

# Agregação de lípidos e tensioactivos

Implicações biológicas e aplicações tecnológicas



**Margarida Bastos**

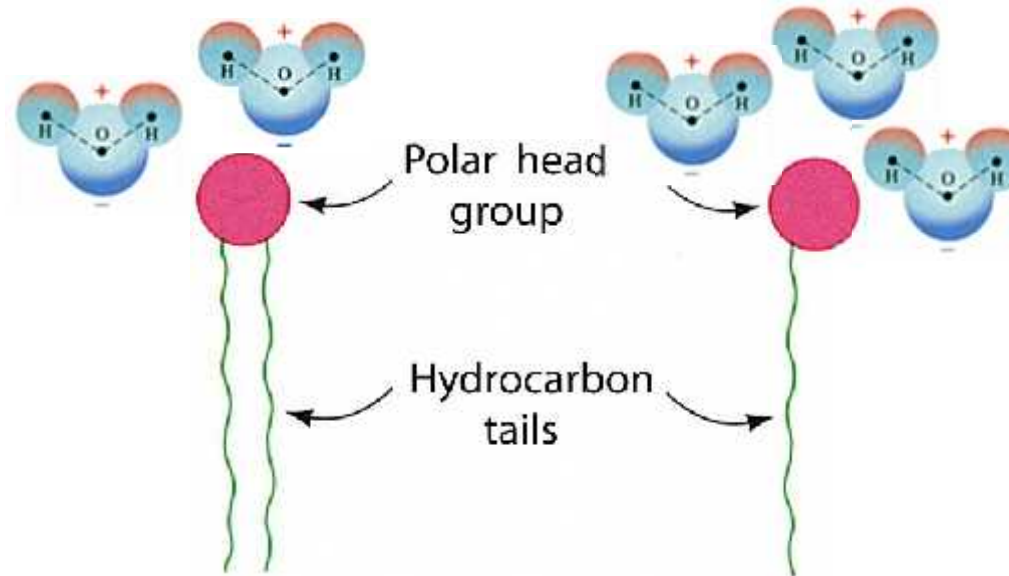
Departamento de Química e Bioquímica  
Faculdade de Ciências, Universidade do Porto

# Lípidos

(tensioactivos biológicos)

# Tensioactivos

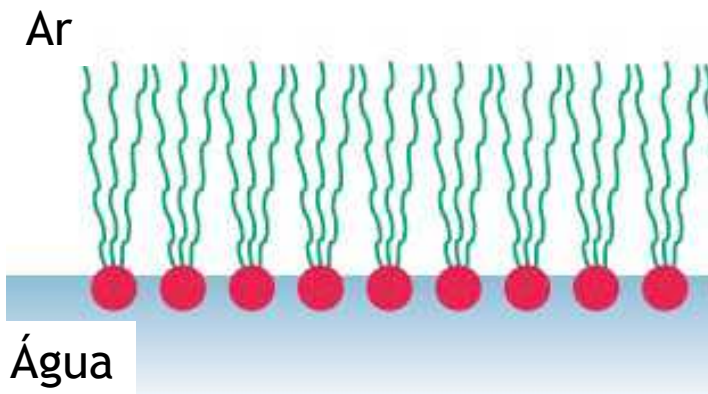
(detergentes)



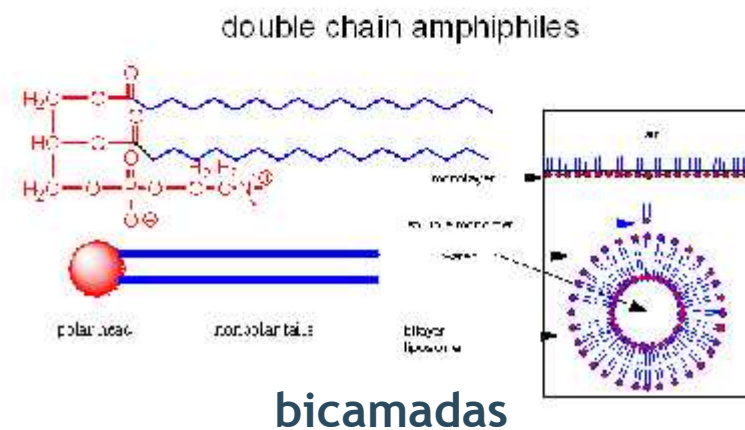
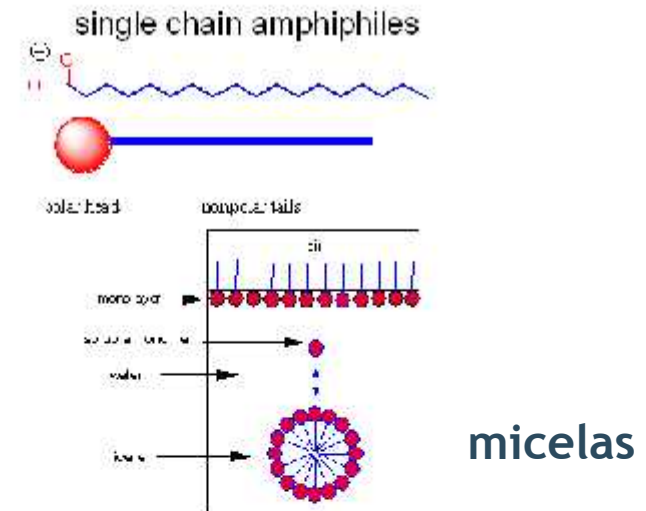
# Moléculas Anfifílicas

# Agentes Tensioactivos

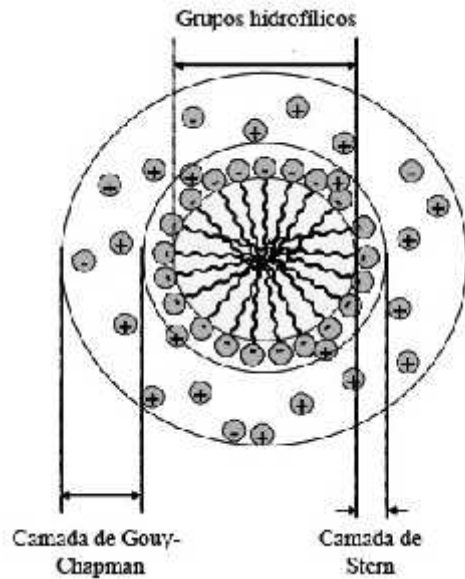
- Adsorção em interfaces
- Diminuição da tensão superficial



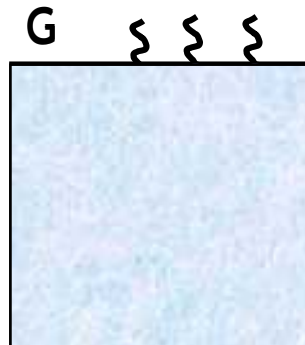
# Auto agregação em solução aquosa



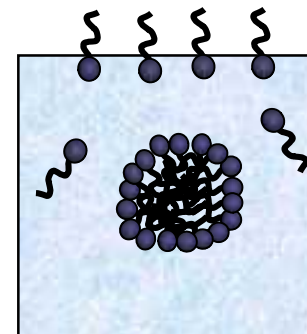
# Tensioactivos (detergentes)



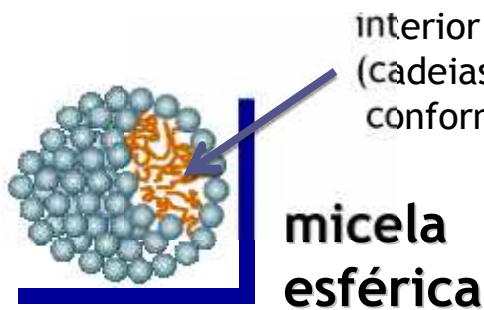
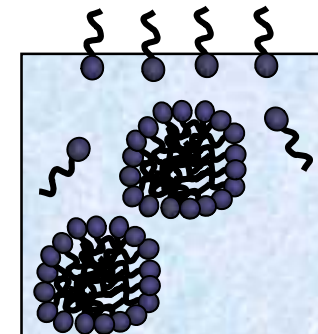
$$C_{tens} < cmc$$



