

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) 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) 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) 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

Memòria per a aspirar al grau de Doctora per la Universitat de Barcelona presentada per

Neus Lozano Valdés

Neus Lozano Valdés

La Dra. Aurora Pinazo Gassol, Científic Titular, i el Dr. Ramon Pons Pons, Investigador Científic del CSIC, com a directors de la tesi, i la Dra. Carme González Azón com a tutora de la tesi doctoral,

CERTIFIQUEN

Que la present tesi doctoral titulada “**Estudis d’interacció de tensioactius sintètics biocompatibles amb models de membrana. Potencial aplicació en medicina pulmonar**”, constitueix la Memòria que presenta la Llicenciada en Química Neus Lozano Valdés per a aspirar al grau de Doctora per la Universitat de Barcelona. Aquesta tesi ha estat realitzada dins del programa de Doctorat “*Ciència i Tecnologia de Col·loides i Interfases*”, bienni 2005-2007, al Departament de Tecnologia Química i de Tensioactius de l’Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC).

I per a què així consti, signen el present certificat a Barcelona, Gener 2010.

Els directors de la tesi,

La tutora de la tesi,

Dra. Aurora Pinazo Gassol

Dr. Ramon Pons Pons

Dra. Carme González Azón

Índex

Índex

Abreviatures	i
Resum de la Memòria	ix
1. Introducció	1
1.1. Estructura química i classificació dels tensioactius	3
1.2. Propietats fisicoquímiques dels tensioactius en solució	4
1.2.1. Adsorció a la interfase	4
1.2.2. Agregació supramolecular	6
1.3. Els fosfolípids com a tensioactius naturals	8
1.4. Tensioactius sintètics biocompatibles	11
1.5. El tensioactiu pulmonar com a tensioactiu natural.	
Importància fisiològica i clínica	12
1.6. Aplicació terapèutica dels tensioactius pulmonars. Aspectes fisicoquímics associats	13
1.7. Els diacilglicerols d'arginina (XXRAc) com a nous factors d'optimització del tensioactiu pulmonar	14
2. Introducció a les Tècniques Experimentals	17
2.1. Preparació de vesícules	19
2.2. Balança de Langmuir	23
2.3. Tensiometria de bombolla	29
2.4. Espectroscòpia d'infraroig (ATR, IRRAS)	30
2.5. Tensiometria	32
2.6. Velocimetria Doppler làser	33
2.7. Dispersió de llum dinàmica (DLS)	36
2.8. Potenciometria	39
2.9. Criomicroscòpia electrònica de transmissió (Cryo-TEM)	42
2.10. Dispersió de raigs X a angle petit (SAXS)	44
2.11. Assaigs microbiològics	48
3. Objectius i Pla de Treball	53
4. Síntesi dels Diacilglicerols d'Arginina XXRAc	59
5. Efecte de la Nebulització	75

6. Articles	85
<i>Article I - Estudis d'interacció dels tensioactius derivats de diacilglicerols d'arginina amb monocapes de DPPC i DMPC.</i>	
<i>Relació amb l'activitat antimicrobiana</i>	87
Correcció de l'Article I	96
<i>Article II – Estudi de la tensió superficial i de l'adsorció en mescles de tensioactius derivats de diacilglicerols d'arginina amb els fosfolípids DPPC i DMPC</i>	99
<i>Article III - Propietats dinàmiques a la interfase aire/aigua de les mescles formades per un tensioactiu catiònic derivat del diacilglicerol d'arginina i un fosfolípid</i>	109
<i>Article IV - Vesícules catanòniques formades per tensioactius derivats d'arginina i la sal monosòdica de l'àcid 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatídic</i>	121
<i>Article V (Manuscrit) - Tensioactius derivats de diacilglicerols d'arginina. Propietats biològiques de les formulacions catanòniques</i>	133
7. Resultats i Discussió	155
7.1. <i>Caracterització fisicoquímica de les monocapes d'extensió XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC</i>	159
7.2. <i>Caracterització fisicoquímica de les monocapes adsorbides XXRAc/DPPC i XXRAc/DMPC</i>	167
7.3. <i>Activitat microbiològica dels diacilglicerols d'arginina XXRAc</i>	175
7.4. <i>Propietats de vesícules catanòniques</i>	180
8. Conclusions	189
9. Perspectives de Futur	197
10. Bibliografia	201
11. Apèndixs	211
<i>Apèndix I – Sol·licitud de patent ES1641.261</i>	213
<i>Apèndix II – Sol·licitud de patent ES1641.261BIS</i>	231

