

ESTUDIO TEÓRICO-EXPERIMENTAL DE ENCAPSULACIÓN MOLECULAR EN ESTRUCTURAS AUTOENSAMBLADAS DE PÉPTIDOS-ANFIFILOS

M. Fiora⁽¹⁾, G. Ybarra⁽¹⁾, M. Tagliazucchi⁽²⁾

mfiora@inti.gob.ar

⁽¹⁾ Dto. Nanomateriales Funcionales-DT Micro y Nano Tecnologías-SOAC-GODTel-INTI

⁽²⁾ INQUIMAE-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad de Buenos Aires

Palabras Clave: Péptidos anfifílos; autoensamblado; encapsulación; hidrogeles; antimicrobiano

INTRODUCCIÓN

Los péptidos anfifílos son moléculas compuestas por una cadena alquílica hidrofóbica y un segmento peptídico hidrofílico. La combinación de segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos en una misma molécula otorga a los péptidos anfifílos la capacidad de autoensamblarse. En la figura 1a se muestran las distintas morfologías que se han observado experimentalmente para estos sistemas, que incluyen micelas y vesículas esféricas, fibras cilíndricas y nanocintas (o lamelas).

La estructura interna de los autoensamblados de péptidos anfifílos permite encapsular moléculas hidrofóbicas o anfifílicas en el núcleo o cerca de la interfase núcleo corona de la nanoestructura (figura 1b).

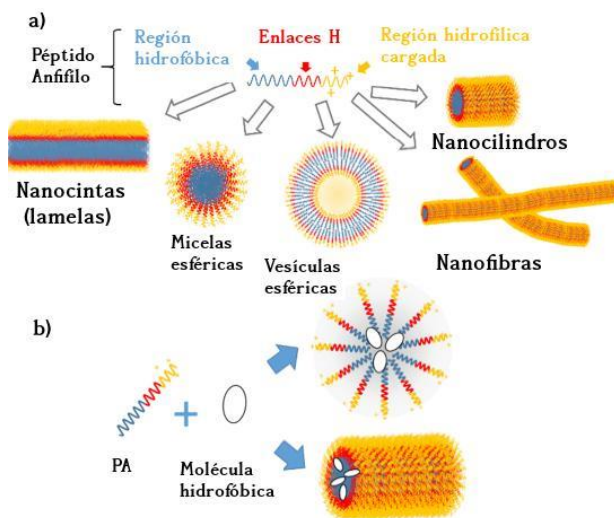


Figura 1: a) Morfologías péptidos anfifílos autoensamblados; b) Encapsulación molécula hidrofóbica.

Los péptidos anfifílos catiónicos tanto sintéticos como naturales presentan actividad antimicrobiana. Esto se debe a su carácter anfifílico y al hecho de que tienen una región cargada positivamente, lo que provoca que se inserten en la membrana bacteriana, la rompan y provoquen la lisis de la bacteria.

Resulta de gran interés poder encapsular agentes antimicrobianos o antibióticos dentro de estas estructuras autoensambladas de péptidos ya que se podría potenciar la actividad antimicrobiana intrínseca de estos agregados.

Por otro lado, cuando los péptidos anfifílos se autoensamblan en fibras, estas son propensas a entrecruzarse, formando un hidrogel. Por lo tanto este sistema es muy relevante para la generación de películas delgadas antimicrobianas.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es comprender los aspectos físico-químicos relacionados con la encapsulación de moléculas huéspedes en estructuras autoensambladas de péptidos anfifílos. Este estudio teórico-experimental tiene la finalidad de poder utilizar este sistema para explorar su aplicación en la preparación de superficies modificadas con hidrogeles con actividad antimicrobianas.

DESARROLLO

Se realizó un estudio teórico de un sistema de péptido anfifílo del tipo $C_{16}K_n$ en solución, donde K es una lisina, mediante el uso de una herramienta de termodinámica estadística denominada teoría molecular. Esta herramienta se basa en la minimización de un funcional de energía libre del sistema. Como entrada se detallan las condiciones experimentales y parámetros moleculares, y como resultado de la extremización del funcional se obtiene la estructura y termodinámica del sistema en equilibrio.

Mediante estudios sistemáticos de variación de pH de la solución, se buscó observar posibles cambios morfológicos del autoensamblado.

También se estudió la posibilidad de encapsular moléculas de ferroceno en sistemas de este tipo. Se eligió esta molécula huésped ya que es hidrofóbica y se puede detectar por métodos electroquímicos. Por lo tanto, es un buen candidato para pruebas de concepto.

