

INCT de Fluidos Complexos

Proc. Nº: 2014/50983-3 (FAPESP) e 465259/2014-6 (CNPq)

Vigência: de 01/07/2017 a 30/06/2023 e 25/11/2016 a 30/11/2024

Recursos aprovados: R\$ 9.657.980,48

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Martins Figueiredo Neto

Sede: Instituto de Física da USP

RELATÓRIO PARCIAL DE ATIVIDADES ANO 6 (junho de 2022 a dezembro de 2022)

Resumo

Neste projeto propomos o aperfeiçoamento e continuidade das atividades do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-FCx), com a missão de congrega profissionais das áreas de física, química, biologia, farmácia, medicina, engenharia biomédica, matemática e estatística, em torno de problemas que requeiram um enfoque multidisciplinar envolvendo fluidos complexos, para gerar conhecimentos de fronteira, disseminá-los no ambiente acadêmico e divulgá-los à sociedade. Os fluidos complexos são sistemas formados por várias moléculas que se auto-agregam e geram constituintes básicos com diferentes escalas de tamanho, dando origem a propriedades características. Esta proposta do INCT-FCx foi precedida do Instituto do Milênio de Fluidos Complexos, que focalizou as atividades em cristais líquidos, colóides magnéticos e fluidos biológicos, seguida do INCT-FCx, que teve ênfase em agregados supra-moleculares de interesse biológico, principalmente membranas e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) além do assunto dos cristais líquidos e ferrofluidos. Este projeto pretende focalizar as atividades propostas em sistemas multi-componentes que apresentam auto-agregação molecular em condições termodinâmica específicas, como os cristais líquidos, nanopartículas e colóides magnéticos, micelas, lipossomas e vesículas, surfactantes, complexos surfactantes-membranas, surfactantes-proteínas e surfactantes-DNA, e lipoproteínas de alta e baixa densidade. Incorporamos a esta proposta novos pesquisadores, potencializando a atuação da rede formada na área de Fluidos Complexos. As atividades de pesquisa terão ênfase em (i) materiais/sistemas modelo, em condições físico-químicas controladas em laboratório, que visam a obtenção de relações entre estrutura e atividade ou função biológica e a dinâmica das interfaces, a fim de entender as interações moleculares que produzem o comportamento complexo; (ii) novos materiais, que serão desenvolvidos, sintetizados e caracterizados com finalidade de aplicações tecnológicas e médicas; e (iii) materiais biológicos, em particular lipoproteínas de baixa e alta densidade, que visam aplicação em medicina e imunologia. O projeto foi dividido em 3 subprojetos, que serão apresentados em seções subsequentes, e têm os seguintes marcos: (i) desenvolvimento de conhecimento em física básica: investigar as fases nemáticas biaxiais na escala microscópica e elucidar se as micelas apresentam simetria ortorrômbica; estudar efeitos de superfície e organização molecular em sistemas com ordem líquido cristalina; estudar e compreender a seletividade iônica interfacial de micelas e como isso altera suas propriedades; recriar a partir de membranas-modelo situações que são encontradas em células de seres vivos; confeccionar membranas-modelo e propor mecanismos de ação lítica e possíveis caminhos para a obtenção de novos fármacos; estudar propriedades físicas e físico-químicas de diversos tipos de membranas-modelo, caracterizando-as estruturalmente e descrevendo suas interações com biossensores fluorescentes, peptídeos microbianos, surfactantes e proteínas; propor novos modelos teóricos, estatísticos ou atomísticos em multiescala, e ferramentas computacionais para estudar as interações de sistemas supramoleculares de alta densidade e prever situações pouco acessíveis aos experimentos; (ii) desenvolvimento de aplicações tecnológicas como: *displays*, materiais inteligentes com cristais líquidos, partículas coloidais com ordem líquido cristalina, fases nemáticas biaxiais termotrópicas em filmes finos, dispositivos eletro-ópticos, elastômeros dopados com partículas magnéticas e corantes para o controle mecânico via campos externo; carregadores que controlem a entrega de fármacos e outros materiais, incluindo material genético para células, visando a terapia genética com complexos DNA-surfactantes; e materiais biocompatíveis visando implantes sintéticos através do estudo da adesão de proteínas em substratos sólidos; (iii) desenvolvimento de novos materiais através da síntese e caracterização de nanopartículas, colóides magnéticos e peptídeos microbianos com aplicações biomédicas; (iv) caracterização de aspectos fisiopatológicos, diagnósticos e de aplicação prática, envolvendo principalmente o tratamento das doenças cardiovasculares e de neoplasias: desenvolver novos métodos de diagnóstico das doenças cardiovasculares utilizando técnicas de físico-química, em particular técnicas de óptica não-linear, lipidômica e ressonância magnética nuclear; utilizar vetores

de droga para o tratamento das doenças cardiovasculares relacionados às lipoproteínas de transporte do colesterol nos seres humanos; disponibilizar no Brasil uma metodologia de análise do plasma humano, por meio da ressonância magnética nuclear, que forneça de maneira rápida e barata o perfil das lipoproteínas.

Introdução

O relatório aqui apresentado traz os principais resultados obtidos pela equipe na investigação dos temas do nosso Projeto.

Neste sexto ano de atividades do novo INCT-FCx é possível notar os progressos na sinergia entre os enfoques e membros da equipe do Instituto. O total de trabalhos publicados no período foi de **44** artigos. Foi publicado 1 artigo em periódico de divulgação internacional com participação de mais de um Grupo do INCT.

Apesar dos problemas trazidos pela pandemia da COVID-19, que reduziu significativamente nossa mobilidade entre laboratórios e acesso aos próprios laboratórios, descrevemos, a seguir, os principais resultados das pesquisas por nós desenvolvidas, enfatizando aquelas em que houve a colaboração efetiva de membros de diferentes Grupos do INCT. O relatório traz os assuntos de pesquisa nos quais as interações e interdisciplinaridade procurou ser evidenciada.

Há 9 anexos a este relatório: I) explicita a produção científica, a formação de estudantes e informações complementares; II) traz a lista de seminários do Instituto proferidos de forma *online* no período; III) Relatório sobre gestão de dados; IV) **Solicitação de prorrogação do projeto, orçamento e programa de atividades**; V) projetos de bolsas TT-5; VI) projeto de bolsa IC; VII) programa reunião anual INCT_2022; VIII) Proposta de atividades iniciais do laboratório de microfluídica; IX) projeto e justificativa bolsa de doutoramento.

O CNPq resolveu complementar os recursos dos INCTs, recompondo o corte de 30% efetuado por ocasião da divulgação do resultado da chamada em 2017. Assim, romperam a paridade anteriormente estabelecida com as FAPs de para cada R\$ 1 do CNPq, as FAPs colocariam R\$ 1. Além dessa recomposição orçamentária, o CNPq prorrogou a vigência dos atuais INCTs até 2024 (especificamente, 30/11/2024). Apresentamos ao Conselho um projeto de pesquisa e de aplicação desses recursos para os próximos 2 anos da prorrogação.

Dessa forma, solicito à Fundação a prorrogação da vigência do nosso INCT de Fluidos Complexos, bem como uma suplementação de recursos, acompanhando a prorrogação concedida pelo CNPq.

Cabe ressaltar que a pandemia de COVID-19 prejudicou bastante nossas atividades de laboratório e de intercâmbio de docentes e estudantes de graduação e pós-graduação.

1) Síntese dos principais resultados alcançados no período

- a) **Estudo da qualidade das LDLs de pacientes acometidos da COVID-19 e sequelas presentes após a cura (RT-PCR negativo)**

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação) envolvidos neste trabalho são: Dra. Zahra Lotfollahi, Luana Neres, Dra. Maria Camila Pruper de Freitas, Profa. Alessandra Goulart, Prof. Ricardo Ambrósio, Profa. Nágila R. T. Damasceno, Prof. Cristiano L. P. Oliveira, Prof. Antônio M. Figueiredo Neto.

Cabe ressaltar aqui a sinergia atingida pela equipe, uma vez que médicos (HU-USP), físicos (IFUSP), imunologistas (HU-USP) e nutricionistas (FSP-USP) desenharam o experimento,

coletaram dados por meio de diferentes técnicas experimentais, discutiram esses resultados e participam das análises finais visando as conclusões.

População e desenho do estudo

A partir de uma coorte prospectiva comunitária COVID-19 (n=910) composta por pacientes com sintomas gripais atendidos no pronto-socorro (entre fevereiro de 2020 e março de 2021) de um hospital secundário público comunitário, Hospital Universitário (HU) da Universidade de São Paulo, localizada na região do Butantã, área de renda média-baixa na região oeste da cidade de São Paulo. A partir disso, uma subamostra foi selecionada para compor os grupos Agudo (n=33) e Recuperados (n=30). A amostra incluiu adultos, de ambos os sexos e com 18 anos ou mais com COVID-19 positivo confirmado por teste de RT-PCR foram incluídos neste estudo. O grupo de recuperação foi definido como aqueles indivíduos que se recuperaram da infecção por COVID-19 (RT-PCR negativo) 6 meses após a fase aguda. O estudo foi submetido e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do HU/USP. Todos os procedimentos foram realizados somente após os participantes assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido para pesquisa.

Características clínicas

As características clínicas dos pacientes foram obtidas por telefone e entrevista direta realizada por entrevistador treinado. Coletamos características sociodemográficas (sexo, idade, raça, tabagismo, consumo de álcool, doenças atuais).

Amostras de sangue e purificação de LDL

Amostras de sangue foram coletadas após 12h de jejum em tubos de EDTA-2Na, e o plasma foi obtido após centrifugação (103 g, 4°C e 15 minutos). Inibidor de proteases (10 µg/mL de aprotinina, 10 µM de benzamidina e 5 µM de fluoreto de fenilmetilsulfonil - PMSF) e antioxidante (100 µM de hidroxitolueno butilado – BHT) foram adicionados ao plasma e as amostras foram mantidas a -80° C até a análise. A LDL foi obtido do plasma por ultracentrifugação sequencial preparativa (55.000 rpm, 4°C e 12h) equipada com um rotor de ângulo fixo (Hitachi Himac CP 70MX, Tóquio, Japão). O nível de proteína total em LDL foi determinado usando um kit comercial de ensaio de proteína de ácido bicinconínico (BCA) (Pierce, Rockford, IL, EUA) com albumina de soro bovino como padrão.

Análise bioquímica

As concentrações de colesterol total (CT), HDL-c e triglicerídeos (TG) foram determinadas por ensaio colorimétrico utilizando os seguintes kits Cholesterol Liquiform®, Cholesterol HDL® e Triglicerídeos Liquiform®, respectivamente (Labtest, Minas Gerais, Brasil). O teor de colesterol no LDL-c foi calculado pela fórmula proposta por Friedewald: $LDL-c = (CT - HDL-c) - (TG/5)$. Adicionalmente, foram analisados proteína C-reativa (PCR) e D-dímero.

Análises de lipídios

Técnica de varredura Z

Para medir as propriedades ópticas não lineares das amostras de LDL (1,0 mg/dL), foi utilizada a técnica Z-scan. Um feixe de laser Gaussiano focalizado com comprimento de onda de

532 nm iluminou amostras de LDL. No processo de conversão da energia da luz em calor, a amostra forma uma lente térmica. Vários fatores determinam a resistência de uma lente térmica, incluindo seu coeficiente termo-óptico, seu coeficiente de absorção e sua condutividade térmica. Uma temperatura de 37°C foi fixada para todos os experimentos Z-scan. Deslocamento de fase (ou seja, a amplitude da lente térmica) θ é um parâmetro adimensional que mede a amplitude da lente térmica formada nas amostras de LDL e que está relacionado à amplitude de pico a vale medida a partir da transmitância normalizada como uma função da posição z da curva característica da amostra. Na espectroscopia UV-visível, uma amostra pode ser analisada quantitativa e qualitativamente, com base na expressão usual de Lambert-Beer. As partículas de LDL são compostas por diferentes moléculas, que absorvem a luz em determinados comprimentos de onda. ApoB-100, colesterol, α -tocoferol e fosfolipídios, absorvem, principalmente, na faixa de 200 nm a 300 nm. Como o comprimento de onda usado no experimento Z-Scan é de 532 nm, essas moléculas não contribuem para a formação da lente térmica. O comprimento de onda de 484 nm corresponde a um dos picos largos da absorbância de carotenoides (antioxidante), que se estende a comprimentos de onda maiores, chegando a 532 nm, utilizados em nossos experimentos. Nestas condições experimentais, podemos avaliar a quantidade de carotenoides nas partículas de LDL. Todas as medições de espectroscopia UV-visível foram realizadas a 37°C.

Subfrações das lipoproteínas

As subfrações foram determinadas pelo Lipoprint® System (Quantimetrix Corporation). Primeiramente, foram pipetados 25 μ L de plasma e 200 μ L para análise de LDL de um gel contendo corante lipofílico. Após a homogeneização, a amostra aplicada ao gel de poliácridamida passou pelo processo de fotopolimerização (30 min), seguido de corrida em tampão de eletroforese. As bandas mostraram a quantidade relativa de partículas de lipoproteína por amostra, em ordem decrescente de tamanho de partícula. Do kit de subfrações de LDL foram analisadas 1 banda de VLDL, IDL A, B e C, e 7 subfrações de LDL. As LDL 1 e 2 foram classificadas em partículas maiores e menos densas (LDL_{1,2}). Da soma das subfrações de LDL 3 a 7 foram identificadas as pequenas partículas densas (LDL₃₋₇). Após a aplicação do ponto de corte baseado no tamanho total do LDL, identificou-se o fenótipo A ($\geq 26,51$ nm - menos aterogênico) e o fenótipo B ($< 26,5$ nm - aterogênico). Com base nas subfrações grandes e pequenas, foram calculadas as razões: LDL_{1,2}/LDL₃₋₇. Todos os resultados foram expressos em porcentagem de área sob a curva ajustada pelo teor de colesterol total.

Análise estatística

A mediana e os intervalos interquartis (IQR), ou média e desvio padrão (DP), foram usados para expressar as variáveis contínuas de acordo com a distribuição das variáveis contínuas. Para verificar a normalidade da distribuição dos dados, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Dependendo da distribuição de uma variável, um teste U de Mann-Whitney ou teste T foi usado. O teste chi-quadrado foi utilizado para comparar variáveis categóricas. Para a análise das correlações entre as variáveis contínuas foi utilizado o teste de Spearman. A significância estatística foi definida como p-valor $< 0,05$ para todas as análises.

Resultados

O principal achado do nosso estudo é que, além do colesterol total ser maior no grupo Recuperado do que no grupo COVID, a maior concentração de partículas de LDL e a qualidade das partículas de LDL também são maiores após a recuperação. No grupo Recuperados, há um aumento significativo no valor do parâmetro θ , em relação ao valor do grupo COVID. Esse resultado revela que as partículas de LDL dos pacientes do grupo Recuperado são menos modificadas e mais protegidas contra a oxidação. Esta última conclusão vem do maior número avaliado de carotenóides nas partículas de LDL em pacientes do grupo Recuperado. Durante a infecção, o número de carotenóides, avaliado a partir das medidas de absorção óptica no comprimento de onda de 484 nm, foi inferior a esse número após a recuperação. Além disso, este estudo revelou uma correlação negativa significativa entre PCR (fator de inflamação) e parâmetros físicos como mudança de fase e absorbância em 484 nm. Baixos níveis de luteína/zeaxantina, α - e β -caroteno e carotenóides totais estão fortemente ligados a níveis mais altos de estresse oxidativo, bem como inflamação. O processo inflamatório, bem como o estresse oxidativo, podem desempenhar um papel na progressão da gravidade do COVID-19. As células hospedeiras infectadas por coronavírus produzem mais radicais livres durante a infecção, o que resulta em inflamação grave. Moléculas lipídicas são tipicamente modificadas por esses radicais livres tóxicos. Além disso, comparando nossos resultados atuais com os de experimentos anteriores, notamos que a infecção deixou uma seqüela na qualidade do LDL, mesmo após 6 meses da recuperação. Esta informação é importante para os médicos prevenirem o desenvolvimento de aterosclerose durante a infecção e após a recuperação. A Fig. a1 apresenta os valores de θ (a) e absorbância em 484 nm (b) dos pacientes durante a infecção e 6 meses após a recuperação (RT-PCR negativo).

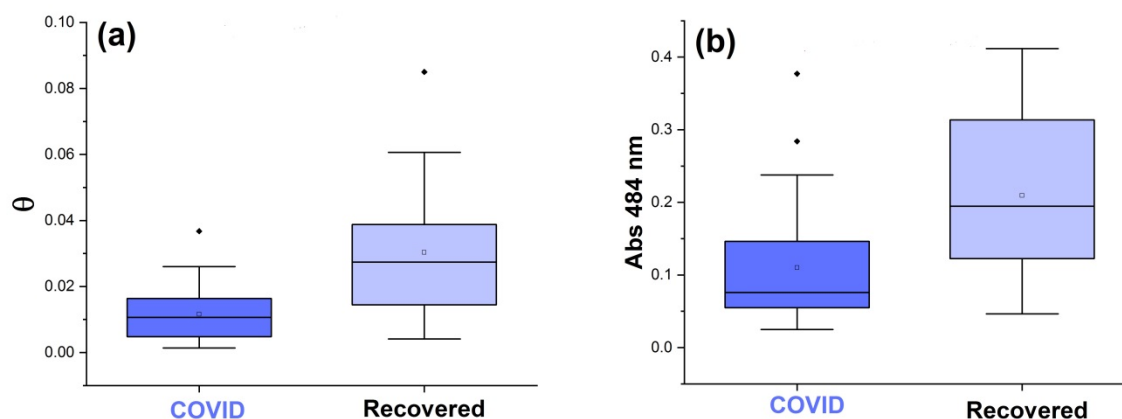


Figura a1: Gráfico de caixa mostrando as diferenças significativas entre os grupos COVID e Recuperado para (a) mudança de fase θ e (b) absorbância no comprimento de onda 484 nm.

O Dr. Lionel Gamarra, do Hospital Israelita Albert Einstein, seu grupo e colaboradores são os responsáveis pelas pesquisas relatadas a seguir (b \rightarrow d).

b) Tecnologia para análise de toxicidade em abordagens Terapêuticas

O presente trabalho, teve como objetivo analisar o desenvolvimento e a funcionalidade de geradores de gradiente de concentração microfluídica (CGGs) para avaliação toxicológica de diferentes organismos biológicos. proporcionando uma visão ampla dos avanços até o momento no uso dessa tecnologia e suas perspectivas. Este estudo identificou a fabricação dos microdispositivos, às características do CGG, o modelo biológico e os resultados desejados. O principal método de fabricação foi a litografia macia, usando material de polidimetilsiloxano (PDMS) (91%) e SU-8 como molde (58,3%). Novas tecnologias foram aplicadas para minimizar problemas de cisalhamento e bolhas, reduzir custos e acelerar a prototipagem. O desenho da árvore de natal CGG e suas variações foram os mais relatados nos estudos, assim como o método convectivo de geração (61%). Os modelos biológicos incluíram bactérias e nematóides para triagem de antibióticos, microalgas para toxicidade de poluentes, tumor e células normais para, principalmente, triagem de quimioterapia e embriões de peixe-zebra para toxicidade de desenvolvimento de drogas e metais. Os efeitos tóxicos de cada concentração gerada foram avaliados principalmente com técnicas de imagem e microscopia. Este estudo mostrou uma vantagem dos CGGs sobre outras técnicas e sua aplicabilidade para vários modelos biológicos. Mesmo com litografia macia, PDMS e árvore de Natal sendo mais populares em suas respectivas categorias, os estudos atuais visam aplicar novas tecnologias e arquiteturas complexas para melhorar a eficácia dos testes e reduzir problemas microfluídicos comuns (Fig. b1).

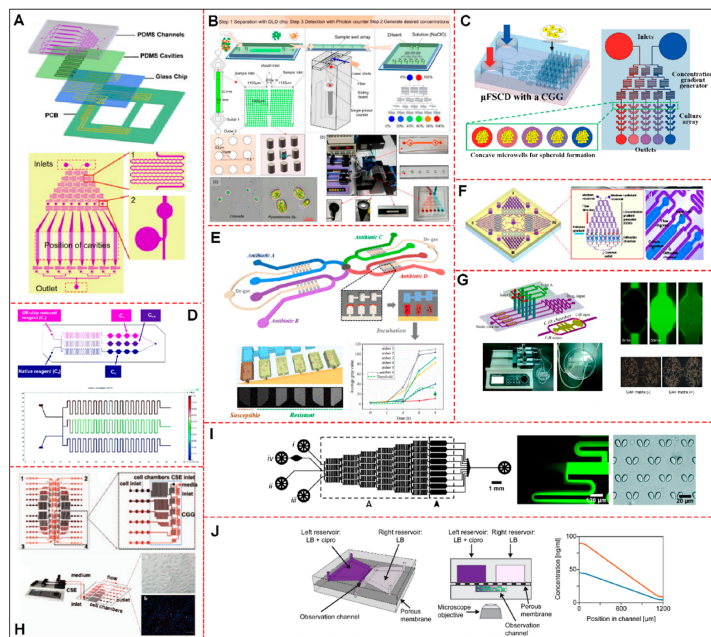


Figura b1. Diagrama esquemático dos dispositivos microfluídicos com sistema CGG para análise toxicológica, representando alguns dos estudos selecionados nesta revisão sistemática. (A) Representação das camadas do dispositivo, estrutura do gerador de gradiente, detalhes das unidades de mistura de fluidos e válvulas de bolha de ar. (B) Mapa físico do sistema CGG e a fotomicrografia de *Pyramimonas sp.* e *Clorela*. (C) Esquema mostrando o projeto de um μ FSCD com um gerador de gradiente de concentração. (D) Sistema Sphero Chip comprovando o princípio de medição do esquema experimental e resultados da modelagem computacional de uma estrutura CGG.

(E) Microdispositivo com oito conjuntos de C-Chambers, que podem habilitar simultaneamente oito conjuntos de ASTs sem interferência entre si. (F) Microdispositivo CGG utilizado para testes de toxicidade baseados na motilidade do fitoplâncton marinho contendo quatro unidades conectadas a uma saída central removível. (G) Desenho esquemático do chip microfluídico CGG com câmaras de células (painel superior) e do chip fabricado com máquina de bombeamento (painel inferior). (H) CGG contendo quatro módulos operacionais paralelos incluindo entradas CSE: 18 câmaras de células paralelas e 6 entradas de células. (I) Visão geral esquemática do dispositivo microfluídico com um CGG e câmaras com matrizes de armadilhas de células hidrodinâmicas passivas. (J) Desenho esquemático do dispositivo CGG, ilustrando cortes transversais e perfis teóricos da concentração de Ciprofloxacina no canal de observação.

c) Efeito do cotransplante de células-tronco mesenquimais com células-tronco hematopoiéticas para melhorar o enxerto em modelos animais

Este trabalho teve como objetivo analisar as características de HSC e MSC e suas interações por meio de cotransplante em modelos murinos. Neste estudo a distribuição de HSC por fonte mostrou proporções semelhantes, com sangue de cordão umbilical humano ou medula óssea animal sendo administrado principalmente com uma dose de 10^7 células por via intravenosa ou intraóssea. No entanto, as MSCs tiveram uma alta prevalência de doadores humanos com uma variedade de fontes (sangue do cordão umbilical, medula óssea, amígdala, tecido adiposo ou pulmão fetal), usando uma dose menor, principalmente 10^6 células e variando de 10^4 a $1,5 \times 10^7$ células, utilizando as mesmas rotas. As MSCs foram caracterizadas antes da administração em quase todos os experimentos. O receptor utilizado foi, em sua maioria, camundongos imunodeficientes submetidos a irradiação de baixa dose ou quimioterapia. A principal técnica de enxerto para avaliação de HSC e cotransplante de MSC foi o quimerismo, seguido de reconstituição hematopoiética e análise de sobrevivência. Além do enxerto, homing e celularidade também foram avaliados em alguns estudos. Os achados pré-clínicos validam o potencial das MSCs para permitir o enxerto de HSC in vivo em modelos animais de transplante de células hematopoiéticas xenogênicas e alogênicas, na ausência de toxicidade. O transplante de medula óssea (BMT) pode ser aplicado a doenças hematopoiéticas e não hematopoiéticas; no entanto, ainda apresenta uma série de desafios e limitações que contribuem para o insucesso do tratamento. Tendo isso em mente, uma possível forma de aumentar a taxa de sucesso do TMO seria o cotransplante de células-tronco mesenquimais (MSCs) e células-tronco hematopoiéticas (HSCs) para melhorar o nicho da medula óssea e secretar moléculas que potencializam o enxerto hematopoiético (Fig. b2).