Abreviatures

Abreviatures

00RAc	Clorhidrat de l'1-O-(N ^α -acetil-L-argininil)glicerol
1212R	Diclorhidrat de l'1,2-O-dilauroil-glicero-3-O-L-arginina
1212RAc	Clorhidrat de l'1,2-O-dilauroil- <i>rac</i> -glicero-3-O-(N ^α -acetil-L-arginina)
¹³C-RMN	Ressonància magnètica nuclear de carboni
140RAc	Clorhidrat de l'1-O-miristoil- <i>rac</i> -glicero-3-O-(N ^α -acetil-L-arginina)
1414R	Diclorhidrat de l'1,2-O-dimiristoil-glicero-3-O-L-arginina
1414RAc	Clorhidrat de l'1,2-O-dimiristoil- <i>rac</i> -glicero-3-O-(N ^α -acetil-L-arginina)
¹H-RMN	Ressonància magnètica nuclear de protó
A	Àrea per molècula
\bar{A}	Àrea promig per molècula del sistema binari
A₀	Àrea promig
Ac	Acetil
a_i	Activitat de l'analit i
A_i	Àrea per molècula del component i
A_m	Amplitud de l'àrea
AOT	Diocilsulfosuccinat de sodi (Aerosol OT)
ARDS	Deficiència respiratòria aguda en adults
ATR	Reflexió total atenuada
c	Concentració
C	Estat de col·lapse d'una monocapa
cac	Concentració d'agregació crítica
CC	Cromatografia d'adsorció en columna
CCF	Cromatografia de capa fina
C_{free}	Concentració d'ions lliures
c_i	Concentració de l'analit i
C_{LAM}	Concentració de LAM
cmc	Concentració micel·lar crítica
C_N	Càrrega neta

Cryo-TEM	Criomicroscòpia electrònica de transmissió
C_s	Compressibilitat de la monocapa
C_T	Concentració total
C_{TOTAL}	Concentració total
D	Coefficient de difusió
d	Dimensió de la cel·la unitat
dA	Diferencial d'àrea
d_B	Gruix de la bicapa
d_C	Gruix de la cadena hidrocarbonada
DDAB	Bromur de didecildimetilamoni
DLS	Dispersió de llum dinàmica
DMPC	1,2-dimiristoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfatidilcolina
DPPA	Sal monosòdica de l'àcid 1,2-dipalmitoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfatídic
DPPC	1,2-dipalmitoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfatidilcolina
DST	Tensió superficial dinàmica
DSTM	Mínima tensió superficial dinàmica
E	Camp elèctric
E	Potencial de l'elèctrode indicador
E	Mòdul superficial dilatacional
E₀	Potencial de referència
E_i	Viscositat dilatacional
E_r	Elasticitat dilatacional
E_s	Elasticitat estàtica
F	Força neta exercida sobre la placa de Wilhelmy
F	Constant de Faraday
f	Freqüència
f(q)	Factor de forma
f(κa)	Funció de Henry
fem	Força electromotriu
FIC	Fracció de concentració inhibidora

G	Estat gasós d'una monocapa
$g^{(1)}(t)$	Funció d'autocorrelació
$g^{(2)}(t)$	Funció d'autocorrelació experimental
h	Profunditat submergida per la placa de Wilhelmy
h	Ordre de reflexió
h	Hidratació
HC₅₀	Concentració hemolítica al 50%
HPLC	Cromatografia líquida d'alta eficàcia
I(q)	Intensitat dispersada per un conjunt finit de bicapes
IRRAS	Espectroscòpia d'infraroig d'absorció-reflexió
k_a	Constant d'acidesa
k_B	Constant de Boltzmann
l	Alçada de la placa de Wilhelmy
LAM	Clorhidrat del N ^α -lauroil-arginina-metil èster
LC	Estat líquid condensat d'una monocapa
LD₅₀	Dosis letal al 50%
LE	Estat líquid expandit d'una monocapa
LPS	Lipopolisacàrids
LUV	Vesícules unilaminars grans
MIC₅₀	Concentració mínima inhibidora al 50%
MIC₉₀	Concentració mínima inhibidora al 90%
MLV	Vesícules multilaminars
MMAD	Diàmetre aerodinàmic de partícula mig
M_w	Pes molecular
n	Número d'electrons transferits
Ø	Diàmetre
OVV	Vesícules oligovesiculars
P	Pressió
PBS	Tensiometria de bombolla
PC	Fosfatidilcolina

