

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL HEMOLÍTICO DE NANOEMULSÕES CATIÔNICAS A BASE DE DOTAP E OLEILAMINA

Renata Medeiros Hilgert ¹

Mariani Machado Vasconcellos ²

Cristine Scheuer ³

Diego Suevo ⁴

Eduardo Andre Bender ⁵

Fernanda Bruxel ⁶

Resumo:

Terapias com ácidos nucleicos são perspectivas na terapêutica, tendo demonstrado um grande avanço nas ciências biomédicas, porém os ácidos nucleicos necessitam de carreadores para aumentar sua penetração e estabilidade intracelular, destacando-se as nanoemulsões catiônicas. No entanto, as nanoemulsões catiônicas contam em sua composição com um lipídeo positivamente carregado para a adsorção dos ácidos nucleicos negativamente carregados, por interação eletrostática. Considerando o potencial de toxicidade dos lipídeos catiônicos nelas presentes, o objetivo foi avaliar o potencial hemolítico das nanoemulsões em sangue humano. As nanoemulsões foram preparadas através do procedimento de emulsificação espontânea e a caracterização das formulações foi realizada quanto ao diâmetro médio de gotícula D [4,3], a distribuição do tamanho das gotículas (Span) e potencial Zeta. O sangue foi coletado conforme protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pampa (2.378.393/2017), e determinado o potencial hemolítico das formulações. Elas apresentaram-se nanométricas e catiônicas, com potencial hemolítico inferior a 7%.

Palavras-chave: Potencial hemolítico; nanoemulsões; lipídeo catiônico; toxicidade.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL HEMOLÍTICO DE NANOEMULSÕES CATIÔNICAS A BASE DE DOTAP E OLEILAMINA

¹ Aluno de graduação. renatahilgert88@gmail.com. Autor principal

² aluna de graduação. marianivasconcellos@gmail.com. Co-autor

³ mestre. cristine.scheuer@gmail.com. Co-autor

⁴ mestre. diegofsuevo@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. eduardobender@unipampa.edu.br. Orientador

⁶ Docente. fb.unipampa@gmail.com. Co-orientador

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL HEMOLÍTICO DE NANOEMULSÕES CATIÔNICAS A BASE DE DOTAP E OLEILAMINA

1 INTRODUÇÃO

Terapias com ácidos nucleicos são perspectivas na terapêutica, tendo demonstrado um grande avanço nas ciências biomédicas. A terapia gênica consiste na transferência de material genético para uma célula, tecido ou órgão, visando melhora clínica do paciente, ou a cura de doenças, tanto hereditárias como adquiridas (SHER *et al.*, 2011). Apesar dos ácidos nucleicos apresentarem potencialidades terapêuticas, sua aplicação fica limitada devido à sua reduzida penetração intracelular, devido ao seu peso molecular e ao caráter polianiónico, (LECHARDEUR, VERKMAN e LUKACS, 2005), bem como à sua instabilidade em fluidos biológicos, devido à rápida degradação frente ao ataque enzimático. Assim, nanoemulsões catiônicas têm sido utilizadas como carreadores para reduzir a degradação enzimática pelas nucleases (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

Entretanto, as nanoemulsões catiônicas contam em sua composição com um lipídeo positivamente carregado para a adsorção dos ácidos nucleicos negativamente carregados, por interação eletrostática (TEIXEIRA *et al.*, 2017). Considerando o potencial de toxicidade dos lipídeos catiônicos, o objetivo deste estudo consiste em avaliar o potencial hemolítico das nanoemulsões a base de 1,2-dioleoil-3-trimetil amônio propano (DT) e oleilamina (OA) em sangue humano.

2 METODOLOGIA

As nanoemulsões foram compostas por triglicerídeos de cadeia média (cáprico/caprílico), lecitina de gema de ovo e DT ou OA. Foram preparadas através do procedimento de emulsificação espontânea. A caracterização das formulações foi realizada quanto ao diâmetro médio de gotícula D [4,3], a distribuição do tamanho das gotículas (Span) e potencial Zeta.

O sangue foi coletado em tubos heparinizados por punção venosa de indivíduos saudáveis, conforme protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pampa (2.378.393/2017). Para determinação do potencial hemolítico, os eritrócitos foram incubados por 30 minutos com diferentes concentrações de cada uma das nanoemulsões (5 - 20%), a uma concentração final de 5% de eritrócitos (BRUXEL *et al.*, 2012). A análise estatística foi realizada por análise de variância ANOVA, seguida do teste de Bonferroni.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Independente do lipídeo catiônico utilizado, as formulações apresentaram-se monodispersas, com índice Span inferior a 2,0 e com diâmetro médio de gotículas D [4,3] inferior a 300 nm. O potencial zeta apresentou-se positivo, independentemente do lipídeo utilizado.

No geral, os resultados demonstram que as formulações catiônicas a base de DT e OA apresentaram baixo potencial hemolítico, inferior a 6 e 7% respectivamente, quando incubadas com hemácias em diferentes concentrações. Bruxel e colaboradores (2011), demonstraram que formulações catiônicas brancas a base de DT e OA apresentavam hemólise de 30 a 42%, bastante superior ao encontrado no presente trabalho, mas caindo para valores inferiores a 10% com a complexação de ácidos nucleicos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, foi possível obter emulsões catiônicas de tamanhos nanométricos e homoganeamente distribuídos, através da técnica de emulsificação espontânea. Estas formulações apresentaram baixo potencial hemolítico em sangue humano, em diferentes concentrações de formulação no meio de incubação.

REFERÊNCIAS

BRUXEL, F. *et al.* **Cationic nanoemulsion as a delivery system for oligonucleotides targeting malarial topoisomerase II.** International Journal of Pharmaceutics, v. 416, n. 2, p. 402-409, 2011.

BRUXEL, F. *et al.* **Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos.** Química nova. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1978. v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.

LECHARDEUR, D.; VERKMAN, A. S.; LUKACS, G. L. **Intracellular routing of plasmid DNA during non-viral gene transfer.** Advanced Drug Delivery Reviews, v. 57, n. 5, p. 755-767, 2005.

SHER, Y. P. *et al.* **Cancer-Targeted BikDD Gene Therapy Elicits Protective Antitumor Immunity against Lung Cancer.** Mol. Cancer Ther., v. 10, n. 4, p. 637-647, 2011.

TEIXEIRA, H. *et al.* **Cationic nanoemulsions as nucleic acids delivery systems.** International Journal of Pharmaceutics, 2017.