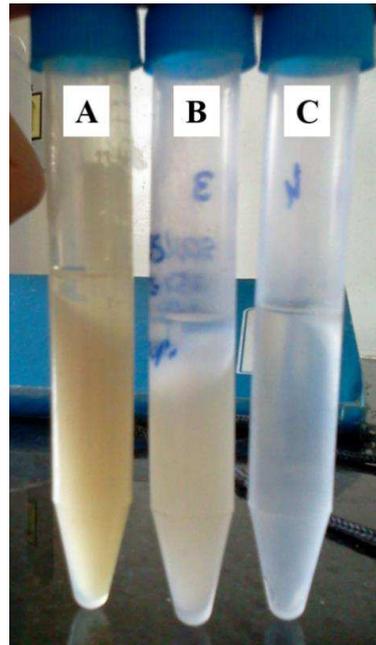


Figura 16 – Géis após teste de centrifugação. (A) Gel do amido da semente de jaca; (B) Gel do amido de milho e (C) Gel de natrosol.

As demais amostras podem ser visualizadas na figura 17. Percebe-se que as formulações F1 e F2, apresentaram depósito no fundo dos tubos de ensaio e um sobrenadante de cor laranja na superfície do conteúdo do tubo. As amostras F3, F4, F6 e F7 mostraram-se instáveis devido à liberação de conteúdo aquoso, enquanto que as amostras F5 e F8 não apresentaram liberação de conteúdo aquoso, apenas um acúmulo lipídico na superfície da amostra.

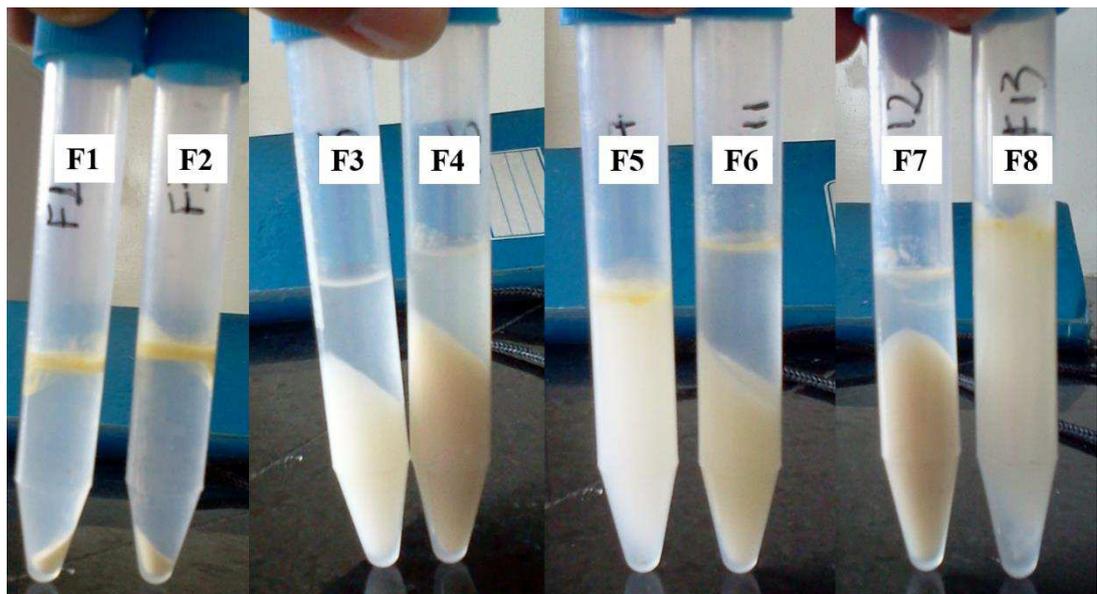


Figura 17 – Formulações após teste de centrifugação.

Fonte: Arquivo próprio.

