

Obtención de magnetoliposomas

MÉTODOS

- Sustitución del adsorbato
- Precipitación Interna
- Encapsulación de ferrofluido
- Coprecipitación con fosfolípidos



Hidróxido de tetrametilamonio
Par iónico

Dodecilamina (+)
Atracción electrostática

Ácido láurico (-)
Quimisorción

Saltes de hierro
 Fe^{2+}/Fe^{3+}

Diapositiva9.JPG

Obtención de magnetoliposomas

a) SUSTITUCIÓN DEL ADSORBATO
Bulte *JVM and de Cuypers M. Meth. Enz.*, 373, Liposomes, Part C (2003)

Obtención de magnetita
6 g $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ / 12 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$
en 50 mL H_2O
+ 25 mL NH_4OH 28-30%
Magnetita - 15 nm

Obtención de ferrofluido
+ 3 g ác. láurico / 5 min / 80-90°C
+ 60 mL H_2O pH 9.2
Centrifugación (10 min, 10.000g)
Ferrofluido

Encapsulación del adsorbato
Liposomas + ferrofluido:
fosfolípido/Fe₃O₄ 2,73/1 p/p
Diláisis (12.000- 14.000 Da, 3 días,
37°C, pH 7)
Magnetoliposomas

Diapositiva10.JPG

Obtención de magnetoliposomas

a) SUSTITUCIÓN DEL ADSORBATO
Bulte *JVM and de Cuypers M. Meth. Enz.*, 373, Liposomes, Part C (2003)

CONDICIONES ÓPTIMAS

Medio
1.- Poca fuerza iónica.

Fosfolípidos
2.- Cabeza por hidrofílica y/o con carga.
3.- Cadenas insaturadas y/o cortas.

Liposomas
4.- Membranas con alta curvatura (SUVs)
5.- Membranas fluidas (cristal-liquido)

SUVs de DMPG o DMPC; Fosfolíp./Fe₃O₄ 0,7- 0,9 mol/mol
Magnetoliposomas con 3.000 moléculas fosfolíp./vesícula

Diapositiva11.JPG

Obtención de magnetoliposomas

b) PRECIPITACIÓN INTERNA
Neuroth et al. *Physica B*: e635- e638 (2004); Sangregorio et al. *J. Appl. Phys.* 85: 8 (1999)

Encapsulación Fe²⁺/Fe³⁺
Película de fosfolípidos
+ 1 M Fe²⁺ / Fe³⁺ con citrato.
+ Otras sustancias a encapsular.
Liposomas

Cambio pH interno
+ NaOH
Precipitación de magnetita.
Purificación.
Magnetoliposomas

Alternativas: encapsulación de Fe²⁺, NH₄OH.
Encapsulación de hidrosolubles.
Altas concentraciones de Fe.
Degradación de fosfolípidos.



Diapositiva12.JPG

Obtención de magnetoliposomas

c) ENCAPSULACIÓN DE FERROFLUIDOS
Korenacká et al. *J. Mag. Mat.* 293 (2005).

Obtención de ferrofluido
Coprecipitación de Fe²⁺ / Fe³⁺.
Estabilización con tetrametilamonio.
(o citrato, á. perclórico)
Ferrofluido

Encapsulación en liposomas
Película de fosfolípidos.
Adición del ferrofluido.
Tamaño de liposomas y purificación.
Magnetoliposomas

Bajos rendimientos de encapsulación.



Diapositiva13.JPG

Obtención de magnetoliposomas

d) COPRECIPITACIÓN CON FOSFOLÍPIDOS
Giri et al. *J. Mag. Mat.* 293 (2005).

Obtención de ferrofluido
Coprecipitación de Fe²⁺/Fe³⁺ en
presencia de fosfolípidos disueltos
en metano.
Ferrofluido (en CHCl₃)

Magnetoliposomas
Película de ferrofluido y fosfolípidos.
Adición de medio acuoso, vortex,
y control de tamaño.
Magnetoliposomas

Simplificación de la metodología.
Empleo de disolventes orgánicos



Diapositiva14.JPG

Obtención de magnetoliposomas

Características

- Los fosfolípidos están fuertemente adsorbidos a la magnetita.
 - Quimisorción entre el fosfato lipídico y átomos de hierro.
 - La extracción con medios orgánicos elimina la monocapa externa.
- Los fosfolípidos de cadena larga también se adsorben.
 - DMPC: Quimisorción rápida durante la diálisis.
 - DPPG y DOPG: Quimisorción muy lenta durante la diálisis.
- La relación fosfolípido/magnetita determina las vesículas que se obtienen.
 - En magnetita de ~14 nm:
 - Si mmol PLS/g Magnetita ~ 0,3 => Monocapa
 - Si mmol PLS/g Magnetita ~ 0,85 => Magnetoliposomas

Diapositiva15.JPG

Obtención de magnetoliposomas

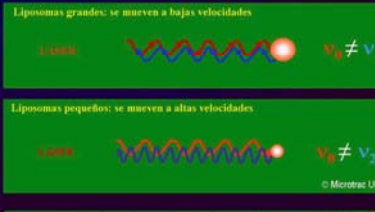
Caracterización tamaño

Detección heterodina

Liposomas grandes: se mueven a bajas velocidades
 $\lambda > \lambda_{DB}$ $v_1 \neq v_2$

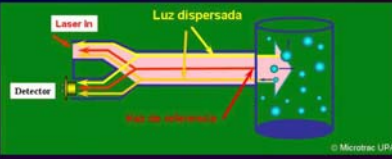
Liposomas pequeños: se mueven a altas velocidades
 $\lambda < \lambda_{DB}$ $v_1 \neq v_2$

A consecuencia del movimiento browniano se obtiene una distribución de frecuencias que está relacionada con la distribución de velocidades de las vesículas.



Diapositiva16.JPG

Foro | Lipo+ | Olot | Cursos | Caracterización de sensores



- El cambio de frecuencia es muy pequeño, y no es detectable con la tecnología actual.
- Debido a la similitud de frecuencias entre el haz incidente y la luz dispersada, se origina una pulsación, que es el fenómeno registrado en el detector.

Diapositiva17.JPG