

POLÍMEROS BIOFUNCIONAIS PREPARADOS PELA RADIAÇÃO IONIZANTE

Flavia Martellini*, Andrea C. D. Rodas*, Álvaro A. A. de Queiroz**, Olga Z. Higa*

*Coordenadoria de Bioengenharia - IPEN/CNEN - SP
Caixa Postal 11049
05422-970, São Paulo, SP., Brasil;

**Escola Federal de Itajubá - EFEI
Caixa Postal 50
37500 - 000, Itajubá, MG., Brasil

ABSTRACT

ABSTRACTS: Polymeric systems with biomedical and biochemical properties can be obtained by radiation induced polymerization. Those systems exhibit a pharmaceutical or biocatalytic activity if drugs or enzymes are immobilized in the polymer matrices. This work deals with the synthesis by gamma radiation of acrylic monomers and paracetamol, a drug with analgesic and antithermic action, which can be used as medication in drug delivery systems. Besides, polyethylene (PE) and polypropylene (PP) radiation grafted with a hidrogel containing carboxylic groups (acrylic acid), showed to be a suitable substrate for the enzyme coupling, such as urease and glucose oxidase. The grafted matrices allow the immobilization of any biocomponent with protein structure.

INTRODUÇÃO

Processos envolvendo radiações de alta energia com a finalidade de obter-se materiais de uso biomédico, como implantes ou dispositivos para diagnóstico e terapia, têm sido utilizados intensivamente nos últimos 30 anos. Algumas das vantagens deste processo, como a execução à temperatura ambiente, o não emprego de aditivos químicos (iniciadores) que poderiam comprometer a utilização do material no organismo humano e, a esterilização simultânea, são apontados como fatores encorajadores à utilização desta técnica para a obtenção de biomateriais [1].

Os métodos que envolvem radiações ionizantes são particularmente importantes para a produção de uma grande variedade de copolímeros de enxerto com grupos funcionais, que podem ser convenientemente ativados para o acoplamento de biomoléculas como proteínas ou enzimas de interesse clínico. O acoplamento do biocomponente tem por objetivo sua fixação para a utilização em processos repetitivos ou contínuos [2].

Outro processo de igual importância que utiliza reações iniciadas pela radiação ionizante é a polimerização de monômeros vinílicos possuidores de grupos funcionais com atividade farmacológica. Tais reações dão origem a polímeros farmacologicamente ativos que podem ser utilizados como transportadores de agentes farmacêuticos, constituindo os sistemas de liberação controlada de drogas (DDS) [3].

Os sistemas poliméricos com atividade farmacológica ou biocatalítica, se houver um fármaco ou uma enzima imobilizada na matriz polimérica, são denominados biofuncionais. Os trabalhos envolvendo a radiação ionizante na síntese de tais sistemas são inúmeros [4-6].

O presente trabalho consistiu na preparação de polímeros funcionais que podem ser utilizados em bioquímica clínica ou em terapia. Estes preparados consistem-se de copolímeros de enxerto poli(etileno-*grafted*-ácido acrílico) (PE-*g*-AA), poli(propileno-*grafted*-ácido acrílico) (PP-*g*-AA) e de copolímero de bloco poli(N,N-dimetilacrilamida-*co*-acrilóiloxiacetanilida) (AOA) (DMAA-*co*-AOA). Os copolímeros de enxerto PE-*g*-AA e PP-*g*-AA foram preparados para a imobilização das enzimas invertase e urease. O copolímero de bloco DMAA-*co*-AOA é um derivado acrílico com ação antitérmica e analgésica, que pode ser utilizado em medicação, constituindo um sistema de liberação controlada no organismo.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Materiais

Grânulos de polietileno de baixa densidade (PE) e polipropileno (PP) (3 mm de diâmetro), adquiridos no comércio local, foram empregados como polímero base. Assim, grânulos de PE e PP foram previamente lavados com água e detergente neutro a 10%, água destilada e deionizada, acetona e em seguida secos sob vácuo durante 24 horas. Os monômeros ácido acrílico (AA) e N,N-dimetilacrilamida (DMAA) fornecidos pela Dow Chemical e Aldrich foram utilizados sem sofrerem prévia destilação. O monômero acrilóiloxiacetanilida (AOA) foi sintetizado pela reação entre cloreto de acrilóila e p-hidroxiaceanilida em meio alcalino, utilizando-se como solvente o dioxano. A síntese consiste na reação de 0,1 mol de p-hidroxiaceanilida para 0,2 mols de cloreto de acrilóila. A temperatura do meio reacional foi mantida em 0°C. O monômero AOA precipitado foi separado por filtração, dissolvido e cristalizado por duas vezes em água destilada e deionizada para purificação. Os demais reagentes utilizados eram de grau analítico.

Obtenção dos Copolímeros de Enxerto

Foram pesados cerca de 5g de PP e colocados em ampolas de vidro juntamente com soluções de AA/metanol e AA/água. As ampolas foram submetidas ao fluxo de gás nitrogênio por 5 minutos, seladas e expostas a fonte de ⁶⁰Co, em intervalos de taxas de dose de 0,13 a 1,0 kGy/h e dose de irradiação de 2,0 a 10,0 kGy.

