

FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PELA ADSORÇÃO DE ÁCIDO LIPÓICO: SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE UM VEÍCULO DE ENTREGA.

Machado N. C. F.*, Carvalho, B. G.*, Santos L.*, Martin A. A.*, Favero P. P.*

* Universidade do Vale do Paraíba, UNIVAP, Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, IP&D, São José dos Campos, SP, Brasil.
e-mail: neilamachado@gmail.com

Resumo: Usualmente, nanopartículas penetram nas células por endocitose, quando são suficientemente pequenas, evitando a fagocitose e não provocando resposta imunológica, além disso, não são afetadas por microorganismos. Elas conseguem transportar fármacos hidrofóbicos pelo sangue e permitem modificações em sua grande área de superfície, através de adição de grupos funcionais. Um complexo formado por Nanopartículas de Au + ligante Ácido Lipóico foi simulado via Teoria do Funcional da Densidade para analisar a eficiência deste veículo no quesito estabilidade do sistema modelado. O modelo simulado mostrou-se eficiente e estável uma vez que permite o posterior acomplamento de medicamentos protéicos através de ligação peptídica.

Palavras-chave: Nanopartículas, Ácido Lipóico, Teoria do Funcional da Densidade, DFT.

Abstract: *Nanoparticles can cross the cells by endocytosis, when they are small enough. This can avoid phagocytosis immunological and microorganisms response. Nanoparticles can carry hydrophobic drugs into the blood and allow modifications on its large surface area through addition of functional groups. A complex formed by nanoparticles of Au + Lipoic acid linker was simulated via Density Functional Theory to analyze the efficiency of this vehicle stability in this modeled system. The simulated model proved to be efficient and stable since it allows further docking of protein drugs through peptide bond.*

Keywords: *Nanoparticles, Lipoic Acid, Density Functional Theory, DFT.*

Introdução

A simulação computacional de biomoléculas, é uma área desafiadora pois a funcionalização de moléculas geralmente é caracterizada como um sistema com grande número de átomos e moléculas interagentes e tal magnitude dificulta um modelamento próximo da realidade. Para contornar tal dificuldade, utilizou-se uma metodologia usual onde um único problema grande, com muitos corpos, é dividido em muitos problemas pequenos. Desta forma, foi simulado um veículo carreador de medicamentos, uma nanopartícula de Au, com um ligante que fornece grande estabilidade entre o medicamento e a nanopartícula, sistema este

que, pode ser utilizado em posteriores estudos experimentais, visando contribuir para área biomédica, onde se dedica muito tempo e estudos, numa ampla gama de moléculas candidatas a tornarem-se novos medicamentos, porém muitas vezes, que não atendem as exigências de efetividade.

Rotomskis, R. *et al.*, explicam que a nanotecnologia, é uma área de extensa pesquisa e desenvolvimento tecnológico que trabalha com objetos de tamanhos muito reduzidos entre 1 a 100 nm, com características únicas, pois modificações em suas superfícies podem torná-las biossensores, marcadores fluorescentes, transportadores de drogas com alvos definidos, para diversas aplicações médicas. [1]

Em tamanho, nanopartículas têm a mesma ordem de grandeza que unidades biológicas, assemelhando-se a grandes macromoléculas biológicas como enzimas e receptores e sendo menores que as células humanas (10000-20000 nm de diâmetro).

Nanopartículas com diâmetro de até 50 nm, conseguem entrar nas células por endocitose, recurso este, muito usado no diagnóstico de doença através da fluorescência. Quando são suficientemente pequenas (menores que 100 nm.), as nanopartículas conseguem evitar a fagocitose não provocando resposta imunológica, além disso, não são afetadas por microorganismos. [1]

Chatterjee, *et al* reforçam em seus estudos, que as nanopartículas estão sendo muito utilizadas como entregadoras de medicamentos (drugs delivery) devido sua funcionalidade [2]. Conseguem transportar fármacos hidrofóbicos pelo sangue e permitem modificações em sua grande área de superfície, através de adição de grupos funcionais, podem liberar drogas de modo controlado e para a sua síntese, há numerosas estratégias. [2] Mesmo apresentando a propensão de serem recolhidas por macrófagos e podendo acumular-se no baço e fígado, estratégias como revestimento por polietileno glicol (PEG) consegue aumentar o tempo de circulação sanguínea e a acumulação em tumores. [2] Rotomskis, *et al.* destacam ainda que estudos recentes demonstram que determinadas nanopartículas possuem propriedades fotodinâmicas, que podem ajudar na criação de uma nova geração de fotosensibilizadores mais adequados e de atuação mais profunda nos tecidos, podendo se ligar a anticorpos apropriados e serem entregues às células tumorais. Quando ligadas a

moléculas fotosensibilizadoras que garantam uma eficiente transferência de energia, eles podem agir como fotossensibilizantes adequados. [1]