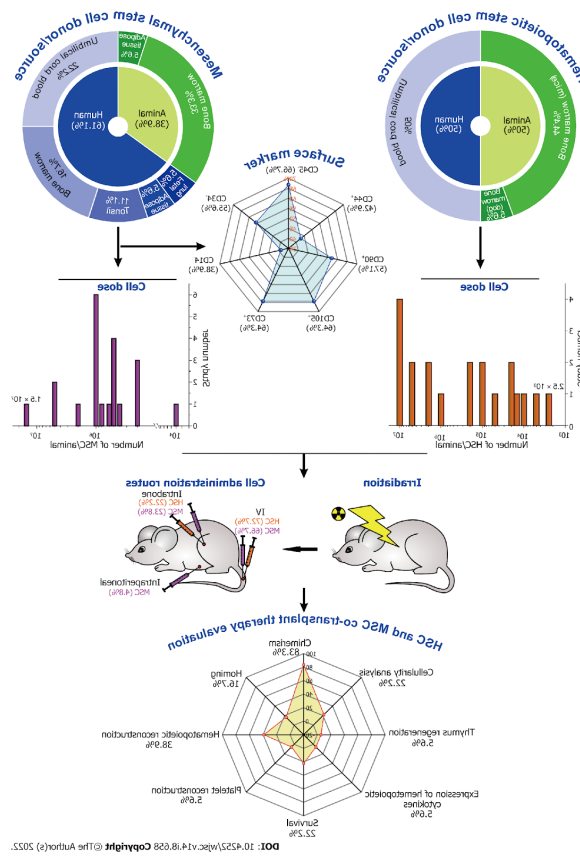


Figura c1. Resumo esquemático dos principais achados desta revisão sistemática das células e suas propriedades, as doses e vias utilizadas no cotransplante após a irradiação do animal receptor e as formas utilizadas para avaliar o sucesso da terapia na melhora do enxerto. HSC: Células-tronco hematopoieticas; MSC: Células-tronco mesenquimais.

d) Estudo do ômega-3 no câncer de mama como medida preventiva ou adjuvante aos tratamentos convencionais

O presente trabalho teve como objetivo analisar como os suplementos de ômega-3 afetam a prevenção do câncer de mama e tratamento levando em consideração o modelo de indução por célula características do transplante; o desenho experimental de suplementação de ômega, combinado ou não com tratamento antitumoral; composição dos ômegas utilizados e análise dos resultados dos estudos. Existem modelos diversos e bem estabelecidos na literatura sobre câncer da mama, com semelhanças muito relevantes no contexto histológico e molecular, dependendo do objetivo do estudo como transgênicos, induzidos por transplante celular, ou drogas oncogênicas. As análises dos resultados foram principalmente no monitoramento do crescimento do tumor, peso corporal/tumor e análises moleculares, genéticas ou histológicas, poucos estudos avaliaram latência, sobrevivência ou metástases. Os melhores resultados ocorreram quando a suplementação com ômega-3 foi associado a drogas antitumorais, principalmente na análise de metástases,

tumores de volume/peso ou quando a suplementação foi iniciada precocemente e mantida por um período longo. Os estudos enfatizam o impacto positivo do ômega-3 na modulação da proliferação celular, sobrevivência e vias de morte, bem como na diminuição da expressão de moléculas da via angiogênica que impactam positivamente na redução de metástases. O impacto do estresse oxidativo e o processo inflamatório também foi importante para melhoria imune. No entanto, o efeito benéfico da suplementação de ômega-3 quando não associado a um agente antitumoral ainda não está claro.

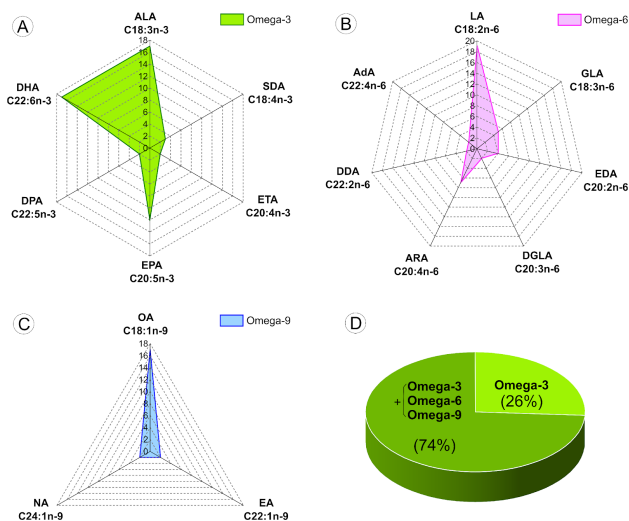


Figura d1. Análise da composição do ômega de acordo com a frequência de citação do tipo ômega nos estudos selecionados e os combinados utilizados no modelo de câncer de mama.

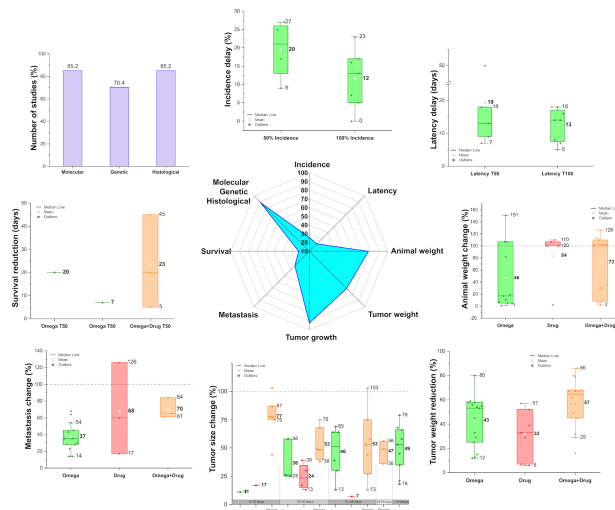


Figura d2. Análises dos desfechos – No centro da figura, um gráfico de aranha da frequência de cada tópico dos desfechos utilizados nos estudos, e o box plot ao redor representa cada desfecho analisado, comparando os resultados dos dados experimentais controlar os dados de cada estudo para incidência tumoral, latência tumoral, peso animal, peso tumoral, crescimento tumoral, metástase, sobrevida e frequência de análises moleculares, genéticas e histológicas por gráfico de histograma.

e) Elaboração, caracterização e aplicação de nanocompósitos magnéticos híbridos do tipo $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{CTAB}$ como adsorventes eficientes e reutilizáveis para o corante Remazol Brilliant Blue R

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação envolvidos neste trabalho são: Alex F. Campos, Helena A. L. de Oliveira, Guilherme Gomide, Clauber A. de M. Vieira, Ana Alice A. M. Guerra, Jerome Depeyrot.

O objetivo principal da presente pesquisa foi elaborar, caracterizar e avaliar a eficiência de nanopartículas à base de ferrita modificadas com brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) como potenciais nanoadsorventes magnéticos para remover Remazol Brilliant Blue R (RBBR) da água. É proposta uma arquitetura inovadora de nanomateriais baseada em nanopartículas core@shell altamente magnéticas e estáveis cobertas por uma camada superficial de CTAB ($\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{CTAB}$).

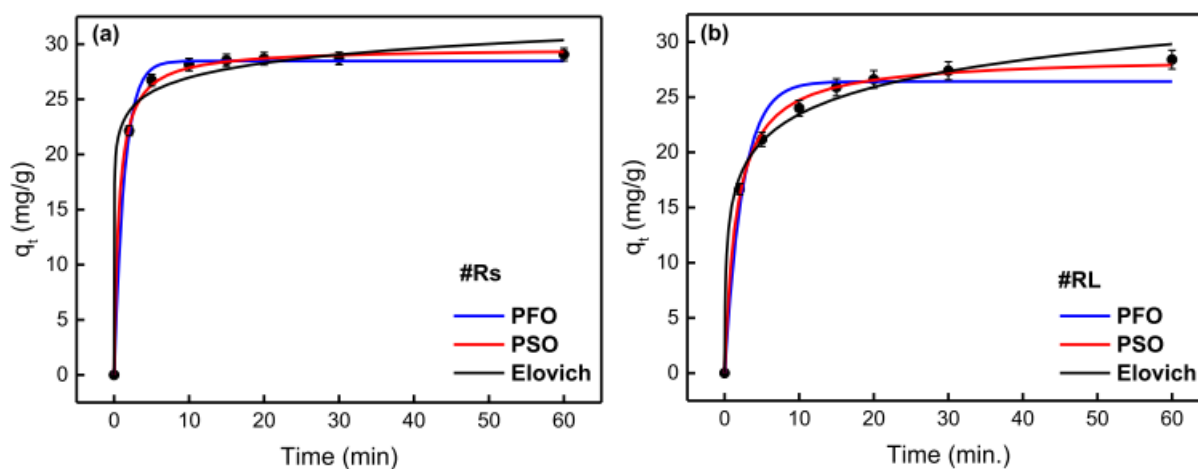


Figura e1: Dados cinéticos de adsorção de RBBR pelas amostras #Rs (a) e #RL (b) ajustados pelos modelos PFO, PSO e Elovich. Os resultados foram obtidos para concentração inicial de RBBR de 30 mg/L em pH = 3, e 1 g/L de nanoadsorvente.

Amostras de dois tamanhos médios diferentes foram sintetizadas usando coprecipitação hidrotérmica seguida de tratamento de superfície e funcionalização. Testes de batelada foram realizados para avaliar a influência do tempo de contato, temperatura, pH, taxa de agitação, presença de interferentes e tamanho médio no desempenho dos nanomateriais propostos. A cinética do processo de adsorção seguiu o modelo de pseudo-segunda ordem com um tempo de equilíbrio de 20 min (Figura e1).

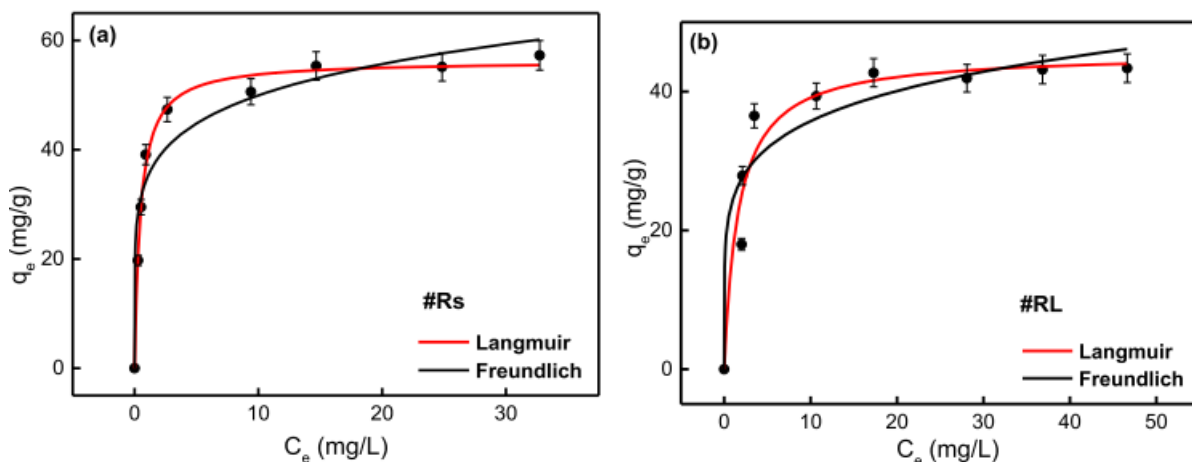


Figura e2: O ajuste dos dados de adsorção de equilíbrio em pH = 3 usando as isotermas de Freundlich e Langmuir para as amostras #Rs (a) e #RL (b). Foi utilizado 1 g/L de nanoadsorvente.

A capacidade de adsorção foi estimada pelo modelo de isoterma de Langmuir e encontrada em 56,3 mg/g (tamanho menor, #Rs) e 45,6 mg/g (tamanho maior, #RL) em pH = 3 e taxa de agitação de 400 rpm. O processo foi espontâneo, exotérmico e apresentou maior aleatoriedade. Os íons sulfato afetaram negativamente a remoção de RBBR. O melhor desempenho do nanoadsorvente baseado em tamanhos médios menores pode ser correlacionado à sua maior área superficial. Testes de regeneração e readsorção mostraram que os nanoadsorventes podem ser efetivamente reciclados e reutilizados (Fig. e2).

Por fim, o presente estudo mostra que os nanoadsorventes propostos são potencialmente aplicáveis para remover corantes aniônicos da água e o conjunto de seus resultados é importante para futuras análises visando ao escalonamento do processo e aplicações em matrizes mais complexas.

- f) Um estudo numérico sobre a interação entre as características intrapartícula e interpartícula em conjuntos de nanopartículas bimagnéticas moles/moles e duras/moles ultrapequenas

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação envolvidos neste trabalho são: Franciscarlos G. da Silva, Marianna Vasilakaki, Rafael C. Gomes, Renata Aquino, Alex F. C. Campos, Emmanuelle Dubois, Régine Perzynski, Jerome Depeyrot e Kalliopi Trohidou.

Uma abordagem em escala mesoscópica e o método de Monte Carlo (MC) foram empregados para estudar o comportamento do viés de troca de nanopartículas (NPs) de MnFe₂O₄ (mole)/maghemita (mole) e CoFe₂O₄ (duro)/maghemita (mole) de tamanho 3 nm em montagens densas e diluídas a baixas temperaturas.

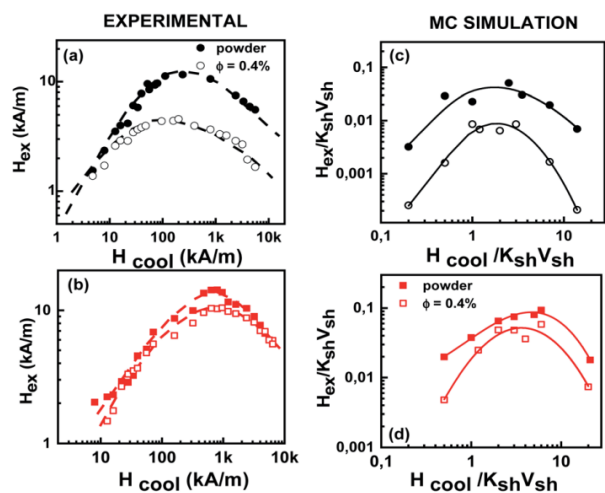


Figura f1: Dependência do campo de resfriamento do campo de polarização de troca H_{ex} extraído de loops de histerese. Os dados experimentais no painel esquerdo (a e b) são comparados com os resultados das simulações de Monte Carlo no painel direito (c e d) para fluido de ferro congelado (símbolos abertos) e um pó (símbolos completos) para as nanopartículas de núcleo/casca de $MnFe_2O_4@γ-Fe_2O_3$ (a e c) e $CoFe_2O_4@γ-Fe_2O_3$ (b e d). As linhas tracejadas e sólidas são guias para os olhos.

A análise de nossos resultados de MC mostra claramente que nas amostras de pó a contribuição para o campo de polarização de troca (H_{ex}) e a coercividade (H_c) vem principalmente da estrutura intrapartícula núcleo/casca na amostra dura/mole e que a interação entre as características internas e as interações interpartícula é mais importante nas amostras moles/moles onde a força dipolar é aumentada.

Nas amostras diluídas de ferrofluido congelado onde as interações de troca interpartícula estão ausentes e o papel das interações dipolares não é significativo, os efeitos do viés de troca são reduzidos e vêm da estrutura intrapartícula. A variação de H_{ex} (Fig. f1) e H_c (Fig. f2) com o campo de resfriamento aplicado reproduz bem os achados experimentais e lança luz sobre os principais mecanismos do comportamento magnético observado. Nossos resultados demonstram a possibilidade de controlar o comportamento magnético de nanoestruturas usando nanopartículas bimagnéticas core/shell devidamente escolhidas.

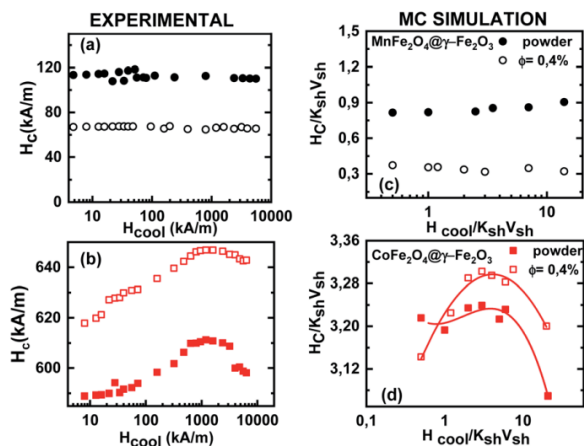


Figura f2: Dependência do campo de resfriamento da coercividade H_c . Os dados experimentais (a e b) são comparados com os resultados das simulações de Monte Carlo (c e d) para fluido de ferro congelado (símbolos abertos) e pó (símbolos completos) para as nanopartículas de núcleo/casca de $MnFe_2O_4@γ-Fe_2O_3$ (a e c) e $CoFe_2O_4@γ-Fe_2O_3$ (b e d). As linhas tracejadas e sólidas são guias para os olhos.

g) Elaboração e Caracterização de Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) acoplados a nanopartículas magnéticas

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação envolvidos neste trabalho são: Mahesh Chand, Ajay Shankar, Annveer, Alex F. C. Campos, Rajender P. Pant e Jerome Depeyrot.

Um novo tipo de fluido híbrido apresentando nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) acoplados a nanopartículas magnéticas foi sintetizado e investigado por suas propriedades estruturais, magnéticas e magneto-viscoelásticas. Os resultados experimentais confirmaram o acoplamento cooperativo entre MWCNTs e nanopartículas de Fe_3O_4 formando a base do mecanismo magnetorreológico que narra as propriedades reológicas. A simulação de dinâmica molecular (MD) e cálculos de interação para partícula-partícula, partícula-tubo e tubo-tubo foram descritos e explicados de forma abrangente em vista das propriedades de interface de nanopartículas e nanotubos. O conjunto das investigações experimentais e teóricas confirma o alinhamento em massa de MWCNTs dobrados em sistema ferrofluido, que pode ser sintonizado com um campo magnético aplicado. A simulação MD prevê uma ordenação molecular fraca e de curto alcance mediada por moléculas de ácido oleico livre entre MWCNTs e nanopartículas revestidas de ferrofluido. Os cálculos de interação interpartícula (van der Waals, energias estérica e magnética) mostraram que as nanopartículas magnéticas revestidas na superfície são cineticamente estáveis no fluido, enquanto os MWCNTs formam agregados em cadeia. Além disso, pela aplicação da teoria clássica de feixes, uma comparação termodinâmica de barreira de energia foi feita para o desdobramento de MWCNTs impregnados de partículas. Assim, considerando a compatibilidade dimensional de nanotubos e nanopartículas, um alinhamento parcial induzido por campo de MWNCTs em virtude de sua forma dobrada em sistema ferrofluido é proposto. Uma realização parcial ou completa da reversibilidade e ajuste do padrão de MWCNTs em larga escala em ferrofluido foi investigada em detalhes.

h) Estudo das Transições de fase dependentes de pH em ferrofluidos: um estudo de simulação de Monte Carlo usando um modelo DLVO estendido

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação envolvidos neste trabalho são: Fábio L. O. Paula, Leonardo L. Castro, Tiago S. A. Cassiano, Samuel G. dos Santos, Guilhemre Gomide, Jerome Depeyrot e Alex F. C. Campos.

A presente pesquisa enfoca o comportamento da fase dependente do pH de ferrofluidos ácidos usando simulações de Monte Carlo. Amostras baseadas em nanopartículas core@shell do tipo $CoFe_2O_4@γ-Fe_2O_3$ com cinco tamanhos médios diferentes foram investigadas.

As interações interpartícula foram modeladas empregando uma teoria DLVO estendida, que inclui a interação dipolar magnética anisotrópica. A componente repulsiva eletrostática considera

a dependência da densidade de carga superficial com o pH e o tamanho médio das nanopartículas. As simulações destacam o efeito do pH na o comportamento de fase das amostras, onde o aumento do pH em direção ao neutro induz um aumento no número de aglomerados, ao mesmo tempo em que reduz as distâncias de primeiros vizinhos, especialmente para amostras baseadas em nanopartículas maiores (Fig. h1). Os resultados obtidos nessas simulações concordam com observações experimentais realizadas em amostras de ferrofluidos ácidos e permitem uma caracterização confiável dos domínios de estabilidade desses sistemas (Fig. h2). Por fim, o comportamento geral da fase dependente do pH é confirmado por meio de uma análise detalhada dos resultados das amostras simuladas.

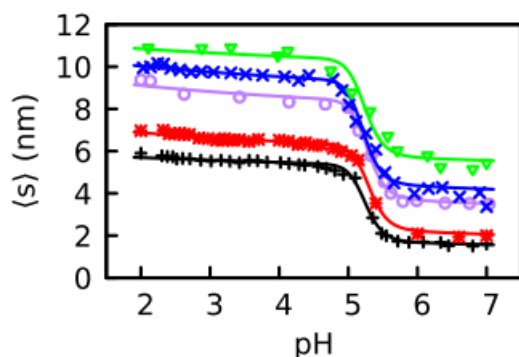


Figura h1: Resultados da simulação da distância do primeiro vizinho versus pH do solvente para nossas cinco amostras de ferrita de cobalto: Co1 (+), Co2 (*), Co3 (◊), Co4 (x), Co5 (▽). As linhas cheias são guias para os olhos.

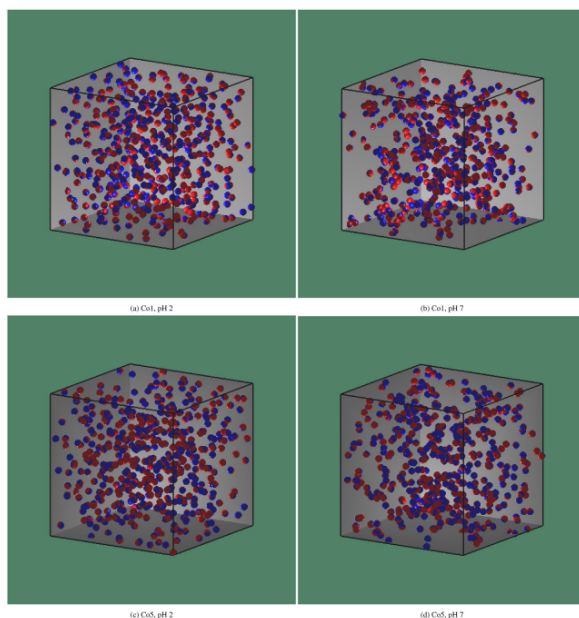


Figura h2: Configuração das partículas geradas pelo programa para as amostras Co1 e Co5, em pH 2 e pH 7. Os hemisférios azul e vermelho representam os polos magnéticos norte e sul das nanopartículas. Em pH 2, as nanopartículas são bem distribuídas como no estado sol. Em pH 7, as nanopartículas formam aglomerados.

Esse estudo representa uma abordagem confiável para investigar processos relacionados à agregação em ferrofluidos. Além disso, outros sistemas coloidais também poderiam se beneficiar dessa modelagem, com pequenos ajustes. Por exemplo, pode ser aplicado para prever o comportamento de fase de coloides aquosos cuja regulação da carga de superfície é governada por outros mecanismos, como força iônica e concentração de estabilizadores iônicos. Isso é particularmente relevante no caso de aplicações biomédicas, onde o pH do meio é tamponado e a presença de eletrólitos pode afetar a carga das nanopartículas.

i) Comportamento não linear do espectro de impedância de um ferrofluido à base de querosene

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação envolvidos neste trabalho são: Frenando Batalioto, Mahesh. Chand, Alex F. C. Campos, Jerome Depeyrot, Giovanni Barbero e Antonio M. Figueiredo Neto

Deve-se destacar a sinergia e colaboração formal entre os grupos do IF-USP e da UnB nesse estudo. Investigamos o comportamento não linear da impedância elétrica de uma amostra de ferrofluido (FF) à base de querosene submetida a uma tensão elétrica CA de amplitude variando de 10 mV a 3 V na faixa de frequência 6,3 mHz, 100 kHz. A amostra FF foi inserida entre dois eletrodos de ouro paralelos separados por uma distância de 127 mm. Os resultados mostram que mesmo uma tensão senoidal de amplitude menor que 80 mV pode dar origem a efeitos não lineares para frequência da tensão aplicada menor que 100 mHz. Nossos dados experimentais confirmam os resultados obtidos resolvendo numericamente as equações do modelo de Poisson–Nernst–Planck. Desta concordância segue-se que o modelo baseado na equação de continuidade para os íons móveis, e a equação de Poisson para o potencial real através da amostra, funciona bem também em sua versão não linear.

j) Modulação do fenótipo de resistência a múltiplas drogas por oxisteróis

Expressão gênica de proteínas ABCs tratadas com 20 μ M de Triol por 24 horas em células tronco mesenquimais de pacientes portadores de leucemia mieloide aguda (CTM-D), quando comparadas em relação as não tratadas. Das 44 proteínas expressas em humanos, o tratamento com Triol em CTMs altera a expressão de 29 proteínas ABCs (Figura j1).

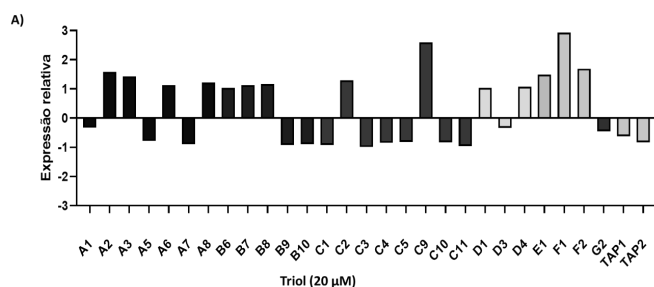


Figura j1. Expressão gênica de proteínas ABCs tratadas com 20 μ M de Triol por 24 horas em células tronco mesenquimais de pacientes portadores de leucemia mieloide aguda

Expressão gênica de proteínas ABCs tratadas com 25 μ M de 7-KC por 24 horas em células tronco mesenquimais de pacientes portadores de leucemia mieloide aguda, quando comparada com as não tratadas. Das 44 proteínas expressas em humanos, o tratamento com 7-KC em CTMs altera a expressão de 27 proteínas ABCs (Figura j2).

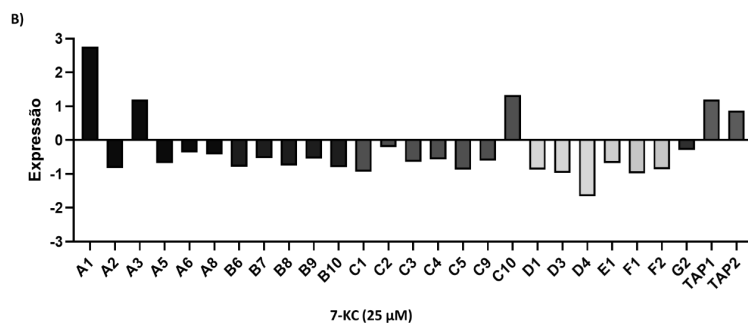


Figura j2. Expressão gênica de proteínas ABCs tratadas com 25 μ M de 7-KC por 24 horas em células tronco mesenquimais de pacientes portadores de leucemia mieloide aguda.

