

# Estudis d'interacció de tensioactius sintètics biocompatibles amb models de membrana. Potencial aplicació en medicina pulmonar

Neus Lozano Valdés

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



***Estudis d'Interacció de Tensioactius Sintètics  
Biocompatibles amb Models de Membrana.  
Potencial Aplicació en Medicina Pulmonar.***



Tesi doctoral dirigida per:

*Dra. Aurora Pinazo Gassol / Dr. Ramon Pons Pons*

**Neus Lozano Valdés**

Barcelona, Gener 2010

Programa de Doctorat “*Ciència i Tecnologia de Col·loides i Interfases*”

Bienni 2005-2007



## ***8. Conclusions***

---



## Conclusions

Les conclusions d'aquesta tesi es resumeixen a continuació:

- ✓ S'han sintetitzat satisfactòriament els nous tensioactius catiónics derivats de diacilglicerols d'arginina 1414RAc i 1212RAc, obtenint uns rendiments propers al 70%, un grau de puresa superior al 99% i un cost de producció raonable a escala de laboratori.
- ✓ La nebulització de les dispersions aquoses dels fosfolípids DPPC i DMPC, en presència i en absència dels tensioactius sintètics 1414RAc i 1212RAc, no provoca efectes significatius en el diàmetre de les vesícules. Per tant, aquest mètode de dispensació serà aplicable.
- ✓ La isoterma de compressió del diacilglicerol d'arginina 1414RAc presenta tots els possibles estats característics d'una monocapa insoluble i assoleix un valor de tensió superficial en el col·lapse proper a 0 mN/m, igual que el fosfolípid DPPC. En el cas del 1212RAc, de longitud de cadena hidrocarbonada més curta, presenta un perfil d'isoterma propi de l'estat fluid, igual que el del fosfolípid DMPC, i una reducció de la tensió superficial només fins a valors propers a 20 mN/m.
- ✓ Les isoterms mixtes de compressió dels sistemes binaris XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC, a  $\chi_{\text{tensioactiu}}$  inferiors a 0.7, presenten un comportament característic de monocapa insoluble, sempre que la isoterma d'un dels dos components purs també presenti aquest comportament.
- ✓ A pressions superficials moderades, properes a la densitat d'empaquetament de les membranes biològiques, l'addició de tensioactiu sintètic XXRAc provoca una reducció en l'elasticitat estàtica ( $E_s$ ) de la monocapa respecte a la del fosfolípid pur (DPPC, DMPC) i, per tant, augmenta la seva fluïdesa.
- ✓ L'avaluació del grau de miscibilitat mitjançant la regla d'addició ha confirmat la miscibilitat parcial existent entre dos components de la mescla.

✓ L'avaluació del grau de miscibilitat mitjançant l'energia de Gibbs en excés, a partir de les isoterms de compressió dels sistemes binaris XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC, indica que totes les mescles es troben afavorides termodinàmicament excepte pel sistema binari 1212RAc/DMPC que presenta una inestabilitat termodinàmica que donarà lloc a la segregació dels dos components i, per tant, a una immiscibilitat de fases.

✓ La interacció a la interfase aire/aigua dels tensioactius derivats dels diacilglicerols d'arginina XXRAc amb el fosfolípid DPPC té lloc mitjançant la formació de monocapes mixtes miscibles i afavorides termodinàmicament. Aquestes monocapes mixtes tenen la capacitat de reduir la tensió superficial fins a valors suficientment baixos com per poder evitar el col·lapse als alvèols pulmonars.

✓ El mètode oscil·latori de la balança de Langmuir ha permès simular les condicions d'inspiració/expiració de la respiració pulmonar, a una amplitud de deformació en l'àrea i a una freqüència inferiors a les condicions normals de respiració en adults. Les interaccions entre els dos components que formen la monocapa d'extensió 1414RAc/DPPC són més fortes en comparació amb les de cadascun dels components individuals. Successius cicles de compressió/expansió sinusoidals a la monocapa mixta no provoquen la desorció del tensioactiu cap a la subfase, és a dir, s'estabilitza la interfase dinàmica.

✓ Les dispersions aquoses dels tensioactius derivats dels diacilglicerols d'arginina XXRAc formen una monocapa estable a la interfase aire/aigua amb una capacitat de reduir la tensió superficial fins a valors propers a 20 mN/m.

✓ Les dispersions aquoses dels sistemes binaris XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC mostren un sinergisme en la reducció de la tensió superficial fins a valors propers a 20 mN/m, excepte per la mescla 1414RAc/DMPC que només arriba a disminuir la tensió fins a valors propers a 55 mN/m.