Após a reação de enxertia obtido pela técnica simultânea, o homopolímero formado foi extraído por imersão das amostras em metanol, durante 72 horas. Em seguida os grânulos foram lavados com acetona e mantido no dessecador sob vácuo para secagem até peso constante e armazenamento.

Os níveis de enxertia (E%) dos grânulos foram avaliados conforme a expressão:

$$E\% = [(m_f - m_i) / m_i] \times 100$$

onde: m_f = massa final (após enxertia)

m_i = massa inicial (antes da enxertia)

Ativação dos Copolímeros de Enxerto e Imobilização das Enzimas

Cerca de 5g de grânulos enxertados com AA foram colocados num balão de refluxo com metanol e ácido sulfúrico concentrado. O sistema foi colocado sob refluxo a aproximadamente 60°C por 4 dias. Lavados com água destilada até pH 6,0. Preparou-se uma solução de hidrazida a 4% em água deaerada na qual foram colocados os grânulos anteriormente tratados, por mais 4 dias na geladeira.

Após esta etapa, os grânulos foram tratados com HCl e NaNO₃, lavados com solução de NaCl e imersos em solução com a enzima.

Obtenção do Fármaco Polimérico

Os copolímeros poli(DMAA-co-AOA) foram obtidos através da polimerização via radiação gama proveniente de uma fonte panorâmica de ⁶⁰Co. As amostras foram irradiadas a uma taxa de dose 0,2 kGy/h num intervalo de dose de 5 a 60 Gy. Foram feitas soluções de DMAA e de AOA ($F_{DMAA} = 0,85$ e $F_{AOA} = 0,15$ onde F é a fração molar dos monômeros da alimentação) em dimetilformamida (DMF) e deaeradas em alto vácuo (10⁻⁴ mmHg) em ampolas de vidro para serem irradiadas. Os copolímeros foram separados das soluções por precipitação em éter etílico e filtrados e após foram secos à vácuo e à temperatura constante (25°C). Os monômeros foram utilizados em quantidades estequiométricas para obter 5g de copolímero para conversão 100%. A liberação do paracetamol foi determinada em meio alcalino pH 8,5 com método colorimétrico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da concentração do monômero AA no percentual de enxertia do PP foi estudado pela variação da concentração do monômero em metanol, utilizado como solvente. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 1. À medida em que se aumentou a concentração do monômero, aumentou-se o percentual de enxertia até atingir-se o máximo ao redor de 40%, a partir do qual observou-se uma diminuição do processo.

Este comportamento é explicado pelo fato de que à baixa concentração do monômero, mesmo que sua difusão dentro do substrato seja alta, a concentração de radicais será baixa. A alta concentração do monômero leva a um aumento tanto da difusão como da concentração de radicais, aumentando-se assim o percentual de enxertia, até atingir-se o ponto onde haverá a formação do homopolímero insolúvel, o poli(ácido acrílico) (PAA) [7]. A formação do homopolímero desfavorece a reação de enxertia do AA nos substratos poliméricos.

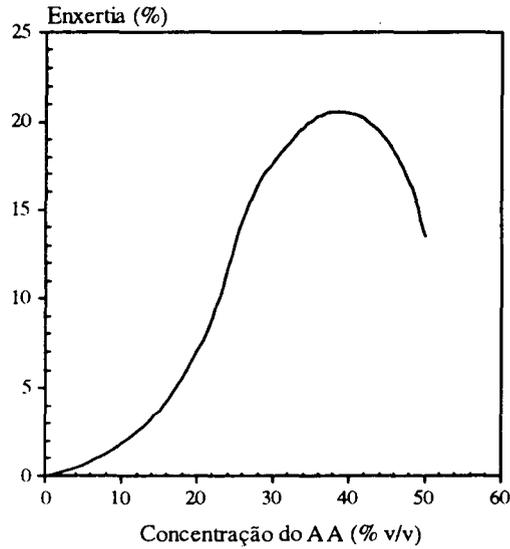


FIGURA 1 - Efeito da concentração de ácido acrílico na enxertia do PP, na dose de 10kGy a uma taxa de dose de 0,31kGy/h.

A Figura 2 mostra que o rendimento no acoplamento das enzimas invertase e urease no copolímero PE-g-AA ativado, aumentou com o percentual de enxertia. Isto poderia estar associado a uma alta conversão das carboxilas do PAA a azidas.

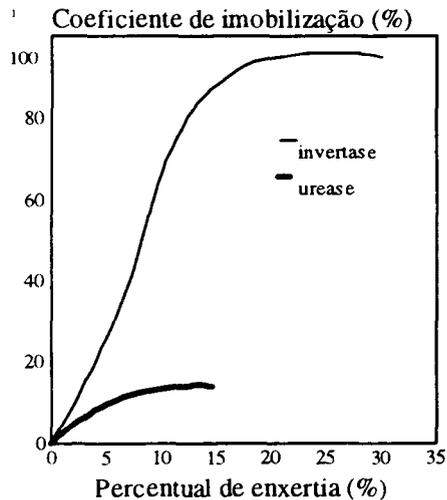


FIGURA 2 - Rendimento no acoplamento das enzimas invertase e urease em diferentes percentuais de enxertia em PE-g-AA.

