

## Síntese e Estudos de Transfecção Mediados por Amino-Derivados de Quitosana.

Franciele de P. P. Oliveira<sup>1</sup>(PG), Isadora Pfeifer Dalla Picola (PG)<sup>2</sup>, Qin Shi<sup>3</sup>, Júlio C. Fernandes<sup>3</sup> (PQ), Vera Aparecida de Oliveira Tiera<sup>1</sup> (PQ), Marcio José Tiera<sup>1\*</sup> (PQ)

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, <sup>1</sup>Departamento de Química e Ciências Ambientais, <sup>2</sup>Departamento de Física, Unesp, São José do Rio Preto, SP, Brasil, <sup>3</sup>Hopital du Sacré Coeur de Montreal Université de Montréal, Canada \*mjt@ibilce.unesp.br

Palavras Chave: quitosana, terapia gênica, derivados

### Introdução

Nanopartículas preparadas a partir de polímeros sensíveis a estímulos internos ou externos, tem sido propostos como possíveis carreadores para a terapia gênica bem como para liberação de drogas anticancerígenas.<sup>1</sup> Compostos com grupos funcionais sensíveis ao pH podem ser incorporados na estrutura dos nanocarreadores para se obter uma liberação intracelular eficiente e a localização sub-celular das macromoléculas.<sup>2</sup> No presente trabalho são apresentados os resultados da síntese, caracterização e estudos de transfecção de derivados de quitosana contendo grupos amino secundários e terciários.

### Resultados e Discussão

A quitosana utilizada na síntese foi obtida da desacetilação de quitosana comercial (Mv = 42 kDa). Os derivados foram obtidos pela reação com cloreto de 2-cloro-N,N-dietiletilamina (DEAE-Cl). O grau de substituição (GS) dos derivados foi determinado por Ressonância Magnética Nuclear de prótons (RMN). Na Tabela 1 são apresentados os resultados da caracterização de quitosana e seus derivados. A capacidade tamponante foi determinada utilizando-se o método de Benns e colaboradores<sup>3</sup> e mostrou que a substituição por DEAE aumenta significativamente a capacidade tamponante quando comparado a quitosana.

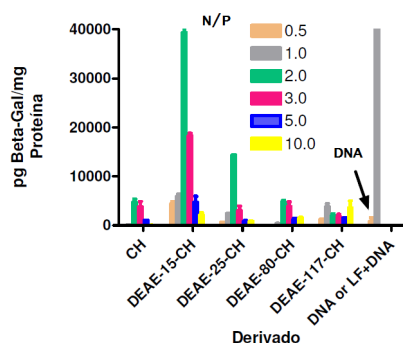
**Tabela 1.** Propriedades da quitosana e dos derivados utilizados na preparação das nanopartículas.

Polímero	Razão D/N	$[\eta]$ (ml/g)	Ds(%)	Dsq(%)	Mw g/Mol (kDa)
CH*	-	190	-	-	17,7
DEAE <sub>15</sub> -CH	0,5	220	14,9	-	21,4
DEAE <sub>25</sub> -CH	1,0	218	24,5	-	21,2
DEAE <sub>80</sub> -CH	1,5	206	62,5	15,5	19,7
DEAE <sub>100</sub> -CH	2,0	163	97,6	16,9	14,5

\*Grau de desacetilação (DDA) = 95,2 % por <sup>1</sup>H-NMR e 94,6 % por potenciometria Ds = Grau de substituição; DSq = Grau de substituição por grupos quaternários.

Células HeLa de carcinoma cervical (FR-positivas) foram utilizadas nos estudos de citotoxicidade e os estudos de transfecção foram conduzidos utilizando-se o plasmídeo DNA VR1412 codificado com o gene da galactosidase. Os estudos

de citotoxicidade mostram que a citotoxicidade aumenta com o grau de substituição de DEAE. Entretanto para valores de Ds 15 e 25% a viabilidade celular permaneceu por volta de 80% decrescendo ligeiramente com o aumento da razão de cargas. Os resultados mostram que a eficiência para a transfecção aumenta com a razão grupos amino/grupos fosfato (+/-) até o valor 2 e diminui para razões maiores. A eficiência na transfecção mostrou um aumento significativo para os polímeros com 15 e 25%, de DEAE, quando comparado a quitosana não modificada.



**Figura 1.** Eficiência para o processo de transfecção utilizando-se as nanopartículas preparadas com quitosana e seus derivados.

### Conclusões

As sínteses dos derivados de quitosana foram bem sucedidas e o grau de substituição pode ser controlado variando-se a razão DEAE/quitosana no meio reacional. Os resultados mostram que os derivados aumentam a eficiência de transfecção em até dez vezes quando comparada à quitosana, e apresentam um grande potencial para estudos *in vivo*.

### Agradecimentos

UNESP, Fapesp, CNPq.

<sup>1</sup>Ganta, S., Devalapally, H., Shahiwal A., AMJI, M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery, *J. Control. Rel.*, v.126, p.187-204, 2008.

<sup>2</sup>Shenoy, D.B., Amiji, M.M., Poly(ethylene oxide)-modified poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles for targeted delivery of tamoxifen in breast cancer *Int. J. Pharm.*, v.293, p. 261-270, 2005.

<sup>3</sup> Bennis, J. M.; Choi, J. S.; Mahato, R. I.; Park, J. S.; Kim, S. W.  
*Bioconjugate Chem.*, v. 11, p. 637–645, 2000.