



DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÕES ESTÁVEIS CONTENDO QS-21 POR MEIO DA TÉCNICA DE MICROFLUIDIZAÇÃO

Danielle Devequi Gomes Nunes, Fabricia Oliveira Oliveira, Larissa Moraes dos Santos Fonseca

INTRODUÇÃO

As vacinas de subunidades consistem em uma opção moderna de vacina que oferece algumas vantagens, a exemplo de serem vacinas não constituídas de componentes vivos do patógeno em questão. Contudo, por não apresentarem essa característica, essas vacinas necessitam da co-administração de um adjuvante que potencialize a resposta imune. A saponina QS-21, produto natural extraído da árvore *Quillaja saponaria*, representa uma classe potente de adjuvantes com capacidade de estimular a resposta imunológica Th1 e a produção de linfócitos T citotóxicos contra agente exógenos, tornando-se ideal para utilização em vacinas de subunidades. O uso de nanocarreadores lipídicos como as nanoemulsões é uma opção para a formulação desse composto, apresentando vantagens como o aumento da taxa de absorção, proteção contra oxidação, aumento da eficácia e redução da dose total e de efeitos colaterais, além de serem indicados para o carregamento de fármacos hidrofílicos e lipofílicos simultaneamente, característica intrínseca da saponina QS-21. Sendo assim, o objetivo geral desse trabalho foi desenvolver e caracterizar nanoemulsões estáveis contendo a saponina QS-21 como composto adjuvante.

METODOLOGIA

Foram formuladas 4 emulsões utilizando os óleos naturais de coco ou de uva, com a presença do princípio ativo QS-21 ou não (formulações controle). Para a produção e aplicação da técnica de microfluidização dessas formulações foi utilizado protocolo segundo Behzad, 2012. A estabilidade das nanoemulsões foi avaliada pelo período de 60 dias, nas temperaturas de 4, 25 e 40 °C quando ao tamanho de partícula, índice de polidispersão e pH. A tabela 1 descreve a composição de cada formulação. Para a fase aquosa foi preparado um tampão aquoso (pH 5,7 ± 0,5) contendo (NH₄)₃PO₄ monobásico (0,27% w/v), (NH₄)₃PO₄ dibásico (0,016% w/v) e glicerol (2,3% w/v). O volume utilizado para cada formulação foi de 191,608mL de tampão com 1,9% (w/v) de detergente polaxamer. Para a fase oleosa, o óleo foi utilizado na concentração de 4% mais 0,5% (w/v) de QS-21 e 0,76% (w/v) de fosfatidilcolina de soja (PC).

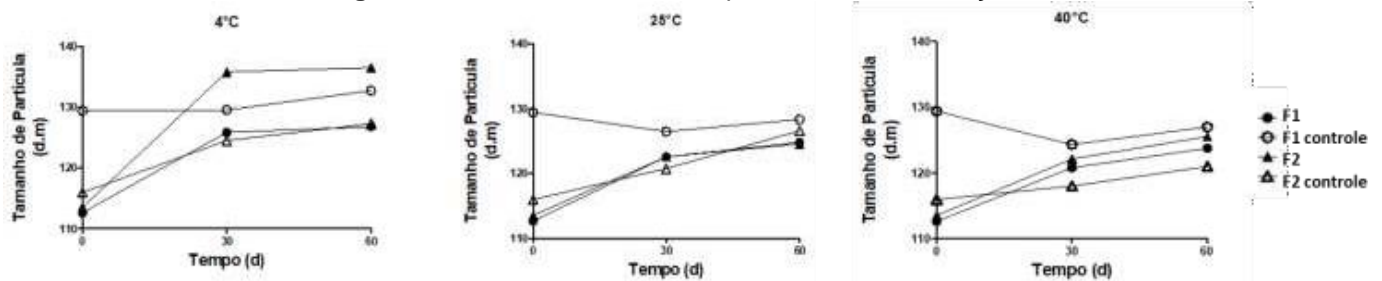
Tabela 1. Preparo das formulações.

Formulações	Fase aquosa	Fase oleosa
F1	Tampão + detergente polaxamer + glicerol	Óleo de coco + QS-21 + PC Soja
F1 controle	Tampão + detergente polaxamer + glicerol	Óleo de coco + PC Soja
F2	Tampão + detergente polaxamer + glicerol	Óleo de uva + QS-21 + PC Soja
F2 controle	Tampão + detergente polaxamer + glicerol	Óleo de uva + PC Soja