$$C_{tens} = cmc$$



$$C_{tens} > cmc$$

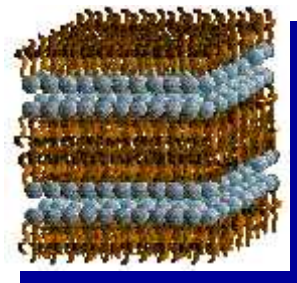
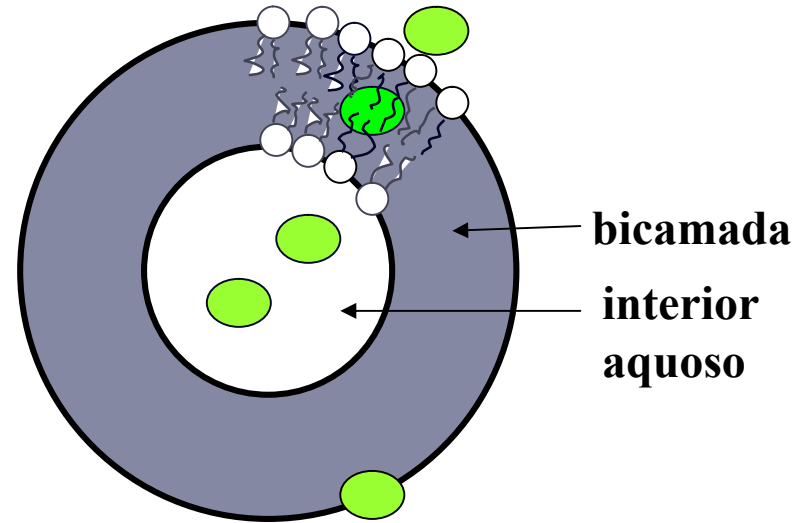
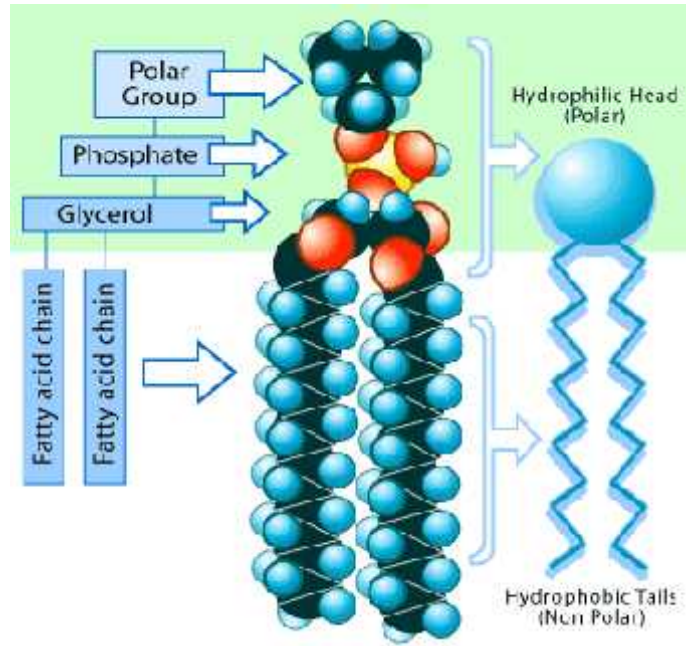


interior "líquido"  
(cadeias em desordem conformacional)

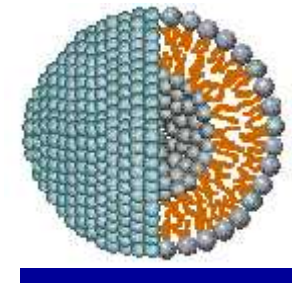


# Lípidos

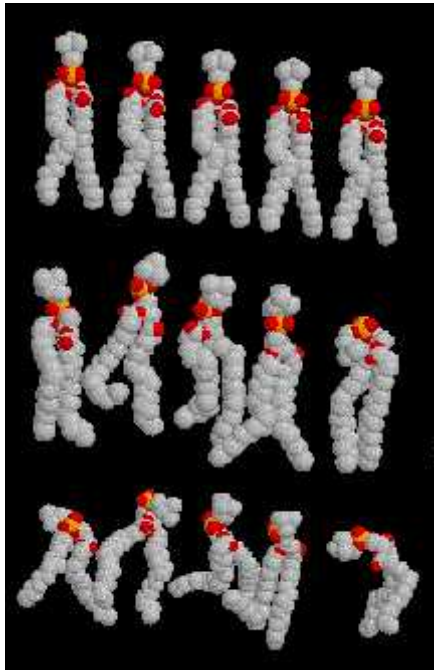
Fosfolípido



bicamadas



lipossoma



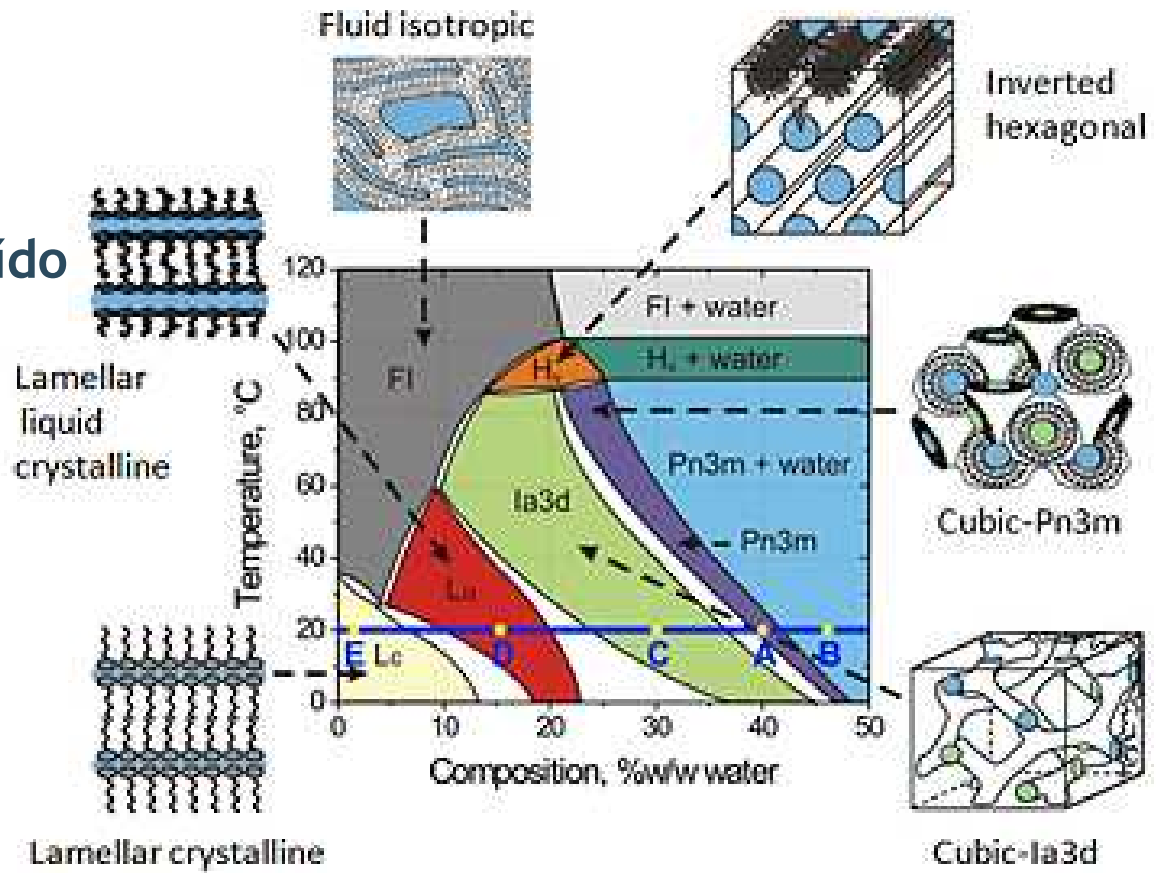
temperatura  
cristal

# Lípidos - fases

Temperatura e hidratação

gel

fluido



# Moléculas anfifílicas

**Englobam**

tensioactivos iónicos e neutros  
lípidos e sais biliare  
copolímeros de bloco e de enxerto  
(tensioactivos macromoleculares)

**auto-organizam-se  
em interfaces  
e em solução**

modificam propriedades interfaciais  
promovem a compatibilidade  
partição/compartimentalização

**formam a base da vida**

membranas biológicas

**têm inúmeras aplicações  
na indústria**

detergentes, cosméticos, medicamentos  
(veiculação de fármacos), alimentos,  
papel, tintas, colas, etc

