

LIPOSSOMOS: APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS E COSMÉTICAS, NOVAS PERSPECTIVAS

Anselmo Gomes de Oliveira

Maria Virgínia Scarpa

Departamento de Fármacos e Medicamentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - 14801-902 - ARARAQUARA - SP

Lipossomas ou vesículas podem ser definidos como estruturas de bicamadas, esféricas e concêntricas, separadas por fases aquosas e englobando um compartimento aquoso central. Essas estruturas têm sido utilizadas com sucesso, tanto no estudo de reações de interesse biológico, como no transporte e direcionamento de fármacos. Várias moléculas com características anfífilas, incluindo desde fosfolípidos naturais até grande variedade de compostos totalmente sintéticos, podem ser utilizados como elementos estruturais de lipossomas. Sua aplicação na área farmacêutica encontra-se em constante evolução, em razão dos significativos avanços na tecnologia de produção, que quase sempre implicam em modificações nas propriedades físico-químicas, objetivando sempre a otimização dos efeitos desejados.

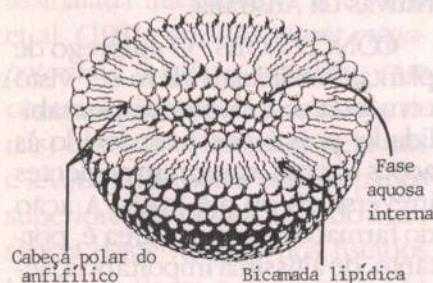


FIGURA 1 - lipossoma unilamelar (9).

Vários tipos de lipossomas são viáveis para aplicação como sistemas transportadores de fármacos: MLV, LUV, SUV e REV (tabela I), sendo que a eficiência de encapsulamento varia de REV > LUV > MLV > SUV.

Lipossomas possuem a habilidade de incorporar compostos hidrofóbicos, na região da bicamada, assim como encapsular moléculas hidrossolúveis no espaço aquoso interno (figura 2) envolvendo vários mecanismos neste processo: a) Encapsulamento de fármacos hidrossolúveis; b) interações eletrostáticas de compostos carregados com anfífilos

de cargas contrárias; c) interações hidrofóbicas fármaco-bicamada; d) acoplamento químico à superfície do agregado.

Durante cerca de 20 anos, os lipossomas foram usados extensivamente nos círculos acadêmicos para estudar a relação estrutura-função de grande número de proteínas de mamíferos, bactérias e vírus, enquanto que mais recentemente várias empresas de biotecnologia têm desenvolvido lipossomas para aplicações em diagnóstico e terapêutica, incluindo antibióticos, antifúngicos, imunoadjuvantes, agentes de contraste e anti-cancerígenos.

TABELA I - NOMENCLATURA E TAMANHOS DE LIPOSSOMAS:

TIPO DE LIPOSSOMA	TERMO USADO	TAMANHO APROX. (µm)
Vesículas Unilamelares pequenas	SUV	0,025-0,05
Vesículas Multilamelares Grandes	MLV	0,050-10
Vesículas Unilamelares Grandes	LUV	0,1-1
Evaporação em Fase Reversa	REV	0,5
Extrusão (French Press)	FPV	0,05
Injeção de éter	EIV	0,02
Remoção de Detergente (unilamelar)	DRV	0,020-0,25
(multilamelar)		0,5

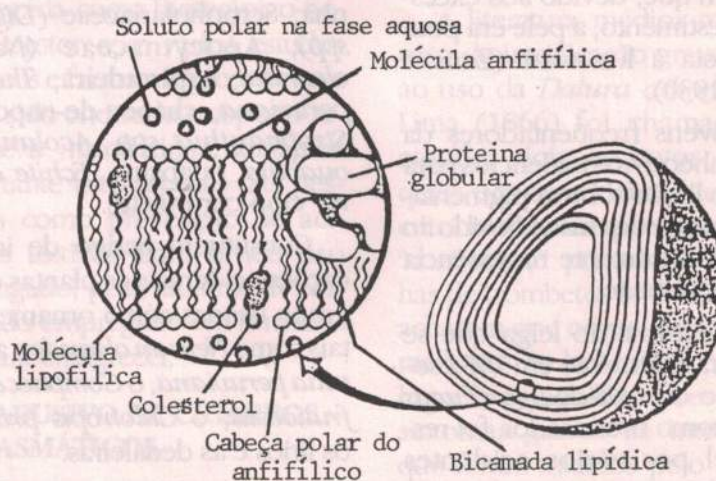


FIGURA 2 - Representação esquemática dos sítios de solubilização de fármacos nos lipossomas (13).

