

Formação de Vesículas Fechadas a partir de um Diéster de Fosfato. Preparação e algumas Propriedades de Vesículas de Dihexadecil Fosfato

Renato A. Mortara, Frank H. Quina e Hernan Chaimovich

Instituto de Química – Universidade de São Paulo – Caixa Postal, 20780

São Paulo – Brasil

(Recebido em 12/5/78)

LIPOSSOMOS, isto é, vesículas fechadas delimitadas por uma única bicamada lipídica, têm sido extensivamente utilizados como modelos estruturais de membrana¹, para a reconstituição de sistemas enzimáticos ligados à membrana² e, recentemente, como transportadores seletivos de agentes terapêuticos³. No entanto, dificuldades inerentes aos fosfolípidos naturais tais como purificação⁴, degradação⁵ e micro-heterogeneidade⁴ comprometem a interpretação e utilidade destes modelos.

Recentemente, comunicamos⁶ a preparação e caracterização de um dos modelos mais simples de membranas biológicas, utilizando um diéster de ácido fosfórico (dihexadecil fosfato, DCP).

Submetendo-se suspensões aquosas de DCP à ação de ultrassom por tempos curtos, obtém-se uma solução azulada opticamente transparente. Após centrifugação, esta preparação foi analisada por filtração em geis e microscopia eletrônica a fim de se determinar a natureza dos agregados presentes.

O padrão de eluição desta solução em Sepharose 4-B (Fig. 1) é típico de lipossomos unilamelares obtidos a partir de fosfolípidos naturais². A microscopia eletrônica confirma a presença de vesículas com um diâmetro médio de aproximadamente 50 nm (Fig. 2).

A inclusão de substâncias hidrossolúveis em lipossomos tem servido para demonstrar inequivocamente a integridade destas vesículas bem como avaliar sua utilidade potencial como transportadores de agentes terapêuticos⁸.

A integridade das vesículas de DCP é evidenciada quando uma suspensão de DCP, sonicada na presença de (¹⁴C)-treonina, é aplicada a uma coluna de Sephadex G-25, que separa, por filtração diferencial, material de alto e baixo peso molecular.

Observa-se na Figura 3 a nítida separação entre as vesículas contendo marcador e a (¹⁴C)-treonina livre, a qual sai da coluna com um volume de eluição maior. A ausência de um pico correspondente à (¹⁴C)-treonina livre, quando da refiltração das vesículas marcadas, mostra a integridade temporal das mesmas (Fig. 3).

As vesículas de DCP, além de possuir uma semelhança estrutural e a biodegradabilidade características das estruturas obtidas a partir de fosfolípidos naturais, apresentam características singulares. Estudos mais amplos destas propriedades estão sendo desenvolvidos em nosso laboratório.

Agradecimentos: Este trabalho está sendo apoiado financeiramente pela FAPESP e CNPq. As micrografias eletrônicas foram obtidas graças à colaboração de Fernando C. Reinach e Bechara Kashar.

¹ A. D. Bangham, *Progr. Biophys. Mol. Biol.*, **18**, 31 (1968); D. Papahadjopoulos, e H. K. Kimmelberg, *Progress in Surface Science* vol. 4, pt. 2, Pergamon Press, Oxford, Engl. (1973).

² C. Miller e E. Racker, *J. Membr. Biol.*, **26**, 319 (1976).

³ G. Gregoriadis, *N. Engl. J. Med.*, **295**, 704 (1976).

⁴ W. S. Singleton, M. S. Gray, M. L. Brown, J. L. White, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 53 (1965).

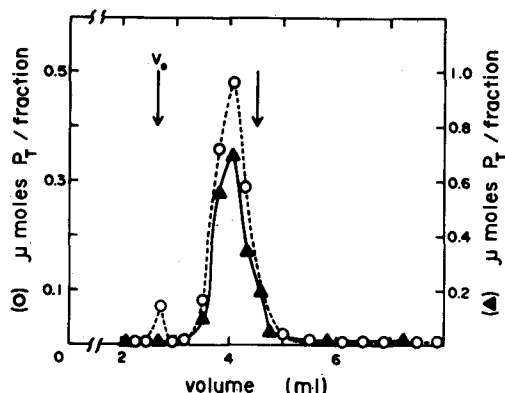


Fig. 1. Eluição de vesículas de DCP em Sepharose 4B. As duas curvas representam preparações contendo concentrações iniciais diferentes de DCP. As setas indicam o volume vazio V_0 e o volume de eluição de lipossomos unilamelares de lecitina de ovo.

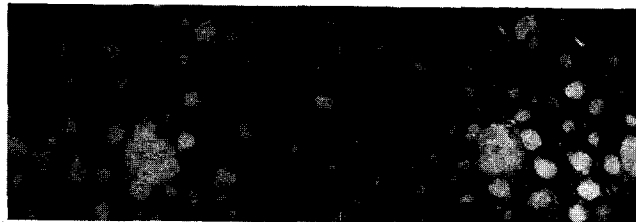


Fig. 2. Fotomicrografia eletrônica de uma preparação de vesículas de DCP, corada negativamente com fosfotungstato de sódio.

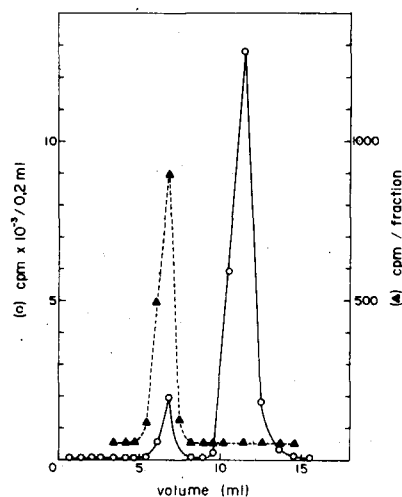


Fig. 3. Separação de vesículas de DCP com (¹⁴C)-treonina por filtração em Sephadex G-25. Filtração após sonicção em (¹⁴C)-treonina e centrifugação (o). Refiltração das vesículas marcadas após incubação por 12 h a 4°C (Δ).

⁵ R. A. Klein, *Biochim. Biophys. Acta*, **210**, 486 (1970); C. Huang e J. P. Charlton, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **46**, 1660 (1972).

⁶ R. A. Mortara, F. H. Quina e H. Chaimovich, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, no prelo.

⁷ C. Huang, *Biochemistry*, **8**, 344 (1969).

⁸ A. Romero e J. H. Fendler, *Life Sci.*, **20**, 1109 (1977).