# Para entender as implicações biológicas e desenhar as aplicações tecnológicas

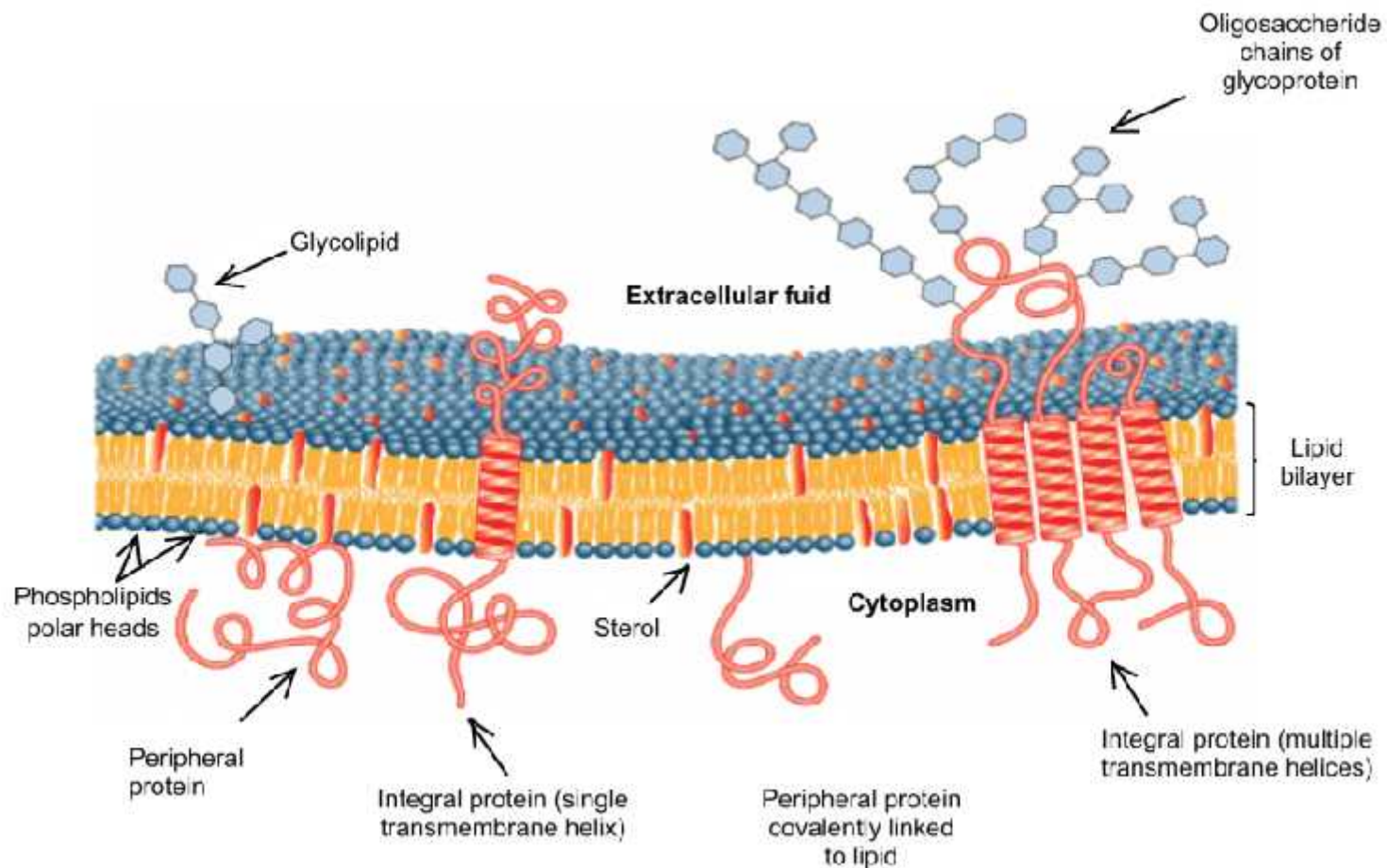
Conhecimento detalhado de:

- Estrutura das moléculas
- Estrutura dos agregados formados
- Dependência nas variáveis - temperatura, grau de hidratação, pH
- Energética da formação
- Caracterização das fases formadas



# Implicações Biológicas

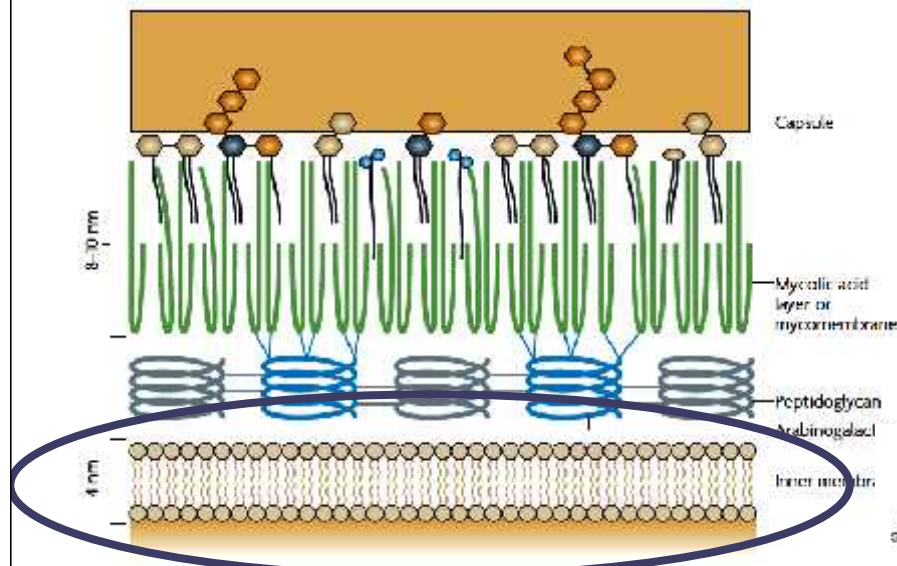
## membrana celular



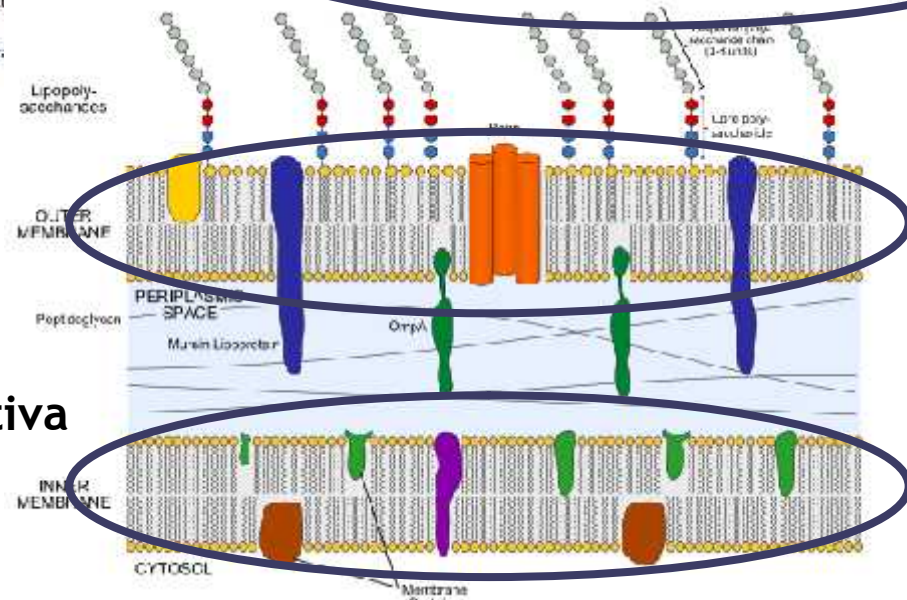
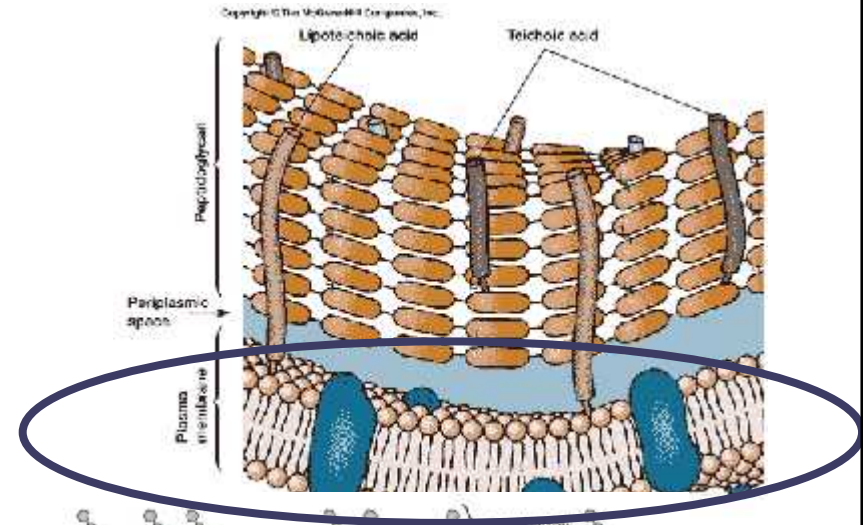
# Implicações Biológicas