6.0 CONCLUSÕES

Foi possível extrair o amido das sementes de jaca, a extração teve um rendimento médio de 10,51% p/p em relação ao peso das sementes descascadas, sendo este valor semelhante aos rendimentos divulgados na literatura pesquisada. O amido extraído foi aprovado segundo os testes de identificação empregados, uma vez que seus resultados foram análogos aos descritos na Farmacopéia Brasileira 5ª edição.

A metodologia empregada para extração da lecitina do ovo de galinha permitiu a obtenção de um produto lipídico, viscoso de cor amarela, que quando utilizado para fabricação dos lipossomas deste trabalho, possibilitou a formação de vesículas lipídicas do tipo MLV com absorbâncias na região do UV/VIS equivalentes àquelas dos lipossomas formados pela lecitina adquirida da empresa Sigma. Isto foi comprovado através da realização de varredura no espectrofotômetro UV/VIS. No teste de turbidimetria, observou-se que os lipossomas constituídos de lecitina e colesterol tiveram valores de absorbância maiores que aqueles formados apenas por lecitina.

A partir dos estudos de estabilidade realizados, foi possível observar que as formulações de lipossomas as quais não foram incorporadas em géis sofreram o fenômeno de cremagem e/ou coalescência, gerando total separação de fases em até 48 horas após seu preparo.

As formulações em que continham géis de amido (de milho e da semente de jaca) se mostraram instáveis, uma vez que tanto no estudo de estabilidade preliminar quanto no estudo de estabilidade acelerada, sofreram o fenômeno de sinérese (liberação de água) e consequente deformação do gel. No entanto, se observou que nenhuma das amostras apresentou separação de fases no que se diz respeito aos lipídios das formulações (lipossomas), levando a crer que embora instáveis, esses géis permitiram que os lipossomas não sofressem os fenômenos de instabilidade observados nas formulações que não foram incorporadas em géis (cremagem e coalescência). Os géis de amido, devido a características particulares do polímero, necessitaram de aquecimento para retomar à forma de gel (no estudo de estabilidade preliminar), o que pode ser desfavorável para estabilidade dos lipossomas. Já os géis de hidroxietilcelulose não necessitaram de etapas de aquecimento, o que pode ser uma vantagem com relação aos géis de amido devido à preservação dos lipossomas.

Já as formulações que continham lipossomas incorporados em géis de hidroxietilcelulose (Natrosol®), se mostraram estáveis frente ao estudo de estabilidade preliminar, visto que não sofreram alterações perceptíveis até o fim do estudo. Porém, quando

submetidas ao estudo de estabilidade acelerada, se observou que após o 15º dia (T15) a viscosidade havia diminuído, tornando-se a formulação mais fluida.

Portanto, se conclui que os géis são uma boa opção como veículos para lipossomas, pois a “malha” formada pela rede de polímeros dos agentes gelificantes previnem que ocorra a cremagem e a coalescência das vesículas lipídicas. Sendo assim, ao gel de hidroxietilcelulose (Natrosol®) atribuiu-se a condição de veículo viável para incorporação de lipossomas, pois otimizou a estabilidade de lipossomas à temperatura ambiente, sendo considerado uma alternativa economicamente vantajosa para atribuir estabilidade a esses sistemas lipídicos, pois normalmente, dependendo da finalidade, a apresentação de lipossomas é em forma liofilizada com adição de agente crioprotetor, e um dos principais problemas do processo de liofilização é seu alto custo.

REFERÊNCIAS

ADITIVOS & INGREDIENTES. Amidos: fontes, estruturas e propriedades funcionais. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materiais/124.pdf> Acesso em: 14 de jan. 2014.

ALLEN, L.V., POPOVICH, N. G., ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 8 ed. Sede São Paulo: Artmed, 2007. 775p

ALVES, C.P.I.; DINIZ, D.G.A.; LIMA, E.M. Estudo da encapsulação da isotretinoína em lipossomas. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Vol. 3, 79-85, 2007.

ALVES, M.I.N. **Formulações Nanoestruturadas de Retinol**. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa. Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Porto. 2012.