... Devido ao seu alto grau de biocompatibilidade, os lipossomas foram inicialmente desenhados como sistemas liberadores para aplicações endovenosas, mas, atualmente, são administrados por outras vias, tais como oral, tópica, intraocular e intrapulmonar. O formulador pode usar estratégias para desenvolver lipossomas de aplicações específicas, com o objetivo de aumentar a eficiência terapêutica do fármaco pelo aumento da concentração de moléculas que atingem o microambiente onde devem exercer seu efeito farmacológico, ou, alternativamente, diminuindo a proporção de moléculas que atingem locais onde o efeito é predominantemente tóxico.

Raramente os sistemas convencionais de veiculação de fármacos conseguem levar a dose necessária de substância ativa, em condições de produzir uma resposta farmacológica numa área específica do organismo. Contra esse objetivo atuam a rápida absorção em tecidos intermediários, a transferência e distribuição pela corrente sanguínea e o sistema de metabolização-eliminação. Lipossomas podem direcionar a substância ativa para locais específicos do organismo, obtendo-se alta concentração local do fármaco. Isto permite diminuir substancialmente a dose administrada, atenuando-se muitos efeitos colaterais. Alguns exemplos de aplicações são citados na seqüência:

QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER

Nos últimos anos mais de 100 diferentes substâncias utilizadas na quimioterapia do câncer foram estudadas em lipossomas. A razão desta especial atenção é que a maioria dos fármacos anticancerígenos são altamente tóxicos para os tecidos normais, particular-

mente para a medula óssea, rins e coração. Os esforços estão concentrados no sentido de aumentar a seletividade ou prolongar o efeito desses compostos. Por exemplo, para a daunomicina e vimblastina, o efeito de prolongamento vai de $t_{1/2}=5\text{min}$ para o fármaco livre, para $t_{1/2}=150\text{min}$ com formulações de lipossomas. Dados de toxicidade terapêutica da actinomicina indicam DL₅₀ de 0,8 µg/g para o fármaco livre e 8 µg/g quando encapsulado em lipossomas.

TRATAMENTO DE DOENÇAS TROPICAIS

O simples conhecimento de que lipossomas injetados por via endovenosa são removidos da circulação por células do Sistema Retículo Endotelial (SRE) e lentamente desagregados nos lipossomas, tem levado muitos pesquisadores a investigarem a eficácia de compostos antimoniais, encapsulados em lipossomas, no tratamento da Leishmaniose, já que a fase visceral da doença é caracterizada pela invasão do SRE, especialmente fígado e baço. Modelos experimentais em camundongos e cobaias mostram que o estibogluconato de antimônio é cerca de 700-800 vezes mais ativo quando formulado em lipossomas, o que significa uma diminuição da dose administrada em fatores de cerca de 10^3 . Um desenvolvimento fascinante de lipossomas, contendo primaquina, demonstra a viabilidade de aplicação no tratamento da malária. Células do parênquima hepático estão envolvidas num dos estágios do ciclo de vida dos esporozoítas. Baseados no fato de que estas células reconhecem galactose, foram desenvolvidos lipossomas multilamelares contendo primaquina e glicopeptídeo galacto-glicosil. O resultado

foi uma diminuição significativa da toxicidade da primaquina.

TRANSPORTE DE HORMÔNIOS

A artrite induzida em coelhos pode ser tratada de modo mais eficaz quando palmitato de cortisol é incorporado em lipossomas estruturados com dipalmitoínofosfatidilcolina e ácido fosfatídico que com o fármaco livre. A infiltração, na articulação, de lipossomas contendo 35 µg do cortisol é mais benéfica que 200 µg do ester livre. Em humanos com artrite, 2mg do ester encapsulado em lipossomas é tão efetivo quanto 25 mg do ester livre.

TRANSPORTE DE AGENTES ANTIMICROBIANOS

No tratamento de infecção experimental de *Listeria monocytogenes* em camundongos, o encapsulamento da ampicilina em vesículas multilamelares, resulta num aumento de 90 vezes na atividade terapêutica do antibiótico. Este efeito parece estar relacionado, em parte, com um aumento na liberação da ampicilina no local da infecção, particularmente fígado e baço.

A anfotericina-β, fármaco utilizado no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas, apresenta feitos colaterais que envolvem principalmente disfunções crônicas renais e do sistema nervoso central. Lipossomas contendo o fármaco dirigem-se prontamente para órgãos ricos em células fagocitárias, tais como o fígado, baço, pulmões, rins e medula óssea, os quais são usualmente os alvos de infecções sistêmicas causados pelos fungos. Os resultados mostram melhor efetividade do antifúngico encapsulado com diminuição acentuada da toxicidade.