## Constituintes dos agentes patogénicos

### Bactéria Gram positiva



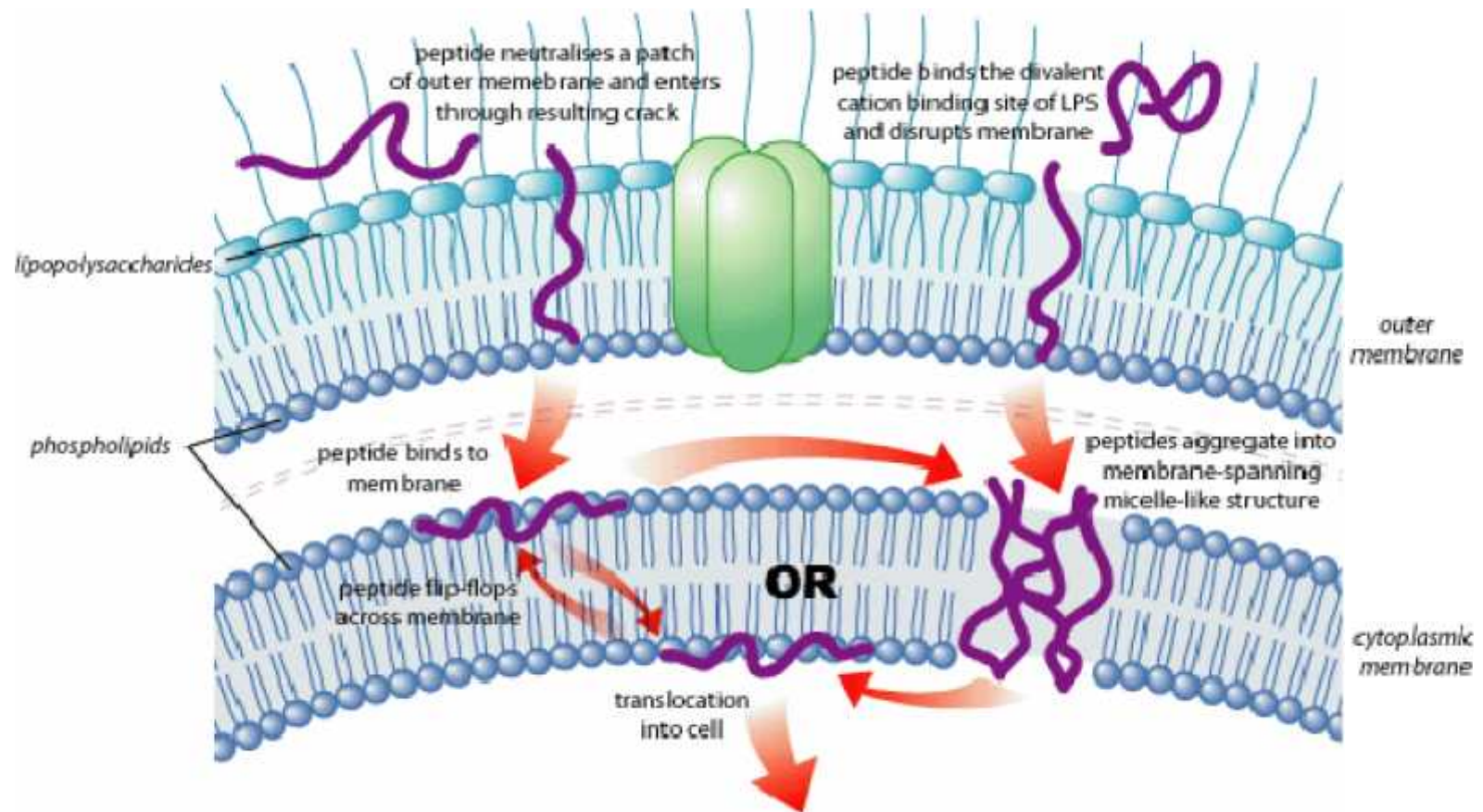
**M. tuberculosis**



**Bactéria Gram negativa**

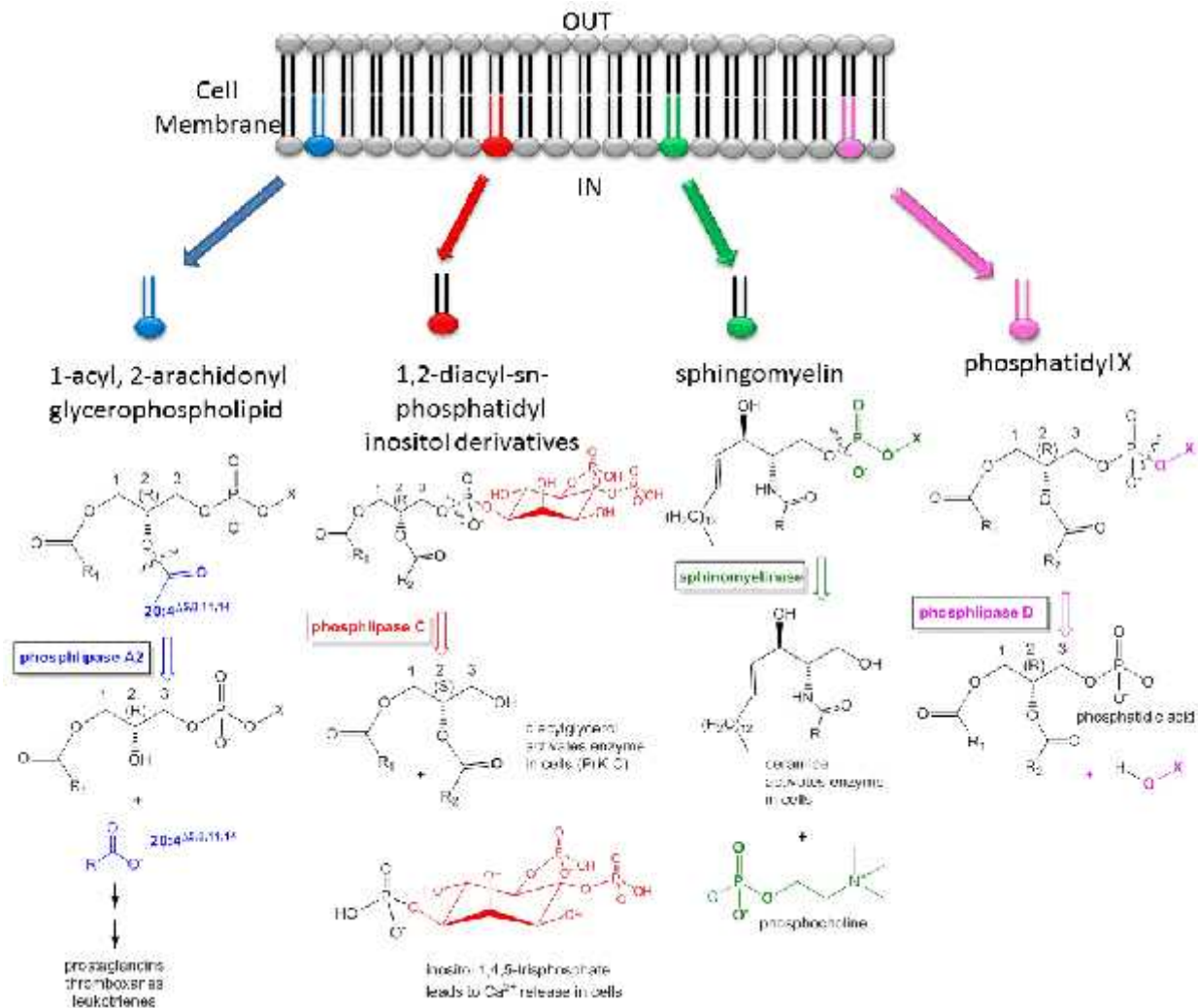
# Implicações Biológicas

Envolvimento no mecanismo de acção dos  
**PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS**



