

Reservatórios proteicos a partir de multicamadas automontadas via LbL depositadas em filmes de PLLA e PCL

Giovanne Delechiave (IC), Alliny F. Naves (PQ), Luiz H. Catalani (PQ)*

catalani@usp.br

(*) Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Professor Lineu Prestes, 748 - 05508-900 - São Paulo – SP - Brasil

Palavras Chave: Layer-by-Layer, reservatórios proteicos.

Abstract

Protein reservoirs from multilayers assemblies via LbL deposited onto PLLA and PCL films

Heparin and chitosan were used to built LbL assemblies as delivery device of proteins, like lysozyme and BSA.

Introdução

A técnica de automontagem de filmes por *Layer-by-Layer* (LbL) foi definida inicialmente por Decher em 1997 como deposições (ou adsorções) alternadas de polieletrólitos de cargas opostas sobre um substrato carregado eletrostaticamente, formando multicamadas sobrepostas e está entre as metodologias para a produção de biomateriais com alta funcionalidade. Verificou-se que tanto a formação das camadas alternadas como a fixação das mesmas no substrato poderiam efetuar-se por meio de interações intermoleculares mais fracas, como ligações de hidrogênio ou até mesmo por atrações hidrofóbicas. Neste trabalho, a produção de reservatórios para proteínas utilizando proteínas modelo como a albumina de soro bovino, BSA, e lisozima, LIS, co-adsorvidas em multicamadas compostas de heparina, HEP, e quitosana, QUI, foi realizada sobre filmes finos de poliésteres biodegradáveis como o PLLA, poli(ácido L-lático), e PCL, (poli(ε-caprolactona)).

Resultados e Discussão

A primeira etapa do trabalho foi focada na preparação das multicamadas sobre silício utilizando o polieletrólito poli(etileno imina), PEI, apenas na primeira camada. Os sistemas $\text{SiO}_2/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI})_{20}$, $\text{SiO}_2/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{20}$ e $\text{SiO}_2/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{20}$ construídos diretamente no silício foram analisados por elipsometria e AFM, possibilitando assim a comprovação da formação dos filmes de LbL.

Tabela 1. Espessuras finais das multicamadas no silício determinadas por AFM e elipsometria. (A) $\text{SiO}_2/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI})_{20}$, (B) $\text{SiO}_2/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{20}$, C - $\text{SiO}_2/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{20}$

Sistemas	AFM (nm)	Elipsometria (nm)
A	(75,0 ± 17,5)	(78,6 ± 0,1)
C	(93,5 ± 11,5)	(75,0 ± 0,8)
F	(83,5 ± 6,0)	(67,6 ± 1,1)

Em seguida, filmes finos de PCL e PLLA produzidos por revestimento rotacional foram utilizados como base para produção das seguintes multicamadas:

$\text{PCL}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI})_{10}$, $\text{PCL}/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{10}$, $\text{PCL}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{10}$, $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI})_{10}$, $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{10}$, e $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{10}$. Em uma última etapa, foi realizado o estudo progressivo de crescimento dos reservatórios contendo as proteínas modelo:

$\text{PCL}/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{10}$, $\text{PCL}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{10}$, $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{10}$ e $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{10}$ contendo 1, 2, 3 ou 5 pares de camadas. As multicamadas obtidas sobre os filmes de PCL e PLLA foram analisadas apenas por AFM (Figura 1). A comparação entre as superfícies das multicamadas LbL entre si e em relação às superfícies dos filmes de PCL e PLLA sem LbL observadas nas imagens de AFM permitiu confirmar o crescimento das multicamadas HEP/QUI e a co-adsorção das proteínas modelo.

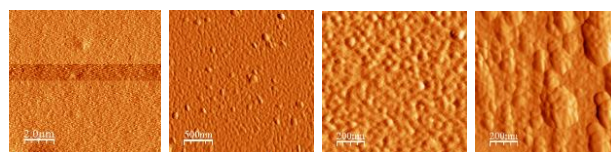


Figura 1. Imagens de AFM dos sistemas: PLLA, $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI})_{10}$, $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP}/\text{QUI-LIS})_{10}$, $\text{PLLA}/\text{PEI}/(\text{HEP-BSA}/\text{QUI})_{10}$, (esquerda p/ direita).

Também foram observadas diferenças no crescimento e estruturação das multicamadas nos diferentes filmes de PCL e PLLA, sendo que o PLLA proporcionou multicamadas com melhor recobrimento e mais homogêneas.

Conclusões

Foram construídas multicamadas de LbL contendo proteínas modelo – BSA e LIS - tanto no silício como sobre os filmes de PCL e PLLA, podendo assim, serem utilizados no armazenamento e liberação de proteínas de interesse, como peptídeos anticorpos e fatores de sinalização celular.

Agradecimentos

À FAPESP (Processo 2015/10009-0)

¹ Naves, A.F., Motay, M., Méridol, R., Davi, C.P., Felix, O., Catalani, L.H., Decher, G. **Layer-by-Layer assembled growth factor reservoirs for steering the response of 3T3-cells, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2015, Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.11.019>.

² Decher, G., Fuzzy, **Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites**. *Science*, 1997. 77: p. 1232-1237.