Das proteínas alteradas pelo estudo de análise de expressão gênica, escolhemos algumas proteínas para estudo mais detalhado.

k) Estudos das proteínas ABC-A1 e ABC-G1 em células tronco mesenquimais de indivíduos saudáveis (CTM-S) com os de pacientes portadores de leucemia mieloide aguda (CTM-D)

Foi realizada imunofluorescência indireta das proteínas ABC-A1 e ABC-G1 nas CTM saudáveis e de portadores de leucemia mieloide crônica. A proteína ABC-A1 é uma proteína transmembranica responsável pelo efluxo celular de colesterol e fosfolipídeos, que é um passo essencial para o transporte reverso do colesterol e para a biogênese da HDL. Inicialmente foi analisado que há diferença na expressão da proteína ABC-A1 entre as linhagens CTM-D e CTM-S, Figura k1. Quando as células foram tratadas com concentrações sub-tóxicas de 7-

cetocolesterol, observou-se que as CMT-S apresenta diferença significativa quando a concentração de 30 μ M foi comparada com a de 70 μ M. Também, observou-se que, em todas as concentrações testadas, não houve diferença na expressão da ABC-A1 das CTM-D. (Figura k2). As CTM-S apresentaram maior expressão da proteína quando comparadas com as CTM-D nas concentrações de 30 e 50 μ M de 7-KC. Quando analisou a ABC-A1 com tratamento sub-tóxico de Triol, as CTM-S apresentaram diferença significativa entre as concentrações de 20 e 40 μ M. As CTM-D não apresentaram diferenças entre os tratamentos (figura 3C). As CTM-S apresentaram maior expressão da proteína quando comparadas com as CTM-D nas concentrações de 20 e 30 μ M de Triol. A Figura k3 é representativa das imagens obtidas para a quantificação da proteína ABC-A1.

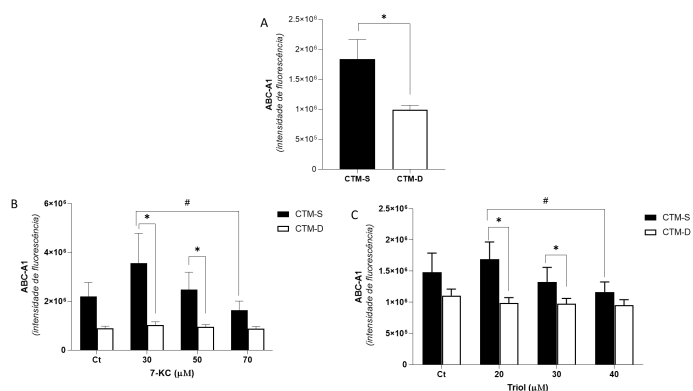


Figura k2. Gráficos representando a proteína ABC-A1 em CTM-D e CTM-S. **A:** Comparação entre as linhagens CTM-D e CTM-S cultivadas em meio basal por 24 horas através do teste T de Student ($p = 0,008$). **B:** Comparação da concentração de ABC-A1 entre as linhagens CTM-D e CTM-S tratadas com 7-cetocolesterol, através do teste de ANOVA de duas vias com pós teste de Tukey; **C:** Comparação da concentração de ABCA1 entre as linhagens CTM-D e CTM-S tratadas com Triol, através do teste de ANOVA de duas vias com pós teste de Tukey; * $p < 0,005$; # $p < 0,001$.

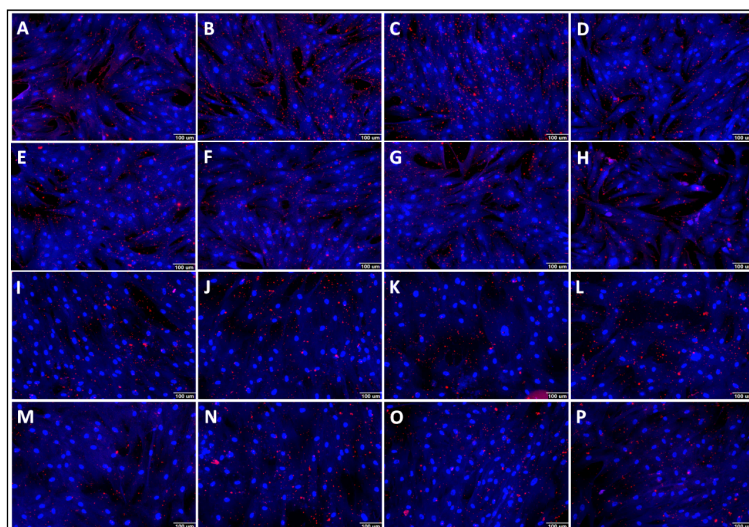


Figura k3. Micrografia da expressão da proteína ABC-A1. Vermelho: ABC-A1, Azul: Hoerchst 33342 e marcador de citoplasma. A e E: CTM-S sem tratamento; B: CTM-S com 30 μ M de 7-KC ; C: CTM-S com 50 μ M de 7-KC; D: CTM-S com 70 μ M de 7-KC; F: CTM-S com 20 μ M de triol; G: CTM-S com 30 μ M de triol; H: CTM-S com 40 μ M de triol; I e M: CTM-D sem tratamento; J: CTM-D com 30 μ M de 7-KC ; K: CTM-D com 50 μ M de 7-KC; L: CTM-D com 70 μ M de 7-KC; N: CTM-D com 20 μ M de triol; O: CTM-D com 30 μ M de triol; P: CTM-D com 40 μ M de triol. Barra = 100 μ m

O membro G 1 da subfamília ABC 1 é um meio transportador transmembranar que exporta lipídios celulares para aceptores extracelulares. A principal função do ABC-G1 é efluir o colesterol para as lipoproteínas esféricas de alta densidade (HDL). ABC-G1 também eflui colesterol para lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipossomas e ciclodextrina e exporta esfingomiéline, fosfatidilcolina e oxisteróis para HDL e albumina. Inicialmente foi analisado que não há diferença na expressão da proteína ABC-G1 entre as linhagens CTM-D e CTM-S, Figura k4. Quando as células foram tratadas com concentrações sub- tóxicas de 7-cetocolesterol, observou-se que tanto as CTM-S como as CTM-D não demonstraram diferenças significativas só houve diferença na comparação entre as linhagens quando tratadas com 50 μ M. (Figura k5). O tratamento com triol não mostrou nenhuma alteração da expressão da proteína ABC-G1. A Figura k6 é representativa das imagens obtidas para a quantificação da proteína ABC-G1.

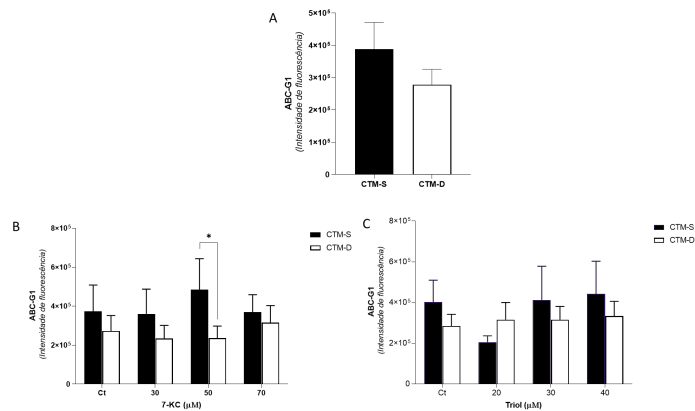


Figura 5. Gráficos representando a proteína ABC-A1 em CTM-D e CTM-S. **A:** Comparação entre as linhagens CTM-D e CTM-S cultivadas em meio basal por 24 horas através do teste T de Student ($p = 0,008$). **B:** Comparação da concentração de ABC-A1 entre as linhagens CTM-D e CTM-S tratadas com 7-cetocolesterol, através do teste de ANOVA de duas vias com pós teste de Tukey; **C:** Comparação da concentração de ABCA1 entre as linhagens CTM-D e CTM-S tratadas com Triol, através do teste de ANOVA de duas vias com pós teste de Tukey; * $p < 0,005$; # $p < 0,001$.

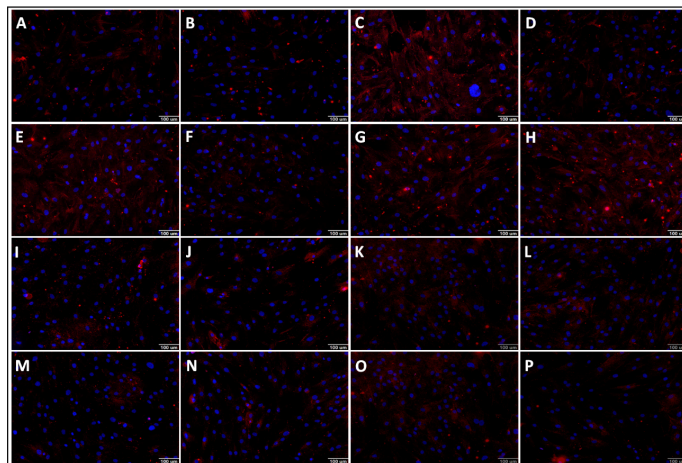


Figura k6. Micrografia da expressão da proteína ABC-G1. Vermelho: ABC-G1, Azul: Hoerchst 33342. A e E: CTM-S sem tratamento; B: CTM-S com 30 μ M de 7-KC; C: CTM-S com 50 μ M de 7-KC; D: CTM-S com 70 μ M de 7-KC; F: CTM-S com 20 μ M de triol; G: CTM-S com 30 μ M de triol; H: CTM-S com 40 μ M de triol; I e M: CTM-D sem tratamento; J: CTM-D com 30 μ M de 7-KC; K: CTM-D com 50 μ M de 7-KC; L: CTM-D com 70 μ M de 7-KC; N: CTM-D com 20 μ M de triol; O: CTM-D com 30 μ M de triol; P: CTM-D com 40 μ M de triol. Barra = 100 μ m

1) Adesivo para uso transdérmico de medicamentos de grande interesse na doença cardiovascular

O Prof. Francisco Fonseca, Profa. Maria Cristina Izar, seus colaboradores e alunos participam deste estudo.

Um dos objetivos do INCT-FCx é o de examinar novas formas terapêuticas envolvendo entrega de fármacos no tratamento da doença cardiovascular. Neste sentido durante o ano de 2022 passamos a desenvolver adesivo para uso transdérmico de medicamentos de grande interesse na doença cardiovascular. Iniciamos nossos experimentos com dois hipolipemiantes (rosuvastatina e ezetimiba), examinando os resultados com base em filme polimérico biodegradável com fármaco fixado no adesivo ou por nanofibras pela técnica de eletrofição, com resultados promissores (Fig 11 e Fig. 12). Os adesivos empregados permitem seu uso por um período superior a 10 dias, com potencial aplicação tanto para maior adesão terapêutica como do ponto de vista econômico, pela maior biodisponibilidade dos medicamentos em comparação à via oral. Com a técnica poderão ser administrados medicamentos combinados (polipílulas), constituindo uma alternativa ao tratamento convencional de múltiplos medicamentos em horários diversos o que compromete a adesão e alcance pleno dos benefícios do tratamento. A integração do conhecimento multidisciplinar do INCT é fundamental para o desenvolvimento deste tipo de projeto. A escolha de fármacos combinados de baixo custo, mas comprovada efetividade e segurança, poderá trazer impacto social.

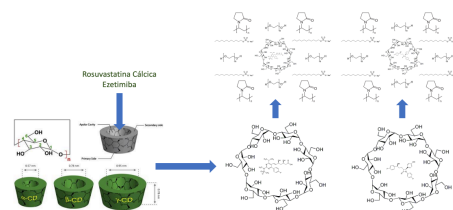


Figura 11: Nanofibras para eletrofição.

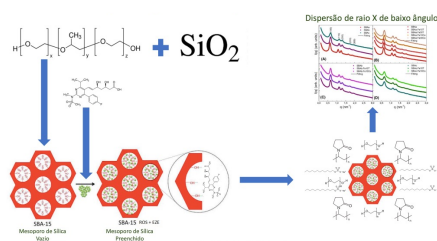


Figura 12: Filmes poliméricos biodegradáveis.

A seguir, os resultados obtidos pelos Doutores Anderson Reginaldo Sampaio, Newler Marcelo Kimura, Oscar Rodrigues dos Santos e Wladimir Sergio Braga, colaboradores e equipes.

m) Bebida fermentada obtida a partir de soja e arroz incorporada com inulina e oligossacarídeos derivados da succinoglucana

Este é um trabalho interdisciplinar, realizado em parceria com diferentes pesquisadores das áreas da física, ciências de alimentos, microbiologia e ciências farmacêuticas; em consonância com os princípios integradores deste INCT-FCX. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da incorporação de inulina e oligossacarídeos resultantes da hidrólise enzimática da succinoglucana comercial, quanto às propriedades físico-químicas, reologia, sinérese e viabilidade probiótica de bebidas fermentadas à base de soja e arroz adicionadas de *Lactobacillus paracasei*. Quatro formulações foram preparadas e suplementadas com 3,5% de inulina; 0,5% de oligossacarídeos de succinoglucana; 3,0% de inulina e 0,5% de oligossacarídeos de succinoglucana, e avaliados por 28 dias de armazenamento sob refrigeração a 5 °C. Os oligossacarídeos de succinoglucana apresentaram grau médio de polimerização (DPn) de 8. Todas as formulações foram caracterizadas como fluidos pseudoplásticos. Em relação à sinérese, as formulações com oligossacarídeos de succinoglucana e Mix apresentaram redução da mesma e isso não foi observado na formulação com inulina (Fig. m1).

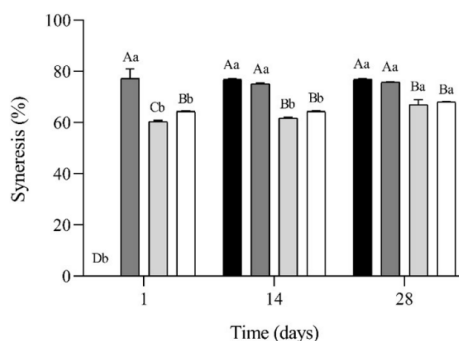


Figura m1: Sinérese (%) das quatro formulações de bebidas fermentadas: Controle (■); Inulina (▣); Succinoglucana (▤); Mix (□). As barras de erro representam o desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$, $n = 3$) entre as formulações. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatística entre os períodos de armazenamento ($p < 0,05$, $n = 3$).

Com relação à viabilidade probiótica, todas as formulações mantiveram a subsistência de *Lactobacillus paracasei* com contagens acima de 10^8 UFC mL⁻¹ até o 28º dia de armazenamento, porém, apenas as formulações prebióticas incorporadas apresentaram número suficiente de células viáveis após exposição a condições gastrointestinais simuladas (Fig. m2). Portanto, esta bebida fermentada mostrou-se uma alternativa inovadora de produtos não lácteos interessante para a indústria alimentícia atender aos anseios da população por produtos funcionais.

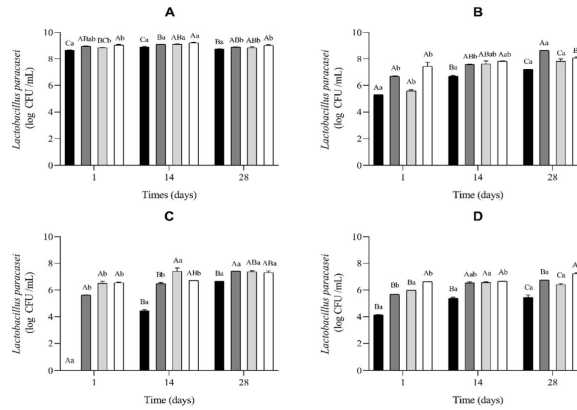


Figura m2: Viabilidade probiótica (UFC mL-1 log) das quatro formulações de bebidas fermentadas: Controle (■), Inulina (▒), Succinoglicucana (▓) e Mix (□), durante o armazenamento (A) e SGIC: fase gástrica (B), fase entérica I (C) e fase entérica II (D). As barras de erro representam o desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$, $n = 2$) entre as formulações. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatística entre os períodos de armazenamento ($p < 0,05$, $n = 2$).

n) Uma nova interpretação das figuras de interferência óptica observadas em uma fase nemática biaxial liotrópica para uma mistura ternária de DTMABr, 1-DDeOH e H₂O.

O foco deste trabalho são os cristais líquidos liotrópicos nemáticos, ou seja, sistemas multicomponentes que apresentam auto agregação molecular em condições termodinâmicas específicas. A mistura ternária liotrópica de brometo de dodeciltrimetilamônio (DTMABr), 1-dodecanol (DDeOH) e água (H₂O) foi estudada pelas técnicas de conoscopia óptica e refratômetro de Abbe. A presente mistura mostrou um grande domínio de fase biaxial (N_B) localizado entre dois uniaxiais diferentes no diagrama de fase parcial, um opticamente positivo (N_D) e outro negativo (N_C). A fase N_B exibe dois sinais ópticos em função da temperatura, cada um dos quais é igual às fases uniaxiais vizinhas. A dependência da temperatura, dos índices de refração (Fig. n3a) e das birrefringências (Fig. n3b), foi medida ao longo das transições de fase N_C - N_B - N_D.

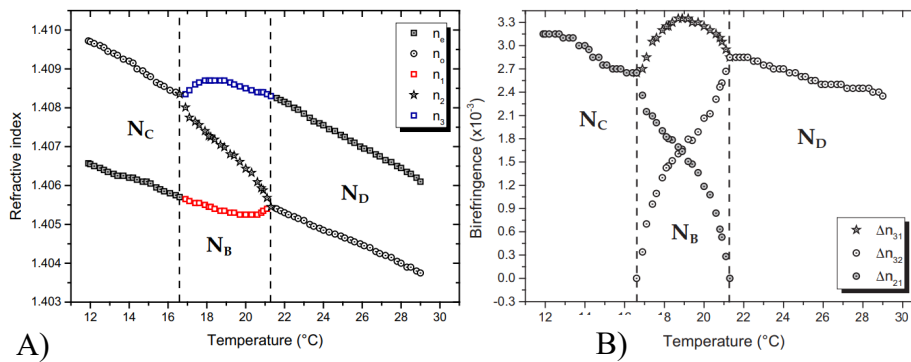


Figura n3: Dependência da temperatura dos índices de refração (A) e das birrefringências (B) ao longo das transições de fase N_C - N_B - N_D. Na legenda n_e e n_o são os índices de refração extraordinário e ordinário nas fases nemáticas uniaxiais, respectivamente. Na fase N_C (N_D), Δn é negativo (positivo). Para a fase N_B, o sinal óptico é negativo ($\Delta n_{32} < \Delta n_{21}$), sem sinal ($\Delta n_{32} = \Delta n_{21}$) e positivo ($\Delta n_{32} > \Delta n_{21}$).

A Fig. n4 mostra as imagens conoscópicas, obtidas a uma lenta taxa de resfriamento constante, próximo às transições de fase $N_D - N_B - N_C$ sem uma inserção de uma placa compensadora no caminho óptico. A Fig. n4a mostra a figura de interferência obtida para a fase N_D . O padrão observado é característico de um cristal uniaxial, quando seu eixo óptico é normal ao microscópio. Aqui, as isógiras formam uma cruz de Malta escura com o melátopo no centro e perpendicular à página. Diminuindo a temperatura, o melátopo na fase N_D se divide em dois ramos de hipérbole na fase N_B , Fig. n4b, que se afastam e saem do campo de visão, Fig. n4c. Na sequência, figuras de interferência coloridas aparecem naturalmente no campo de visão, conforme mostrado na Fig. n4d-g. Por fim, para a fase N_C , a cruz larga e difusa (figura flash) não pode ser observada na Fig. n4h, uma vez que seu eixo óptico é girado 45° no sentido anti-horário a partir da posição 0° .

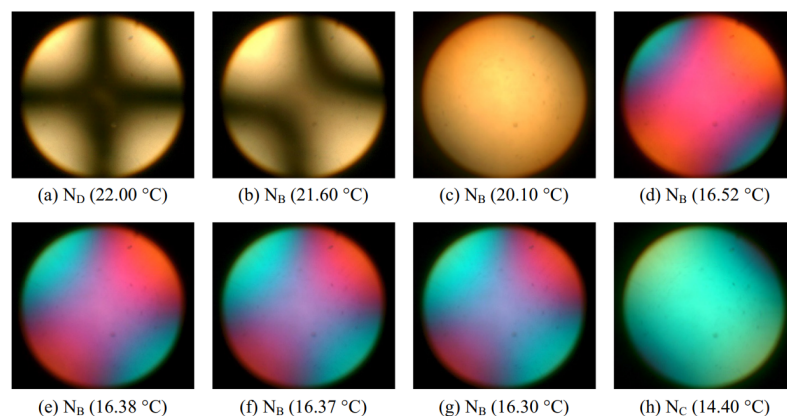


Figura n4: Figuras de interferência ao longo das transições de fase $N_D - N_B - N_C$, obtidas sem a inserção de placa compensadora no caminho óptico.

Este trabalho fornece, pela primeira vez, uma nova interpretação da figura de interferência nemática biaxial obtida pela técnica de conoscopia óptica, que se baseia nos fundamentos da cristalografia, índice de refração e resultados conoscópicos a laser. É importante ressaltar que a conoscopia ótica e a conoscopia laser são técnicas semelhantes que rendem as mesmas figuras de interferência, uma diferença importante entre elas é o tamanho do campo de visão conforme ilustrado na Fig. n5. Dentro deste contexto, nós demonstramos que os melátapos (ou isógiras) da fase N_B não podem ser vistos no campo de visão, explicando desta forma, porque a figura de interferência da fase N_B aparece naturalmente colorida no ponto dentro do domínio biaxial, no qual $\Delta n_{32} = \Delta n_{21}$. Entendemos que as duas rotações do plano óptico ao longo da fase N_B são aparêntes, devido às mudanças nas posições das linhas isocromáticas nos quadrantes. Dentro deste contexto, a mudança do sinal óptico na região da fase biaxial, de positivo para negativo ou vice-versa, previsto pelas medidas de birrefringência, não pode ser determinada a partir da conoscopia ótica, pois os eixos ópticos estão fora do campo de visão.

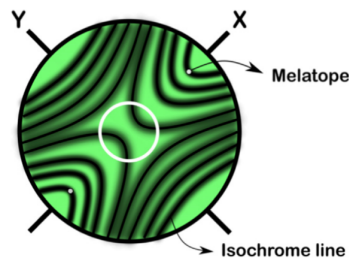


Figura n5: Comparação do campo de visão para o nemático biaxial negativo obtido pelas técnicas de conoscopia óptica (círculo branco) e conoscopia a laser (círculo preto).

o) Síntese de nanopartículas de cobre para aplicações no tratamento do câncer e da aterosclerose.

Os pesquisadores, e estudante de pós-graduação envolvidos neste trabalho são: Lilia Coronato Courrol, Cristiano L. P. Oliveira, Antônio Martins Figueredo Neto e Isabela Santos Lopes.

O ácido aminolevulínico (ALA) e sua forma metilada (MALA) são internalizados por células em rápido desenvolvimento como é o caso de células tumorais (câncer) e de células espumosas (aterosclerose) e convertidos em protoporfirina IX (PpIX). A PpIX é uma molécula fluorescente fotossensível. Células tumorais e espumosas acumulam mais PpIX que células saudáveis. Assim nanopartículas metálicas produzidas com ALA/MALA (ALA/MALANPs) têm aplicações em terapia fotodinâmica e sonodinâmica melhorando a internalização nas células com relação ao ALA/MALA e melhorando os resultados com eles obtidos. Recentemente as nanopartículas de cobre (CuNPs) vem recebendo muita atenção devido às suas propriedades antimicrobianas, atividade catalítica, propriedades óticas e magnéticas. Devido ao seu tamanho reduzido, as nanopartículas de cobre podem se infiltrar na placa aterosclerótica. Íons de cobre (Cu^{2+}) podem ser fagocitados por macrófagos que os leva à apoptose culminando em um efeito anti-aterosclerótico na aterosclerose precoce.

Objetivo: Síntese de nanopartículas de cobre e híbridas de prata-cobre, ouro-cobre revestidas com ALA/MALA por meio do processo de fotorredução e avaliação das suas propriedades teranósticas.

Nanopartículas de ALA/MALA foram produzidas em ambiente verde, através do processo de fotorredução onde a luz é o agente redutor e o ALA/MALA os agentes capeantes e estabilizantes das nanopartículas. O processo é resumido na Figura o1.

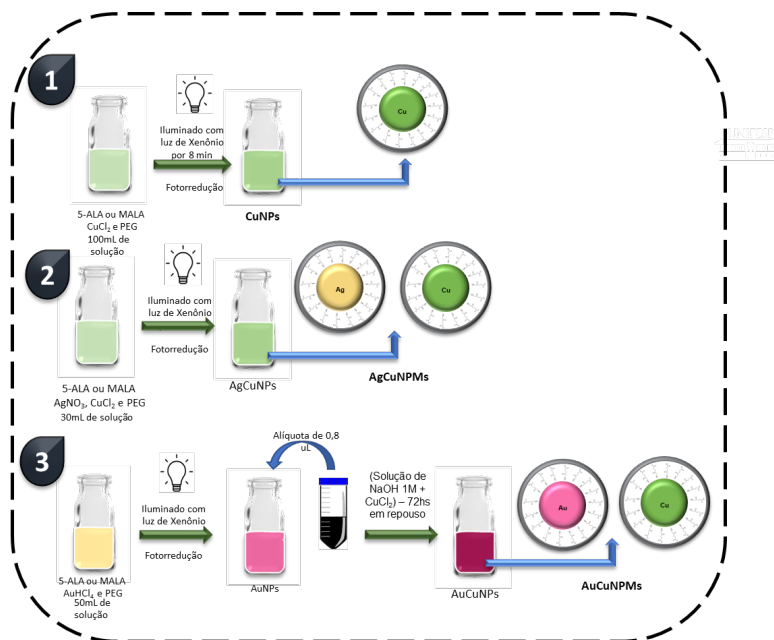


Figura 01. Síntese de nanopartículas de ALACu , ALAAgCu e ALAAuCu por fotorredução.

A síntese foi eficiente, como evidenciada pela presença da banda de plasmon de ressonância apresentado nos espectros da Figura 02 para o ALA (a) e MAL (b). As nanopartículas de CuAu apresentam pico em torno de 500-550 nm, as de AgCu em torno de 600 nm e as de ALA/MALA cobre entre 600-800 nm.