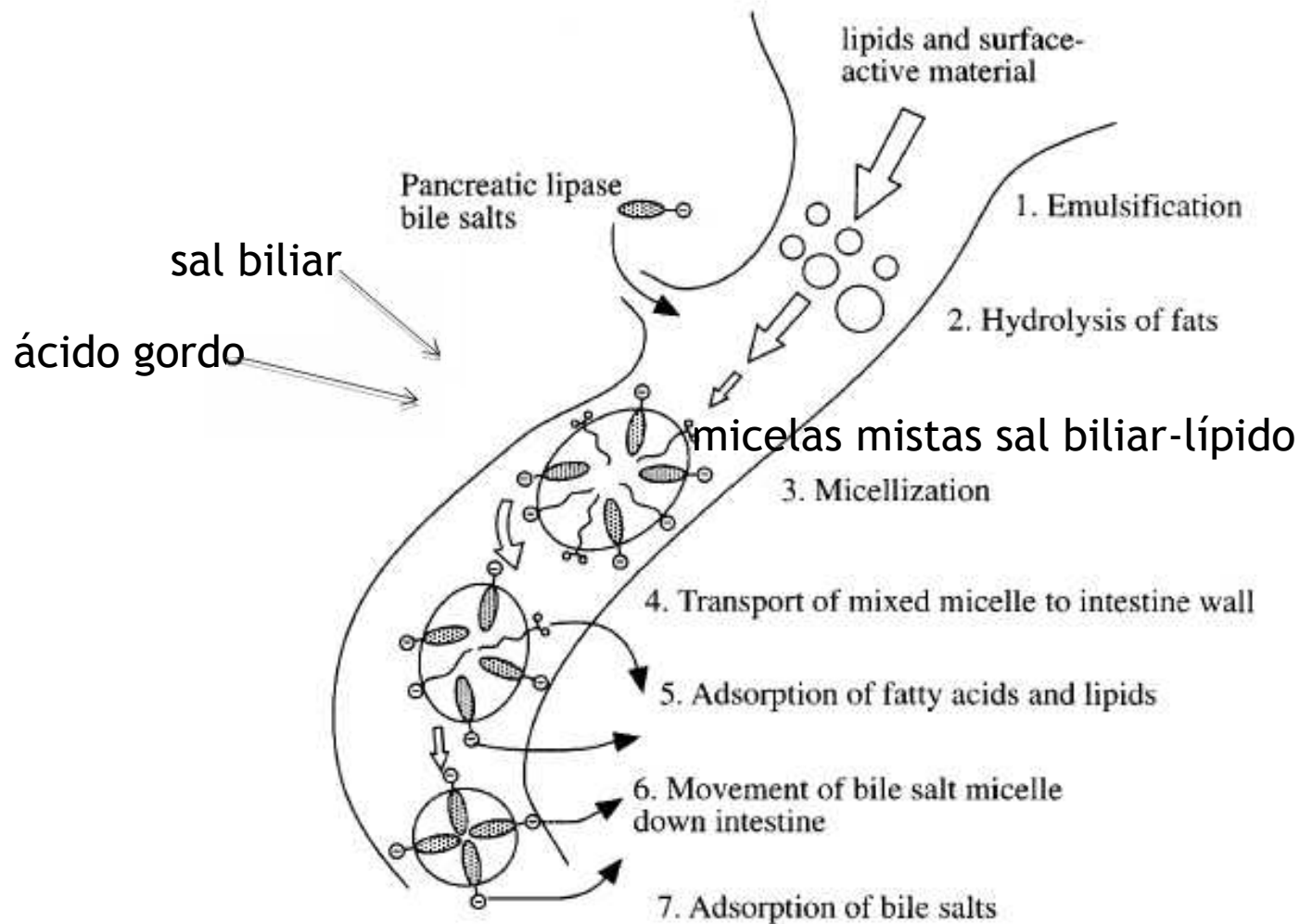
# Implicações Biológicas

## Lípidos como mediadores na transdução de sinal



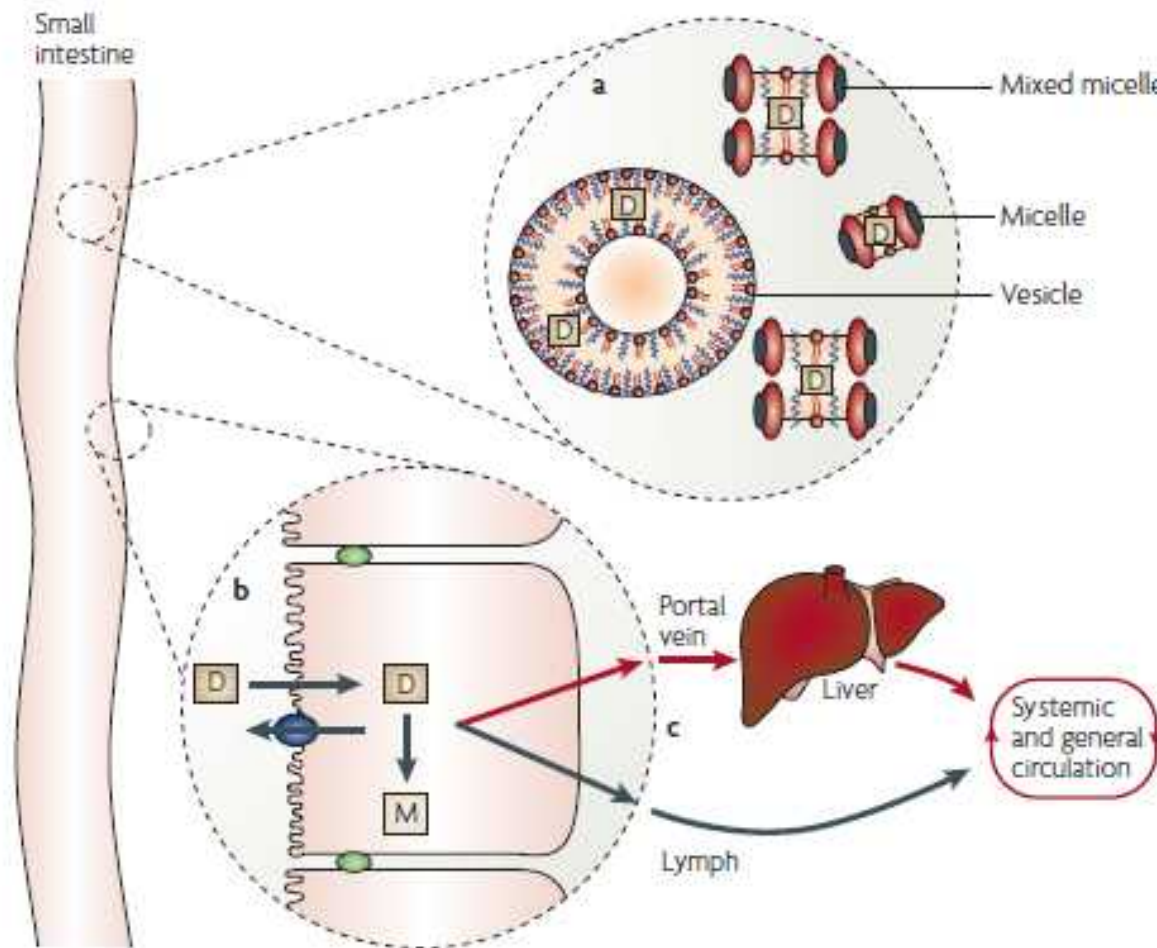
# Implicações Biológicas

Sais biliares: processo de micelização e adsorção de lípidos no tracto digestivo



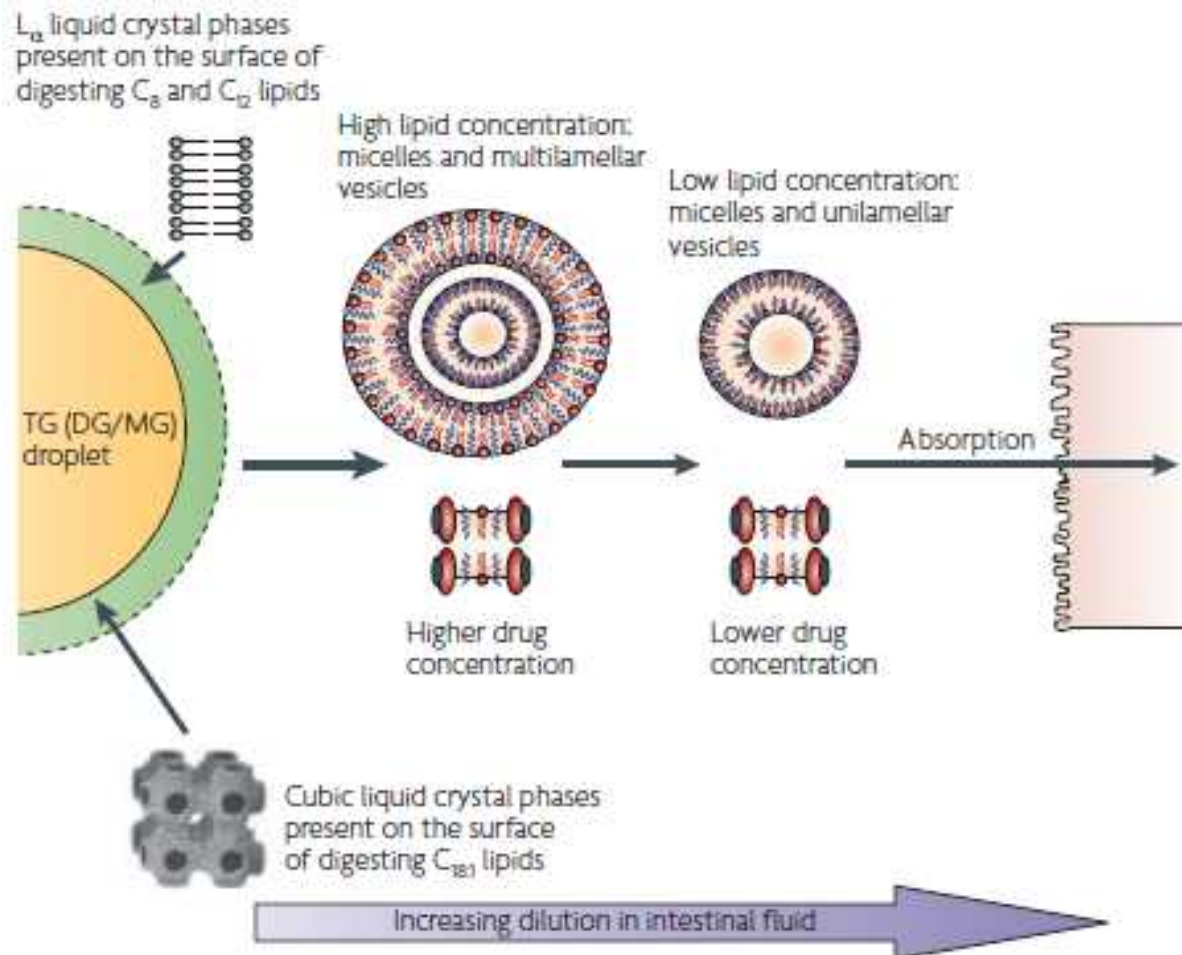
# Implicações Biológicas

Efeito potencial de lípidos e excipientes lipídicos na absorção de drogas



# Implicações Biológicas

Efeito de diluição e alterações de fase - fases lamelares e cúbicas



# Implicações Biológicas

Após as eras da **GENÓMICA**, e da **PROTEÓMICA**,  
será a vez da

# LIPIDÓMICA

E talvez, num futuro não muito distante, teremos  
a grande era da **METABOLÓMICA**