En base a los cambios morfológicos observados, se realizaron experimentos de electrodeposición de geles en superficies metálicas con el método desarrollado por el grupo de Materiales Blandos del INQUIMAE - FCEN-UBA. Utilizando el método propuesto, un sustrato metálico se sumerge en una solución del péptidos-anfifilos y se aplica un potencial negativo (reductor) al electrodo. La electrorreducción del agua en estas condiciones, produce un incremento en el pH local cerca del electrodo, buscando la gelificación de la solución mediante una transición a un autoensamblado tipo fibra.

RESULTADOS

Los estudios teóricos mostraron que el aumento de pH provoca una transición primero, de micelas esféricas a fibras cilíndricas y luego de fibras a lamelas planas. Esto se observa en el gráfico de la figura 2 donde la morfología más estable corresponde a la de menor energía libre. Esto concuerda con estudios experimentales encontrados en la literatura [1],[2].

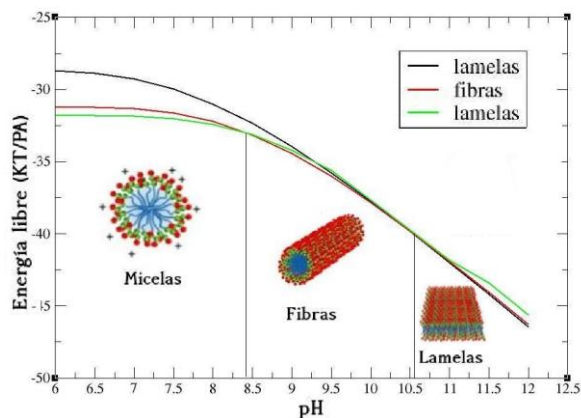


Figura 2: Diagrama de morfología de C₁₆K₂ en función del pH predicho por la teoría molecular.

Incluyendo el ferroceno al sistema anterior, se calcularon las densidades de las distintas especies en función la distancia al centro de la estructura y se verificó la encapsulación del ferroceno en el núcleo de la misma. Por otro lado se pudo ver, analizando los gráficos energía libre, que un aumento en la cantidad de ferroceno desestabiliza la morfología tipo fibra.

Por último, se logró un depósito conformal de hidrogel de péptidos anfifilos sobre un electrodo de oro y una malla de acero inoxidable (figura 3b).

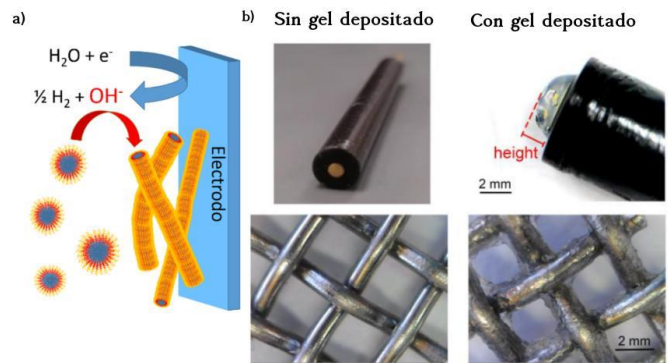


Figura 3: a) Método electrodeposición hidrogel; b) Gel depositado en un electrodo de oro y en una malla de acero inoxidable.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La transición micela-fibra-lamela se puede explicar en términos electrostáticos. El pH controla el estado de protonación de las lisinas de la parte hidrofílica del péptido. A pH bajos las lisinas se encuentran más cargadas lo que lo que aumenta las repulsiones y favorece las estructuras con mayor curvatura (micelas esféricas). Al aumentar el pH, la curvatura baja y se estabilizan las fibras cilíndricas y luego las lamelas planas, que no tienen curvatura.

Además los resultados teóricos de la encapsulación de ferroceno resultan prometedores para la posible encapsulación de agentes antibióticos o antimicrobianos. Aunque, es necesario tener en cuenta que la morfología tipo fibra tiende a desestabilizarse con el aumento de la cantidad de ferroceno lo que podría ser un limitante para la gelificación.

Los experimentos de electrodeposición de hidrogel resultaron compatibles con las predicciones de la teoría, ya que el aumento local del pH cerca del electrodo dispara una transición de micela a fibra, produciendo la gelificación de la solución sobre la superficie metálica (figura 3a).

Por otro lado, el depósito conformal del gel motiva posibles aplicaciones biomédicas, por ejemplo, en instrumentos quirúrgicos e implantes para la prevención de films bacterianos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Zaldivar, G., et al. Tagliacucchi, M. Self-Assembled Nanostructures of Peptide Amphiphiles: Charge Regulation by Size Regulation. *J. Phys. Chem. C* 2019, 123 (28), 17606–17615.
- [2] Gao, C., et al. Electrostatic Control of Polymorphism in Charged Amphiphile Assemblies. *J. Phys. Chem. B* 2017, 121, 1623–1628.