Wieder, *et al.*, desenvolveram e sintetizaram um sistema de entrega de drogas (drug delivery) aplicado a terapia contra o câncer (Terapia Fotodinâmica), baseado em conjugados de nanopartículas de ouro e um fotossensibilizador a base de ftalocianina, com um diâmetro médio de 2 - 4 nm, unidas através de uma molécula de tiol que forneceu uma ligação direta com a superfície de ouro. Seus testes comprovaram que, quando incubados com células HeLa (linha celular de câncer de colo do útero), o sistema promoveu uma mortalidade celular substancial em comparação com a aplicação de ftalocianina livre. [3]

Materiais e métodos

A escolha de determinada ferramenta computacional depende especialmente das dimensões do objeto investigado. No caso de órgãos e tecidos, que são considerados macroscópicos, é comum simular propriedades mecânicas através do método de elementos finitos. [4] Para proteínas, membranas ou sistemas com dezenas de milhares de átomos, teorias como a dinâmica molecular são aplicadas para se obter a estrutura atômica da molécula. [5] Já em sistemas menores, da ordem de centenas de átomos, utiliza-se a Mecânica Quântica aplicada na Teoria do Funcional da Densidade (DFT), para se obter resultados relacionados à energia do sistema completo e propriedades eletrônicas. [6]

Um dos resultados da implementação da Teoria do Funcional da Densidade utilizado neste estudo, é a obtenção da função de onda do sistema, estando esta última relacionada ao orbital eletrônico. Assim, a princípio, poderíamos calcular qualquer observável físico (parâmetros medidos em laboratório) a partir desta função de onda.

Os recursos computacionais necessários foram supridos pelo cluster de computadores da Univap e com licença dos programas VASP. [7]

A Teoria do Funcional da Densidade permite uma investigação em escala atômica das moléculas em várias configurações elegendo a estrutura mais provável.

Na otimização das estruturas, foi utilizado o Algoritmo do Gradiente Conjugado e para o cálculo dos modos vibracionais, foi calculado a Matriz Hessiana que é a segunda derivada da energia no que se diz respeito às posições atômicas. As interações elétron-ion entre os átomos de H, O, C, S e Au, foram descritas pelo potencial Projector Augmented Wave (PAW) [8, 9] e as interações elétron-elétron, a Energia de Troca e Correlação, utilizando a Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA) [10]. Os orbitais foram expressos em uma base de ondas planas até a energia cinética de 400 eV. Os átomos eram considerados relaxados em suas posições, quando as forças que atuam sobre os íons eram menores do que 0.2 eV/Å.

Resultados

Simulou-se cada elemento do complexo isoladamente, para assim, obtermos a energia de adsorção na superfície da nanopartícula, e caracterizar a estabilidade de cada elemento.

Como modelo da superfície plana da nanopartícula de Au (figura 1), obteve-se a energia de -296,433 eV.

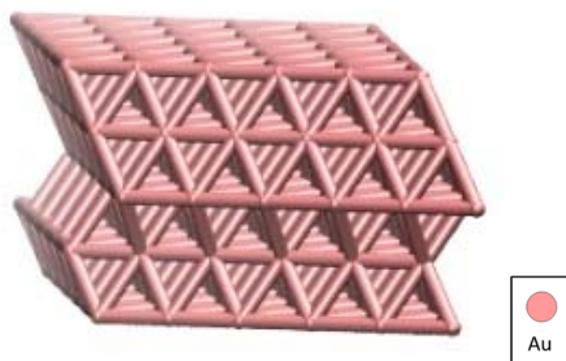


Figura 1: Superfície plana segmentada da nanopartícula de Au. Otimizada com energia de - 296.433 eV.

Fonte: Machado, N. C. F. (2012)

Simulou-se a adsorção do ligante chamado Ácido Lipóico (figura 2), na qual, se ligou a superfície de Au pelos átomos de S.

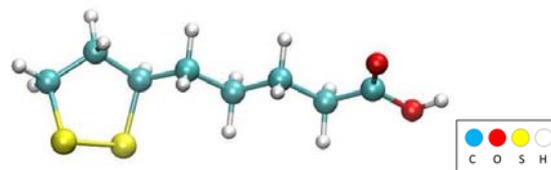


Figura 2: Estrutura do Ácido Lipóico. Otimizado com energia de -145.97 eV.

Fonte: Machado, N. C. F. (2013)

Este ligante é eficientemente utilizado para se adsorver proteínas uma vez que se conecta através de ligação peptídica.

No modelamento entre a nanopartícula de Au e o ácido lipóico, obteve-se a energia de otimização de -443.13 eV, conforme a figura 3.

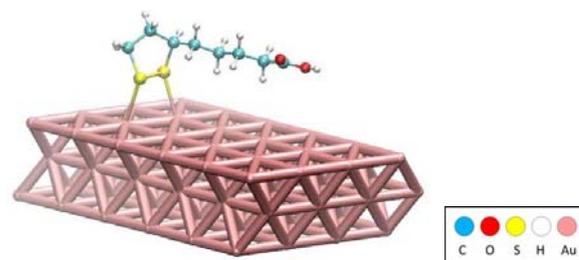


Figura 3: Superfície da nanopartícula de Au com ácido lipóico em dímero. Otimizada com energia de -443.13 eV.