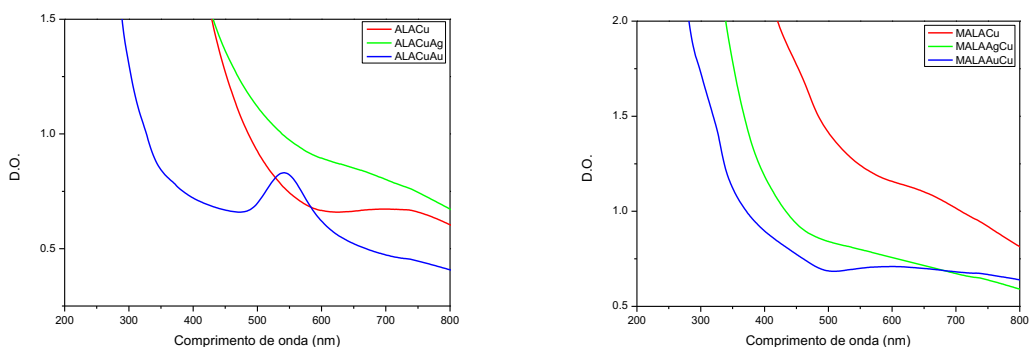


Figura 02. Espectros de absorção de Cu, CuAg e AuCuNPs sintetizadas com MALA/ALA.

Na Figura 03 são apresentadas as imagens por microscopia eletrônica de transmissão das amostras evidenciando a obtenção de partículas de formato esférico. Na Tabela 01 são mostrados valores de potencial Zeta e índice de polidispersão.

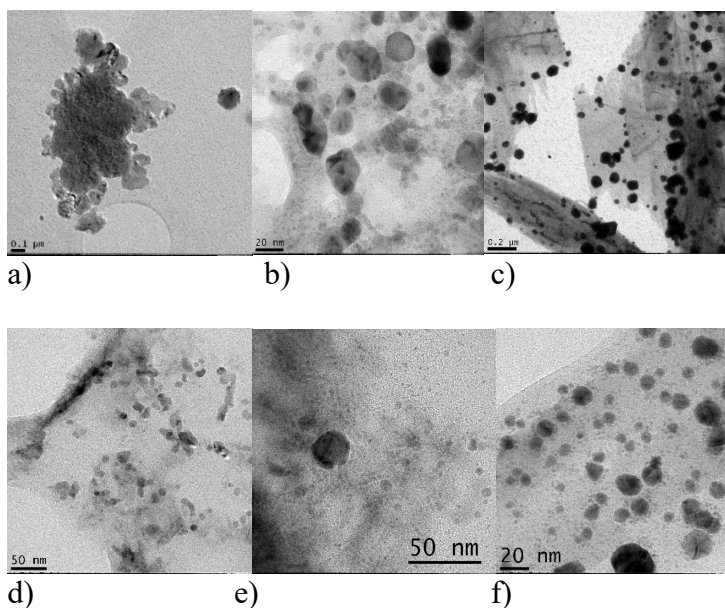


Figura o3: Microscopia eletrônica de Transmissão. a) ALACu, b) ALACuAg, c) ALACuAu e d) MALACu, e) MALAAgCu e f) MALACuAu.

Tabela o1. Tamanho, potencial de Zeta e índice de polidispersão.

Amostra	Zeta Potential (mV)	PDI
ALACu	-24.4	0.361
ALAAgCu	-16.3	0.505
ALACuAu	-16.0	1.000
MALACu	-13.3	0.252
MALACuAg	-26.4	0.192
MALACuAu	-15.1	0.483

Na Figura o4 são mostrados os espectros FTIR obtidos das amostras evidenciando sítios de ancoragem do ALA/MALA nas nanopartículas.

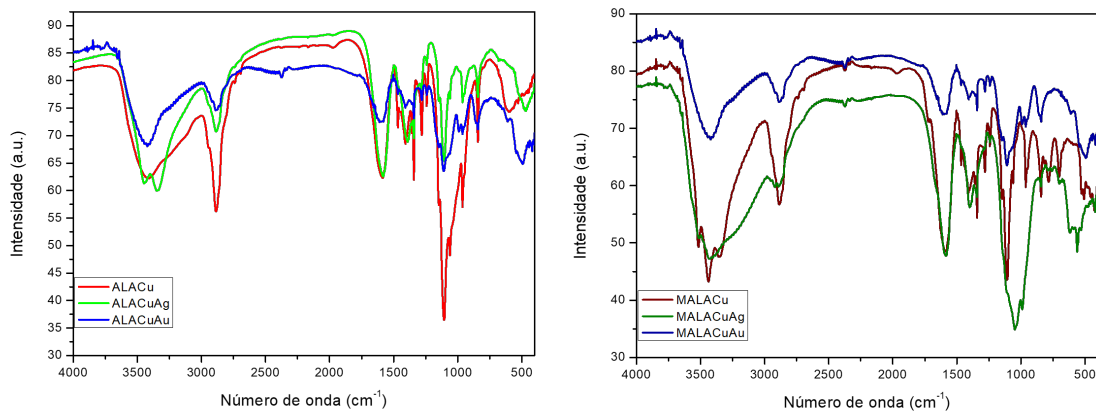


Figura 04. FTIR das Nanopartículas de Cu, CuAg e AuCuNPs sintetizadas com MALA/ALA.

A caracterização por difração de raios X dessas amostras está em fase de execução com auxílio do Dr. Cristiano Oliveira. Esta medida nos dará informação a respeito da estrutura cristalina das nanopartículas produzidas.

Este trabalho é uma continuidade do estudo por nós realizado em desenvolvimento de nanopartículas para a teranóstica de doenças com o câncer e aterosclerose, descrito em relatórios anteriores.

p) Estudos com surfactante pulmonar, SARS-Cov-2, malária, fibrose cística e câncer pulmonar

Os pesquisadores, pós-doutores e estudantes pós-graduação e graduação envolvidos neste trabalho são: Prof. André Silva Pimentel (coordenador), Dr. Felipe Rodrigues de Souza (pós-doutoramento), Lucas Miguel Pereira de Souza (doutorando), Cayque Monteiro Castro Nascimento (doutorando), Rayla Kelly Magalhães Costa (mestranda), Rudielson dos Santos Silva (mestrando), Paloma Guimarães Moura (iniciação científica), João Paulo Pereira Barbosa (iniciação científica), Caio Oliveira Argolo (iniciação científica), Mariana Camacho Lima (iniciação científica) e Luiz Filipe Silva Bezerra (iniciação científica).

Através de uma colaboração com o INCT de Óptica Básica e Aplicada às Ciências da Vida, estudamos como o surfactante pulmonar afeta negativamente a inativação fotodinâmica de bactérias usando análises *in vitro* e de simulação dinâmica molecular. Neste estudo, explicamos que indocianina verde, fotoditazina, bacterioclorina-trizma e protoporfirina IX interagem eletrostaticamente com o surfactante pulmonar reduzindo a inativação de *Streptococcus pneumoniae* *in vitro*. O azul de metileno é a exceção, provavelmente por causa de sua maior mobilidade ao interagir com a camada de surfactante, conforme visto em simulações de dinâmica molecular.

Através de uma colaboração internacional com a PennState University, também investigamos a associação de variantes genéticas da proteína surfactante A hidrofílica (SP-A) com infecção aguda grave pelo vírus sincicial respiratório em crianças. Usando simulações de dinâmica molecular, modelamos as variantes SP-A que diferem no aminoácido 223, uma importante mudança de aminoácido (Q223K) entre 1A0 e 1A3, que não apresenta grande impacto no comportamento dessas duas variantes, exceto pela maior estabilidade termodinâmica da variante K223. A gravidade da infecção aguda grave pelo vírus sincicial respiratório (RSV) foi associada a variantes do gene SPs hidrofílicas (mas não hidrofóbicas). Nossos achados mostram que as variantes do gene SP podem desempenhar um papel fundamental na infecção por RSV e ter um papel potencial no prognóstico.

Realizamos também a dinâmica molecular da transposição do siRNA encapsulado em polímero através de modelos de surfactante pulmonar na interface ar-água. A dinâmica molecular de granulação grossa foi usada para investigar diferentes polímeros para encapsular o siRNA para sua transposição. Os nanocarreadores escolhidos para encapsular o siRNA anti-TNF foram o polietileno glicol (PEG) e a polietilenoimina (PEI). As simulações mostraram que as nanopartículas contendo PEG promoveram o colapso lipídico do modelo de surfactante pulmonar por meio da formação de uma coroa lipídica. A nanopartícula contendo apenas PEI ou PEG e PEI juntos apresentaram alguma perturbação do modelo de surfactante pulmonar, porém nenhum colapso durante a transposição da nanopartícula foi observado. O método de amostragem guarda-chuva foi usado para calcular a energia livre de Gibbs de transposição através do modelo de surfactante pulmonar. As nanopartículas contendo PEG apresentaram uma diminuição da energia livre de Gibbs, enquanto a energia livre da transposição do PEI sozinho não foi afetada. A implicação dessa descoberta é que o siRNA encapsulado com PEI e PEG aumenta a transposição de siRNA anti-TNF através de modelos de surfactante pulmonar na interface ar-água.

Estudamos potenciais peptídeos antivirais que podem ser ativos no SARS-CoV-2, entretanto o mecanismo de interação é desconhecido. Calculamos as energias livres de ligação absoluta da mucroporina antimicrobiana e seu análogo mucroporina-M1 com o domínio heptad repeat 1 e RNA polimerase dependente de RNA de SARS-CoV-2 e do peptídeo antiviral ATN-161 com alguns alvos proteicos de SARS-CoV-2. Os peptídeos Mucroporina e seu análogo Mucroporina-M1 foram estudados por meio da ancoragem molecular e de dinâmica molecular de sua complexação com dois alvos proteicos, o domínio Heptad Repeat 1 (HR1) e a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) do SARS-CoV-2. A ancoragem molecular dos complexos peptídeo-proteína foi realizada usando um algoritmo de aprendizagem de máquina. As poses de menor energia foram submetidas à simulação de dinâmica molecular. Em seguida, as energias livres de ligação da Mucroporina e seu análogo Mucroporina-M1 com esses dois alvos proteicos foram calculadas usando o método Multistate Bennett Acceptance Ratio (MBAR). Verificou-se que o complexo peptídeos/domínio HR1 apresentou estabilidade no sítio de interação determinado por ancoragem molecular. Verificou-se também que a Mucroporina-M1 tem uma afinidade muito maior do que a Mucroporina para a proteína alvo HR1. Os peptídeos mostraram estabilidade e afinidade semelhantes no local NTP na proteína RdRp. Estudos experimentais adicionais são necessários para confirmar a atividade antiviral da Mucroporina-M1 e um possível mecanismo de ação contra o SARS-CoV-2. No entanto, indicamos aqui que a Mucroporina-M1 pode ter atividade antiviral potencial contra o domínio HR1 com a possibilidade de otimização adicional do peptídeo.

As interações do pentapeptídeo antiviral ATN-161 com as conformações fechadas e abertas da integrina $\alpha 5\beta 1$, a protease principal e a proteína spike variante omicron complexada com hACE2 do SARS-CoV-2 foram estudadas usando ancoragem molecular e simulação de dinâmica molecular. Os resultados mostraram que o ATN-161 se liga à integrina $\alpha 5\beta 1$ em suas formas ativa e inativa, liga-se fracamente à proteína spike variante omicron complexada com hACE2, e a liga-se fortemente com a protease principal, o que é um achado inédito. Este último achado originou uma colaboração entre nosso grupo e o pesquisador que descobriu a atividade do ATN-161 contra o SARS-CoV.

Usamos modelos atomísticos de dipalmitoil fosfatidilcolina e vários modelos de água para calcular seu coeficiente de partição octanol-água e comparar com sua medição experimental. Descobrimos que os parâmetros de interação do modelo de água devem ser modificados usando aprendizado de máquina para obter melhores resultados para reconciliar os coeficientes de partição octanol-água calculado e experimental do dipalmitoil fosfatidilcolina.

Através de uma colaboração de longo prazo da PUC-Rio com a Fiocruz, a Universidade da Califórnia, USP e a Universidade Federal de Alagoas, depositamos uma patente de um novo fármaco para Malária. A malária está entre as doenças tropicais que mais mortes causam na África. Cerca de 500.000 mortes por malária são relatadas anualmente entre crianças africanas com menos de cinco anos. A cloroquina (CQ) é um antimalárico de baixo custo utilizado mundialmente para o tratamento da malária por *Plasmodium vivax*. Devido aos mecanismos de resistência, a CQ não é mais eficaz contra a maioria dos casos de malária causada por *P. falciparum*. A Organização Mundial da Saúde recomenda terapias combinadas de artemisinina para malária por *P. falciparum*, mas a resistência está surgindo no sudeste da Ásia e em algumas partes da África. Portanto, novos medicamentos para o tratamento da malária são urgentemente necessários. Anteriormente, nosso grupo identificou a 4-aminoquinolina DAQ, um análogo de CQ, contendo uma ligação acetilênica em sua cadeia lateral, que supera a resistência de CQ em cepas K1 de *P. falciparum*. Neste trabalho, o perfil antiplasmodial, propriedades e farmacocinética do DAQ foram investigados. DAQ não mostrou resistência cruzada contra cepas resistentes a CQ padrão (por exemplo, Dd2, IPC 4912, RF12) nem contra isolados de *P. falciparum* e *P. vivax* de pacientes na Amazônia brasileira. DAQ mostrou uma baixa propensão para gerar resistência. DAQ mostrou solubilidade considerável, mas baixa estabilidade metabólica. O principal metabólito foi identificado como um derivado mono N-desetilado (DAQM), que também apresentou atividade inibitória significativa contra cepas de *P. falciparum* resistentes a CQ. Nossos achados indicaram que a presença de uma ligação tripla em análogos de CQ pode representar uma oportunidade de baixo custo para superar mecanismos conhecidos de resistência no parasita da malária.

Através de uma colaboração entre a PUC-Rio e a Universidade de Lisboa, a mutação causadora de fibrose cística (FC) mais prevalente - F508del – que prejudica o dobramento da proteína CFTR foi estudada. Mostrou-se um tráfego defeituoso e degradação prematura. Pequenas moléculas denominadas corretoras podem resgatar o F508del-CFTR, e portanto, constituem farmacoterapias promissoras atuando na causa fundamental da doença. Examinamos uma coleção de compostos triazólicos para identificar novos corretores F508del-CFTR. A triagem primária funcional identificou quatro compostos de sucesso (LSO-18, LSO-24, LSO-28 e LSO-39), que foram posteriormente validados e demonstrados para resgatar o processamento de F508del-CFTR, tráfego de membrana plasmática e função. Para entender o mecanismo de ação, examinamos sua aditividade aos medicamentos aprovados clinicamente VX-661 e VX-445, baixa temperatura e

revertentes genéticos de F508del-CFTR. O resgate do processamento e função F508del-CFTR por LSO-18, LSO-24 e LSO-28, mas não por LSO-39, foi aditivo a VX-661, enquanto LSO-28 e LSO-39, mas não LSO-18 nem LSO-24, foram aditivos ao VX-445. Todos os compostos sob investigação demonstraram resgate aditivo do processamento F508del-CFTR e função para baixa temperatura, bem como resgate por revertentes genéticos G550E e 4RK. No entanto, nenhum desses compostos foi capaz de resgatar o processamento nem a função de DD/AA-CFTR, e o LSO-39 (semelhante ao VX-661) não exibiu aditividade ao revertente genético R1070W. A partir desses achados, sugerimos que LSO-39 (como VX-661) tem um sítio de ligação putativo na interface NBD1:ICL4, LSO-18 e LSO-24 que parece compartilhar o mecanismo de ação com VX-445, e LSO-28 parece para agir por um mecanismo de ação diferente. No total, essas descobertas representam um ponto de partida encorajador para explorar ainda mais essa série química para o desenvolvimento de novos corretores de CFTR.

Através de uma colaboração da PUC-Rio com a UFRJ, o IFRJ e a USP na área de câncer de pulmão, uma série de precursores de ácidos paracônicos (PA) bioativos foi sintetizada e sua citotoxicidade avaliada em células humanas *in vitro*. Dois precursores anfífilos contendo nitro, Nitro-C15-EED e o butanolídeo Nitro-C12-GBL, foram citotóxicos na escala micromolar, com maior atividade em células HeLa tumorais do que em HEK-293T de origem não tumoral. A estrutura dessas moléculas é simples, mas diferente dos nitrocompostos bioativos relatados. Nitro-C12-GBL foi geralmente mais citotóxico, mas após exposição de curto prazo (2 h), ambos os compostos atingiram a citotoxicidade máxima. Às 72 h pós-tratamentos de células HeLa, a dose-resposta final para Nitro-C12-GBL ($LC_{50} = 21,9 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi próxima à de Nitro-C15-EED ($LC_{50} = 25,3 \mu\text{mol L}^{-1}$), correspondendo para LC_{50} s ~ 3-3,6 vezes menor do que no HEK-293T. Tratamentos de curto prazo com $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ desses compostos promoveram resultados comparáveis, reduzindo a viabilidade das células tumorais em até 27–36% dos controles e preservando ~70% da viabilidade de HEK-293T em 72 h pós-tratamentos. A citotoxicidade reduzida foi observada em culturas expostas continuamente aos compostos por períodos mais longos (24-72 h), especialmente em células tumorais, destacando tratamentos de curto prazo como alternativas às estratégias antiproliferativas. Devido à sua natureza anfífila, esses compostos apresentam atividade superficial espontânea e adsorção em monocamadas Langmuir de dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC), especialmente Nitro-C12-GBL. Os efeitos nas monocamadas de DPPC são indicativos de uma possível ação fisiológica que depende da interação com as membranas celulares. A dinâmica molecular de granulação grossa indica que moléculas individualizadas de Nitro-C15-EED e os precursores de PA menos tóxicos são suscetíveis a serem aprisionados em filmes de fosfolipídios. Em contraste, o Nitro-C12-GBL forma consistentemente grandes agregados com domínios polares externos, o que poderia favorecer a interação com as cabeças polares fosfolipídicas das membranas biológicas.

q) Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais para a Análise com Precisão de Simulações Moleculares de Matéria Macia

Os pesquisadores participantes deste trabalho são Prof. Dr. Denys E. S. Santos (na época doutorando), Prof. Dr. Kaline Coutinho (colaboradora) e Prof. Dr. Thereza A. Soares (responsável).

O programa SuAVE (*surface assessment via grid evaluation*) (SuAVE) foi desenvolvido com o intuito de permitir a análise de dados de simulação molecular levando em consideração a curvatura de agregados molecular em diferentes fases independentemente da composição química, assimetria de composição do sistema molecular, e nível de granularidade atômica (atomístico e grão grosso). O programa SuAVE emprega técnicas de geometria diferencial de modo a representar superfícies químicas como totalmente diferenciáveis. Neste aspecto, o SuAVE difere dos demais programas disponíveis na literatura que aplicam tesselações de Voronoi ou triangulações de Delaunay para projetar e construir superfícies não contínuas, e, portanto, imprecisas para o tratamento de interfaces com curvatura. O SuAVE v1.0¹ foi expandido para incluir novas funcionalidades que permitem, em adição ao tratamento superfícies abertas com curvatura, o tratamento de superfícies fechadas (por exemplo, vesículas) e cavidades com formas de alta complexidade (por exemplo, *Metal Organic Frameworks*). Desta forma, o SuAVE v2.0 expandiu o repertório de análises de propriedades dependentes da curvatura em interfaces abertas previamente disponíveis no SuAVE v1.0 (e.g., área por molécula, perfil de densidade de lamelas, espessura de membranas, parâmetro de ordem deuterado, volume molecular, ângulo de curvatura da superfície) para incluir novas funcionalidades aplicável à matéria macia (e.g., esfericidade, raio médio do agregado molecular, principal momento de inércia) e à materiais cristalinos (e.g., diâmetro do poro, volume vazio interno, área total, e volume vazio total da célula unitária do cristal). Uma das vantagens do método implementado no Programa SuAVE é tratamento preciso de sistemas químicos com alta ou baixa densidade de átomos como demonstrado para dois sistemas químicos: Uma vesícula de Lipídeo-A e um conjunto de estruturas de MOFs. O programa SuAVE v2.0 é paralelizado e faz uso de um compilador compatível com OpenMP. SuAVE é *open-source* e disponível para *download* de forma gratuita nos seguintes endereços: <https://github.com/SuAVE-Software/source> and [https:// www.biomatsite.net/](https://www.biomatsite.net/).

r) Propriedades mecânicas de células vivas

Os pesquisadores e estudantes de pós-graduação envolvidos neste projeto são: Lucas Barreto (PPG-MFA-UFRJ), Mateus Borges (PPG-Física-UFRJ), Juliana Soares (PPG-Biofísica-UFRJ), Douglas Freitas (PPG-MFA-UFRJ), Fran Gómez (Posdoc-UFRJ), Ubirajara Agero (UFMG), Nágila Damasceno (USP), Bruno Pontes (UFRJ), Kainã Diniz (PPG-Física-UFRJ), Arthur Luna (PPG-Física-UFRJ), Fran Gómez (Posdoc-UFRJ), Bruno Pontes (UFRJ), Diney Ether (UFRJ), Paulo Américo Maia Neto (UFRJ) e Nathan Viana (UFRJ).

Duas técnicas experimentais baseadas no pinçamento ótico são utilizadas no Laboratório de pinças óticas da UFRJ para caracterização de propriedades mecânicas de células: a extração de amarras e a reologia. Com a extração de amarras, associada à microscopia eletrônica de varredura, são determinadas a tensão superficial e a rigidez de flexão de membranas celulares. Com a reologia o módulo viscoelástico complexo da célula é determinado, sendo a parte real do mesmo relacionada com o armazenamento e a parte imaginária com a dissipação de energia, quando a célula é deformada.

Propriedades mecânicas de eritrócitos de pacientes humanos com anemia falciforme

Estima-se que aproximadamente 300.000 crianças por ano nasçam com anemia falciforme no mundo. Indivíduos com a doença são homozigotos para o gene que codifica a proteína hemoglobina S (substituta da hemoglobina A de indivíduos sadios). Tanto a hemoglobina A quanto a hemoglobina S são capazes de se ligar ao oxigênio, entretanto, a desoxigenação das hemoglobinas S no interior das hemácias leva à polimerização das mesmas em filamentos e isso tem como consequência a formação de um eritrócito com formato falciforme. Estudos recentes levaram a criação de um fármaco (GBT440 ou Voxelotor) capaz de modificar a afinidade entre a proteína hemoglobina e o oxigênio. Estudos in vitro demonstraram que GBT440 foi capaz de reduzir drasticamente o aspecto de foice das hemácias de pacientes falciformes. Utilizamos a técnica de reologia de células na caracterização de propriedades mecânicas de glóbulos vermelhos de pacientes acometidos com anemia falciforme com o objetivo de avaliar futuramente efeitos de intervenções farmacológicas sobre essas células. Resultados preliminares indicam um enrijecimento da membrana de eritrócitos falciformes, que apresentam módulos de elasticidade entre 5 e 10 vezes maiores que células sadias (Figura r1). Eritrócitos falciformes também apresentam comportamento viscoelástico tipo sólido, $\alpha \approx 0,35$, (para um sólido $\alpha = 0$ e para um líquido $\alpha = 1$).

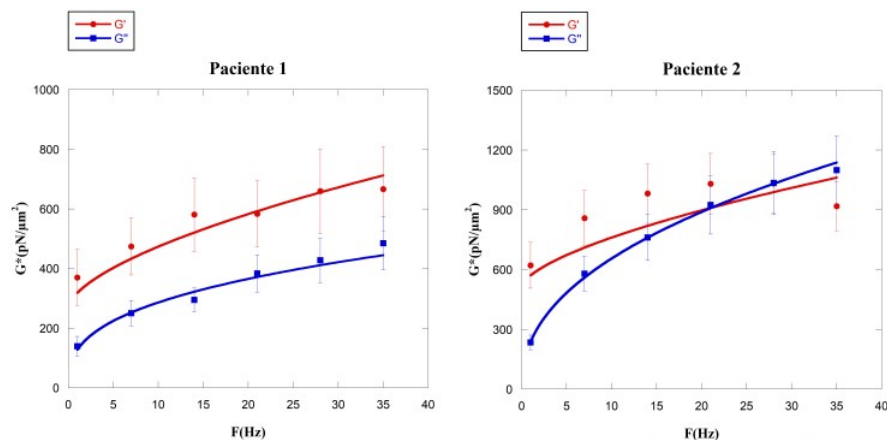


Figura r1: Módulo viscoelástico complexo (G^*) em função da frequência de deformação (F) de eritrócitos de dois pacientes acometidos com anemia falciforme. G' é o módulo elástico e G'' é o módulo viscoso.

Propriedades mecânicas de eritrócitos de ratos submetidos a dietas cetogênicas

Amostras de sangue de ratos tratados com diferentes dietas com objetivo de avaliar efeitos nas propriedades mecânicas nos eritrócitos foram coletados em São Paulo, sob supervisão da professora Nágila Damasceno e transportadas ao Rio de Janeiro para análise. Condições controle e de dieta rica em ácidos graxos para modelo de epilepsia foram avaliadas. Os resultados experimentais encontram-se em análise.

Aplicações em microscopia ótica

Os pesquisadores e estudantes de pós-graduação envolvidos neste projeto são: Mateus Borges (PPG-Física-UFRJ), Kainã Diniz (PPG-Física-UFRJ), Arthur Luna (PPG-Física-UFRJ), Fran Gómez (Posdoc-UFRJ), Bruno Pontes (UFRJ), Diney Ether (UFRJ), Paulo Américo Maia Neto (UFRJ) e Nathan Viana (UFRJ).

Em um trabalho recente grupo [F. Gómez et al., *Physical Review Applied*, v. 15, p. 064012, (2021)] estudamos os princípios físicos da formação de imagens de uma microesfera dielétrica num microscópio óptico (Figura r2).