... APLICAÇÃO TÓPICA E EM COSMÉTICA

A pele é o órgão externo do organismo, cuja constituição estratificada e queratinizada superficial confere-lhe permeabilidade seletiva, isto é, só permite a passagem de poucas substâncias e em determinadas condições. Este é o principal complicador na vida do formulador, cujo interesse é proporcionar condições para que as substâncias ativas atinjam a intimidade do tecido cutâneo e ali permaneçam o tempo suficiente para exercer o efeito desejado.

Lipossomas interagem com a estrutura lipídica do extrato córneo, aumentando a permeabilidade da membrana e dirigindo vários fármacos para a epiderme e derme. Lipossomas para aplicação tópica, contendo triancinolona acetônico, quando comparado com a formulação oleosa convencional, produzem alto nível do fármaco na derme e epiderme e reduzido nível na circulação sistêmica e órgãos como fígado, baço e cérebro.

Os lipossomas constituem, atualmente, uma tecnologia de alto interesse em cosmetologia. Sabe-se que a membrana celular é composta, entre outros constituintes, de fosfolípidos, proteínas e pequena quantidade de colesterol. Com o envelhecimento há um aumento progressivo de colesterol, que vai provocando o enrijecimento da membrana e tornando mais lento o intercâmbio celular com o exterior.

Por exemplo, quando os fibroblastos diminuem sua atividade, o colapso na síntese de colágeno e elastina determina o aparecimento de rugas e flacidez.

Existem patentes da Companhia Lever Brothers Ltda. para lipossomas contendo umectantes como glicerol, uréia e pirogluta-

mato sódico. Vesículas chamadas de "Niosomas" foram patenteadas pelo L'oreal Company as quais facilitam a absorção de substâncias aplicadas topicamente, incluído umectantes e filtros solares. Mais recentemente outras preparações "Spherobiols e Sphingosomes" apareceram na literatura identificando diferentes tipos de anfifílicos utilizados na estrutura do lipossomas.

A utilização de lipossomas como transportadores de substâncias "rejuvenecedoras" é muito intensa em formulações cosméticas, pois além de serem capazes de encapsular compostos biologicamente ativos, podem interagir com a membrana celular. Esquemas de rejuvenescimento progressivo têm sido propostos, envolvendo o uso de Retinol (Vitamina A), alfa-tocoferol (Vitamina E) e Timo, veiculados em lipossomas de fosfatidilcolina. Estas etapas englobam fases de hidratação, regeneradora (proteção contra processos oxidativos) e estimulante (o timo é órgão linfóide com papel na proteção imunológica).

Entretanto, a integridade física dos lipossomas é muito sensível ao meio dispersante, principalmente à modificações da pressão osmótica e presença de tensoativos, que podem destruí-los em poucos segundos. O último aspecto praticamente impede que os lipossomas sejam incorporados em cremes, loções ou qualquer outro excipiente que contenha agentes emulsivos ou quantidades apreciáveis de álcoois. Além disso, é bom esclarecer que lipossomas por si próprios não curam, não realçam beleza, não previnem doenças ou auxiliam diagnóstico, pois técnica e biologicamente não são fármacos. Eles apenas são capazes de veicular adequadamente substâncias ativas que podem provocar efeitos benéficos ao organismo.

LIPOSSOMAS EM IMUNOLOGIA

A área de imunologia é o exemplo mais didático de como os lipossomas podem ser utilizados no transporte de fármacos para locais específicos do organismo onde devem exercer seu efeito terapêutico.

A) Lipossomas sensíveis ao contato:

Podem ser incluídos em sua superfície de marcadores, capazes de interagir seletivamente com receptores da superfície celular. Uma metodologia promissora e flexível inclui anticorpos monoclonados, que podem ser conjugados na superfície dos lipossomas ou pré-administrados para o sítio alvo com ligante secundário na superfície do lipossoma. Uma vez ocorrida a ligação específica lipossoma-célula o fármaco é liberado na superfície ou, internamente, depois que o lipossoma seja processado pela célula alvo. O resultado é uma alta concentração transiente local de fármaco na superfície celular, com subsequente entrada para o interior ou diretamente no interior da célula.

