ESTUDO DA INTERAÇÃO DE DERIVADOS DE QUITOSANA CONTENDO POLI(ETILENO GLICOL) COM DNA.

Marcio José Tiera[1]*(PQ), Karen Andressa Nunes Bussom[1] (IC), Ana Helena Casé[2] (PG), Isadora Pfeifer Dalla Picola[2] (PG), Vera Aparecida de Oliveira Tiera[1] (PQ), Sebastião Roberto Taboga[3] (PQ).

[1]Departamento de Química e Ciências Ambientais, [2]Departamento de Física, [3]Departamento de Biologia –Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas—São José do Rio Preto-Universidade Estadual Paulista- Brasil.
mjt@ibilce.unesp.br

Quitosana, DNA, poli(etileno glicol), Nanopartículas, Terapia Gênica, Polieletrólitos.

Introdução

Estudos mostram que nanopartículas de quitosana quando administradas in vivo são rapidamente removidas acumulando-se no fígado [1-3]. A modificação de quitosana para introdução de unidades ou polímeros hidrofílicos pode ser usada para criar uma camada protetora na superfície das nanopartículas, as quais podem evitar interações com proteínas e fagócitos, prolongando portanto o tempo de circulação na corrente sangüínea. Neste trabalho derivados de quitosana contendo 3%, 5% e 9% de poli(etileno glicol) (Mw=2000) foram utilizados para obtenção de nanopartículas para a encapsulação de DNA . Estudos comparativos foram realizados em diferentes pHs utilizando-se as técnicas de eletroforese, fluorescência, microscopia óptica, microscopia eletrônica de transmissão (Figura1) e espalhamento de luz.

Resultados e Discussão

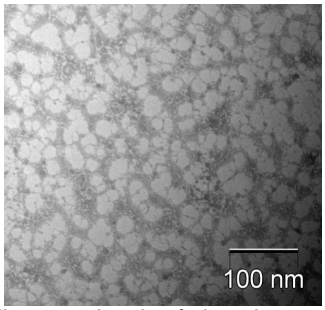

Figura 1. Microscopia eletrônica de transmissão de nanopartículas de PEG_5CH:DNA.

Em pH=4,0 todos os grupos amino da quitosana desacetilada encontram-se protonadas e as nanopartículas CH:DNA após a preparação não liberaram nenhum DNA na eletrofore, uma indicação da alta estabilidade desse complexo após a formação. O aumento do pH para 6,3 mostra a liberação de uma fração muito pequena de DNA para N/P 2,0, uma vez que a densidade de carga da quitosana desacetilada é menor. Ambos os derivados contendo PEG e PC exibem o mesmo comportamento geral observado para a quitosana desacetilada. Para os derivados contendo PEG em pH 4,0 observa-se que o aumento de PEG requer maiores razões N/P para impedir completamente a liberação de DNA, e a estabilidade decresce no sentido CH:DNA> PEG_3CH:DNA> PEG_5CH:DNA> PEG_9CH:DNA, sendo que para o complexo formado com o último deles uma razão N/P 4,0 foi necessária para evitar a liberação de DNA. O aumento da razão N/P para 3,0 diminui a formação de agregados e partículas da ordem de 250 nm foram formadas utilizando-se os derivados PEG_3CH, PEG_5CH, PEG_9CH. De forma geral o aumento da força iônica aumenta os diâmetros tanto das partículas preparadas com os derivados contendo fosforilcolina quanto àqueles que contém PEG. Para baixos valores de pH o aumento é significativo e passa de uma média de 150 nm para um valor médio de 250 nm em 300mM de força iônica. Com o aumento do pH o tamanho médio da distribuição principal permanece ao redor de 280 nm de diâmetro e ocorre o aparecimento de agregados maiores da ordem de micrometros, sobretudo para as nanopartículas preparadas com os derivados que contém PEG.

Conclusões

A ligação de PEG à cadeia de quitosana permite a obtenção de nanopartículas mais estáveis que aquelas obtidas com quitosana pura, porém ligeiramente menos estáveis que aquelas observadas com os derivados de quitosana contendo fosforilcolina. A força de interação quitosana-DNA diminui com o conteúdo de PEG, entretanto nanopartículas estáveis podem ser obtidas com baixos conteúdos de PEG (3%, 5% e 9%).

Agradecimentos

Fapesp proc. N^0 07/ 00339-7, Fapesp 07/06066-2 FUNDUNESP.

[1]Richardson, S.C.W., Kolbe, H.V.J., Duncan, R. *Int J Pharm* (**1999**), 178:231–243.

[2]Heller, J, Liu, LS, Duncan, R, Richardson, S. (**1996**)*Proc Int Symp Control Release Bioact Mater,* 23:269–270.

[3] Carreno-Gomez, B, Duncan, R (**1997**)*Int. J. Pharm*., 148:231–240.