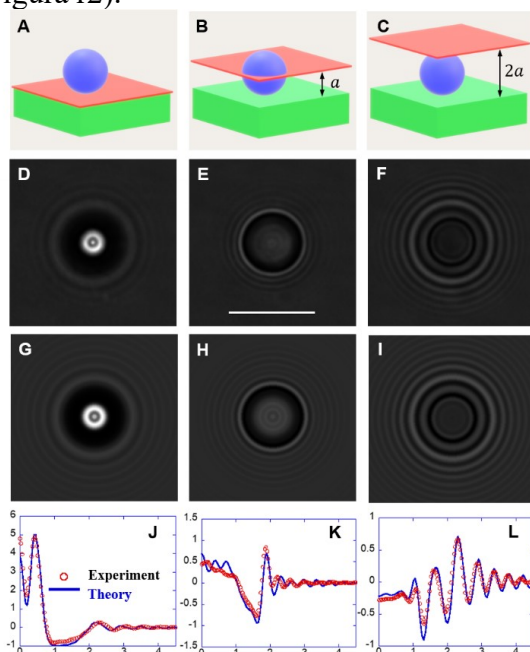


Figura r2: Imagens obtidas de acordo com mudanças do plano focal indicadas nos painéis A, B e C. D-F: imagens reais. G-I: imagens simuladas.

Propomos utilizar a imagem como sensor de posição para deslocamentos da esfera ao longo do eixo óptico do microscópio. Resultados preliminares indicam uma sensibilidade de 5 nanômetros nas medidas da posição axial. Testes estão sendo feitos como caracterização das flutuações Brownianas de uma esfera aprisionada em função da potência do laser aprisionador e da altura da esfera em relação à interface vidro-água da amostra. Resultados preliminares utilizando uma objetiva de imersão em água indicam um bom acordo entre resultados para constante elástica axial da pinça óptica e a teoria MD de pinças óticas.

Interações coloidais

Graças a diversas técnicas e ao uso de novos equipamentos, tais como a objetiva de imersão em água adquirida com recursos do INCT-FCx, nosso sistema de medida de interações coloidais entre microesferas dielétricas em água atingiu a sensibilidade na escala do femtonewton. Com isto, foi possível medir, de forma inédita, a interação de Casimir no intervalo de distâncias acima de 200 nanômetros. Tais medidas, publicadas no ano passado, revelaram a presença de uma nova contribuição à interação de Casimir em meios salinos, tornando o alcance da interação mais longo do que previsto na literatura. Desdobramentos e aplicações desta descoberta em biologia molecular (bundles de actina) estão sendo analisados atualmente, em colaboração com a pesquisadora Anne-Florence Bitbol, especialista em biologia computacional e professora da EPFL (Suíça).

Os resultados a seguir foram obtidos pelo Prof. Cristiano Oliveira, colaboradores e alunos (s-u)

s) Estudos de Nanopartículas metálicas ultrapequenas

Em uma colaboração grupo do Prof. Matthias Epple da Universidade Duisburg-Essen na Alemanha. Neste projeto são desenvolvidas metodologias de síntese de nanopartículas de ouro ultrapequenas (<2nm de diâmetro), sua funcionalização e ligações destas partículas com sistemas proteicos, formando estruturas híbridas. Novas rotas de sínteses para partículas ultrapequenas de compostas de vários tipos de metais foram realizadas pelo grupo alemão, e enviadas ao Brasil por correio para análises por SAXS. Possuímos uma central multiusuário de SAXS (EMUSAXS) permitindo a aquisição de dados de alta qualidade, bem como análises avançadas.

As amostras sintetizadas pelo grupo alemão e enviadas ao Brasil são mostras na **Tabela s1**.

Tabela s1 – Amostras investigadas

No	usNPs
1	Ru-GSH
2	Rh-GSH
3	Pd-GSH
4	Os-GSH
5	Ir-GSH
6	Pt-GSH
7	Ag-GSH
8	Au-GSH
9	Au-TioDox
10	AgPt 5050 GSH

Síntese:

- 1-7 usNPs funcionalizadas com glutatinoxina (GSH), sintetizadas por Oliver Wetzel
- 8 usNPs funcionalizadas com glutatinoxina (GSH), sintetizadas por Kai Klein
- 9 usNPs funcionalizadas com tiopronina (Tio) e doxorubicina (Dox), sintetizadas por Benedikt Kruse
- 10 usNPs funcionalizadas com glutatinoxina (GSH), sintetizadas por Benedikt Kruse

Um modelo foi proposto para o ajuste dos dados de SAXS. Nestes casos um sistema polidisperso de esferas foi assumido, com dois possíveis fatores de estrutura, interações de esfera rígida e agregados tipo Guinier.

$$I(q) = Sc \langle P(R, \sigma) \rangle S(q, \eta, R_{HS})_{HS} S(q, Sc_{Gui}, Rg_{Gui})_{Gui} + Back \quad (1)$$

Onde Sc e Back são, respectivamente, um fator de forma geral e um fator constante de *background*, R é o tamanho médio da partícula e σ a polidispersidade. Uma distribuição tipo Shulz-Zimm foi usada para a distribuição de partículas. η e R_{HS} são a fração de volume de esferas rígidas e o raio de interação de esferas rígidas, respectivamente. Sc_{Gui} Rg_{Gui} são o fator de escala da contribuição do agregado tipo Guinier e seu respectivo raio de giração. Estes fatores de

estrutura foram incluídos quando necessário. Expressões para os fatores de forma e estrutura são mostrados em artigos publicados anteriormente.

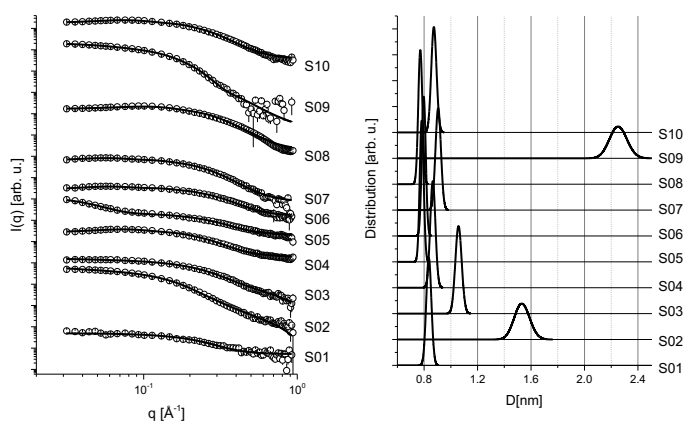


Figura s1 – Modelagem de dados experimentais. Esquerda: dados experimentais (símbolos) e ajuste do modelo (linhas sólidas). Direita: distribuições de números de partículas obtidas. As curvas foram deslocadas para facilitar a visualização.

O modelo proposto fornece bons ajustes para os dados de SAXS. Como mostrado na **Tabela s22**, os dados de SAXS indicam a formação de partículas ultra-pequenas (USNP) em todos os casos. Para as amostras 2 e 9 os tamanhos obtidos são ligeiramente maiores (7Å e 11Å respectivamente) que as outras amostras, que variaram de 4Å a 5Å. A modelagem também forneceu o grau de polidispersidade.

Tabela s2 – Parâmetros estruturais obtidos pelo ajuste do modelo

No	usNPs	R [Å]	Sig [Å]	eta	Rhs [Å]	SCGui	RGGui [Å]
1	Ru-GSH	4(1)	2.3(1)	---	---	---	---
2	Rh-GSH	7(2)	3.8(2)	---	---	---	---
3	Pd-GSH	5(2)	2.2(4)	---	---	---	---
4	Os-GSH	4(2)	2.2(2)	0.06(1)	35(2)	---	---
5	Ir-GSH	4(1)	2.4(4)	---	---	6.0(4)	42(1)
6	Pt-GSH	4(2)	1.9(3)	0.05(1)	46(4)	---	---
7	Ag-GSH	5(1)	2.2(2)	0.05(1)	47(2)	---	---
8	Au-GSH	4(2)	2.0(2)	0.05(1)	23(2)	---	---
9	Au-TioDox	11(2)	2.9(1)	---	---	13.17(4)	28.8(5)
10	AgPt_5050_GSH	4(2)	2.2(2)	0.056(9)	35(2)	---	---

Da análise realizada obtivemos o tamanho médio de partículas, polidispersidade e efeitos de interação, seja por repulsão ou pela formação de pequenos agregados. Estes resultados demonstram bem-sucedidas vias de síntese destas partículas ultrapequenas e processos de funcionalização das mesmas está em processo pelo grupo alemão, de modo a permitir a formação

de ligações covalentes com macromoléculas biológicas, da mesma forma que já foi obtida em casos anteriores.

t) Modelagem avançada de estruturas de cristais líquidos

De modo a poder obter informações estruturais detalhadas para sistemas compostos de cristais líquidos liotrópicos, desenvolvemos modelos teóricos para análise de dados de espalhamento/difração destes sistemas, combinando informações sobre a forma das partículas (fatores de forma) e auto-organização (fator de estrutura). Da análise de dados para sistemas bastante diluídos, pudemos demonstrar que o sistema era composto de partículas com forma elipsoidal tipo core-shell com tamanhos bem determinados pelos dados de SAXS, como indicado na Figura t1 e Tabela t1.

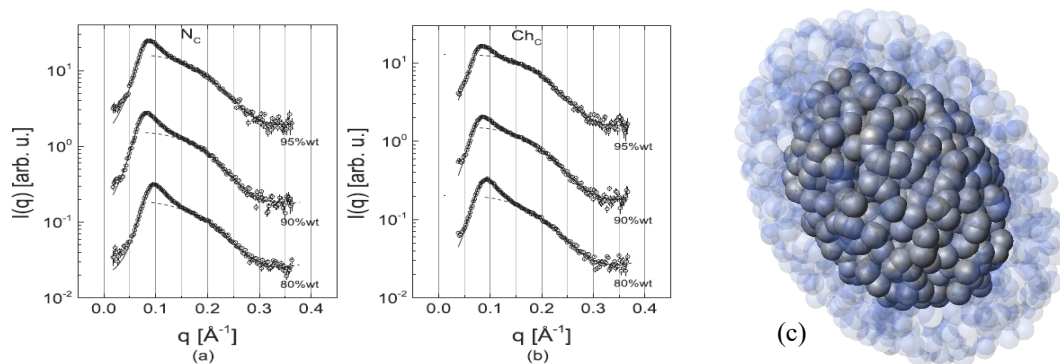


Figura t1 - Dados de SAXS para sistemas de cristais líquidos. (a) e (b) dados para sistemas diluídos nas fases nemáticas MC e Colestérica ChC. Símbolos: dados experimentais; linhas contínuas: ajuste do modelo completo; linhas tracejadas: ajuste do fator de forma. (c) modelo indicativo da forma da micela obtida.

Tabela t1 – Dados obtidos para o fator de forma composto de elipsoides core-shell. R₁ é o raio transversal da micela, t a espessura da camada externa e ε a anisotropia.

Parameters (Å)	N _c	Ch _c
R ₁	13.1(1)	13.1(1)
t	6.4(2)	6.3(1)
ε	1.5(1)	1.5(1)

A informação do fator de forma é crucial para a modelagem dos dados orientados pois permite o uso apropriado das equações. Com isso obtivemos a modelagem dos dados de espalhamento anisotrópico e modelagem dos cortes por setores, como indicado na Figura t2 e Tabela t2.

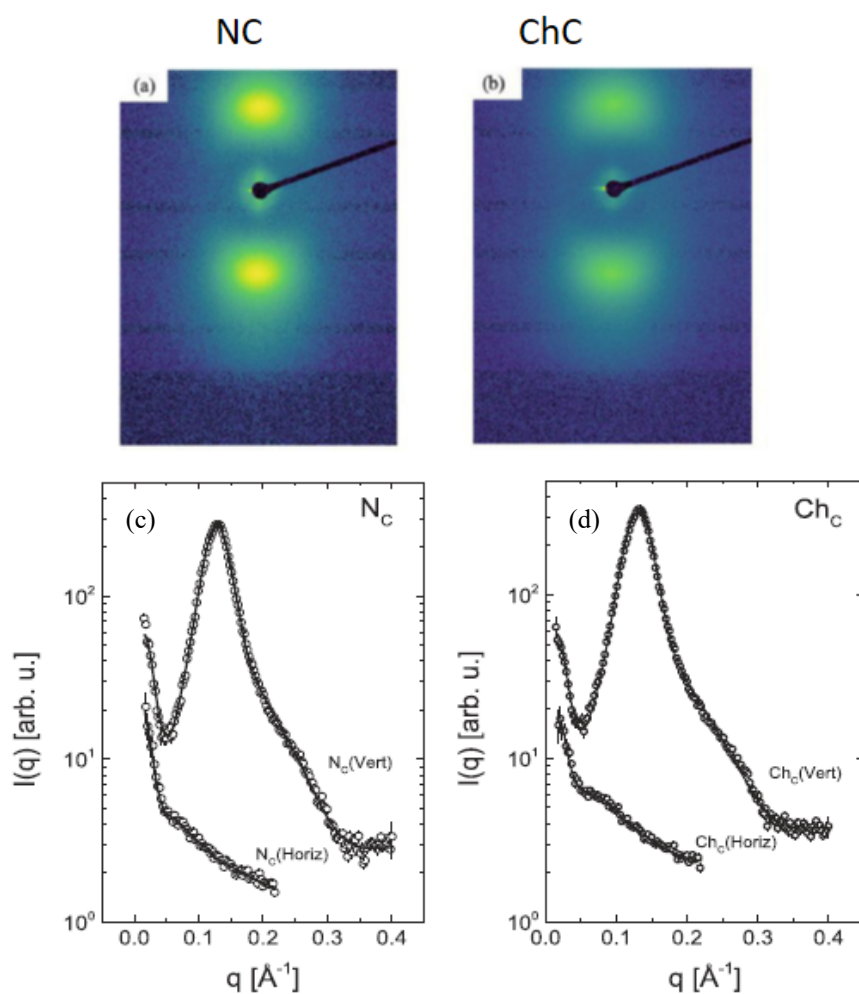


Figura t2 - Dados 2D de SAXS e modelagem para cortes setoriais para sistemas de cristais líquidos orientados por campo magnético. (a) sistema NC e (b) ChC mostram as imagens 2D anisotrópicas obtidas. (c) e (d) mostram os cortes de setores verticais e horizontais nestas imagens (símbolos) com os respectivos ajustes (linhas sólidas).

Tabela 4 – Parâmetros experimentais obtidos para cortes setoriais verticais e horizontais. a é o parâmetro de rede da fase lamelar e D o tamanho da fase lamelar. $\langle P2 \rangle$ e $\langle P4 \rangle$ são os parâmetros de ordem obtidos da análise de dados.

Parameters (Å)	N_C	Ch_C
R_1	13.0(2)	13.0(2)
t	6.0(3)	6.0(3)
ϵ	1.5(1)	1.5(1)
a	46.0(2)	45.2(2)
D	195(1)	204(1)
$\langle P2 \rangle$	0.8133(6)	0.747(2)
$\langle P4 \rangle$	-0.019(3)	-0.093(5)

u) Sistemas de aglomerados gigantes ‘nanoflowers’

A Profa. Kinnari Parekh, colaboradora internacional (Índia) de nosso grupo, esteve no final de 2022 fazendo uma missão internacional no IFUSP. Neste período realizou diversas sínteses de nanossistemas, em particular aglomerados que ela denominou ‘nanoflowers’. Uma imagem de TEM desses sistemas é mostrado na Fig. u1.

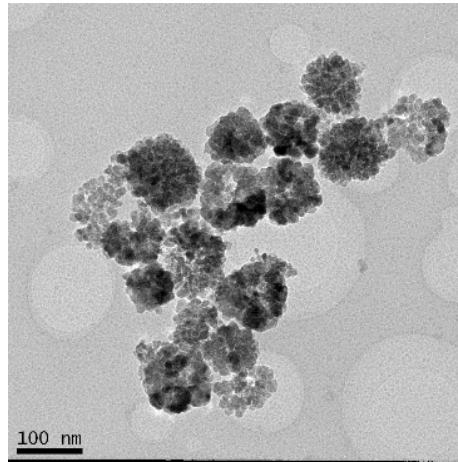


Figura u1 – Imagem de TEM para sistemas compostos de ‘nanoflowers’.

Estas ‘nanoflowers’ possuem tamanhos típicos entre 150nm e 250nm e medidas de espalhamento de raios X deste tipo de estrutura se localizam na região de USAXS (Ultra-Small-Angle X-ray Scattering). Na central multiusuário que criamos no IFUSP (EMUSAXS) nosso equipamento permite medidas nesta configuração e deste modo realizamos experimentos para a série de amostras sintetizadas.

Com base na imagem de TEM, um modelo tentativo para modelagem dos dados de USAXS/SAXS para as ‘nanoflowers’ é composto de uma partícula esférica grande com componentes internos. Pela análise de diversos dados obtidos o melhor modelo que descreveu os dados é

$$I(q) = Sc_1 I_{CS}(q) S_{HS}(q) + Sc_2 I_{sph}(q) + Sc_3 I_{pol}(q) \quad (2)$$

Neste modelo, Sc_i são fatores de escala de cada termo, $I_{CS}(q)$ é a intensidade de espalhamento da esfera core-shell que compoe toda a ‘nanoflower’, com raio R_{CS} , polidispersidade σ_{CS} , espessura da casca T e contraste relativo da camada externa RHO . A contribuição das esferas pequenos que compoem a parte interna das nanoflowers é dada por $I_{sph}(q)$ que é a intensidade das esferas polidispersas sólidas com raio R_s e polidispersidade σ_s . A contribuição tipo polímero $I_{pol}(q)$ é dada pela formula de Debye para espalhamento por cadeias Gaussianas, com raio de giro R_{Gpol} . A análise dos dados também indicou a presença de interações repulsivas entre as partículas, que gera

uma diminuição da intensidade a baixos ângulos. No modelo isso foi incluído pelo uso de um fator de estrutura de esferas rígidas $S_{HS}(q)$, no qual tem-se a fração de volume das partículas como η_{HS} e um raio de esfera rígida efetivo R_{HS} . Uma representação tentativa para o modelo é mostrada na Figura u2.

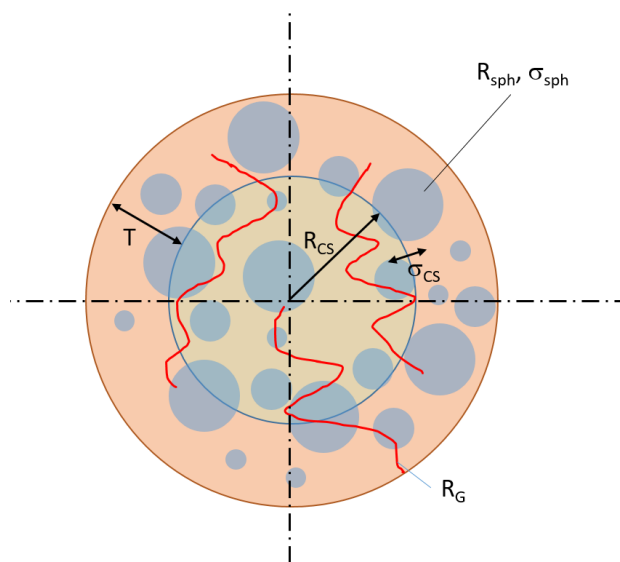


Figura u2 – Representação tentativa do modelo utilizado

Os ajustes obtidos com este modelo são mostrados na Figura u3. Devido ao tamanho das partículas investigadas, efeitos experimentais de borrimento (*smearing*) devido ao tamanho do feixe tiveram que ser considerados, e isso explica as duas curvas vistas na figura.

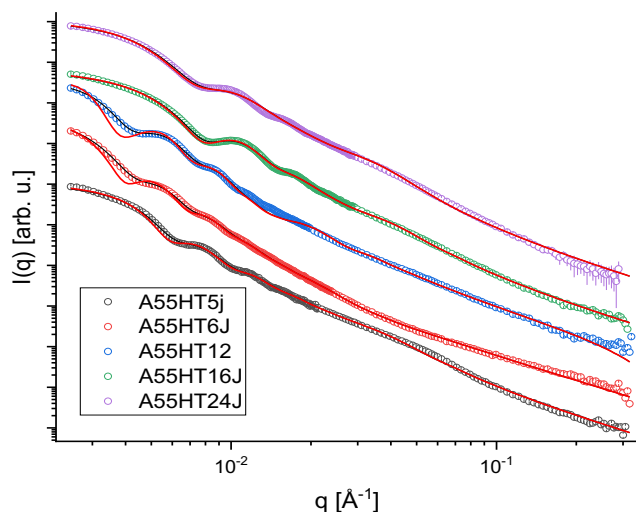


Figura u3 – Dados de USAXS/SAXS (símbolos) e ajuste teórico (linhas sólidas) para as várias amostras de ‘nanoflowers’

Os parâmetros experimentais obtidos são mostrados na Tabela u1. Para comparação, duas linhas foram adicionadas indicando os parâmetros obtidos por TEM. Como observado, os resultados estão em ótima concordância.

Tabela u1 – Parâmetros obtidos pela modelagem dos dados.

Parâmetros	Amostra				
	A55HT5j	A55HT6J	A55HT12	A55HT16J	A55HT24J
R_{CS} [Å]	500(8)	683(6)	614(8)	279(3)	292(4)
T [Å]	200(7)	395(3)	429(5)	201(3)	216(3)
σ_{CS} [Å]	73(2)	84(1)	83(4)	48(7)	58(1)
RHO	0.81(1)	0.94(1)	0.54(2)	0.57(6)	0.40(2)
η_{HS}	0.18(1)	0.15(1)	0.26(2)	0.040(2)	0.064(1)
R_{HS}	525(1)	780(7)	1040(40)	333(11)	500(20)
R_{sph} [Å]	~35	~35	~35	~35	~35
σ_{sph} [Å]	~17	~17	~17	~17	~17
R_G [Å]	~120	~120	~150	~150	~150
Size [nm]	140(2)	216(1)	209(2)	96(1)	102(1)
Size_{TEM} [nm]	162(1)	215(3)	228(7)	107(10)	116(10)

Estes resultados foram obtidos pelo Prof. Mario Tamashiro, seus colegas e colaboradores.

v) Transições de fase em monocamadas fosfolipídicas

O modelo DLG (*Doniach lattice gas*) representa um modelo estatístico simplificado para descrever transições de fase em monocamadas fosfolipídicas e em filmes de Langmuir de sistemas modelo constituídos de um único tipo de molécula anfifílica. Um resultado interessante deste modelo, obtido de forma inesperada tanto na aproximação de campo médio, bem como na aproximação de pares numa rede de Bethe bipartida, é a ocorrência de uma fase alternada (Stg), conforme ilustrado na Figura v1.

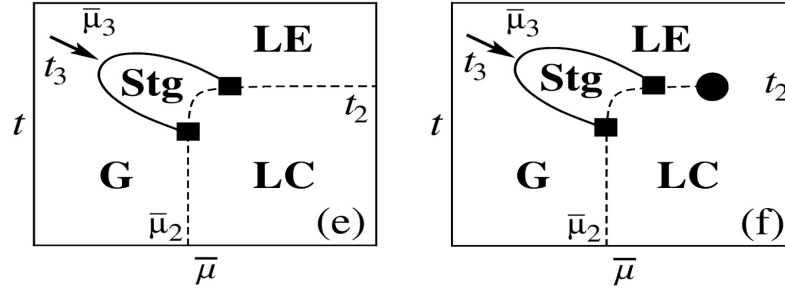


Figura v1: Diagramas de fases típicos para as topologias que apresentam uma fase alternada (Stg), no plano temperatura adimensional t x potencial químico adimensional μ , previstos pelo modelo DLG na aproximação de campo médio e na aproximação de pares numa rede de Bethe bipartida para os parâmetros $h=0$ e $w=4 \times 10^4$. Os pontos especiais dos diagramas de fases são representados por símbolos sólidos: ponto crítico (I) e ponto crítico terminal (\square). As linhas tracejadas representam linhas de transições descontínuas (de primeira ordem) entre as fases líquido-expandido (LE), líquido-condensado (LC) e gás (G). As linhas contínuas representam linhas de transições contínuas (de segunda ordem) entre a fase alternada (Stg: *staggered*) e as outras fases. Figura adaptada de *Phys. Rev. E* **99**, 012147 (2019).

Estas topologias especiais ocorrem em regiões do diagrama $k \times l$ (associados a parâmetros do hamiltoniano do modelo DLG) de estados/topologias do modelo que foram denominadas regiões (e) e (f), conforme apresentado na Figura v2. Nesta Figura há também uma comparação das fronteiras estimadas entre as regiões para várias aproximações (campo médio e aproximação de pares na rede de Bethe e no cacto de Husimi).

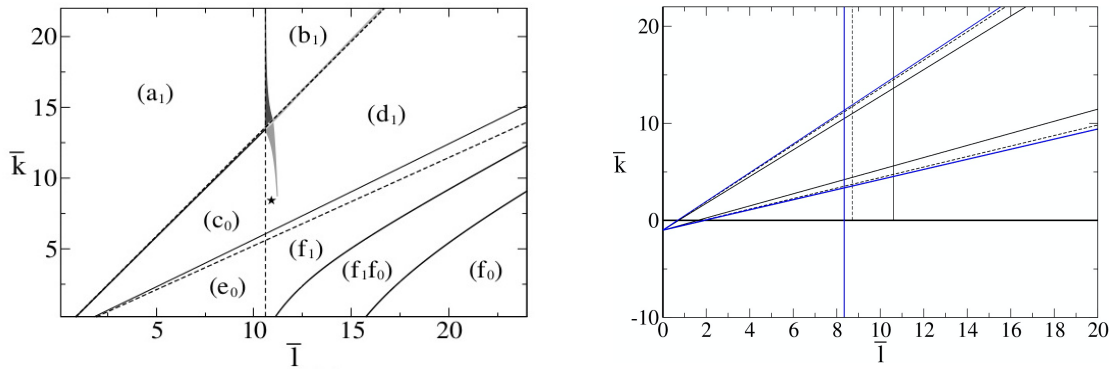


Figura v2: Comparação dos diagramas $k \times l$ de topologias dos diagramas de fase do modelo DLG na aproximação de campo médio (esquerda) e na aproximação de pares para uma rede de Bethe bipartida e para o cacto de Husimi tripartido (direita) para os parâmetros $h=0$ e $w=4 \times 10^4$. Na figura à esquerda (campo médio) as linhas tracejadas são obtidas a partir de modelos de Ising assintóticos. As linhas sólidas, bem como as fronteiras das regiões sombreadas, representam as reais fronteiras de cada sub-região (não investigadas aqui). O símbolo (H) indica os parâmetros de campo médio associados ao ajuste teórico de dados experimentais do DMPC para a pressão lateral de coexistência. Na figura à direita, as retas tracejadas assintóticas da figura à esquerda são substituídas por linhas sólidas (campo médio). As retas tracejadas e azuis representam, respectivamente, os resultados correspondentes para a aproximação de pares numa rede de Bethe bipartida e no cacto de Husimi tripartido.