- ✓ En les dispersions aquoses dels sistemes binaris XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC, el sinergisme observat en les densitats adsorbides a la interfase aire/aigua, confirmen la presència de tots dos components a la monocapa.
- ✓ La tensiometria de bombolla ha permès simular les condicions d'inspiració/expiració de la respiració pulmonar, a una freqüència comparable amb la freqüència normal de respiració en adults. Les dispersions aquoses dels sistemes binaris XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC mostren un fort sinergisme en la reducció de la tensió superficial. Successius cicles sinusoidals a la monocapa mixta no provoquen la desorció del tensioactiu cap a la subfase, és a dir, s'estabilitza la interfase dinàmica.
- ✓ L'addició de petites quantitats del tensioactiu 1414RAc (inferiors al 2.5%) al fosfolípid DPPC, millora i accelera la reducció de la tensió superficial respecte a la dels dos components purs. Aquesta capacitat d'acceleració de l'adsorció del fosfolípid DPPC, fa que el tensioactiu 1414RAc compleixi un dels requisits per ser inclòs en formulacions de tensioactius pulmonars sintètics.
- ✓ *Les propietats d'adsorció a la interfase aire/aigua dels diacilglicerols d'arginina XXRAc en presència del fosfolípid DPPC han satisfet els requisits necessaris per ser els possibles substituïts a les proteïnes recombinants SP-B i SP-C, encarregades d'estabilitzar la interfase dinàmica de l'alvèol pulmonar.*
- ✓ Una primera aproximació de l'activitat microbiològica dels tensioactius derivats dels diacilglicerols d'arginina XXRAc, en un medi de cultiu senzill, indica una elevada activitat leishmanicida i una moderada activitat antimicrobiana i hemolítica.
- ✓ L'extensió dels estudis microbiològics dels tensioactius derivats dels diacilglicerols d'arginina XXRAc, en un medi de cultiu complet, indica una elevada activitat antimicrobiana en bacteris Gram-negatius, però al mateix temps una elevada activitat hemolítica.



- ✓ Amb els estudis comparatius entre l'activitat microbiològica dels diacilglicerols d'arginina XXRAc i la dels seus homòlegs estructurals no N<sup>α</sup>-acetilats XXR, s'ha posat de manifest la forta dependència entre la hidrofobicitat del cap polar del tensioactiu i l'activitat microbiològica.
  
- ✓ Les vesícules anióniques de DPPA interaccionen de forma eficaç amb els tensioactius catiónics derivats dels diacilglicerols d'arginina XXRAc, amb conseqüències significatives en les dimensions de les partícules i en la densitat de càrrega. Els sistemes cataniònics *pseudo-tetra-catenaris* resultants (XXRAc/DPPA) formen vesícules carregades positivament o negativament, depenent del component majoritari de la mescla.
  
- ✓ L'acidesa del medi és de cabdal importància en les propietats de les vesícules cataniòniques XXRAc/DPPA degut als dos equilibris àcid-base en les dispersions aquoses, el del grup guanidini del tensioactiu i el del grup fosfat del fosfolípid.
  
- ✓ L'addició de petites quantitats de tensioactiu XXRAc a les vesícules del fosfolípid DPPA, indueix valors més negatius de potencial- $\zeta$ , sense afectar significativament l'estructura de les vesícules. Aquest comportament s'atribueix a una forta disminució del grau d'associació del contraió sodi a les vesícules.
  
- ✓ L'estudi de sistemes cataniònics *pseudo-tri-* i *pseudo-tetra-catenaris* ha contribuït a millorar la comprensió del sinergisme entre sistemes mixtes de càrrega oposada, particularment en el grau d'associació del contraió i en les propietats elèctriques de les vesícules mixtes.
  
- ✓ La formulació dels diacilglicerols XXRAc amb el fosfolípid amfòter DPPC, com a vesícules catióniques, provoca un efecte poc significatiu en l'activitat antimicrobiana respecte a la dels tensioactius purs.

✓ La formulació com a vesícules catanioniques carregades negativament dels diacilglicerols XXRAc amb el fosfolípid aniónic PG provoca una reducció molt important de l'activitat hemolítica i un augment de l'activitat en el bacteri Gram-positiu *S. Aureus*, així com una lleugera disminució de l'activitat antimicrobiana en el bacteri Gram-negatiu *A. baumannii*.

✓ *Els resultats obtinguts de l'activitat microbiològica de les formulacions catanioniques XXRAc/PG no permeten la substitució dels pèptids antibiòtics SP-A i SP-D. Però, aquesta formulació catanionica constitueix una base sòlida per reduir la citotoxicitat dels tensioactius, obrint així possibles aplicacions clíniques per tractaments de malalties infeccioses.*



## *9. Perspectives de Futur*

---