AMARAL, L.I.V.; GASPAR, M; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**. 425-431, 2007.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. Volume 2. 5ª edição Brasília, 2010.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Série Qualidade. Volume 1. Brasília, 2004.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para Realização de Estudos de Estabilidade. Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005**. Brasília, 2005.

AULTON, E.M. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 56-73, 120-123.

BARBOSA, L.S.; REIS, R.C.; COLARES, C.J.G.; BARBOSA, L.S.; ASCHERI, D.P.R. **Caracterização Físico-Química do Amido Extraído da Semente da Fruta *Swartzian***

Langsdorffii. Anais do VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS, 10 a 12 de novembro de 2010.

BATISTA, C.M.; CARVALHO, C.M.B.; MAGALHÃES, N.S.S. **Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol.43, n. 2, abr./jun., 2007.

BERNARDO, L.D; BERNARDO, A.S.D.; FROLLINI, E. MARINELLI, P.S. **Emprego de amidos de milho catiônico comum e híbrido como auxiliares de coagulação/floculação**. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. [S.I.: s.n.], 2008.

BOBBIO, F.O.; EL-DASH A.A., BOBBIO, P.A.; RODRIGUES, L.R. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of jackfruit seeds (*Artocarpus heterorphyllus*). **Cereal Chem.** 55, 505-11. 1978.

BRAGA, R.R. **Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para Determinação de Alantoína em Lipossomas e Formulações Tópicas**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

CEPPA, B. **Sujidades e fraudes em amidos e féculas**. Curitiba, vol. 9, p. 1-8, jan./jun. 1991.

CEREDA, M.P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo, Fundação Cargill, 221 p. (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas, v. 1), 2002.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G.R.; OLIVEIRA, A.G. SCARPA, M.V. Lipossomas em formulações dermocosméticas. **Infarma**. V.16, nº 7-8, 2004.

CHORILLI, M.; RIMÉRIO, T.C.; OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V. Estudo da Estabilidade de Lipossomas Compostos de Fosfatidilcolina de Soja e Fosfatidilcolina de Soja Hidrogenada Adicionados ou Não de Colesterol por Método Turbidimétrico. **Latin American Journal of Pharmacy**. 26 (1): 31-7, 2007a.

CHORILLI, M.; RIMÉRIO, T.C.; OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V. Estudo da estabilidade de lipossomas unilamelares pequenos contendo cafeína por turbidimetria. **Revista Brasileira Farm.**, 88(4): 194-199, 2007b.

CHORILLI, M.; RIMÉRIO, T.C.; OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V. Obtenção e Caracterização de Lipossomas Unilamelares Pequenos contendo Cafeína. **Latin American Journal of Pharmacy**. 26 (5): 715-22, 2007c.

CONCEIÇÃO, A.I.F.S.; MATOS, C.M.; MOUTINHO, C.G.; BALCÃO, V.M. Lipossomas: Vectores atractivos e versáteis para o direcionamento de (bio)fármacos. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, nº 7, p. 168-178, 2010.

CORRÊA, N.M.; CAMARGO JUNIOR, F.B.; IGNÁCIO, R.F.; LEONARDI, G.R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v.41, n. 1, 2005.

DA SILVA, A.P.; BARBOSA, H.R.; ASCHERI, D.P.R.; MOURA, W.S. **Propriedades físico-químicas do amido da semente de jaca (*Artocarpus heterophyllus*)**. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/13/13-214-4574.htm>> Acessado: 16/08/2012.

ELEVITCH, C.R.; MANNER H.I. ***Artocarpus heterophyllus* (jackfruit)**. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. [s.n], 2006.

FERREIRA, S.H. **Guia Prático da Farmácia Magistral. Boas Práticas de Manipulação**. P.159-197. Juiz de Fora, 2000.

FRÉZARD, F.; SCHETTINI; ROCHA, O.G.F.; DEMICHELI, C. Lipossomas: Propriedades Físico-químicas e Farmacológicas, Aplicações na Quimioterapia à Base de Antimônio. **Química Nova**, vol. 28. No. 3, 511-518, 2005.

