

INTRODUÇÃO

A malária é um problema de saúde pública mundial, que afeta cerca de 300 milhões de pessoas, resultando em mais de um milhão de mortes por ano. Sua situação tem se agravado principalmente devido à resistência dos parasitas aos fármacos antimaláricos. Neste contexto, a utilização de oligonucleotídeos (ON) anti-topoisomerase II de *Plasmodium falciparum* tem sido considerada uma estratégia promissora. Para contornar as limitações de seu uso, nanoemulsões catiônicas (NE) têm sido propostas.

OBJETIVO

Estudar as propriedades físico-químicas das NE após o preparo e após 90 dias de armazenamento, além de sua capacidade de adsorção de ON de série fosfodiéster (PO) e quimicamente modificados a fosforotioato (PS).

MATERIAIS E MÉTODOS

• **Obtenção das NE:** NE compostas por triglicerídeos de cadeia média, lecitina de gema de ovo, lipídeos catiônicos oleilamina ou DOTAP, glicerol e água, foram obtidas por emulsificação espontânea. Além das formulações catiônicas contendo 2 mM de oleilamina (PC/OA) ou DOTAP (PC/DT), preparou-se uma formulação controle (PC) isenta de lipídeo catiônico, para fins comparativos.

• **Caracterização:** NE foram caracterizadas logo após o preparo e após armazenamento a 4° C por 90 dias, quanto ao:

- **pH:** determinado imediatamente após o preparo e ajustado para cerca de 7,4;
- **Diâmetro de gotícula:** por espalhamento de luz dinâmico (Malvern Zetasizer Nano ZS);
- **Potencial zeta:** através da mobilidade eletroforética das gotículas (Malvern Zetasizer Nano ZS);
- **Viscosidade:** por viscosimetria capilar (Farm. Bras. IV Edição)

• **Adsorção dos ON:** PO e PS foram adicionados às NE em diferentes concentrações, por mistura simples a temperatura ambiente. A taxa de adsorção foi determinada por espectrofotometria no UV a 260 nm, após separação do PO ou PS não complexado por ultrafiltração/centrifugação. Os complexos formados foram caracterizados quanto ao diâmetro de gotícula e potencial zeta, conforme anteriormente descrito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas NE monodispersas, cujas propriedades físico-químicas estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Propriedade físico-químicas das NE obtidas por emulsificação espontânea

	T ₀			T ₉₀		
	PC	PC/OA	PC/DT	PC	PC/OA	PC/DT
Diâmetro (nm)	215-280	250-270	190-210	290-480	240-255	170-180
Viscosidade (cP)	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,01	1,5 ± 0,4	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,1
Potencial Zeta (mV)	-34,3 ± 2,0	49,9 ± 3,9	55,5 ± 3,5	-45 ± 6,0	34 ± 0,9	45 ± 3,5
pH	7,2 ± 0,3	8,7 ± 0,1	6,2 ± 0,1	6,5 ± 2,0	6,1 ± 0,1	6,4 ± 0,4

Após armazenamento observou-se uma pequena diminuição de pH e potencial zeta (tabela 1). Estas alterações podem estar relacionadas a formação de ácidos graxos livres no sistema, a partir da oxidação e hidrólise dos fosfolipídios e triglicerídeos.

Após adição diferentes concentrações de PO e PS às NE, observou-se uma taxa de adsorção entre 45 a 100%, dependendo da natureza do lipídeo catiônico presente na formulação e da concentração de ON adicionado. Em concentrações inferiores (5 nmol/mL), foram obtidas as maiores porcentagens de adsorção, indicando uma possível saturação da interface. A melhor taxa de adsorção ocorreu na presença do lipídeo catiônico DOTAP (tabela 2).

Tabela 2. Taxa de adsorção de PO e PS determinada por espectrofotometria no UV

ON adicionado (nmol/mL)	Taxa de associação (%)			
	PC	PC/OA	PC/DT	
PO	5	41,6 ± 2,06	74,6 ± 2,36	90,6 ± 13,33
	20	39,4 ± 4,59	53,8 ± 13,52	55,7 ± 12,47
PS	5	44,0 ± 1,95	78,3 ± 3,92	97,8 ± 3,17
	20	19,0 ± 0,11	45,5 ± 0,34	69,0 ± 4,18

Finalmente, evidências adicionais da adsorção de PO e PS às NE foram detectadas pelo aumento do diâmetro de gotícula, inversão do potencial zeta (tabela 3) e morfologia das gotículas avaliadas por microscopia eletrônica de transmissão (figura 1), pelo onde visualizam-se gotículas tipicamente esféricas com uma camada mais espessa no limite das gotículas oleosas, sugerindo a presença do PO ou PS associado a interface das NE.

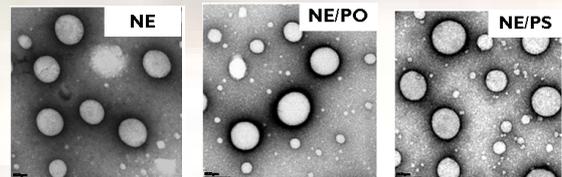


Figura 1. Fotomicrografias das NE obtidas por microscopia eletrônica de transmissão, em aumento de 100.000X.

Tabela 3. Propriedade físico-químicas após adsorção dos ON às NE.

ON adicionado (nmol/mL)	PC/OA		PC/DT	
	Diâmetro (nm)	Potencial zeta (mV)	Diâmetro (nm)	Potencial zeta (mV)
0	250-270	49,9 ± 3,9	190-210	55,5 ± 3,5
PO	220-260	-30±18	190-210	-20±4
PS	210-230	-30±9	240-260	-20±3

CONCLUSÃO

O conjunto dos resultados obtidos demonstra que ON de série PO e PS anti-topoisomerase II de *P. falciparum* podem ser eficientemente adsorvidos às NE catiônicas estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FARMACOPÉIA Brasileira. 4 Ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Pt 1, cap. V. 2.7.
MARTINI, E. 94 p. **Dissertação de mestrados, PPGCF UFRGS**, porto alegre, 2005.
OMS. Organização Mundial da saúde. World Malaria Report 2008. Geneva, 2008.
RABINOVICH-GUILATT, L. et al. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, vol. 61, p. 69-76, 2005.
TEIXEIRA, H. et al. **Journal of Controlled Release**, vol. 70, p. 243-255, 2001.
TRACY, J. W.; WEBSTER, L. T. Jr. **Goodman & Gilman: As bases Farmacológicas das Terapêutica**. 10ª ed. RJ: McGraw, 2003. p. 803-822.