No entanto, o ordenamento hexagonal da fase LC observado experimentalmente a baixas temperaturas corresponderia a uma rede subjacente triangular ($z=6$), tornando inadequada a análise teórica numa rede bipartida, conforme efetuado anteriormente na rede de Bethe, sendo necessário introduzir uma rede tripartida. Desta forma, investigamos o modelo DLG na aproximação de pares na estrutura hierárquica denominada cacto de Husimi (Figura v3), cuja geometria subjacente tripartida é mais adequada a descrever a rede triangular associada à fase ordenada.

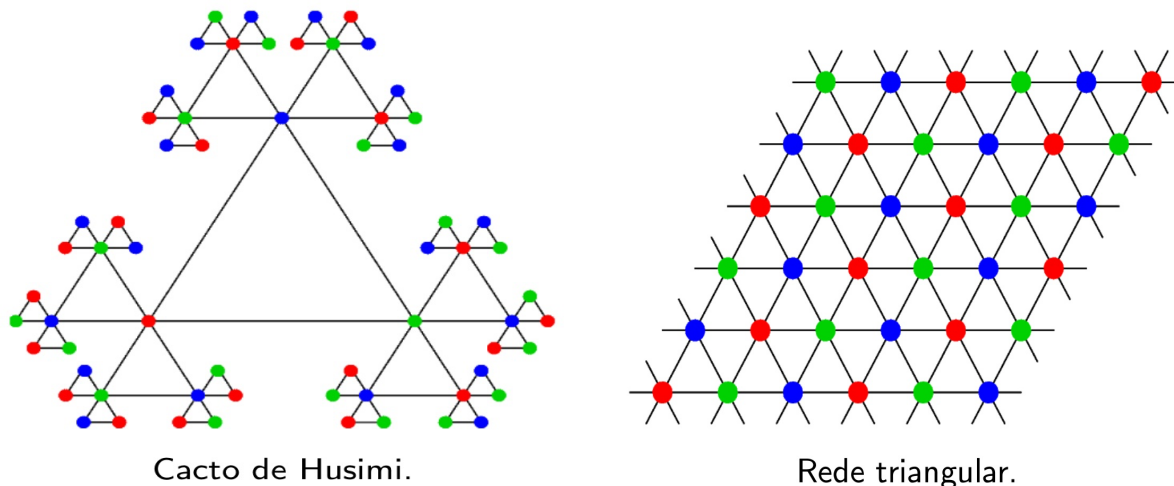


Figura v3: Cacto de Husimi (tripartido) e rede triangular, ambos de coordenação local $z=6$. As redes podem ser subdivididas em três sub-redes interpenetrantes, representadas pelos sítios em cores distintas (vermelho, verde e azul).

Cálculos preliminares extensos, que não iremos apresentar explicitamente por serem extremamente técnicos e complexos, apontam a ocorrência da fase Stg nas regiões (e) e (f) do diagrama $k \times l$, que pode se separar em duas “bolhas” nos diagramas de fases $t/z \times \mu/z$, conforme ilustra a evolução dos diagramas de fases (Figura v4) ao se variar os parâmetros k e l no interior das regiões (e) e (f). Esta separação da bolha única presente em redes bipartidas (campo médio e rede de Bethe) em duas bolhas distintas representa uma consequência das interações efetivas na rede tripartida.

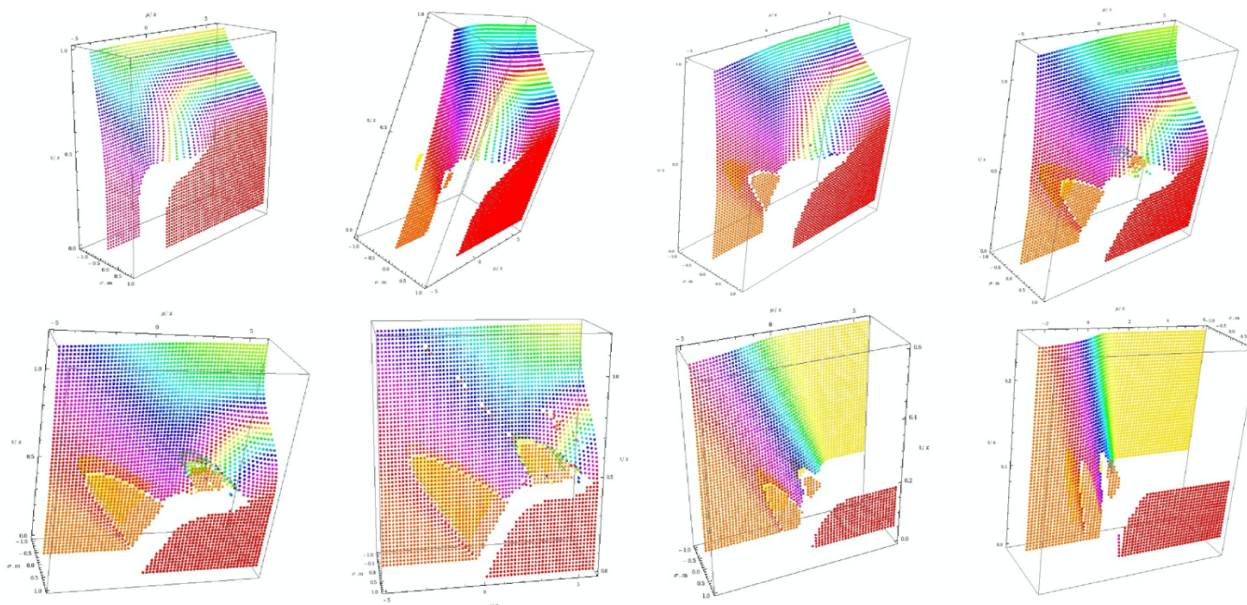


Figura v4: Evolução dos diagramas de fases para as topologias que apresentam uma fase alternada (Stg), no plano temperatura adimensional t/z x potencial químico adimensional μ/z , previstos pelo modelo DLG na aproximação de pares no cacto de Husimi tripartido para os parâmetros $h=0$ e $w=4 \times 10^4$. A terceira dimensão dos diagramas corresponde ao produto dos parâmetros de ordem $m\sigma$, onde m é o parâmetro de ordem das caudas lipídicas (fase LE $\rightarrow -1$, fase G $\rightarrow 0$, fase LC $\rightarrow +1$) e $0 \leq \sigma \leq 1$ representa a densidade superficial de lipídios normalizada. A partir desta direção perpendicular aos diagramas de fase, podemos observar que a maioria das transições de fase são descontínuas, uma vez que $m\sigma$ apresentam saltos nas transições. As cores ao longo da superfície representam apenas um gradiente cromático de $m\sigma$ para permitir uma melhor visualização.

Estes resultados foram obtidos pelo grupo de pesquisadores da UFAL: Prof. Ítalo de Oliveira e Profa. Maria Socorro Pereira, seus colaboradores e estudantes.

w) Pontos quânticos de carbono como fotosensibilizadores

A contaminação da água com efluentes industriais contendo azocorantes tem sido uma preocupação constante da comunidade científica, uma vez que estes compostos orgânicos representam um risco à saúde humana e animal por suas características genotóxicas, mutagênicas e carcinogênicas. Em particular, os azocorantes são amplamente utilizados como pigmentos em diversas aplicações devido à sua grande estabilidade. Como consequência, vários esforços têm sido feitos para desenvolver estratégias que reduzam o impacto ambiental destes materiais, com ênfase no menor custo e no reaproveitamento dos materiais usados. Recentemente, vários trabalhos têm mostrado que é possível produzir nanomateriais por meio do processo de síntese hidrotérmica usando biomassa como material precursor. Dentro deste contexto, o núcleo da UFAL vem usando azocorantes como precursores na síntese de pontos quânticos, visando especificamente a produção de sondas fluorescentes e de sensibilizadores para terapia fotodinâmica, assim como o desenvolvimento de dispositivos fotônicos baseados em compósitos

de cristais líquidos e pontos quânticos de carbono. Em particular, tem sido usado o método de síntese hidrotérmica, onde o material precursor disperso em água é submetido a altas temperaturas numa autoclave. O material obtido foi devidamente isolado após centrifugação e filtragem, sendo subsequentemente caracterizado por meio de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HR-TEM), FTIR (Fourier Transform Infra-Red), espectroscopia por fotoelétrons por raios X (XPS) e espectroscopia UV-Vis.

Uma vez caracterizadas as propriedades fotoluminescentes das nanopartículas, foi realizada a investigação da geração de oxigênio reativo por parte das nanopartículas sob fotoexcitação. Mais especificamente será usado o composto 1,3-difenil-isobenzofurano (DPBF) como sonda de oxigênio singleto. Este composto apresenta uma banda de absorção característica, centrada em 415 nm, que é usada para identificar a decomposição deste composto ao reagir com o oxigênio singleto gerado por fotossensibilizadores. Um dos objetivos foi exatamente identificar pontos quânticos de carbono capazes de gerar oxigênio singleto de maneira eficiente, permitindo a utilização destes nanomateriais como agentes antimicrobianos. A partir disso, foram realizados testes de suscetibilidade Kirby-Bauer, também conhecidos como testes de difusão em disco. Neste teste, os discos de papel foram impregnados com pontos quânticos de carbono e subsequentemente colocados em placas de Petri contendo o meio de cultura e o microrganismo uniformemente distribuído. Os discos foram então colocados na superfície do meio de cultura, permitindo a difusão das nanopartículas. Há assim um gradiente de concentração de nanopartículas em torno do disco de papel. Visando a aplicação dos pontos quânticos de carbono em terapia fotodinâmica antimicrobiana, o conjunto de placas foi iluminado num comprimento de onda adequado para a geração de oxigênio reativo. Após um período de incubação de 48h, foi então verificada a formação de discos de inibição, indicando a ação antimicrobiana das nanopartículas sob fotoexcitação. Os testes suscetibilidade Kirby-Bauer foram conduzidos no Laboratório de Diversidade Molecular do ICBS-UFAL, coordenado pela profa. Melissa Landel. Estão previstos testes em fungos filamentosos, em bactérias Gram-Positivas e bactérias Gram-Negativas. A figura abaixo mostra um resultado preliminar para um teste de Kirby-Bauer em uma cepa da bactéria *Staphylococcus aureus*, usando um ponto quântico de carbono sintetizado no Laboratório de Líquidos Anisotrópicos e Polímeros. Nas placas de Petri incubadas sob fotoexcitação em 532 nm, foi possível observar um halo de inibição do crescimento da bactéria em torno do disco onde os pontos quânticos de carbono foram inoculados (Fig. w1).

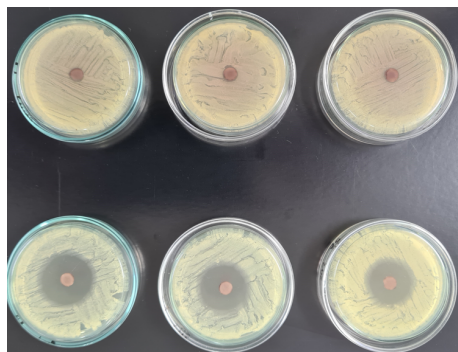


Figura w1– Linha superior: teste em triplicata da ação dos pontos quânticos de carbono sob *Staphylococcus Aureus*, sem iluminação externa. Nota-se que não há inibição do crescimento das bactérias em torno do disco. Linha inferior: teste em triplicata da ação dos pontos quânticos de carbono sob *Staphylococcus Aureus*, sob iluminação externa em 532 nm. Note a formação dos halos de inibição em torno do disco.

x) Simulações de Cristais Líquidos Quirais Ativos por meio de Dinâmica Molecular

Outro problema que o grupo da UFAL tem investigado diz respeito a simulações de dinâmica molecular de amostras nemáticas quirais e não quirais. O estudo tem sido realizado em colaboração do professor Leonid V. Mirantsev da Academia de Ciências Russa. Nessa modelagem, os cristais líquidos nemáticos quirais e não quirais são ativos e estão confinados a uma região nanoscópica bidimensional em forma de anel sob condições de contorno de ancoragem radial e tangencial. Esses cristais líquidos nemáticos ativos são compostos de partículas alongadas que interagem umas com as outras através de potenciais isotrópicos de Lennard-Jones e anisotrópicos de Maier-Saupe. Além disso, o apêndice terminal da partícula não quiral emite um jato de alguma substância gerada por uma certa reação química interna, enquanto as partículas quirais têm uma lateral análoga. Como resultado, as partículas não quirais são expostas a uma força autopropelida reativa adicional dirigida ao longo seus eixos longos e as partículas quirais são expostas tanto à força reativa de autopropulsão quanto ao torque que fornece uma translação adicional movimento das partículas e uma auto-rotação em relação aos seus centros geométricos. Os cristais líquidos nemáticos ativos não quirais apresentam uma ordem orientacional semelhante àquela formada pelas passivas (sem a força autopropulsora) dentro a mesma região em forma de anel. Em contraste, os nemáticos quirais exibem ordens orientacionais significativamente diferentes daquelas observadas pelos nos sistemas passivos. Verificamos ainda que a ordem de orientação dentro da região em forma de anel sofre alterações substanciais quando a quiralidade das partículas nemáticas ativas é forte o suficiente (Fig. 1x).

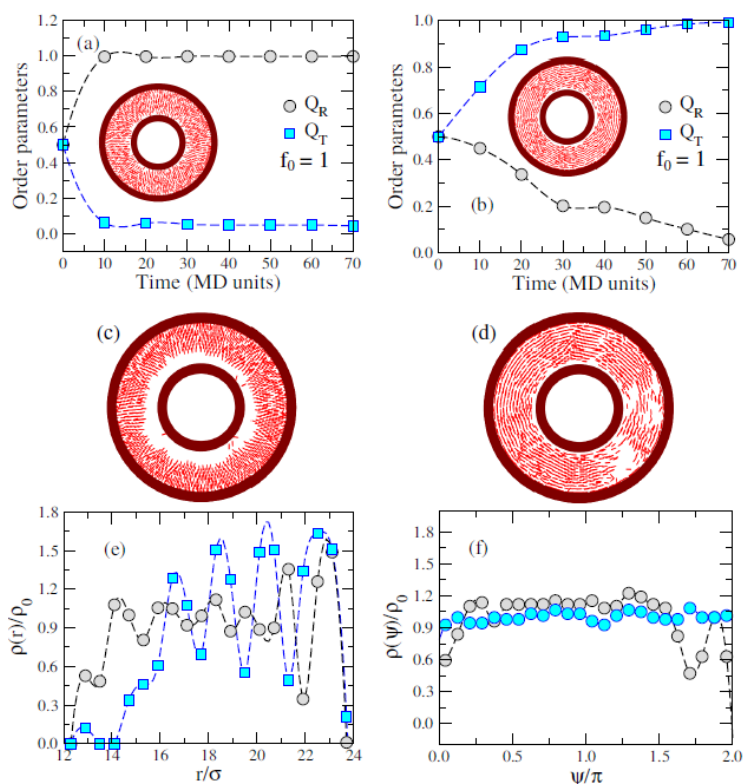


Figura 1x– Evolução temporal dos parâmetros de ordem radial e tangencial, Q_R e Q_T , para cristais líquidos nemáticos ativos não quirais sob condições de ancoragem (a) radial e (b) tangencial. Em ambos os casos, assume-se uma força de autopropulsão moderada, $f_0 = 1$. As inserções mostram as configurações de estado estacionário de partículas alongadas não quirais ativas para cada âncora condição de funcionamento. Configurações finais de estado estacionário de moléculas alongadas não quirais ativas apresentando uma forte autopropulsão ($f_0 = 10$), confinado em cavidades em forma de anel com diferentes condições de ancoragem: (c) radial e (d) condições de contorno tangencial. (e) Perfil radial da densidade partículas nemáticas ativas não quirais dentro da região em forma de anel sob condições de contorno de ancoragem radial. Diferentes intensidades para a força automotora foram considerados: autopropulsão moderada, $f_0 = 1$ (círculos cinza); e forte autopropulsão, $f_0 = 10$ (quadrados azuis). ρ_0 é a densidade média dentro da região em forma de anel. (f) Perfis azimutais para a densidade para partículas nemáticas ativas não quirais dentro da região em forma de anel sob condições de contorno tangencial, para $f_0 = 1$ (círculos cinza) e $f_0 = 10$ (quadrados azuis).

A profa. Luciana de Oliveira Andrade, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados.

y) Culturas celulares 3D em nanofibras de acetato de celulose: aplicações em biotecnologia

A engenharia de tecidos fez avanços significativos nas últimas décadas, devido a crescente demanda de substitutos biológicos. Meu grupo vem investindo esforços nessa área, através de culturas 3D em nanofibras de acetato de celulose (NAC) como substrato para crescimento e diferenciação celular. As NAC mostraram ser excelentes *scaffolds* devido à biocompatibilidade,

baixo custo e alta capacidade de colonização por diferentes células. Nesse sentido, vimos focando no desenvolvimento de culturas 3D musculares, como substitutos biológicos, tanto em medicina regenerativa, quanto para a indústria alimentícia. No primeiro caso, devido a degeneração do tecido muscular cardíaco decorrente de doenças cardiovasculares. No segundo, para o desenvolvimento de carne cultivada, dado o aumento da demanda por proteína animal, bem-estar animal e impacto ambiental causado pela pecuária extensiva. Apesar dos avanços, principalmente no mercado de carne cultivada, os substitutos musculares atuais apresentam custo elevado e, muitas vezes, não possuem a arquitetura, complexidade e nível de diferenciação do músculo nativo. Dados prévios do nosso laboratório mostram que as NAC se apresentam como excelentes substratos para cultivo e diferenciação de células musculares cardíacas e esqueléticas, sem necessidade de utilização de meios de diferenciação. Adicionalmente, mostramos que a produção de tecidos espessos, pelo empilhamento de 4 folhas de NAC, contendo as células musculares, produz culturas viáveis, com manutenção da viabilidade celular mesmo nas camadas mais internas do tecido empilhado (Fig. y1).

Como esperado, essas culturas não chegam a diferenciação completa em cultura, necessitando de outros estímulos. Para tal, podem ser utilizados estímulos mecânicos ou elétricos. Sendo assim, desenvolvemos um dispositivo para estimulação elétrica das culturas em placas de 3cm (Fig. y2).

Paralelamente, com o intuito de melhorar o desenvolvimento de culturas musculares com foco na indústria alimentícia, temos desenvolvido um substrato híbrido feito de nanofibras de acetato de celulose e de micropartículas de alginato incorporados com óleo de canola. O objetivo do desenvolvimento deste substrato híbrido seria evitar a co-cultura de células musculares e adipócitos, a qual é tecnicamente desafiadora, uma vez que cada tipo de célula cresce e se diferencia em meios específicos. As micropartículas contendo óleo de canola vem sendo produzidas pela técnica de electrospray e a viabilidade das células na presença dessas microcápsulas vem sendo testadas usando o teste de MTT (Fig. y3). Mostramos que as microcápsulas não são citotóxicas para as células.

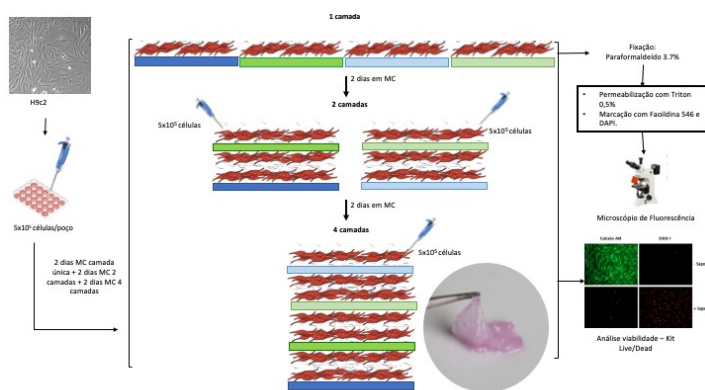


Figure v1: 5×10^5 cells forma plaqueadas na nanofibra (24-well plate). Depois de 2 dias em meio de crescimento, as nanofibras forma empilhadas e cultivadas por mais 2 dias. Após esse período, 2 nanofibras pré-empilhadas foram empilhadas uma sobre a outra, para formar uma estrutura de 4 folhas empilhadas, as quais forma mantidas por mais 2 dias em meio de crescimento. À direita são mostrados os painéis dia viabilidade celular das diferentes camadas.

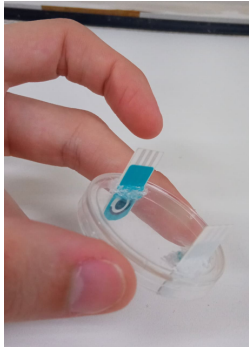


Figure v2: Dispositivo para estímulo elétrico das células.

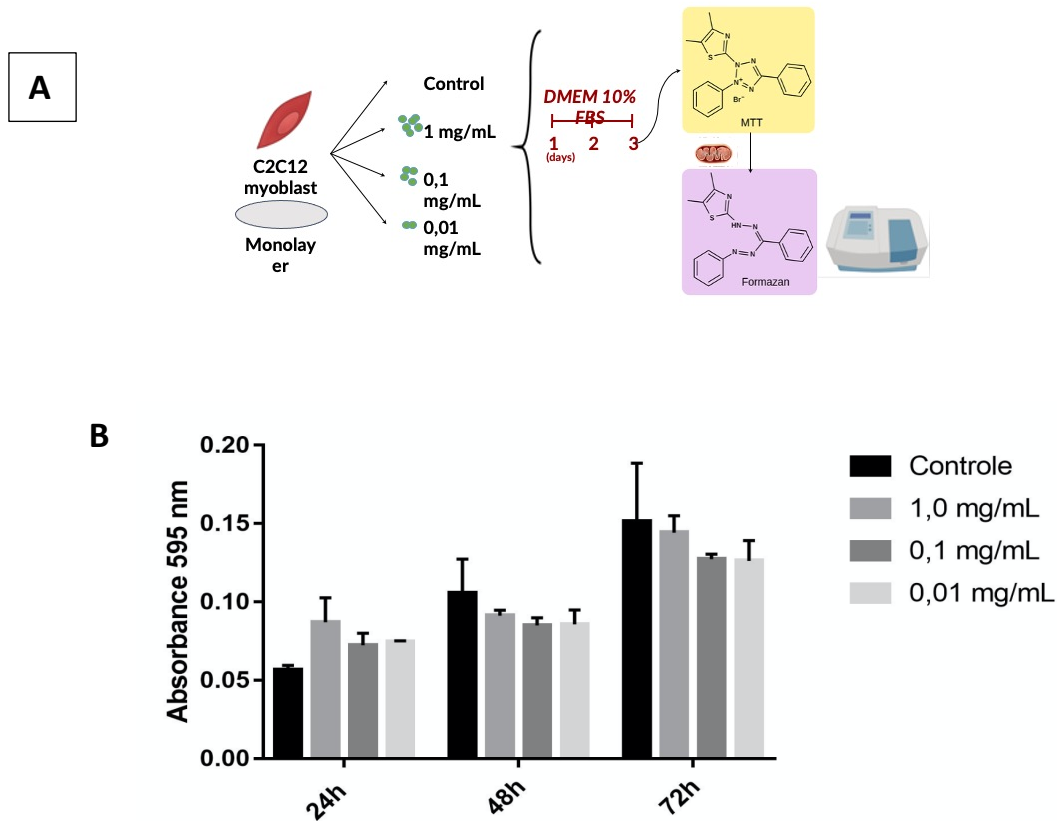


Figure v3: (A) Desenho experimental para avaliação da viabilidade celular após exposição às microcápsulas de alginato contendo óleo de canola. (B) Teste de viabilidade celular, via MTT, após 24, 48 e 72h de exposição às microcápsulas de alginato contendo o óleo de canola.

A Profa. Teresa Machini, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados.

z) Peptídeos antimicrobianos (AMPs): entendimento e otimização das ações anti-*Candida* e candidacida e de outras propriedades de interesse em saúde humana

A primeira parte do trabalho experimental consistiu na obtenção de Chef Ia (onde *a* representa carboxiamidação) e na síntese outros novos análogos amidados e truncados. A Chef Ia serviu como molécula de referência. No processo sintético, empregamos os protocolos de síntese semi-automática de peptídeos em fase sólida (SPFS) a 60° C assistida por micro-ondas que desenvolvemos. Os produtos brutos foram submetidos à análise por LC-MS para detecção neles dos produtos desejados. Depois, todos foram submetidos à purificação por RP-HPLC e os purificados foram caracterizados por LC-MS e hidrólise total seguida de análise de aminoácidos dos hidrolisados. Até o momento, foram obtidos Chef Ia e 7 novos análogos. A escolha dos análogos se baseou na combinação de: número mínimo de motivos GGH, baixas massas molares para chegar a peptídeos simples, mais baratos de produzir, mais fáceis de trabalhar e/ou marcadas com grupo fluorescente (FAM ou Trp), redução de polaridade em relação às sequências de aminoácidos originais de análogos encurtados anteriores, manutenção da atividade anti-*Candida*/candidacidas e capacidade de ligar Zn⁺² e/ou Cu⁺². Portanto, uma vez obtidos, Chef Ia e análogos encurtados sintéticos purificados foram avaliados nestas propriedades, tendo sido constatado o efeito positivo do Zn⁺², mas não do Cu⁺², na ação de alguns dos análogos encurtados (3-8 resíduos de aminoácidos) em cepas de *Candida parapsilosis* e *krusei* envolvidas em candidíase e disponíveis em nosso laboratório. Nos concentramos também em mostrar experimentalmente, usando espectrometria de massas e diferentes abordagens de espectroscopia de fluorescência, que todos os novos análogos em estudo podem servir como quelantes dos metais divalentes citados, porém com relações peptídeo: metal ou afinidades diferentes. No caso do Cu⁺², paramagnético, tal capacidade foi confirmada preliminarmente por espectroscopia paramagnética eletrônica (EPR) na tentativa de propor um modelo da coordenação. Finalmente, iniciamos dois novos estudos que exploram a aplicação dos peptídeos encurtados que vimos obtendo e estudando na análise qualitativa e quantitativa de metais divalentes essenciais, bem como o fato de o Cu⁺² estar diretamente ligado a diversos processos biológicos de grande importância médica. Neste último já obtivemos dados inéditos de competição entre os nossos peptídeos e peptídeos amilóides envolvidos na formação de placas proteicas que causam a doença de Parkinson e a de Alzheimer. Tais estudos vêm sendo realizados com a colaboração dos Profs. Drs. Breno P. Espósito e Ana M. C. Ferreira do Depto. de Química Fundamental do IQ-USP.