B) Lipossomas sensíveis ao pH:

Têm sido formulados, alternativamente, para contornar o problema da inativação dos lipossomas pelos lisossomos que, em certos casos, pode causar uma baixa eficácia dos fármacos transportados. Lipossomas ácido-lábeis são apropriados para liberar seu conteúdo diretamente no citoplasma da célula alvo, presumivelmente devido à sua inerente instabilidade frente ao pH nos compartimentos da membrana pré-lisossômica, como as do endossoma. Este tipo de lipossoma tem sido utilizado para aumentar a eficiência de transfeção de DNA diretamente no citoplasma da célula. Este mecanismo ...

... de injeção representa uma metodologia muito mais efetiva, e altamente eficiente, para a liberação de pequenas seqüências de ácidos nucleicos.

C) Lipossomas convencionais:

A comprovada habilidade de serem fagocitados por células do SRE mostra a eficiência destes agregados em liberar fármacos e macromoléculas com o objetivo de modular respostas imunológicas. Um dos exemplos mais recentes inclui a administração oral e nasal de vacina antitetânica, formulada com lipossomas de diesteárilfosfatidil colina. A vacina é uma proteína de alto peso molecular e é eficientemente encapsulada (Ec70%). A resposta obtida é quase comparável com a da administração subcutânea.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Lipossomas possuem um número razoável de propriedades favoráveis, as quais os tornam viáveis como sistemas transportadores e direcionadores de fármacos. É óbvio que também existem limitações, mas não nos parece que sejam intransponíveis. A literatura mostra grande variedade de efeitos benéficos obtidos pela incorporação de fármacos em lipossomas. Esses efeitos podem ser agrupados nos seguintes aspectos:

a) - Lipossomas atravessam biomembranas e facilitam o transporte de substâncias através de barreiras normalmente impermeáveis, em particular, facilitando a penetração intracelular dos fármacos encapsulados.

b) - Podem ser desenvolvidos para interagir com tecidos especí-

ficos, proporcionando seletividade do fármaco com diminuição da toxicidade.

c) - Possuem uma tendência natural de ligar-se a determinados tecidos, órgãos ou células, aspecto que pode ser utilizado para aumentar ao máximo a eficácia terapêutica do fármaco e reduzir efeitos sistêmicos indesejados.

d) - A farmacocinética de muitas substâncias ativas pode ser modificada benéficamente pelos lipossomas, através da modulação da liberação do fármaco, da distribuição e da remoção do sistema circulatório.

e) - Fármacos lábeis, química e metabolicamente, podem ser protegidos da inativação pelos lipossomas.

f) - Pelo fato de serem quimicamente similares a outras células do organismo, são biocompatíveis e facilmente metabolizados.

g) - Lipossomas possuem função como adjuvante imunológico de perfil superior, aumentando a resposta imune de antígenos encapsulados.

h) - Quando conjugados com anticorpos, unem-se às células-alvo com muito mais rapidez que as formas solúveis do mesmo antígeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1 - NICOLAU, C. & PARAF, A. Eds., *Lipossomes, Drugs and Immunocompetent cell functions* Academic Press: London, 1981, p. 173

2 - BRUME, R.A. Sphingosomes: Properties & Potential *Drug Cosmet. Ind.*, v. 6, p. 31 - 32, 62-63, 1991.

3 - BURI, P. et alii. *Formes pharmaceutiques nouvelles. Tec & Doc: Paris, 1985.*

4 - OSTRO, M.J. Ed. *Lipossomes* Marcel Decker, Inc.: New York, 1983, p. 27- 51

5 - GREGORIADIS, G. *Liposome Technology*. CRC Press, Inc.: Boca Raton, 1984.

6 - GREGORIADIS, G. & ALLISON, A.C. *Lipossomes in biological systems* Wiley & Sons: Chichester, 1980

7 - JOHNSON, P & LOYD-JONES, J.G. Eds. *Drug delivery systems. Fundamentals and technique*. Ellis Horwood: Chichester, 1987.

8 - KINIGTH, C. G. Ed. *Lipossomes: From physical structure to therapeutic applications*. Elsevier-North Holland: Amsterdam, 1981.

9 - MALERHOFER, G. *Lipossomas, Farm. Clin.*, v. 5, p. 658-80, 1988.

10 - PUISIEUX, F. Les lipossomes, *Ann. Pharm. Franc.* v.41, p. 3-13, 1983.

11 - RYMAN, B.E. & TYRELL, D.A. Lipossomes-Bags potential, *Essays Biochem.* v.16, p. 49-98, 1980.

12 - STRAUSS, G. Lipossomes: From theoretical model to cosmetic tool, *J. Soc. Cosmet. Chem.* v. 40, p. 5-60, 1989.

13 - WEINER, N. et alii. Lipossomes as a drug delivery system, *Drug Develop. Ind. Pharm.* v. 15, p 1523-54, 1989.