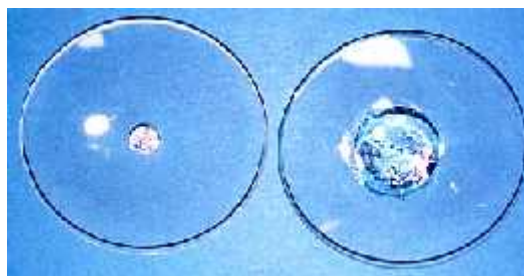
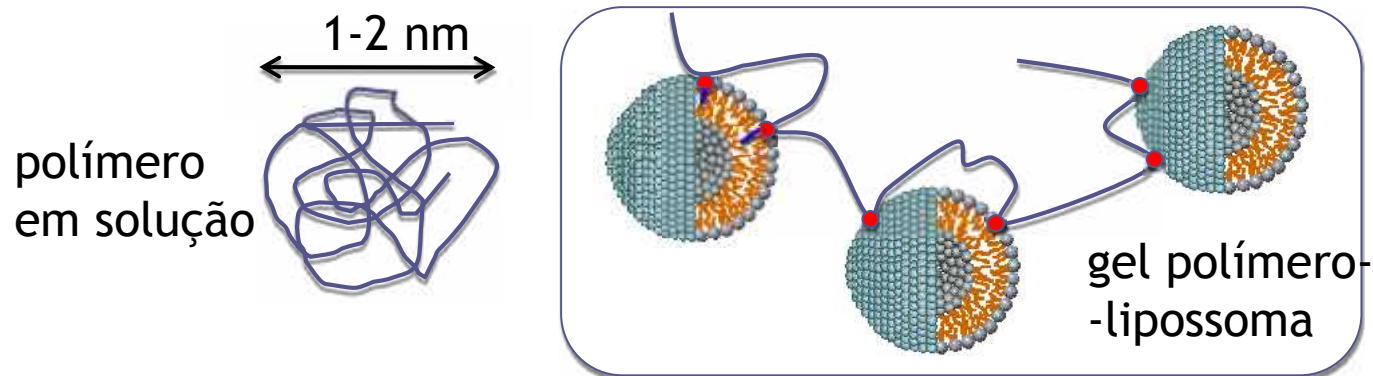


estudo da interacção de todos os  
constituintes da matéria viva



# Aplicações tecnológicas

## Colóides macromoleculares



Hidrogel seco e hidratado



Aerogel

# Aplicações tecnológicas/biológicas

Encapsulação de drogas em nanopartículas para melhorar a administração e a biodistribuição

- partículas sólidas revestidas ou não
- vesículas
- lipossomas
- micelas
- polímeros hidrofobicamente modificados
- Misturas de polímeros e lípidos (lipídios PEGuilados), polímeros e tensoactivos

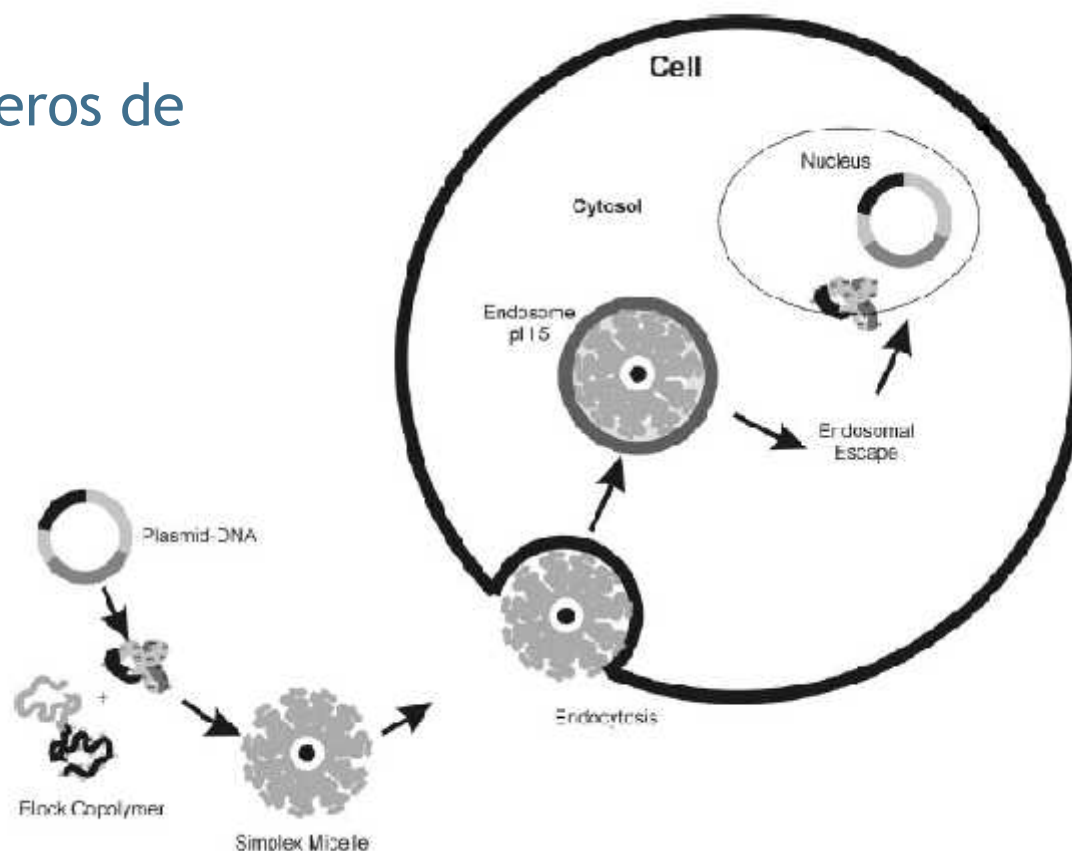
# Aplicações tecnológicas/biológicas

## Uso de lipossomas em terapia génica

- Passo limitante na terapia génica - obtenção de uma transfecção suficiente da célula-alvo pelos vectores que transportam os seus genes terapêuticos.
- **Os lipossomas são os transportadores não-víricos de DNA mais vulgares.** A sua maior vantagem em relação aos retrovírus é o facto de o DNA não ser incorporado no genoma. A sua maior limitação é não serem tão eficientes como os vectores virais na transfecção de muitas linhas celulares.
- Recentemente grandes avanços foram obtidos com o uso de lipossomas catiónicos complexados com o DNA (carregado negativamente). Estes lipossomas conseguem condensar o DNA e aumentar os resultados de transfecção várias ordens de grandeza.

