

OTIMIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES CATIÔNICAS CARREADORAS DE OLIGONUCLEOTÍDEOS ANTIMALÁRICOS ATRAVÉS DE PLANEJAMENTO FATORIAL

Wild, L.B.; Bruxel, F.; Teixeira, H. F.
Faculdade de Farmácia

INTRODUÇÃO

A malária é causada pelo parasito do gênero *Plasmodium*, atingindo cerca de 300 milhões de pessoas, principalmente em regiões tropicais do planeta, onde o mosquito transmissor da doença (gênero *Anopheles*) consegue se desenvolver. Sua situação tem se agravado principalmente devido à resistência dos parasitos aos antimaláricos disponíveis atualmente para o tratamento. Assim, a utilização de oligonucleotídeos antisense (ON) direcionados à enzima topoisomerase II de *Plasmodium falciparum* tem sido considerada uma estratégia promissora. ON são fragmentos curtos de DNA capazes de modular seletivamente a expressão gênica, mas que possuem baixa estabilidade e capacidade de penetração intracelular. Para contornar estes inconvenientes, nanoemulsões catiônicas têm sido propostas como sistemas carreadores para estas moléculas.

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram: selecionar a melhor composição qualitativa para as nanoemulsões, através de um estudo fatorial qualitativo 2³, avaliar a taxa de adsorção dos ON a estas formulações e finalmente, caracterizar os complexos formados.

METODOLOGIA

No estudo fatorial foram avaliados 3 diferentes fatores (tipo de óleo, de fosfolípido e de lipídeo catiônico), em dois níveis cada um. Foram preparadas 8 diferentes formulações, em triplicata (totalizando 24 formulações), pelo método de emulsificação espontânea. As nanoemulsões que apresentaram os maiores valores de potencial zeta (migração eletroforética), menores valores de diâmetro médio de gotícula (espalhamento de luz dinâmico) e índice de polidispersão foram selecionadas para a complexação com ON fosfodiéster (PO) e fosforotioato (PS). Após a adição de concentrações crescentes destes ON às nanoemulsões, determinou-se a taxa de adsorção pelo método de ultrafiltração/centrifugação. Finalmente, os complexos formados foram caracterizados quanto aos seus aspectos físico-químicos e morfológicos (microscopia eletrônica de transmissão - MET).

RESULTADOS

Tabela 1: Composição e propriedades das formulações selecionadas no estudo fatorial qualitativo 2³.

Formulação	Combinação experimental			Respostas		
	Óleo	Fosfolípido	Lipídeo catiônico	Potencial Zeta (mV)	Diâmetro de gotícula (nm)	Índice de Polidispersão
F1	TCM	Lecitina de gema de ovo	DOTAP	45,9 ± 0,9	164 ± 30	0,19 ± 0,08
F5	TCM	Lecitina de gema de ovo	OA	45,0 ± 0,6	198 ± 17	0,14 ± 0,04

TCM: triglicerídeos e cadeia média; DOTAP: 1,2 dioleoil-3-trimetil amônio propano; OA: oleilamina.

Tabela 2: Taxa de adsorção dos ON (PO e PS) às nanoemulsões F5 e F1.

ON adicionado (nmol/mL)	ON associado (%)			
	F5/PO	F5/PS	F1/PO	F1/PS
1	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00
5	74,6 ± 2,36	78,3 ± 3,92	90,6 ± 13,33	97,8 ± 3,17
10	55,3 ± 9,37	75,4 ± 2,48	74,1 ± 2,21	87,3 ± 0,69

O estudo fatorial permitiu a seleção de duas formulações (tabela 1). As taxas de adsorção variaram entre 55 e 100%, dependendo da natureza do lipídeo catiônico e da concentração de ON adicionada (tabela 2). A adsorção dos ON na interface foi evidenciada pela inversão do potencial zeta de valores positivos (~ 45 mV) para negativos (até cerca de -35 mV) e pela morfologia das gotículas oleosas avaliadas por MET (figura 1).

CONCLUSÃO

O conjunto dos resultados obtidos demonstra as potencialidades das nanoemulsões catiônicas como carreadores de ON com atividade antimalárica.

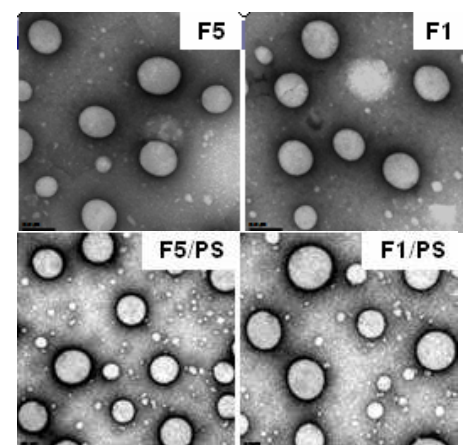


Figura 1. Fotomicrografias das nanoemulsões (F5 e F1) e dos complexos (F5/PS e F1/PS), obtidas por MET.