A Profa. Maria Aparecida Neves Jardim, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados.

aa) Influência da Doença Periodontal Sobre Marcadores Cardiovasculares em Pacientes Portadores de Diabetes Mellitus

Neste período, a linha de pesquisa teve as análises de Lipoprint e microbiológicas concluídas. Este estudo contou com a colaboração da Dra Nágila Raquel Damasceno e Dra Debora Levy, membros do INCT e da Dra Camila Lopes Ferreira pós doutora pelo INCT.

Com o objetivo de avaliar o efeito da administração do probiótico *Lactobacillus reuteri* como terapia coadjuvante no tratamento da Periodontite associada ao Diabetes mellitus tipo 2, 40 pacientes diabéticos com Periodontite (Estágio III e IV, Grau B) foram divididos em 2 grupos: RAR+Placebo e RAR+Probi, comprimidos de *Lactobacillus reuteri* (2x/dia por 21 dias). Avaliações clínicas como Profundidade de Sondagem, Recessão Gengival, Nível de Inserção Clínico e Sangramento a Sondagem, Perfil inflamatório do Fluido Crevicular Gengival, Índice PISA, Perfil lipídico – LDL e HDL e Composição microbiológica do biofilme subgengival, além de parâmetros relatados pelos pacientes como efeitos adversos. As avaliações clínicas já foram apresentadas em relatórios anteriores.

Segue os resultados para o perfil lipídico e microbiológico.

A Tabela aal mostra os resultados encontrados com a técnica de Lipoprint para perfil lipídico LDL HDL.

LDL	RAR+Placebo				RAR+Probi				delta p-value**
	Baseline (n=20)	6 meses (n=18)	delta (n=18)	p-value	Baseline (n=20)	6 meses (n=19)	delta (n=19)	p-value	
Peq (mg/dL)	13,0 (4,3 - 31,3)	12,5 (7,0 - 33,5)	5,1 (24,5)	0,306*	51,6 (29,6)	16,4 (11,7)	-36,9 (33,3)	<0,001	<0,001
Grd (mg/dL)	41,6 (24,9)	44,1 (20,3)	1,22 (35,4)	0,885	42,0 (26,8 - 62,8)	34,0 (30,0 - 51,0)	-5,9 (25,4)	0,456*	0,485
Peq (%)	8,4 (2,8 - 12,8)	5,7 (4,0 - 15,4)	3,1 (10,3)	0,248*	9,6 (6,9)	9,0 (6,3)	-0,6 (9,7)	0,790	0,264
Grd (%)	18,4 (7,8)	23,8 (10,2)	4,7 (12,0)	0,115	20,7 (7,6)	22,8 (7,3)	1,6 (10,7)	0,513	0,416
LDL tamanho (nm)	261,5 (254,0 - 268,8)	262,0 (249,0 - 267,0)	-2,2 (14,6)	0,586*	246,7 (11,9)	260,4 (7,6)	14,1 (15,69)	0,001	0,003
HDL									
Peq (mg/dL)	20,5 (15,0 - 21,8)	19,0 (16,0 - 23,0)	1,0 (6,4)	0,698*	22,5 (18,3 - 27,0)	16,0 (15,0 - 19,0)	-6,2 (6,8)	0,003*	0,002
Interm (mg/dL)	13,6 (6,1)	16,4 (5,6)	2,4 (6,3)	0,128	16,2 (7,5)	25,4 (6,7)	8,8 (6,9)	<0,001	0,006
Grd (mg/dL)	16,8 (5,3)	16,7 (5,0)	0,1 (6,1)	0,939	14,0 (4,1)	10,8 (3,3)	-3,8 (4,6)	0,002	0,034
Peq (%)	30,9 (26,5 - 39,8)	32,1 (28,5 - 35,8)	2,9 (15,5)	0,349*	32,0 (11,1)	31,6 (6,3)	-0,2 (11,5)	0,950	0,495
Interm (%)	40,1 (38,0 - 45,4)	46,7 (44,9 - 51,7)	6,1 (12,1)	0,021*	42,0 (8,5)	48,4 (6,6)	6,7 (12,3)	0,029	0,885
Grd (%)	28,6 (10,0)	20,1 (10,6)	-9,1 (14,9)	0,020	24,0 (20,0 - 27,9)	20,3 (14,1 - 23,2)	-6,4 (9,9)	0,022*	0,530

Legenda: Peq: pequena; Interm: intermediária; Grd: grande.

A composição microbiológica do biofilme subgingival, está representada em gráficos coloridos segundo complexos microbianos de SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002.

Com esses resultados, podemos concluir que RAR+Placebo e RAR+Probi foram significativos no tratamento da periodontite, sendo que o uso do Probiotico *Lactobacillus reuteri* não teve resultado adicional a terapia de debridamento periodontal. Houve alteração do perfil lipídico no RAR+Probi e que RAR+Placebo e RAR+Probi tiveram redução em todos os complexos microbianos avaliados.

Também foram alcançados resultados promissores in vitro no estudo de “Fibrina rica em plaquetas injetáveis (i-prf) como sistema de liberação de antimicrobianos: estudo in vitro”, que vem sendo desenvolvido juntamente com a Dra. Maria Teresa Machini e a Dra. Debora Levy, membros do INCT e com a pós doutoranda Dra. Camila Lopes Ferreira, a doutoranda Victória Clara da Silva Lima e o colaborador internacional Prof. Dr. Richard J. Miron.

O protocolo-teste para associação ou incorporação dos antibióticos ao i-PRF foi realizado, sendo uma solução de antibiótico adicionada ao i-PRF (aproximadamente 1 mL) logo após a etapa de centrifugação. Inicialmente, foram testadas soluções de Amoxicilina (AMX) e Metronidazol (MTZ) nas concentrações de 0,5 e 1,0 µg/mL, de acordo com valores de MIC50 determinados a partir da exposição destes agentes em diversos patógenos de importância periodontal.

Foram preparadas soluções estoque na concentração de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ que serão diluídas 1:10 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e, posteriormente, 1:2 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), obtendo-se uma concentração final de 1,0 e 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ do respectivo antibiótico por mL de i-PRF e foram coletadas amostras da solução inicial (tempo de exposição AMX/MTZ: i-PRF de 0 min.) e residual (tempo de exposição AMX/MTZ: i-PRF de 15 ou 30 min.), sendo as amostras imediatamente congeladas e estocadas em freezer. O monitoramento da associação/incorporação da AMX e do MTZ ao gel de fibrina foi realizado por cromatografia líquida de fase-reversa de alta eficiência (RPHPLC). Uma vez descongeladas/analizadas em condições apropriadas e obtidos os perfis das corridas cromatográficas, foi realizada a integração das áreas dos picos observados, sendo essas áreas lançadas em uma curva-padrão (absorção de luz em 210 nmX quantidade de antibiótico) obtida previamente para cada um dos antibióticos. A incorporação dos antibióticos (AMX ou MTZ $\mu\text{g}/\text{mL}$) ao gel de fibrina foi determinada pela diferença obtida entre a área do pico referente ao antibiótico em T= 0 min em T= 15 ou 30 min.

A Figura aa1 resume os resultados obtidos na tentativa original de incorporar AMX ao i-PRF humano.

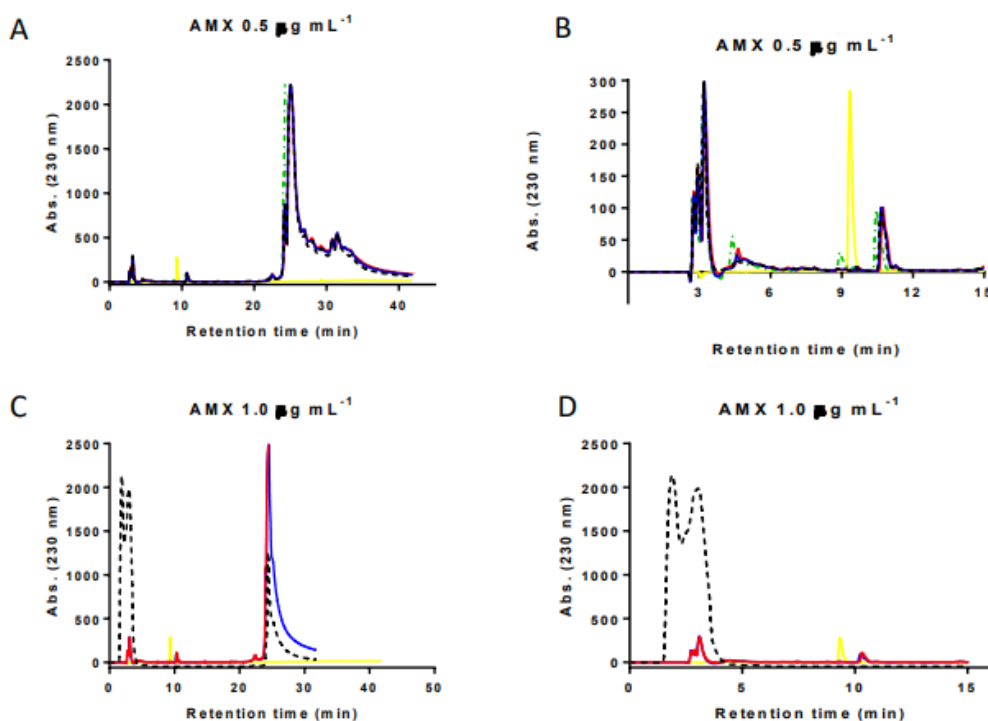


Figura aa1:

Figure 1: RP-HPLC monitoring of the incubation of human i-PRF with Amoxicillin (AMX) at concentrations of (A and B (zoom)) 0.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and (C and D (zoom)) 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. AMX solution at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (yellow). AMX solution (0.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) co-injected with the AMX residual solution (0.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) after 30 min of incubation (green). Incubation times: t = 0 min (black), t = 15 min (red) and t = 30 min (blue).

A Figura aa2 mostra os resultados obtidos na tentativa original de incorporar MTZ ao i-PRF humano.

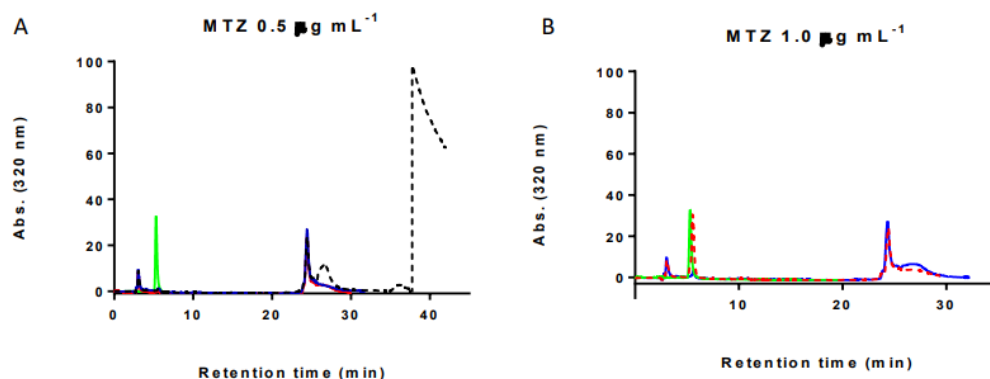


Figure 2: RP-HPLC monitoring of the incubation of human i-PRF with with Metronidazole (MTZ) at concentrations of (A) $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ and (B) $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$. MTZ solution at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ (green). Incubation times: $t = 0 \text{ min}$ (black), $t = 15 \text{ min}$ (red) and $t = 30 \text{ min}$ (blue).

Figura aa2

Após esta etapa, *P.gingivalis* foram cultivadas em condição anaeróbia a 37°C por 7 dias; semeadas uniformemente na placa de ágar sangue. O antibiograma foi realizado imediatamente após a preparação das formulações de i-PRF + antimicrobianos. Os resultados estão sendo analisados.

Os Profs. Rafael Zola e Luiz Evangelista, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados.

bb) Modelagem e dinâmica de fluídos complexos

Nesta fase do projeto, demos continuidade à modelagem analítica e computacional de fluidos complexos. Um problema relevante para a indústria de displays está relacionado à dinâmica textural em cristais líquidos nemáticos quirais. Tal material exibe propriedades muito importantes para o uso em displays, como o fato de possuir bandgap fotônico (reflexão de luz) e ser bi-estável. Contudo, seu uso esbarra no baixo controle e entendimento sobre a transição entre o estado não refletivo homeotrópico (onde a hélice é desenrolada) e o estado refletivo, chamado de planar. Esse processo dinâmico foi primeiro estudado há cerca de 50 anos, e, desde então, ainda não se entende perfeitamente como o eixo helicoidal se forma. De fato, tal dificuldade se explica por ter aspectos que acontecem muito rapidamente (da ordem de milissegundos), e não haver nenhum método analítico ou computacional robusto que consiga simular todo o processo. Para contornar esse problema, propusemos o uso da dinâmica do Tensor-Q no formalismo de Landau-de Gennes com o uso de elementos finitos. Dessa forma, pudemos controlar precisamente a anisotropia elástica, tão importante nessa dinâmica, o que é muito complicado, via diferenças finitas. O estudo desse problema resultou na publicação de um código próprio do grupo (Marlics). Com nossas

simulações, foi possível descobrir que o processo ocorre primeiramente pela formação de uma hélice com cerca de duas vezes o tamanho requerido pela quiralidade intrínseca do material, chamado de passo transiente. Essa hélice começa a se formar a partir das superfícies. Em seguida, um processo complexo que envolve a formação de pares de defeitos não-singulares acontece. Esses defeitos diminuem o tamanho da hélice; porém, o eixo da hélice não segue a orientação das superfícies. Em seguida, observa-se a formação de estruturas quadrupolares chamadas de clusters de Lahmann, que são conhecidas experimentalmente como oily-streaks, que interagem até que a hélice natural se forme. De acordo com nossas simulações, esse processo não gera defeitos singulares. Mostramos que as superfícies são de fato muito importantes, visto que no caso sem superfícies limitantes, o processo é muito diferente, com a formação de defeitos singulares e estruturas dissociadas. Na figura abaixo, vemos o processo envolvendo a dinâmica e os expoentes envolvidos na aniquilação das estruturas quadrupolares que acontecem quando o sistema é limitado (Fig. bb1).

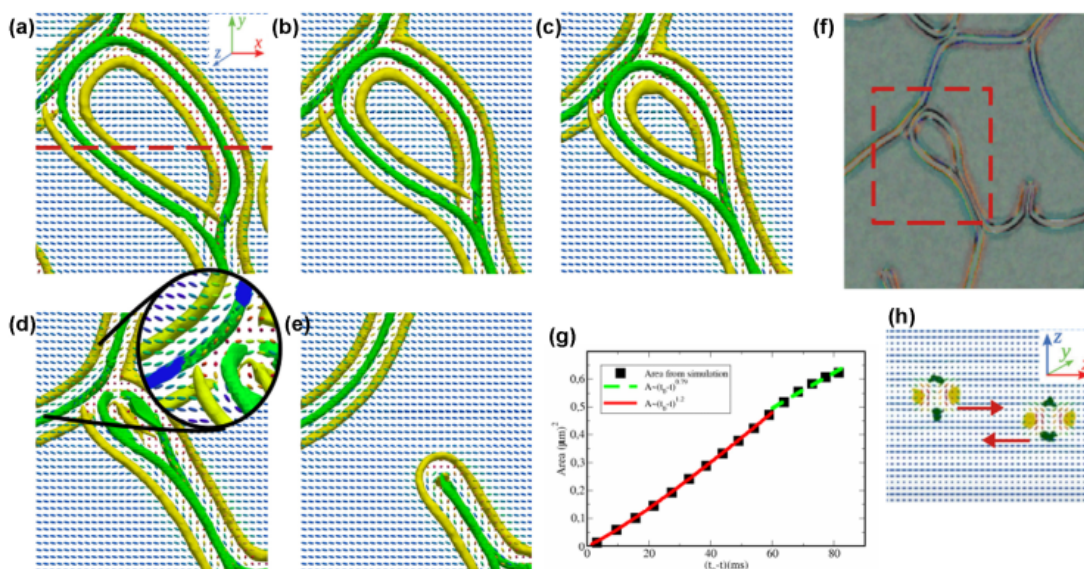


Figure bb1: Dinâmica de aniquilação de clusters de Lehmann. (a)–(e) mostram um loop de encolhimento formado por clusters de Lehmann e como os diferentes pares de linhas se aniquilam durante o processo. (f) mostra a textura calculada, exibindo o padrão característico de oily streaks de CLCs. (g) mostra a natureza de lei de potência do processo de aniquilação, formado por um processo inicial mais lento, com um expoente 0,79, seguido de uma aniquilação mais rápida, com um expoente 1.2. (h) mostra os dois clusters em diferentes alturas aproximando-se um do outro para formar um único aglomerado.

Em uma outra vertente investigativa do grupo, focamos em modelos envolvendo equações do tipo difusão, aplicadas a vários tipos de sistema em fluidos complexos. Nesse sentido, um dos focos do grupo está no estudo da espectroscopia dielétrica, descrita por modelos com equações de difusão e a equação de Poisson acopladas. Contudo, as abordagens desenvolvidas para o estudo da polarização de moléculas e a dinâmica de íons em materiais dielétricos geralmente são considerados separadamente. Os dois efeitos são frequentemente creditados por ocorrem em

diferentes faixas de frequência. A resposta em baixas frequências é geralmente dominada por migração iônica, enquanto que a resposta de alta frequência é associada à polarização molecular. Nessa direção, propusemos um modelo considerando a interação entre cargas livres e as densidades de cargas ligadas e suas influências na permissividade e nos perfis de impedância. Isso foi feito, de fato, por meio de uma versão do modelo difusivo de Poisson-Nernst-Planck (PNP), que permite incluir o efeito de uma polarizabilidade dependente da frequência (e, portanto, não instantânea). O modelo explica como o comprimento de Debye, por exemplo, depende da frequência. O modelo pôde ser aplicado para explicar resultados experimentais obtidos em regimes de frequência nos quais os dois efeitos se sobrepõem, com ótima concordância entre o modelo e os dados.

Por fim, com o uso dos operadores fracionários geralmente aplicados à equação de difusão para a descrição de processos anômalos, investigamos uma extensão da equação de Schrödinger considerando um operador diferencial fracionário para a variável espacial, que simultaneamente leva em consideração a heterogeneidade do meio e as distribuições tipo Lévy. Usando o método da função de Green, obtivemos soluções para a equação no caso da partícula livre e quando ela está sujeita a um potencial de tipo delta de Dirac. Também consideramos uma contribuição não-local adicionada ao potencial delta para explorar sua influência na função de onda e na evolução do sistema. As soluções mostraram uma rica classe de comportamentos de espalhamento, consideravelmente diferentes da função de onda usual, que pode estar relacionada com leis de potência e distribuições não exponenciais.

O Prof. Roberto Lins, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados.

cc) Engenharia de proteínas para o diagnóstico e terapia de infecções virais

Devido a pandemia do novo coronavírus, novos objetivos foram incorporados ao plano de trabalho no relatório anterior. Previamente, utilizando estudos envolvendo estrutura-atividade determinamos pela primeira vez na literatura os mecanismos moleculares responsáveis pela evasão imunológica de novas variantes. Acreditava-se até então que as novas variantes possuíam mutações que aumentariam a afinidade do vírus pelo receptor humano, a proteína ECA2. Nós mostramos que na realidade, as mutações nas variantes não alteravam de forma significativa tal interação, mas conferiam às novas variantes a capacidade de não serem reconhecidas por anticorpos neutralizantes (nAbs) previamente sintetizados em resposta a infecções anteriores. As mutações das novas variantes levaram a uma mudança no padrão eletrostático do domínio de ligação do receptor (RBD) humano da proteína S do vírus. Durante o período do relatório, verificamos que, nas variantes de preocupação, o mesmo fenômeno ocorreu nas regiões do Domínio N-Terminal (NTD) da proteína S do SARS-CoV-2, as quais são alvo de nAbs. Descrevemos ainda que no caso da variante Delta, além das mutações no RBD, mutações adicionais no sítio de furina conferiram uma maior afinidade pela enzima, fator que contribuiu para a observada maior transmissibilidade da variante.

Referente aos nossos estudos com flavivírus, concluímos os estudos, os quais apresentamos de forma preliminar no relatório passado, de desenvolvimento de um biofármaco pan-flavivírus.

A proteína sintética foi capaz de inibir os vírus da Zika, Dengue-1 e Dengue-2, *in vitro*, com EC₅₀ de unidades de μM (e K_D pelas proteínas isoladas na ordem de nM). Fizemos a solicitação de proteção de propriedade intelectual via Fiocruz.

Utilizando técnicas de engenharia computacional de proteínas associada a linguagem de máquina e aprendizado profundo, fomos capazes de desenvolver um protocolo para classificação de risco para as diversas linhagens do vírus do papiloma humano (HPV). O estudo avaliou a correlação entre a afinidade de associação da proteína E6 de 40 linhagens de HPV ao complexo E6AP/p53 e o risco de oncogênese. Os resultados indicam que a termodinâmica desempenha um papel fundamental no estabelecimento do câncer associado ao HPV e destaca a necessidade de incluir alguns tipos virais nas estratégias de vigilância e prevenção do câncer relacionado ao HPV.

O Prof. Roberto Rivelino, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados (dd-fF).

dd) Alternância da constante de acoplamento (J) via ressonância magnética nuclear em oligômeros conjugados e em ligações de hidrogênio

Este trabalho propões um termo de acoplamento único, definido como JCA (J-Coupling Alternation) correlacionado linearmente com outras propriedades moleculares, em especial o gap ótico dos sistemas (Fig. dd1). Além disso, pode ser generalizado para cadeias de moléculas que formam ligações de hidrogênio intra ou intermoleculares.

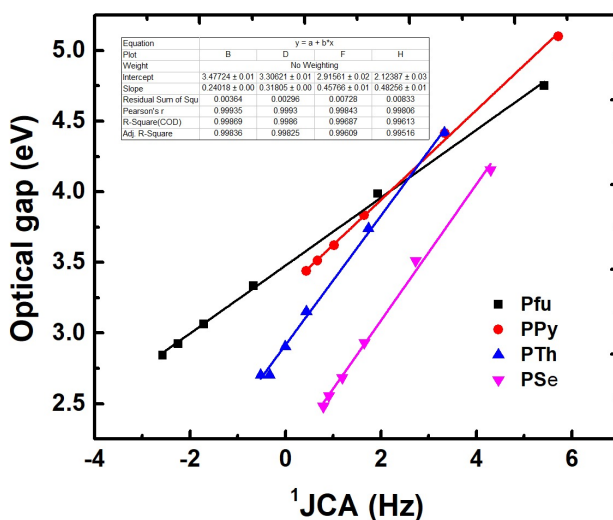


Figura dd1. Correlação entre o JCA e o gap ótico de famílias de oligômeros conjugados.

ee) Complexos moleculares fracamente ligados sob condições de baixas temperaturas

Examinamos interações envolvendo hidrogênio (ligação de hidrogênio propriamente ditas ou ligações tipo OH---nuvem-pi). Investigamos primeiramente metodologias para tratar interações tipo benzeno-água e aplicamos a metodologia para estudar a cinética de inversão da orientação do trîmero de água em uma superfície aromática, como ilustrado na Fig. ee1.

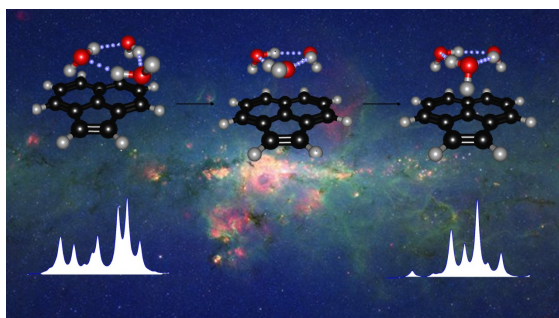


Figura ee1. Ilustração do mecanismo de inversão do trîmero de água sobre acenafteileno acompanhado por espectroscopia no infravermelho distante.

ff) Emissão por campo em nanoestruturas de carbono e transporte eletrônico em dispositivos

O objetivo central desse trabalho é investigar as leis de emissão eletrônica em nanoestruturas via campos elétricos externos. Na escala mesoscópica, utiliza-se a equação de Fowler-Nordheim para o tunelamento quântico, a qual assume que o fator de ganho é uma constante. Na escala manométrica, demonstramos que se o fator de ganho (FEF) for definido a partir da densidade induzida, a constância do FEF é mantida. Investigamos a emissão por nanotubos de carbono (Fig. ff1) e por grafeno; e diodos baseados em cadeias atômicas confinadas (Fig. ff2).

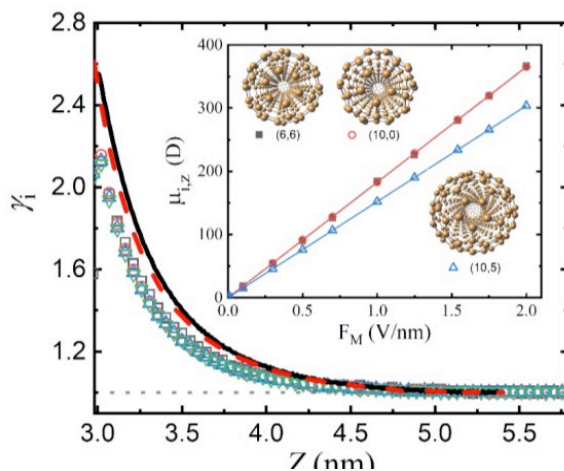


Figura ff1. Constância do FEF em nanotubos de carbono individuais.