GAYOSO, L.C. **Delineamento e caracterização de lipossomas contendo nimodipina para uso direcionado a doenças neurodegenerativas**. Dissertação de Mestrado. Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Piauí, 2011.

GIUBERTI, C. S. **Estudo da estabilidade e produção piloto de lipossomas pH-sensíveis furtivos de cisplatina.** Dissertação de pós-graduação. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

JAGADEESH, S.L. *et al.* **Chemical composition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) selections of Western Ghats of India.** Food Chemistry, Vol. 102, pp. 361-365, 2007.

LOPES, C.M.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Rev. Bras. Cienc. Farmac.**, v.41, n. 2, p. 143-15, 2005.

MERTINS, O. **Desenvolvimento e Caracterização de Nanovesículas Lipossômicas Compósitas de Fosfatidilcolina de Lecitina de Soja e Quitosana.** Dissertação de Mestrado em Química, UFRGS, Porto Alegre, 2004.

MERTINS, O. **Estudos Físico-químicos e Estruturais de Lipossomas Compósitos de Fosfatidilcolina e Quitosana.** Tese de Doutorado em Química, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

MUNHOZ, M.P.; WEBER, F.H.; CHANG, Y.K. Influência de hidrocolóides na textura de gel de amido de milho. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.** Vol.24 n°3 Campinas Julho/Setemb. 2004.

NEW, R.R.C. **Liposomes: a practical approach.** Oxford: Oxford University, 1990.

OLIVEIRA, L. F.; GODOY, R. L. O.; BORGES, S. V. **Desenvolvimento tecnológico de jaca (*Artocarpus heterophyllus*, Lam.) desidratada.** Congresso Brasileiro de economia doméstica; Encontro Latino-Americano de economia doméstica; Família e economia doméstica: reflexões, perspectivas e desafios. Fortaleza: UFC, 2009.

PRAKASH, O.; KUMAR, R.; MISHRA, A.; GUPTA, R. *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit): An overview. **Pharmacognosy Review.** Vol.3, Issue: 6, page: 363-358, 2009.

SANTOS, M.G. **Desenvolvimento de preparação tópica contendo nitrofurazona microencapsulada.** Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade de Sorocaba. Sorocaba/SP, 2013.

SANTOS, N. C.; CASTANHO, M. A.R.B. Lipossomas: A bala mágica acertou? **Quim. Nova**, Vol. 25, No. 6B, 1181-1185, 2002

SACHIN, N. B.; BENDALE, A.R.; JADHAV A.G.; PATEL, K.; VIDYASAGAR, G. Isolation and Evaluation of Starch of *Artocarpus heterophyllus* as a Tablet Binder. **International Journal of Pharm Tech Research**. Vol. 3, No.2, pp 836-840, April-June 2011

SEAGRI. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br>> Acesso em: 16 de nov. 2012.

SILVA, G.O.; TAKIZAWA, F.F.; PEDROSO, R.A.; FRANCO, C.M.L.; SARMENTO, S.B.S.; DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Rev. Ciênc. Tecnol. Alimen.**, Campinas, 26(1): 188-197, jan.-mar. 2006.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª edição. Porto Alegre: Bookman, 2002.

TORRES, I.M.S. **Ceftazidima e Cefepima encapsuladas em lipossomas unilamelares: obtenção, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**. Universidade de Brasília. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Goiânia – GO, 2008.

VIA FARMA. **Natrosol 250 – Hidroxietilcelulose**. Disponível em: <<http://www.viafarmanet.com.br/site/downloads/literatura/NATROSOL.pdf>> Acesso em: 02 de jan. 2014.

WEBER, F.H.; QUEIROZ, F.P.C.; CHANG, Y.K. Estabilidade de géis de amido de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose adicionados de gomas guar e xantana durante os processos de congelamento e descongelamento. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment**, vol.28 n°2. Campinas. Abril/Junho, 2008.