A taxa de conversão da copolimerização do DMAA e AOA em função da dose de irradiação para uma taxa de dose de 0,2 kGy/h é mostrado na Figura 3. Observou-se uma saturação a um percentual de conversão de 65%. O patamar observado pode estar associado à concentração constante dos radicais formados sendo que a partir da dose de irradiação 30 Gy a molécula formada estaria suscetível de sofrer radiólise ou formação de ligações cruzadas [8].

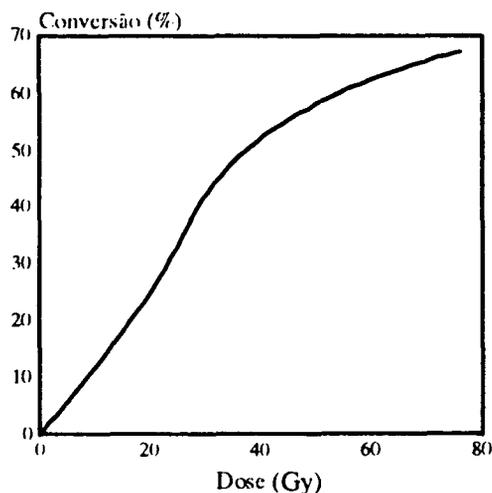


FIGURA 3 - Rendimento da copolimerização entre o DMAA (85%) e o AOA (15%) induzida por raios gama (taxa de dose = 0,2 kGy/h).

O comportamento hidrolítico do copolímero obtido a uma taxa de conversão de 65% é mostrado na Figura 4. A quantidade máxima liberada de fármaco foi de 65 mg por grama de copolímero DMAA-co-AOA utilizado, correspondendo a uma velocidade de liberação de 0,7 mg/h nas condições ensaiadas. Tal velocidade de liberação pode ser de grande utilidade no tratamento da artrite reumática, que requer uma ação medicamentosa prolongada.

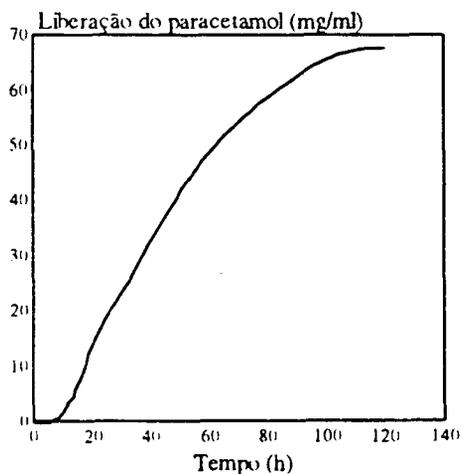


FIGURA 4 - Liberação do paracetamol do copolímero (DMAA-co- AOA) por dia, em solução de pH 8,5.

A droga polimérica obtida forneceu um modelo inicial para a síntese de sistemas farmacológicos de liberação controlada.

Agradecimentos. Este trabalho está sendo realizado com o suporte da CAPES, CNPq, CNEN-SP e a colaboração dos estudantes de iniciação científica: Miriam Cristina Sakuragui e Mônica Taoda

REFERÊNCIAS

- [1] CARENZA, M. Recent achievements in the use of radiation polymerization and grafting for biomedical applications. Radiation Physics and Chemistry, v.39, n. 6, p. 485-493, 1992.
- [2] KAETSU, I., KUMAKURA, M., FUJIMURA, T., YOSHIDA, M., ASANO, M., KASAI, N. TAMADA, M. Studies on the immobilization of biofunctional components by radiation polymerization and their applications. Radiation Physics and Chemistry, v.27, n.4, p. 245-263, 1986.
- [3] ILLUM, L., DAVIS, S.S. Polymers in controlled drug delivery, London, Bath Press, 1987.
- [4] GARNETT, J.L., JANKIEWICZ, S.V., LEVOT, R., SANGSTER, D.F. Insolubilization of biologically active materials with novel radiation graft copolymers. Radiation Physics and Chemistry, v.25, n. 4-6, p. 509-16, 1985.
- [5] KAETSU, I., KUMAKURA, M. Immobilization of enzyme and antibody by low energy electron beam polymerization. Radiation Physics and Chemistry, v. 30, n. 4, p.263-270, 1987.
- [6] LASKIN, A.I. Enzymes and immobilized cells in biotechnology, California, Benjamin/cummings Publishing, 1985.
- [7] HEGAZY, A.EL-S., ISHIGAKI, I., OKAMOTO, J. Radiation grafting of acrylic acid onto fluorine-containing polymers. I. Kinetic study of preirradiation grafting onto poly(tetrafluoroethylene). Journal of Applied Polymer Science, v. 26, p. 3117-24, 1981.
- [8] CHAPIRO, A.; Radiation induced polymerization. Radiation Physics and Chemistry, v. 14, p.101-16, 1979.