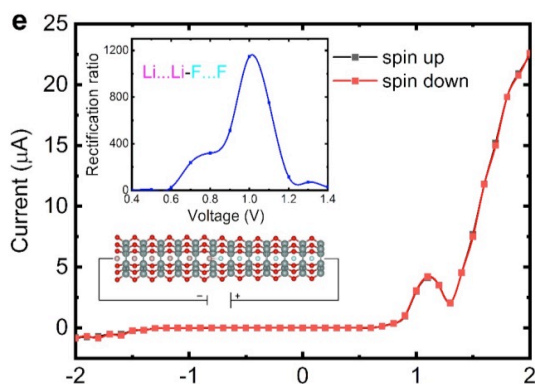


Figura ff2. Diodo de Li...Li-F...F confinado em tubo de Si₆O₆.

Os Profs. Iolanda Cuccovia e Hernan Chaimovich, seus colaboradores e estudantes são responsáveis por esses resultados (gg-hh).

gg) Estudo da Interação de Peptídeos com Micelas e Vesículas

Estudo da interação de peptídeos antimicrobianos derivados de BP100 com vesículas lipídicas.

Estudamos o efeito de mudanças da sequência do BP100[H-KKLFKKILKYL-NH₂], substituindo lisinas 2 e 5 por argininas, R2R5-BP100 e também adicionado uma alanina terminal e um grupo acila de 16 carbono, o R2R5-BP100-A-C₁₆. A troca de resíduos de lisina por arginina no peptídeo R2R5-BP100 e a adição da cadeia hidrocarbônica (R2R5-BP100-A-C₁₆) não alteraram o mecanismo de interação com membranas modelo. Foi observada uma maior eficácia nos ensaios de permeabilização. O R2R5-BP100-A-C₁₆ apresentou melhora nas interações com membranas modelos. No entanto, observou-se uma perda da seletividade por membranas aniônicas. Além disso, os resultados obtidos com as membranas modelos não foram representativos em ensaios biológicos, onde se obteve uma MIC superior à dos outros peptídeos. Já os valores de MIC do R2R5-BP100 foram similares ou menores que de BP100.

Estudo da interação de um peptídeo contra a dor QYP (QAPPVYLDVLG) com vesículas de lipídios

O peptídeo QYP (QAPPVYLDVLG) foi planejado a partir de um fragmento da proteína Quinase Receptora de Tropomiosina (TrkA), com o intuito de desenvolver um anestésico inovador. Para que alcance seu alvo, a proteína Fosfolipase C γ (PLC γ), localizada no citoplasma, fundiu-se o peptídeo TAT (GRKKRRQRRRPQ), um conhecido Peptídeo Penetrador de Membrana (PPM), com o peptídeo QYP. Partindo desses estudos, a investigação objetivou, utilizando simulações de Dinâmica Molecular e Dicroísmo Circular, compreender a estrutura secundária do peptídeo TAT-QYP em água e em membranas. Como a porção TAT e a porção

QYP aproximaram-se, pode-se concluir que o peptídeo tem maior probabilidade de se encontrar como laço, com grande porcentagem de resíduos desordenados. Isso, de acordo com nossos resultados de CD, ocorre tanto em água quanto em membrana. Diferentemente do TAT-pQYP, sua contraparte ativa e fosforilada, o peptídeo TAT-QYP não tem hélice de poliprolina. Confirmamos por medidas de potencial zeta que o peptídeo interage com membranas modelo, mesmo que não haja mudança de conformação.

Estudo da interação de polímeros Dibloco com interfaces lipídicas e de suas propriedades antimicrobianas.

A fórmula geral dos copolímeros dibloco estudados é $PMMA_m-b-PDMAEMA_n$ onde o número de monômeros de cada bloco é representado pelos índices m e n . Demonstramos que os copolímeros se ligam à superfície das vesículas Gigantes, GUVs modificando a sua forma e levando ao rompimento das vesículas. Estes efeitos foram modulados pelo pH e a força iônica do meio e as razões entre os blocos hidrofóbicos e hidrofílicos. Quando o copolímero tem uma maior fração de PDMAEMA, este efeito é mais evidente. Demonstramos que o efeito de copolímeros contendo regiões hidrofóbicas e hidrofílicas são bons modelos de peptídeos e proteínas permitindo avaliar quantitativamente o efeito dessas interações em modelos de membranas.

hh) Estudo da Interface de Micelas e Vesículas usando Peptídeos derivados de Cysteina

Sintetizamos uma série de peptídeos contendo Cys, modificados por um grupo de cadeia alquila longa (hexadecilamida), para torná-los adequados para incorporação em micelas e vesículas. A série de peptídeos continha glicinas, Gly, como espaçadores entre a cadeia hexadecilamida na sequência peptídica inicial e a Cys no carboxi-terminal. Os dados experimentais determinando pKa e reatividade dos derivados indicaram que os peptídios não estão necessariamente estendidos nas micelas ou vesículas. A análise de Dinâmica Molecular de peptídeos em micelas CTAC sugere fortemente que o aumento nas taxas de tiólise pode ser atribuído a uma maior probabilidade de residência de Cys abaixo da superfície micelar, onde reside o centro de reação do NPO.

Sumário dos resultados obtidos

- a) Mostramos que a COVID-19 reduz a qualidade (medida da aterogenicidade da partícula) do paciente durante a infecção. Após 6 meses da cura (RT0PCR negativo), essa qualidade não atingiu patamares de pessoas não infectadas. Isso revela a presença de sequelas da COVID na qualidade das LDLs, mesmo após a cura.
- b) Mostramos que há uma vantagem dos CGGs sobre outras técnicas e sua aplicabilidade para vários modelos biológicos. Mesmo com litografia macia, PDMS e árvore de Natal sendo mais populares em suas respectivas categorias, os estudos atuais visam aplicar novas tecnologias e arquiteturas complexas para melhorar a eficácia dos testes e reduzir problemas microfluídicos comuns.

- c) Os achados pré-clínicos validam o potencial das MSCs para permitir o enxerto de HSC in vivo em modelos animais de transplante de células hematopoiéticas xenogênicas e alogênicas, na ausência de toxicidade. O transplante de medula óssea (BMT) pode ser aplicado a doenças hematopoiéticas e não hematopoiéticas; no entanto, ainda apresenta uma série de desafios e limitações que contribuem para o insucesso do tratamento. Tendo isso em mente, uma possível forma de aumentar a taxa de sucesso do TMO seria o cotransplante de células-tronco mesenquimais (MSCs) e células-tronco hematopoiéticas (HSCs) para melhorar o nicho da medula óssea e secretar moléculas que potencializam o enxerto hematopoiético.
- d) Os estudos enfatizam o impacto positivo do ômega-3 na modulação da proliferação celular, sobrevivência e vias de morte, bem como na diminuição da expressão de moléculas da via angiogênica que impactam positivamente na redução de metástases. O impacto do estresse oxidativo e o processo inflamatório também foi importante para melhoria imune.
- e) Mostramos que os nanoadsorventes são potencialmente aplicáveis para remover corantes aniônicos da água e o conjunto de seus resultados é importante para futuras análises visando ao escalonamento do processo e aplicações em matrizes mais complexas.
- f) Considerando a compatibilidade dimensional de nanotubos e nanopartículas, um alinhamento parcial induzido por campo de MWNCTs em virtude de sua forma dobrada em sistema ferrofluido foi proposto. Uma realização parcial ou completa da reversibilidade e ajuste do padrão de MWCNTs em larga escala em ferrofluido foi investigada em detalhes.
- g) Iniciamos nossos experimentos com dois hipolipemiantes (rosuvastatina e ezetimiba), examinando os resultados com base em filme polimérico biodegradável com fármaco fixado no adesivo transdérmico ou por nanofibras pela técnica de eletrofiação, com resultados promissores.
- h) Foram sintetizadas novas nanopartículas magnéticas e desenvolvidos modelos que interpretam curvas de espalhamento de raios X em baixos-ângulos (SAXS e USAXS).
- i) Investigamos a associação de variantes genéticas da proteína surfactante A hidrofílica (SP-A) com infecção aguda grave pelo vírus sincicial respiratório em crianças. Usando simulações de dinâmica molecular, modelamos as variantes SP-A que diferem no aminoácido 223, uma importante mudança de aminoácido (Q223K) entre 1A0 e 1A3, que não apresenta grande impacto no comportamento dessas duas variantes, exceto pela maior estabilidade termodinâmica da variante K223. A gravidade da infecção aguda grave pelo vírus sincicial respiratório (RSV) foi associada a variantes do gene SPs hidrofílicas (mas não hidrofóbicas). Nossos achados mostram que as variantes do gene SP podem desempenhar um papel fundamental na infecção por RSV e ter um papel potencial no prognóstico.

- j) A incorporação de inulina e oligossacarídeos, resultantes da hidrólise enzimática da succinoglucana comercial, em bebidas fermentadas à base de soja e arroz adicionadas de *Lactobacillus paracasei*, resultou em um preparado pseudoplástico com grau médio de polimerização. Do ponto de vista da sinérese e viabilidade probiótica todas as formulações mantiveram a subsistência de *Lactobacillus paracasei* com um bom número contagens até o 28º dia de armazenamento, porém, apenas as formulações prebióticas incorporadas apresentaram número suficiente de células viáveis após exposição a condições gastrointestinais simuladas.
- k) Desenvolvimento do programa SuAVE (*surface assessment via grid evaluation*) (SuAVE) que permite a análise de dados de simulação molecular levando em consideração a curvatura de agregados molecular em diferentes fases independentemente da composição química, assimetria de composição do sistema molecular, e nível de granularidade atômica (atomístico e grão grosso).
- l) Verificamos que RAR+Placebo e RAR+Probi foram significativos no tratamento da periodontite, sendo que o uso do Probiotico *Lactobacillus reuteri* não teve resultado adicional a terapia de debridamento periodontal. Houve alteração do perfil lipídico no RAR+Probi e que RAR+Placebo e RAR+Probi tiveram redução em todos os complexos microbianos avaliados.
- m) Referente aos nossos estudos com flavivírus, concluímos os estudos de desenvolvimento de um biofármaco pan-flavivírus. A proteína sintética foi capaz de inibir os vírus da Zika, Dengue-1 e Dengue-2, in vitro, com EC50 de unidades de μM (e KD pelas proteínas isoladas na ordem de nM). Fizemos a solicitação de proteção de propriedade intelectual via Fiocruz.
- n) Verificamos que, nas variantes de preocupação, o mesmo fenômeno ocorreu nas regiões do Domínio N-Terminal (NTD) da proteína S do SARS-CoV-2, as quais são alvo de nAbs. Descrevemos ainda que no caso da variante Delta, além das mutações no RBD, mutações adicionais no sítio de furina conferiram uma maior afinidade pela enzima, fator que contribuiu para a observada maior transmissibilidade da variante.
- o) Consolidamos, em estudos clínicos envolvendo pacientes com cânceres sólidos as observações que o uso do nosso sistema de “drug delivery”, baseado em nanopartículas lipídicas, proporciona diminuição muito acentuada da toxicidade das drogas anticâncer. Isto proporciona a administração de quimioterapia segura e confortável para os pacientes oncológicos e também possibilita o tratamento quimioterápico de pacientes muito idosos ou debilitados que, de outra forma, só teriam opção dos tratamentos paliativos.
- p) Observamos que a realização da quimioterapia de preparo para o transplante de medula óssea (TMO), em pacientes com leucemias agudas, realizada com o fármaco etoposídeo

veiculado em nanopartículas lipídicas torna o TMO mais eficiente, diminui a toxicidade e aumenta consideravelmente a sobrevida dos pacientes.

- q) Mostramos que, em pacientes com doença arterial periférica aterosclerótica, a transferência de colesterol para a fração de lipoproteínas de alta densidade (HDL) está diminuída, o que pode ter importantes implicações na fisiopatologia da doença e, eventualmente, criar um novo alvo terapêutico, já que as HDL têm provável ação anti-aterosclerótica.

Sumário das atividades para o próximo período

(prevendo a extensão do projeto até 11/2024)

- a) Objetivamos o estudo da qualidade das LDLs em estudos *in vitro*, com plasma oriundo de pacientes normolipidêmicos, em contato com drogas antiplaquetárias, ticagrelor e clopidogrel.
- b) Estudo da qualidade das LDLs de pacientes infectados pelo SARS-Cov-2 durante a infecção e após a cura, para verificar eventuais sequelas, agora, após 12 meses da cura (RT-PCR negativo).
- c) Fazer o estudo relatado em b) para pacientes infectados, identificando a cepa do vírus.
- d) Sintetizar novos fluidos magnéticos com geometria de partículas diversas para aplicações tanto na Física dos cristais líquidos como biomédicas.
- e) Investigar o fator de forma de micelas liotrópicas em contato com dopantes quirais.
- f) Investigar os cristais líquidos cromônicos nemáticos e dopados com agentes quirais.
- g) Em relação as células tronco mesenquimais (de medula óssea e de medula óssea de portador de leucemia mieloide aguda), espera-se a aprofundar as vias de sinalização que poderiam estar influenciando as alterações observadas e estudar outras proteínas ABCs. No estudo do metabolismo lipídico pré e pós-tratamento em pacientes com linfoma não-Hodgking, pretende-se terminar as análises de sobrevida. No estudo do efeito do oxisterol 7-cetocolesterol como agente de indução osteogênica no reparo ósseo de defeito crítico em calota espera-se terminar as análises de dados, realizar os experimentos relacionados a metaloproteinases.
- h) Objetivamos a continuação da linha de pesquisa de remediação ambiental envolvendo a síntese e caracterização de nanoadsorventes magnéticos à base de nanopartículas core-shell bimagnéticas do tipo $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ funcionalizadas com L-lisina e CTAB, além de nano-híbridos de nitreto de carbono com $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Nesse sentido, serão feitos estudos de adsorção de Mo, e Cd, e resíduos farmacêuticos e de fotodegradação de corantes empregando nanoadsorventes magnéticos elaborados (influência do pH, tempo de contato, concentração de poluente e tamanho médio dos nanoadsorventes).
- i) Objetivamos o estudo teórico-experimental da pH-dependência da densidade de carga superficial de fluidos magnéticos aquosos. Esse estudo é altamente relevante no contexto

do projeto, uma vez que está relacionado às condições de estabilidade coloidal dos fluidos magnéticos aquosos e, portanto, às possibilidades de aplicações desses materiais.

- j) Objetivamos a elaboração e caracterização de nanofluidos magnéticos fluorescentes a partir de misturas de ferrofluidos aquosos e dispersões de pontos quânticos de carbono de diferentes composições.
- k) Dispersão das nanopartículas magnéticas em diferentes líquidos iônicos variando diversos parâmetros físico-químicos (concentração, tamanho médio das nanopartículas, natureza dos contra-íons, força iônica, proporção líquido iônico/água, etc.) e seu estudo coloidal por meio de técnicas de espalhamento (DLS e SAXS).
- l) Investigações de aspectos estruturais em fibras capilares sob ação de diversos produtos cosméticos. Estudos de correlações entre indicadores de saúde e estrutura capilar.
- m) Desenvolvimento de métodos automáticos para identificação de padrões em imagens bidimensionais para espalhamento de raios X por sistemas orientados.
- n) Investigação e aprimoramento de rotas de síntese de nanopartículas metálicas.
- o) Desenvolvimento de protocolos para comparação entre dados de espalhamento por cristais líquidos e modelos teóricos.
- p) Pretendemos desenvolver a validação das metodologias para terapia por adesivo transdérmico, combinando fármacos de interesse na doença coronária, hipertensiva e diabetes. Esta validação incluirá estudos farmacocinéticos com comparações aos medicamentos administrados por via oral e aspectos de segurança da terapia.
- q) Objetivamos produzir nanopartículas de HAL (hexa aminolevulinato) com cobre, cobre-ouro e cobre-prata e avaliar o melhor agente estabilizante, ALA, MALA ou HAL.
- r) Pretendemos fazer testes *in-vitro* com macrófagos e células tumorais para avaliar a toxicidade das nanopartículas produzidas e avaliar efeitos das terapias foto e sono dinâmicos.
- s) Pretendemos avaliar o potencial oxidante das nanopartículas de cobre e híbridas diretamente sobre a LDL através de medidas de UV-Vis, fluorescência e Z-scan.
- t) Pretendemos entender o papel da deposição de colesterol, sua cristalização e inibição da cristalização do colesterol para evitar respostas inflamatórias em doenças cardiovasculares usando a dinâmica molecular.
- u) Pretendemos entender o papel do éster de colesterol e um possível tratamento da esclerose múltipla e doença de Alzheimer usando a dinâmica molecular.
- v) Implementação da organ-a-chip e toxicidade utilizando a microrfluidica mediante a tecnologia de soft litografia. Esta implementação está direcionada para dispositivos para doenças neurodegenerativas e tumores do sistema nervoso central, assim como a Implementação de dispositivos microfluidicos para avaliação de toxicidade, farmacocinética, biodistribuição e detecção de biomarcadores.
- w) Continuidade dos projetos para terapia utilizando estimulação magnética transcraniana para tratamento de depressão, enxaqueca e doença de Alzheimer utilizando recursos nanobiotecnológicos.
- x) Implementação do laboratório comportamental no modelo animal direcionado a doenças degenerativas no Hospital Albert Einstein (SP).
- y) Continuar desenvolvendo projetos com empresas na área de inovação para desenvolvimentos novos produtos.

- z) Abordagens de terapia celular para acidente vascular cerebral focal e global utilizando terapias combinadas como exercícios e terapia celular.
- aa) Estudo da angiogénese e barreira hematoencefálica nos estudos neuro-oncológicos.
- bb) Avaliação dos processos inflamatórios/infeciosos utilizando recursos de imagem molecular e nanobiotecnológicos.
- cc) Utilizaremos a imagem de uma microesfera aprisionada numa pinça ótica como sensor de posição para medidas de deslocamentos com precisão nanométrica, ao longo do eixo ótico de um microscópio. Essa técnica foi utilizada recentemente para caracterização das flutuações Brownianas de uma microesfera coloidal e propomos que seja utilizada para medida do diâmetro de uma amarra celular ($d \approx 50 \text{ nm}$). A metodologia proposta evitará as etapas dispendiosas de preparação de amostras e observação ao microscópio eletrônico de varredura para determinação dos raios das amarras. Como consequência obteremos agilidade, redução de custos e a possibilidade de acompanhar a evolução da tensão da membrana e de sua rigidez de flexão com a célula viva.
- dd) Pretendemos explorar aplicações dos resultados para a força de Casimir na formação de bundles de actina em células biológicas. Do ponto de vista teórico, serão feitas simulações numéricas tomando como base as demais interações relevantes (dupla camada de Debye, depleção) para as escalas de distância relevantes (dezenas de nanômetros). No laboratório, planejamos medir propriedades de membranas de células aderidas à lâmina e comparar os resultados com as simulações numéricas.
- ee) Estudo da dinâmica e dos estados de equilíbrio em cristais líquidos confinados em diferentes geometrias, como as de tipo esférica e em micro-canais; o desenvolvimento de extensões para modelos utilizados em simulações computacionais; o uso de técnicas matemáticas para tratar problemas de contorno em sistemas confinados, incluindo a obtenção de propriedades dielétricas em eletrólitos e espectroscopia de impedância e os efeitos de superfície e difusivos em meios confinados.
- ff) Aumento da resposta imuno protetora para uma vacina de DNA contra o vírus Zika. Recentemente desenvolvemos uma vacina de DNA contra o vírus da Zika, o qual se mostrou capaz de proteger camundongos da infecção pelo vírus. Contudo, os níveis de proteção se mostraram limitados a 4 meses. Desta forma, estamos testando i. o uso de diferentes adjuvantes, bem como, ii. desenvolvendo, sintetizando e testando escovas poliméricas catiônicas como plataformas de entrega (internalização celular mais eficiente) de vacinas de DNA, bem como a liberação sustentada da nossa vacina, de forma a promover uma proteção mais duradoura.
- gg) Desenvolvimento de biofármacos para terapia de infeções pelo vírus Chikungunya. A partir de técnicas de engenharia computacional de proteínas, desenvolveremos proteínas sintéticas que tem como alvo o epítipo de anticorpos neutralizantes no domínio E2B (na proteína de envelope) do vírus Chikungunya (CHIKV). As proteínas sintéticas serão triadas *in silico*, as melhores candidatas serão sintetizadas em laboratório e suas afinidades pela proteína de envelope serão medidas experimentalmente. Em seguida, as que apresentarem as melhores afinidades de ligação à proteína de envelope de CHIKV, serão utilizadas em ensaios de neutralização viral (PRTN e microneutralização). Por fim, os biofármacos mais promissores serão utilizados em ensaios *in vivo* em modelo murino.

- hh) Desenvolvimento de uma função de score para cálculo de energia livre de ligação utilizando redes neurais artificiais. A predição da energia livre (ΔG) de ligação para complexos proteína-proteína é de interesse científico geral, já que permite uma variedade de aplicações nas áreas de biologia molecular, química, ciências dos materiais e biotecnologia. Apesar de sua centralidade na compreensão dos fenômenos de associação de proteínas e engenharia de proteínas, o cálculo preciso do ΔG de ligação é uma quantidade difícil de se obter teoricamente. No próximo período, desenvolveremos um novo modelo de rede neural artificial para prever com acurácia o ΔG de ligação para uma dada estrutura tridimensional de um complexo proteína-proteína, a partir de métricas de interface calculadas pelo software Rosetta.
- ii) Para o próximo período em relação as células tronco mesenquimais (de medula óssea e de medula óssea de portador de leucemia mieloide aguda), espera-se a aprofundar as vias de sinalização que poderiam estar influenciando as alterações observadas e estudar outras proteínas ABCs. No estudo do metabolismo lipídico pré e pós-tratamento em pacientes com linfoma não-Hodgking, pretende-se terminar as análises de sobrevivência e escrever os artigos. No estudo do efeito do oxisterol 7-cetocolesterol como agente de indução osteogênica no reparo ósseo de defeito crítico em calota espera-se terminar as análises de dados, realizar os experimentos relacionados a metaloproteinases.
- jj) Estudo da Interação de Peptídeos Ligados a Mono e Di-Naftalimidias com Membranas Modelo: Estudo experimental e Teórico para se obter compostos com atividade antimicrobiana de alta eficiência. O objetivo é verificar se a ligação de Di-Naftalimidias a um peptídeo, carregador potencial de moléculas para o interior das células, pode aumentar a eficiência antimicrobiana por mecanismos duplos que incluem ação na membrana e ruptura do DNA. O peptídeo Di-Naft-(BP100)₂ será estudado experimentalmente quanto sua interação com vesículas lipídicas com diferentes composições e realizaremos ainda a modelagem molecular do Di-Naft-(BP100)₂ e do Naft-BP100, para entender os mecanismos moleculares de interação dos peptídeos com modelos de membrana.
- kk) Desenvolvimento Computacional de Proteínas Bloqueadoras da Entrada Viral do SARS-CoV-2 para o Tratamento da COVID-19. Desejamos realizar o *design* computacional de uma proteína capaz de se ligar à RBD bloqueando a entrada viral, podendo ser um potencial fármaco no tratamento da COVID-19. Pretende-se desenvolver, *in silico*, uma proteína com alta afinidade pela RBD do vírus SARS-CoV-2 de maneira que bloqueie a entrada viral, podendo ser um potencial candidato ao arsenal terapêutico contra COVID-19.
- ll) Efeito de Ânions Hidrotrópicos em Micelas de Surfactantes Zwitteriônicos. A adição de sais a esses sistemas micelares pode causar mudanças na estrutura desses agregados, e esse efeito não depende somente da concentração, mas também do tipo de sal adicionado. Sais hidrotrópicos são pequenas moléculas anfífilas que por conta do seu tamanho não formam agregados em água. Esses sais causam grandes efeitos em micelas catiônicas por sua afinidade com a interface. Nesse trabalho será realizado um estudo de propriedades físico-químicas de micelas de dodecilsulfocolina (DPC) em água em soluções de diferentes sais hidrotópicos, como o trifluorometanossulfonato (NaTf), benzenossulfonato (NaBZS), trifluoroacetato (NaTFA), perclorato (NaClO₄), benzoato (NaBzo). Também

serão realizadas simulações computacionais desses sistemas por dinâmica molecular, visando comparar os dados experimentais com os dados computacionais.

- mm) Pretendemos continuar os estudos clínicos testando o sistema de nanopartículas lipídicas veiculando quimioterápicos, voltado para o tratamento do infarto agudo de miocárdio e doença arterial coronária crônica.
- nn) Pretendemos iniciar estudos clínicos como o sistema de nanopartículas lipídicas veiculando o quimioterápico metotrexato para o tratamento de pacientes com osteoartrose.
- oo) Pretendemos continuar as investigações sobre as transferências de colesterol para a HDL, focada agora em hábitos como a prática do exercício físico versus sedentarismo, fumantes versus não-fumantes ou após o abandono do fumo. Além disso, pretendemos estudar o fenômeno das transferências de colesterol em pacientes com hipercolesterolemia familiar.

Mudanças nos objetivos propostos

Não houve mudanças significativas, apenas adequações como, por exemplo, um dos focos agora passou a ser as sequelas causadas pela infecção pelo SARS-Cov-2. Como parte dos esforços de combate a pandemia, o nosso grupo integrou a Rede de Vigilância Genômica Fiocruz (<http://www.genomahcov.fiocruz.br/>), onde realizou uma série de estudos envolvendo estrutura-atividade para elucidar os mecanismos de evasão do sistema imune por parte das variantes de preocupação do vírus SARS-CoV-2, os quais se encontram fora do escopo dos objetivos para o período, conforme anteriormente proposto.

Propomos atividades iniciais do laboratório de microfluídica (Anexo VIII), junto ao Grupo de Fluidos Complexos do IFUSP (solicitação de bolsa de doutoramento no Anexo IX).

Prof. Dr. Antônio Martins Figueiredo Neto.

São Paulo, janeiro de 2023.