PG	Fosfatidilglicerol
PXE	Polimixina E
q	Vector de difusió
q	Vector de dispersió
R	Aminoàcid arginina
R	Constant dels gasos
R	Radi de la bombolla
RA	Intensitat d'absorbància reflectida
RDG	Aproximació de Rayleigh-Debye-Gans
R_f	Factor de retenció
R_G	Radi de la gota G
R_g	Radi de la gota g
r_h	Radi hidrodinàmic
R_i	Radi
R_M	Radi de la vesícula M
RMN	Ressonància magnètica nuclear
R_N	Radi de la vesícula N
S	Estat sòlid d'una monocapa
s(q)	Factor d'estructura
SAXS	Dispersió de raigs X a angle petit
SD	Desviació estàndard
SDR	Síndrome de dificultat respiratòria en nounats
SP	Proteïnes recombinants
SUV	Vesícules unilaminars petites
T	Temperatura
t	Gruix de la placa de Wilhelmy
t	Temps
t₅₀	Temps per reduir la tensió superficial en un 50% de la reducció total
t₉₅	Temps per reduir la tensió superficial en un 95% de la reducció total
tan θ	Tangent de l'angle de pèrdua

T_{eb}	Temperatura d'ebullició
TFA	Àcid trifluoroacètic
t_R	Temps de retenció
T_t	Temperatura de transició
V	Volum
V_B	Volum de la bicapa
V_{ext}	Volum extern de la bicapa
V_G	Volum de la gota G
V_g	Volum de la gota g
V_{int}	Volum intern de la bicapa
V_L	Volum molecular hidrofòbic
V_S	Volum molecular hidrofílic
V_w	Volum molecular de l'aigua
W	Treball
w	Amplada de la placa de Wilhelmy
X0RAc	Clorhidrat de l'1-O-acil- <i>rac</i> -glicero-3-O-(N ^α -acetil-L-arginina)
x_i	Fracció molar del component i
XXRAc	Clorhidrat de l'1,2-O-diacil- <i>rac</i> -glicero-3-O-(N ^α -acetil-L-arginina)
β	Factor de correcció
γ	Tensió superficial en presència de tensioactiu
Γ	Densitat o excés superficial
γ₀	Tensió superficial en absència de tensioactiu
γ₀	Tensió superficial promig
γ_i	Coefficient d'activitat de l'analit i
γ_m	Amplitud de la tensió superficial
γ_{max}	Tensió superficial màxima
γ_{min}	Tensió superficial mínima
γ_s	Tensió superficial del solvent
γ_{ss}	Tensió superficial a l'estat estacionari
ΔA/A	Amplitud relativa

ΔE	Energia implicada en el procés de nebulització
ΔG_{ex}	Energia de Gibbs en excés
ΔP	Diferència de pressió
$\Delta \mu^0$	Diferència del potencial químic estàndard
Δv	Amplada de pic a l'alçada mitja
$\Delta \rho_{ij}$	Diferències de contrast entre el medi i i el j
ϵ	Constant dielèctrica estàtica
ζ	Potencial zeta
η	Viscositat de l'aigua
θ	Angle de contacte entre la placa de Wilhelmy i la subfase
θ	Angle de pèrdua
λ	Longitud d'ona
μ	Mobilitat electroforètica
v_a	Mode de tensió vibracional asimètric
v_s	Mode de tensió vibracional simètric
π	Pressió superficial
π_0	Pressió superficial promig
π_m	Amplitud de la pressió superficial
ρ	Perfil de densitat electrònica
ρ_C	Densitats electròniques de les cadenes hidrocarbonades
ρ_{CH_2}	Densitats electròniques dels metilens
ρ_H	Densitats electròniques dels caps polars
ρ_l	Densitat del líquid
σ	Densitat de càrrega superficial
τ	Gruix de la doble capa elèctrica
χ	Fracció molar
ω	Freqüència angular