Fonte: Machado, N. C. F. (2013)

Discussão

Como isoladamente, a nanopartícula apresentou energia de -296.433 eV, e o ácido lipóico energia de -145.966 eV, verifica-se que a soma da energia destas 2 estruturas gera -442.399 eV e demonstra que, quando comparado com estrutura única (-443.13 eV), esta apresenta energia mais negativa com superioridade de -0.730 eV.

O complexo foi considerado estável, pois, através dos cálculos de adsorção, foi possível verificar que o ponto de contato entre a nanopartícula de Au e o ácido lipóico manteve-se íntegro e com energia de adsorção negativa.

O uso da Teoria do Funcional da Densidade nos permitiu a realização de um estudo abrangente onde foi possível analisar o complexo estruturalmente estimando a localização de cada átomo do sistema. Através dos cálculos das forças interatômicas e da energia de formação do sistema, que direciona o processo de relaxação e reconstrução, avalia a estabilidade da estrutura e permite a seleção de moléculas em potencial, foi possível a análise e eleição de um complexo estável.

Há fortes evidências do impacto clínico e comercial dos sistemas de distribuição de drogas (drug delivery) [11], seu desenvolvimento é um dos principais desafios da engenharia de tecidos (nanotecnologia), que buscam formas de superá-los com a ajuda de nanomateriais, concebidos de modo a que possam atuar como sistemas biológicos eficientes e seguros [12, 13].

No entanto, mesmo depois de um rápido crescimento da nanotecnologia, a concepção de um sistema eficaz ainda é uma tarefa desafiadora, visto o complexo ambiente onde estes nanomateriais devem destinar-se e comunicar-se, ao mesmo tempo em que, se deve avaliar a toxicidade destes complexos de entrega. [14]

Conclusão

O complexo Nanopartículas de Au e ligante Ácido Lipóico se mostrou ser um veículo estável, que permite o acoplamento de medicamentos a partir de ligação peptídica. Para posteriores experimentos, na qual a área biomédica de nossa instituição se dedica, este estudo pôde contribuir para alicerçar os experimentos, o que gerou economia de tempo em laboratório, economia de insumos, direcionando o foco para pesquisas mais prováveis de sucesso.

Agradecimentos

Pesquisa desenvolvida com uso de recursos do cluster Hiper cubo (Projeto FINEP 01.10.0661-00, FAPESP 2011/13250-0, FAPESP 2013/17247-9, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) da Universidade do Vale do Paraíba.

Referências

- [1] Rotomskis R, Streckytė G, Karabanovas V. Nanodariniai diagnostikai ir gydymui: nanomedicinos link. Medicina, v. 42, p. 542-558, 2006.
- [2] Dev Kumar Chatterjee, Li Shan Fong, Yong Zhang. Nanoparticles in photodynamic therapy: An emerging paradigm. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 60, p. 1627-1637, 2008.
- [3] Wieder, M. E., et al. Intracellular photodynamic therapy with photosensitizer-nanoparticle conjugates: cancer therapy using a 'Trojan horse'. Photochem. Photobiol. Sci., v. 5, p. 727-734, 2006.
- [4] R.S. Lotti, A.W. Machado, E.T. Mazzeiro, J. Landre Júnior R Dental Press Ortodon Ortop Facial, v.11, n. 2, p. 35-43, 2006.
- [5] D. Frenkel e B. Smit, "Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications". Academic Press, 1996.
- [6] P.P. Favero, A.C. Ferraz, R. Miotto, Physical Review B, v. 77, 2008.
- [7] G. Kresse e J. Hafner. Phys. Rev. B 47, p. 558-561, 1993.
- [8] P.E. Blöchl, Phys. 50, 17953, 1994.
- [9] G. Kresse, J. Joubert, Phys. 59, 1758, 1999.
- [10] J.P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, Phys. Rev. Lett. 77 (1996) 3865-3868.
- [11] Anselmo A. C, Mitragotri S. An overview of clinical and commercial impact of drug delivery systems. Journal of Controlled Release, vol. 190, 2014, pages 15-28.
- [12] Sokolova V., Epple M. Bioceramic nanoparticles for tissue engineering and drug delivery Tissue Engineering Using Ceramics and Polymers. Second Edition, 2014, pages 633-647.
- [13] Hui Zheng, Sai Li, Yuji Pu, Yusi Lai, Bin He, Zhongwei Gu. Nanoparticles generated by PEG-Chrysin conjugates for efficient anticancer drug delivery. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 87, issue 3, 2014, pages 454-460.
- [14] Anil Kumar, Xu Zhang, Xing-Jie Liang. Gold nanoparticles: Emerging paradigm for targeted drug delivery system. Biotechnology Advances, vol. 31, issue 5, 2013, pages 593-606.