# Aplicações tecnológicas/biológicas

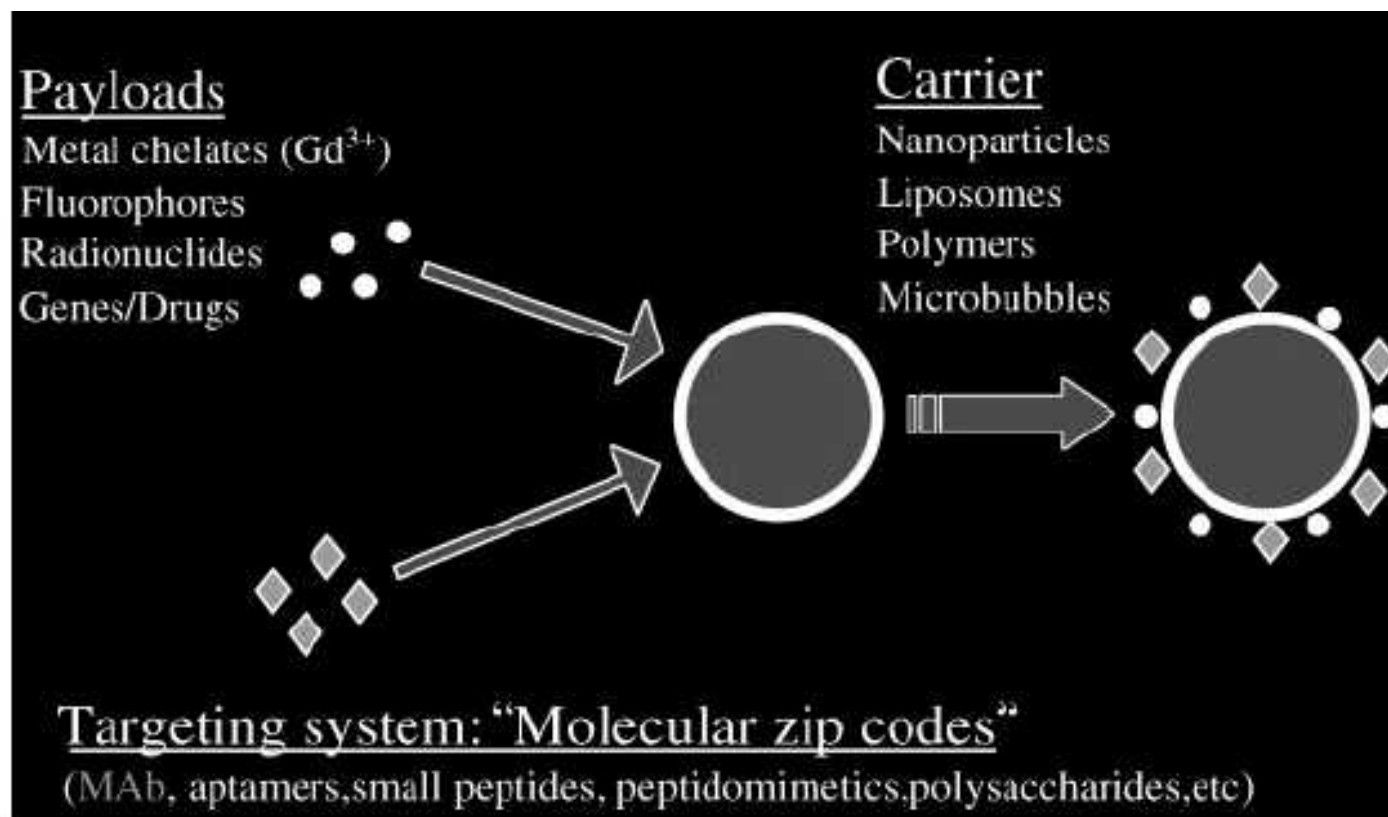
Micelas de copolímeros de bloco para terapia genética



Transfection of plasmid DNA using diblock copolymer.  
DNA is released inside the cytosol and appears in the nucleus to express a desired protein.  
Forster and M. Konrad, J. Mater. Chem., 2003

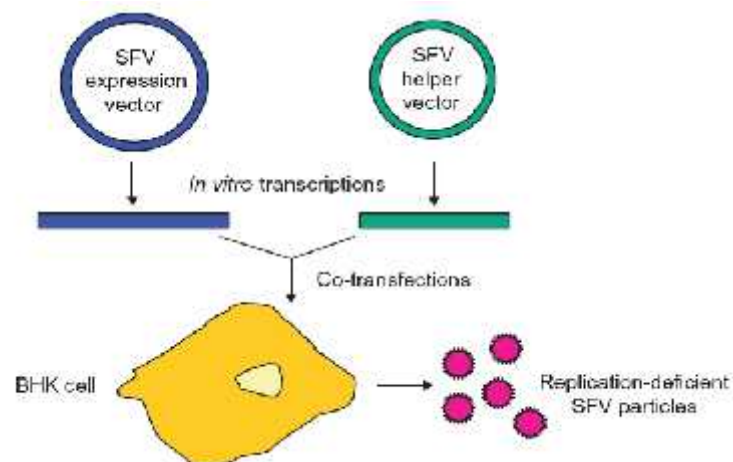
# Aplicações tecnológicas/biológicas

Um paradigma para transporte em nanopartículas para distribuição controlada (controlled release) de drogas ou genes



S.A. Wickline and G. M. Lanza, J. Cell. Biochem., 2002

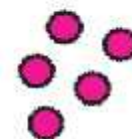
# Aplicações tecnológicas/biológicas



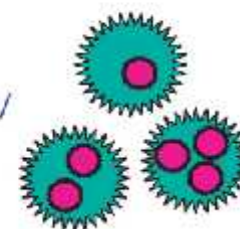
- Administração em ratos SCID de partículas recombinantes de SFV que expressam a  $\beta$ -galactosidase encapsuladas em lipossomas.
- Foi obtida expressão massiva da  $\beta$ -galactosidase nos tumores, enquanto que à volta do local de administração apenas se encontraram quantidades residuais.

Breakthrough na terapia do cancro - encapsulamento de drogas e vírus

Naked recombinant SFV particles



Encapsulated SFV particles



# Desafios actuais nas ciências básicas ou de engenharia com aplicação nas ciências da vida

- Fazer novos materiais numa perspectiva “bottom-up”, construindo-os a partir das moléculas constituintes
- Engenharia molecular de novas moléculas para usar no processo anterior
- Compreender as forças que estabilizam e mantêm a estrutura supra-molecular
- Desenvolver novos materiais (nano-compósitos) mais fortes que o aço mas muito mais leves (p. ex. para implantes)
- Usar terapias de biodistribuição génicas e de drogas envolvendo nanopartículas baseadas em lípidos, tensioactivos e polímeros para tratamento de doenças
- Desenvolver nano-sensores para poluentes, virus, toxinas, etc

**INVESTIGAÇÃO EM COOPERAÇÃO INTER-ÁREAS**

“It has been said that biology will be to engineering in the 21<sup>st</sup> century what physics and chemistry were in the 20<sup>th</sup> century.”

Assim, faz sentido olhar hoje para os cursos de formação básica e interrogarmo-nos se a **Biologia/Bioquímica/Biofísica** deverá passar a ter um papel equivalente à **Química** e à **Física**



- Molecular biology is one of the most profound revolutions in science and technology in the last 20 years. Two decades ago you couldn't effectively engineer the life sciences, because you couldn't write equations to accurately describe the fundamental processes of living systems. It's only been in the last 20 years that engineers and biologists have been able to quantify events at the cellular level.”

Mark J. McCready, chair of the Department of Chemical and Biomolecular Engineering

A **Biofísica** explica as funções biológicas das células, tecidos e organismos em termos da estrutura e comportamento das moléculas biológicas.

- Os genes (elementos básicos da informação biológica) refletem as estruturas moleculares das moléculas de DNA de que são feitos.
- O comportamento das enzimas, hormonas ou anti-corpos refletem a estrutura molecular das proteínas e a química orgânica dos grupos funcionais das cadeias laterais dos amino-ácidos.
- A superfície e as propriedades de “barreira” das membranas biológicas refletem a capacidade dos lípidos se agregarem em bicamadas flexíveis com interior hidrofóbico e superfície polar.
- ...

# O meu trabalho

- Estudo da energética da agregação de polímeros e tensioactivos, polímeros e lípidos, e caracterização da sua estrutura
- Estudo de PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS, um novo paradigma em terapia antibiótica:
  - A sua acção dá-se ao nível das membranas patogénicas (lipídicas)
  - A sua especificidade depende do facto de os péptidos serem carregados positivamente e as membranas patogénicas negativamente
  - Os estudos procuram contribuir para a compreensão do seu mecanismo de acção - envolvimento de alteração de estruturas lipídicas, possível envolvimento de fases cúbicas (não lamelares)

## Técnicas usadas

- Calorimetria (ITC e DSC)
- Espectroscopia de UV-vis e de fluorescência
- Microscopia (óptica, Confocal,
- Difracção de Raio-X

