Funcionalização de superfícies de ouro para detecção de lipossomos de DMPC utilizando microscopia de força atômica.

Juliana A. F. Burguim*, Paula S. Casagrande, Wyllerson E. Gomes e David M. Soares.

Resumo

Neste trabalho utilizamos a microscopia de força atômica (AFM) para estudar a adsorção de lipossomo sobre o ouro funcionalizado hidrofílico, funcionalizado hidrofóbico e não funcionalizado. A funcionalização hidrofílica feita com monocamada de ácido 3-mercaptopropiônico (3-MPA) e a hidrofóbica com monocamada de octanotiol. A partir da análise das imagens de AFM observamos a adsorção de lipossomos formada por DMPC (Dimiristoilfosfatidilcolina), sobre diferentes substratos.

Palavras-chave:

ouro, funcionalização, lipossomo.

Introdução

Molhabilidade é uma propriedade que descreve o comportamento de um líquido em contato com uma superfície sólida. O grau de molhabilidade é medida através da resultante das interações entre as forças de coesão intermoleculares entre o líquido adsorvida sobre a superfície do sólido.¹

Neste trabalho utilizamos substrato policristalino de ouro (eletrodo) e sobre estes adicionamos duas diferentes funcionalizações: uma monocamada autoformada hidrofóbica (octanotiol) e outra hidrofílica (ácido 3-mercaptopropiônico). Sobre estas diferentes superfícies aplicamos uma solução de lipossomos e observamos utilizando a microscopia de força atômica (AFM).

O lipossomo utilizado é uma vesícula anfifílica formada por bicamadas de moléculas de DMPC, semelhante à membrana plasmática.² Estruturas de interesse farmacêutica para carregamento de fármacos.

Resultados e Discussão

O AFM é uma técnica que permite através da varredura por sonda, obter características intrínsecas da superfície do material analisado em escala nanométrica.³

Obtendo assim, imagens das superfícies (Fig.1) do ouro sem funcionalização (Fig.1a), ouro com funcionalização hidrofóbica (Fig.1b) e ouro com funcionalização hidrofílica (Fig.1c). A formação do filme hidrofóbico feita através da imersão do substrato em 5ml de etanol com monômeros de octanotiol (0,1 mM), imersa em solução durante 24 horas. Da mesma forma fizemos a solução hidrofílica com monômeros de 3-MPA (0,1mM).

Comparando as três superfícies (Fig.1) nota-se uma diferença significativa em suas rugosidades média ($R_{\text{média}}$).⁴

Os ângulos de contato, mostraram que o ouro tem um caráter hidrofóbico, intensificado pelo filme de octanotiol e o filme de 3-MPA torna a superfície de ouro hidrofílica.

Fig.1: Imagem de AFM do substrato de ouro: (a) sem funcionalização, $R_{\text{média}} = 1,6652\text{nm}$; (b) funcionalizado com octanotiol, $R_{\text{média}} = 2,0017\text{nm}$; (c) funcionalizado com 3-MPA, $R_{\text{média}} = 2,3934\text{nm}$.

Em seguida adicionamos duas gotas de solução de lipossomo, preparada dissolvendo-se DMPC em clorofórmio, após secagem formando bicamada lipídica, adicionamos água deionizada até a concentração de $2,0 \times 10^{-5}$ M e colocamos no ultrassom para ressuspender, formando as vesículas (lipossomos).

Fig. 2: Imagem de AFM das superfícies com lipossomos sobre superfície de a) ouro, b) 3-MPA, c) octanotiol.

Nota-se, que o comportamento lipossomos são diferentes (Fig.2), a vesícula em contato com a superfície hidrofílica apresentou um alto grau de molhabilidade e na superfície hidrofóbica um grau bem menor.

Conclusões

Utilizando o AFM e medidas de ângulos de contato constatamos que a funcionalização com monocamadas autoformadas alteram a adsorção de lipossomos. A adsorção dos lipossomos formados com DMPC, fornece informações da sua forma, estabilidade e sobre a especificidade de interação de sua superfície com o substrato hidrofóbico e hidrofílico, o que é altamente relevante na indústria de fármacos.

Agradecimentos

P.S.C. é bolsista Capes e J.A.F.B. é bolsista SAE-Unicamp. Agradecimentos aos técnicos Luiz Bonugli e José Roberto de Castro.

¹ Oliveira, Márcio Roberto da Silva Superfícies Super-Hidrofóbicas obtidas através de Microestruturas Litografadas. 2011. 125 f. Tese (Doutorado Engenharia Elétrica) – Escola Politécnica da USP, Universidade de São Paulo, São Paulo

² Robertis, Edward De ; Hib, José De Biologia Celular e Molecular. 2012, p. 58, 16ed.

³ Giessibl, Frazz. J. Advances in atomic force microscopy. Augsburg, 2003, n. 3, Vol. 75, p. 949-983

⁴ Josso, Bruno; Burton, David; Lalor, Michael Frequency Normalised Wavelet Transform for Surface Roughness Analysis and Characterisation. Wear. 2002Vol 252, n 5, p. 491-500