

Síntese radiolítica de nanopartículas de colágeno desnaturado para aplicações biomédicas

Lara Pongeti Blanco e Murilo Alison Vigilato Rodrigues
Instituto de Pesquisas Energéticas (IPEN-CNEN/ SP)

INTRODUÇÃO

Colágeno, uma proteína estrutural abundante nos animais, está presente em diversos tecidos como pele, ossos e tendões. Sua estrutura é formada por três cadeias polipeptídicas que formam uma hélice tripla, estabilizada por ligações de hidrogênio. Existem 29 tipos de colágeno, todos com uma sequência padrão de aminoácidos em organização helicoidal. O colágeno pode ser convertido em gelatina e peptídeos por desnaturação térmica ou química, seguida de hidrólise enzimática. Esses peptídeos podem passar por métodos como a radiólise para formar nanopartículas de colágeno, úteis em aplicações diversas, como em áreas biomédicas como carreadores de medicamentos, proteínas e genes. Isso se deve à junção de características do colágeno, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa antigenicidade, combinadas com as propriedades notáveis das NPs, incluindo sistemas de liberação controlada e direcionada, a permeabilidade facilitada em barreiras biológicas e uma alta superfície de contato [1].

OBJETIVO

A pesquisa visa sintetizar e caracterizar nanopartículas de colágeno desnaturado utilizando técnicas de radiólise, com o objetivo de criar nanomateriais proteicos para uso em aplicações biomédicas, como em sistemas de liberação controlada e como carreadores de medicamentos, proteínas e genes.

METODOLOGIA

Preparo das nanopartículas

Soluções de 1,5% (m/v) de gelatina, quitosana e quitosana/gelatina foram preparadas. As soluções de quitosana foram preparadas em ácido acético 0,1 N, enquanto as de gelatina em 30% de etanol absoluto e 70% de solução tampão PBS (50 mM, pH 7,2 ± 0,2). A partir da mistura de ambas soluções, em partes iguais, obtivemos as soluções de 1,5% de quitosana/gelatina. As nanopartículas foram sintetizadas através da irradiação das amostras com feixe de elétrons, doses de 5, 10, 15, 20 e 25 kGy, e com raios gama (fonte de ⁶⁰Co), utilizando doses de 10, 25 e 100 kGy [2].

Caracterização das nanopartículas

A caracterização das nanopartículas, obtidas anteriormente através da síntese utilizando radiação gama, utilizou de diversos métodos a fim de determinar tamanho médio, morfologia e estabilidade das amostras. O tamanho das nanopartículas foi estimado a partir do raio hidrodinâmico médio e taxa de polidispersão, dados obtidos a partir da análise de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) para cada amostra. Assim, juntamente com a análise das imagens geradas pela Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), que fornece detalhes mais precisos sobre as formas e dimensões das nanopartículas, foi possível melhor compreender a morfologia e o tamanho das nanopartículas de colágeno desnaturado produzidas. Informações sobre a estabilidade e tendência das nanopartículas de formar aglomerados foram obtidas [2].

através do método do potencial Zeta, ao medir a densidade de cargas de superfície das nanopartículas. A técnica de Espectroscopia UV-Vis foi utilizada para observar possíveis mudanças no comprimento de onda máximo conforme a radiólise das amostras.

RESULTADOS

De acordo com os dados do Espalhamento Dinâmico de Luz, as amostras de gelatina, quitosana e gelatina/quitosana apresentaram, respectivamente, tamanho hidrodinâmico médio de 103 – 559 nm, 85 – 523 nm e 147 – 356 nm. O potencial Zeta médio foi de 0,19 mV a -33 mV para a gelatina, 0,21 mV a 40 mV para quitosana e -2,6 mV a 32 mV para quitosana/gelatina. Foi possível notar que as nanopartículas sintetizadas via feixe de elétrons apresentaram raio hidrodinâmico médio acima do esperado, o que, juntamente com a baixa estabilidade dessas amostras, levou a descontinuidade da síntese por feixe de elétrons. Através das imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura, foram observadas nanopartículas de gelatina esféricas em escala submicrométrica e alguns aglomerados. Foi observado, a formação de géis termorreversíveis nas amostras com gelatina mantidas sob refrigeração que não foram irradiadas ou que foram expostas a doses menores (5 e 10 kGy). O gel é desfeito em temperatura ambiente, e elas retornam ao estado líquido. A Espectroscopia na região do ultravioleta-visível revelou que as nanopartículas de quitosana tornaram-se progressivamente mais escuras conforme o aumento das doses de radiação, enquanto as outras amostras permaneceram inalteradas.

CONCLUSÕES

A diferença no tamanho e na densidade das cargas superficiais das nanopartículas pode ser influenciada pelo tipo de amostra, pela dose recebida e pelos variados modos de

leitura, devendo ser adequados às propriedades específicas das nanopartículas. As cadeias de gelatina se rompem e novas ligações inter e intramoleculares são formadas, independentemente se expostas ou não à radiação. Conforme a dose aplicada, há variação na proporção em que cada um desses processos ocorre. O gel termorreversível, pode ser observado em amostras contendo gelatina que não foram irradiadas ou que receberam doses menores, pois há uma formação reduzida de ligações intramoleculares, resultando em uma menor quantidade de nanopartículas pequenas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Arun, A.; Malrautu, P.; Laha, A.; Luo, H.; Ramakrishna, S. Applied Sciences 11, 11369, 2021.
- [2] Ferreira, A.H.; Lima, C.S.A.; Cruz, C.P.C.; Freitas, L.F.; Furlan, G.N.; Lima, R.C.; Sarriés, G.A.; Lugão, A.B. Radiation Physics and Chemistry 223, 11974, 2023.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

Esse estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq (103320/2024-5) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP (2017/50332-0).