

ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO DE NANOPARTÍCULAS PREPARADAS PELA INTERAÇÃO DE QUITOSANA-FOSFORILCOLINA COM DNA.

Marcio José Tiera^{1*}(PQ), Ana Helena Casé²(PG), Isadora Pfeifer Dalla Picola²(PG), Maria Elisabete Darbello Zaniquelli³(PQ), Júlio Cesar Fernandes⁴(PQ), Françoise M. Winnik⁵(PQ), Sebastião Roberto Taboga⁶(PQ).

¹Departamento de Química e Ciências Ambientais, ²Departamento de Física, ⁶Departamento de Biologia –Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas—São José do Rio Preto-Universidade Estadual Paulista- Brasil.

Departamento de Química, F FCLRP-Universidade de São Paulo. ⁴Orthopedic Research Laboratory, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, ⁵ Faculty of Pharmacy and Department of Chemistry –Université de Montréal.
mjt@ibilce.unesp.br

Quitosana, DNA, Fosforilcolina, Nanopartículas, Terapia Gênica, Polieletrólitos.

Introdução

Nanopartículas de quitosana-DNA preparadas pelo método de coacervação tem recebido uma grande atenção da literatura devido sua potencial aplicação como vetores não virais para a terapia gênica. A formação das partículas é movida principalmente pela interação eletrostática e em baixa força iônica o DNA condensa em uma estrutura compacta na forma de esferas, bastões ou toróides[1]. Neste trabalho quitosanas contendo diferentes conteúdos de grupos fosforilcolina foram utilizadas para promover a formação de uma camada protetora na superfície das nanopartículas (Figura1)[2]. O efeito da modificação sobre o tamanho e estabilidade das nanopartículas foi estudado utilizando-se fluorescência, espalhamento de luz e eletroforese em gel de agarose.

Resultados e Discussão

O tamanho e estabilidade coloidal das nanopartículas preparadas com quitosana desacetilada (CH/DNA) e com os derivados contendo o grupo fosforilcolina (PC-CH/DNA) mostraram uma grande dependência com o conteúdo de fosforilcolina(PC), com a razão de cargas e com o pH. A força de interação foi avaliada de ensaios de fluorescência com a sonda brometo de etídio e eletroforese. Para razões quitosana/DNA (N/P) maiores que 5,0 a liberação de DNA não foi observada em nenhuma das nanopartículas sintetizadas. Em pH neutro as nanopartículas formadas com os derivados contendo os grupos fosforilcolina exibiram uma maior resistência a agregação quando comparada com a quitosana desacetilada. Em baixos valores de pH todas as quitosanas encontram-se carregadas positivamente e os derivados tem uma forte afinidade com DNA. Para maiores valores de pH, quitosana descetilada exibiu a formação de agregados maiores resultantes da interação das partículas hidrofóbicas, enquanto nanopartículas formadas pela interação de DNA com os derivados contendo grupos fosforilcolina foram capazes de

formar nanopartículas menores com raios hidrodinâmicos variando de 100 a 150 nm.

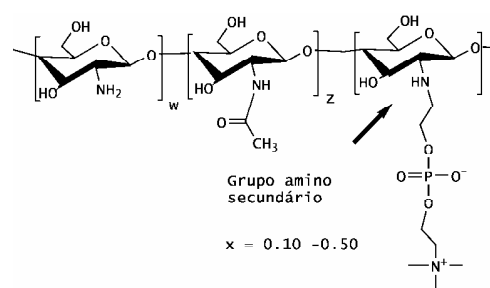


Figura 1. Estrutura dos derivados quitosana contendo o grupo fosforilcolina.

As nanopartículas sintetizadas com quitosanas contendo graus moderados de substituição (DS = 20 and 40%) permaneceram estáveis por semanas em baixa força iônica. A microscopia óptica confirmou os resultados obtidos com espalhamento de luz e mostrou que as nanopartículas preparadas com os derivados hidrofílicos são mais estáveis e apresentam tamanhos mais uniformes.

Conclusões

A ligação de grupos fosforilcolina (PC) à cadeia de quitosana permite a obtenção de nanopartículas mais estáveis em pH neutro. A força de interação quitosana-DNA diminui com o conteúdo de PC e nanopartículas estáveis podem ser obtidas com conteúdos de PC variando de 20 a 40% para razões N/P maiores que 5,0. Os derivados sintetizados demonstram potencial para utilização como vetores para a terapia gênica não viral.

Agradecimentos

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

¹ Prevett L. E.; Kodger T. E.; Reineke T. M.; Lynch M. L.; Langmuir **2007**, 23, 9773.

² Tiera, M. J.; Qiu, X.-P.; Bechaouch, S.; Shi Q.; Fernandes J. C.; Winnik F.M., *Biomacromolecules*, **2006**, 7, 3151.