# COMBAT DRUG RESISTANCE



**No action today,  
no cure tomorrow**

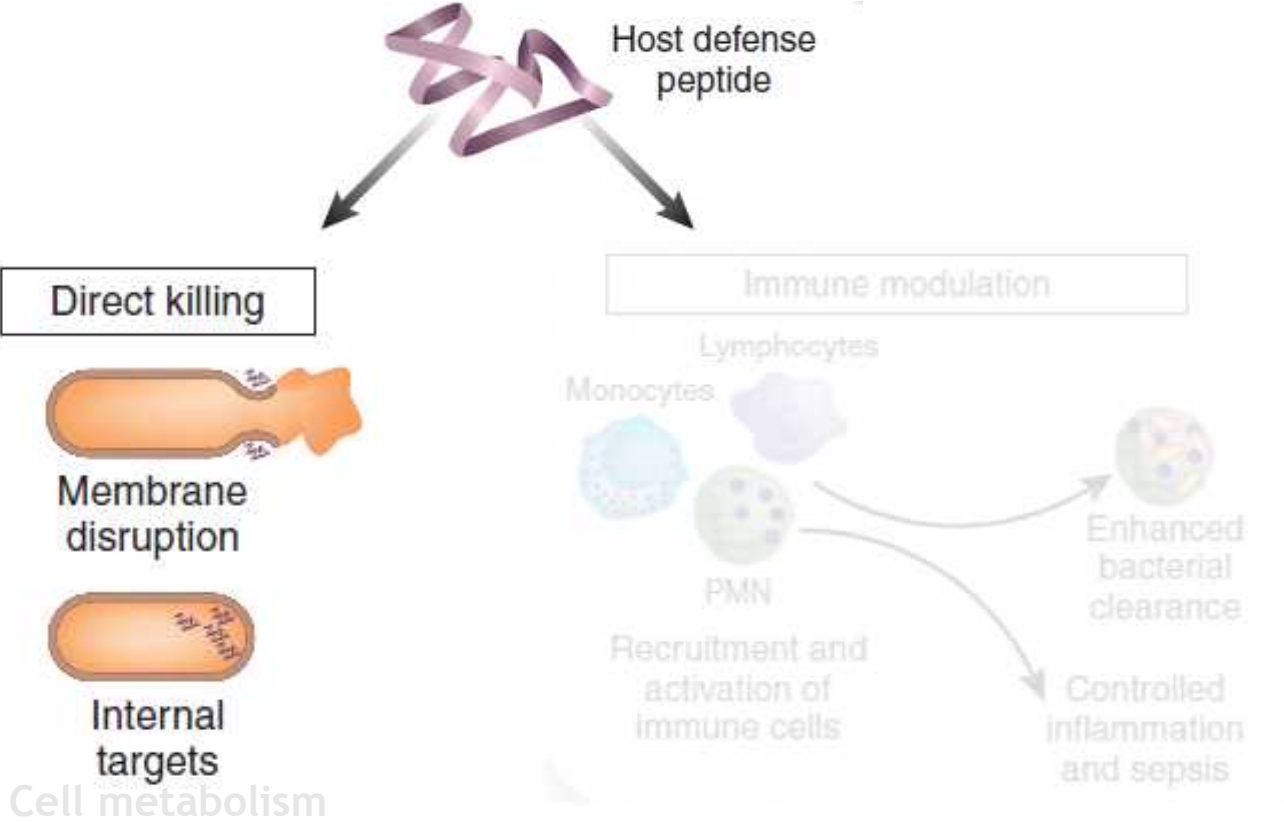
7 APRIL 2011 **WORLD HEALTH DAY**



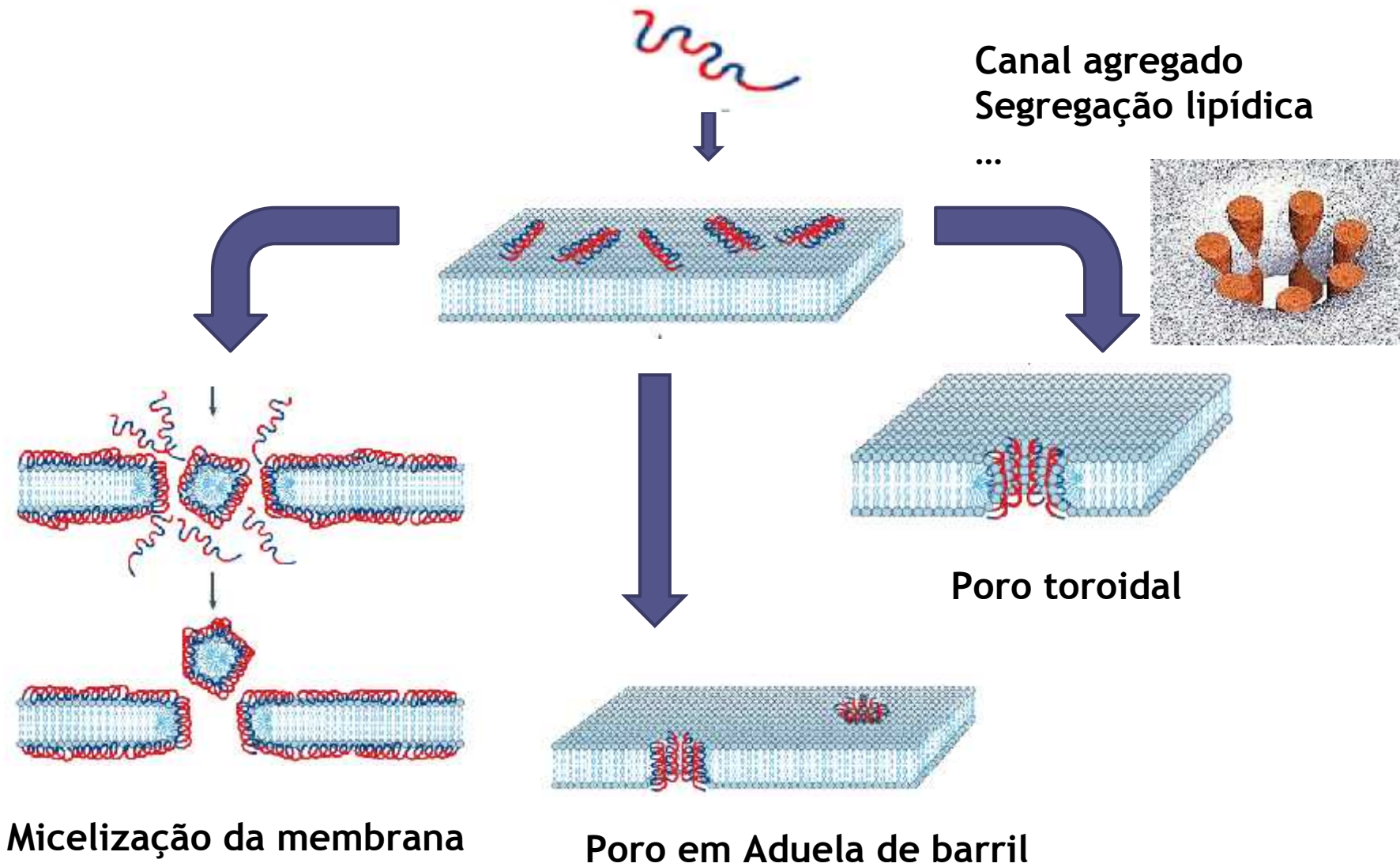
# PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS,

Como ACTUAM?

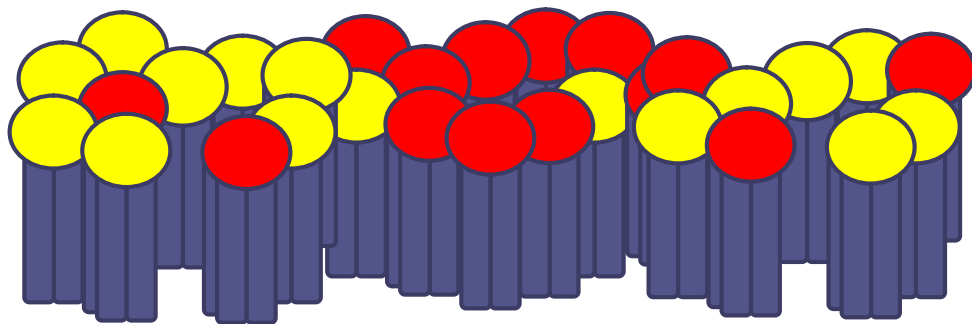
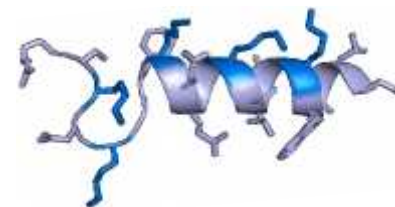
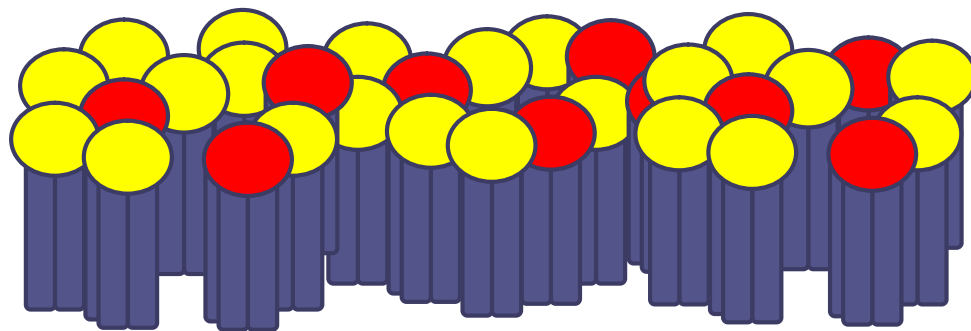
PÉPTIDOS ACTIVOS NA MEMBRANA



# Permemabilização da membrana



## Segregação lipídica



# Importância da abordagem Biofísica

Uso de membranas modelo simples, em que as propriedades podem ser facilmente moduladas

Mesmo em estudos com bactérias, usamos condições controladas (análise factorial)

**Observar o comportamento**

**Formular hipóteses**

**Criar relações estrutura-actividade**



**COMPREENDER O  
MODO DE ACÇÃO**





**“Science is facts; just as houses are made of stones, so is science made of facts; but a pile of stones is not a house and a collection of facts is not necessarily science.”**

Henri Poincaré