RESULTADOS E DISCUSSÕES

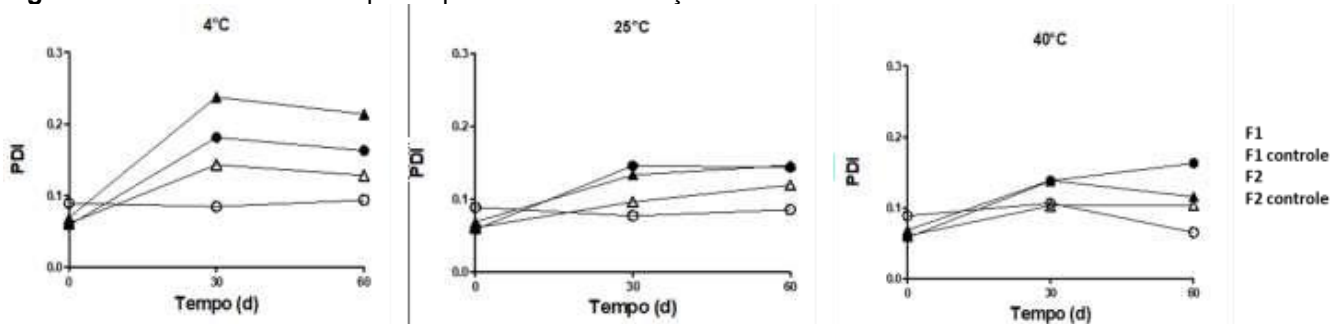
A diferentes temperaturas influenciaram no tamanho de partícula das nanoformulações F1 e F2, variando ao longo do período 14 e 22 nm em 4 °C, 12 e 11 nm em 25 °C e 11 e 12 nm em 40 °C, respectivamente (Fig. 1). Na temperatura de 4 °C essas nanoemulsões sofreram maiores variações nos primeiros 30 dias, porém se tornaram mais estáveis após esse período, com relação as outras temperaturas, com variação de apenas 1 nm e 0,7 nm, respectivamente.

Figura 1. Análise do tamanho de partícula das formulações.



Quanto ao índice de polidispersão (PDI), todas as nanoemulsões apresentaram valores abaixo de 0,2, o que sugere que a distribuição do diâmetro das partículas se encontra em uma faixa estreita esperada (Fig. 2), visto que valores altos de PDI (>0,2) indicam heterogeneidade dos diâmetros das partículas em suspensão, o que pode levar a uma má distribuição e liberação inadequada dessas partículas na formulação.

Figura 2. Análise do índice de polidispersão das formulações.



A análise de pH mostrou maior estabilidade das formulações na temperatura de 4 °C que variou de 5,6 a 5,8 (pH equivalente ao do tampão – fase aquosa); e menor estabilidade na temperatura de 40 °C que reduziu o pH de acordo com o tempo, variando de 5,6 a 5, principalmente quanto a formulação F1 e F1 controle (óleo de coco). Isso demonstra que em altas temperaturas há uma degradação dos compostos presentes na nanoemulsão, contribuindo assim para a acidificação das mesmas (dados não mostrados). Ademais, a coloração de todas as formulações sofreu modificação passando de uma nanoemulsão de cor esbranquiçada para uma coloração mais amarelada na temperatura de 40 °C, indicando também a possibilidade de degradação de compostos da formulação (dados não mostrados).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstraram que as nanoemulsões formuladas utilizando os óleos naturais de coco e uva foram capazes de carregar de forma satisfatória o QS-21, mantendo o PDI durante o período de 60 dias, mesmo com a variação da temperatura. Além disso, houve menor variação de tamanho de partícula e pH das nanoemulsões nas temperaturas de 4° C e 25° C, diferentemente da temperatura de 40° C que foi a menos favorável quanto a manutenção do pH, fator importante no desenvolvimento de uma formulação estável. Esse estudo preliminar permite a escolha de formulações a serem utilizadas para ensaios futuros (liberação e toxicidade, por exemplo), por apresentarem estabilidade ao longo do tempo em determinadas temperaturas.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, L.M. *et al.* Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99-109, abr./jun. 2012.
- BEHZAD, H. *et al.* GLA-SE, a synthetic toll-like receptor 4 agonist, enhances T-cell responses to influenza vaccine in older adults. **Journal of Infectious Disease**, v. 205, n. 3, p. 466-73, fev. 2012.
- GUTIÉRREZ, J.M.; GONZÁLEZ, M.; SOLÉ, I.; PEY, C.M.; NOLLA, J. Nano-emulsions: new applications and optimization of their preparation. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 13, n. 4, p. 245-251, ago. 2008.
- LANN, J. W.; GOULD, S.; TANIR, J.Y. Safety of vaccine adjuvants: Focus on autoimmunity. **Vaccine**, v. 7, n. 3, p.



1507-1514, mar. 2015.

MORAES, Carolina Morales. Preparo, caracterização físico-química e avaliação da estabilidade de nanopartículas poliméricas contendo anestésicos locais. 118p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP, 2009.

SANGUANSRI, P.; AUGUSTIN, M. A. Nanoscale materials development - a food industry perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 10, p. 547-556, out. 2006.

SOUZA, P.M.S. *et al.* Desenvolvimento de nanocápsulas de poli-e-caprolactona contendo o herbicida atrazina. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 132-137, ago. 2012.