

# STUDIO DELLE INTERAZIONI MOLECOLARI NEI COMPLESSI DI INCLUSIONE TRA IL POLI(ARIL ETERE) E AMINOACIDI O NUCLEOTIDI

Sabrina Pricl, Silvia Gelmetti e Maurizio Fermeglia,

Dipartimento di Ingegneria Chimica, dell'Ambiente e delle Materie Prime, Università degli Studi di Trieste,  
Piazzale Europa 1, 34127 Trieste

## INTRODUZIONE

Recentemente, i dendrimeri sono stati oggetto di un rinnovato interesse da parte della comunità scientifica. Infatti, a dispetto delle difficoltà sostanziali incontrate nella loro sintesi, numerosi tipi diversi di tali sostanze sono stati attualmente sintetizzati e, sebbene solo in parte, caratterizzati. I dendrimeri possiedono tre componenti strutturali principali: un nucleo centrale (core), una zona interna ed una zona esterna. Per definizione o costruzione, queste tre componenti sono intimamente legate e riflettono una genealogia molecolare peculiare. Man mano che si progredisce dal core verso uno stadio di dendrimero avanzato (o generazione) questa genealogia molecolare si manifesta in una serie di modi. Così, iniziando dal core, i dettagli molecolari sono trascritti ed immagazzinati in maniera sequenziale per dare origine a quelle caratteristiche della zona interna e, quindi, a quelle della zona esterna che divengono a loro volta delle peculiarità di quella determinata famiglia di dendrimeri. In tal modo, le caratteristiche tipiche della zona interna di un dendrimero, quali la grandezza, la composizione chimica, la flessibilità e la topologia si sviluppano e si manifestano come informazioni molecolari immagazzinate. La zona interna di un dendrimero è praticamente una fondamento sulla quale le proprietà molecolari superficiali quali la forma, la reattività, la stechiometria, la congestione, la flessibilità e il carattere frattale possono essere generate e controllate. Queste caratteristiche superficiali si possono a loro volta riflettere in diversi, interessanti attributi molecolari come, ad esempio, il riconoscimento divergente e le proprietà eso-recetttrici, proprietà queste che trovano il corrispondente biologico nel riconoscimento antigene-anticorpo le interazioni proteina-proteina (1).

Questi, tuttavia, non sono gli unici aspetti affascinanti di queste molecole. Infatti, moltissime altre potenziali applicazioni possono originare dalla loro inusuale architettura, e tali usi includono la catalisi su nanoscala, l'impiego quali agenti di contrasto e di immuno-diagnostica, agenti per il rilascio controllato di farmaci, sensori chimici, materiali per la processazione di informazioni, polimeri ad elevate performance e mezzi di separazione. Inoltre, grazie alle loro uniche proprietà strutturali, le molecole dendrimeriche possono anche dar luogo a complessi di inclusionen con diverse molecole ospite quali farmaci convenzionali, L-alfa-aminoacidi e principi attivi a base peptico-proteica. Questa abilità di incapsulare molecole biologicamente attive potrebbe, almeno in linea di principio, essere sfruttata per abbassare il grado di tossicità e gli effetti collaterali che limitano l'uso di vari farmaci, per aumentarne la biodisponibilità e persino nella mediazione delle interazioni recettore-substrato (2).

E' proprio in quest'ottica che, in questo lavoro, abbiamo affrontato lo studio dettagliato di modellazione molecolare dei complessi di inclusione di tipo host-guest tra il dendrimero sintetico poli(aril etere), denominato VAL-OH, e una serie di L-alfa-aminoacidi e nucleotidi, con lo scopo di comprendere la natura della driving force ed il meccanismo che sottendono alla loro formazione.

## DETTAGLI COMPUTAZIONALI

Tutte le simulazioni sono state eseguite su una Silicon Graphics Origin 200 usando il software *Cerius<sup>2</sup>* (v.4.2) e *Materials Studio*, entrambi della Molecular Simulations Inc. (san Diego, USA). La generazione di modelli molecolari accurati della serie dendrimerica è stata ottenuta con la seguente procedura. Per ciascun dendrimero, la molecola è stata costruita e la sua geometria è stata ottimizzata in accordo con i principi della meccanica molecolare usando il *force field* COMPASS (3). La carica totale sulle molecole è stata posta uguale a zero, e la distribuzione delle cariche parziali all'interno di ciascuna molecola è stata determinata con il metodo di Rappé e Goddard (4). L'energia è stata minimizzata ricorrendo al metodo di Newton-Raphson; seguendo tale procedura, le derivate atomiche quadratiche medie nelle regioni a bassa energia erano inferiori a 0.05 kcal/mole Å. Le interazioni di non-legame a lungo raggio sono state trattate applicando opportune distanze di cut-off e, per evitare discontinuità indotte dalla presenza dei cut-off, è stato usato il metodo delle spline cubiche. I parametri delle distanze e delle energie di van der Waals per le interazioni di non legame tra atomi eteronucleari sono stati calcolati con la regola di combinazione di tipo 6<sup>th</sup>-power proposta da Walman e Hagler (5).

I dettagli strutturali delle molecole isolate e dei relativi complessi sono stati ottenuti da simulazioni di dinamica molecolare (MD) nell'insieme canonico (NVT) a 298K. Ogni simulazione MD è stata iniziata assegnando un set di velocità atomiche iniziali in accordo con una distribuzione di tipo Maxwell-Boltzmann a  $2xT$ , essendo T la temperatura della simulazione. La temperatura è stata controllata con un accoppiamento debole ad un bagno (6), con costante di accoppiamento  $\tau_T=0.01$  ps. Le equazioni Newtoniane del moto sono state integrate usando l'algoritmo di *leapfrog Verlet* (7), usando un intervallo di integrazione pari a 1 fs. Poiché le cariche parziali assegnate con il metodo di Rappé e Goddard dipendono dalla geometria molecolare, esse sono state regolarmente aggiornate ogni 100 passi di simulazione per l'intero corso della simulazione stessa. Ogni simulazione di MD è consistita in una fase di equilibratura, durante la quale il processo di equilibratura è stato seguito monitorando il comportamento dell'energia potenziale e cinetica, ed una fase successive di raccolta dati. In quasi tutti i casi, le componenti dell'energia hanno iniziato ad oscillare attorno a valori stazionari attorno a 30 ps. Pertanto, fasi di equilibratura pari a 100 ps e fasi di acquisizione dati pari a 300 ps sono state giudicate sufficienti per garantire l'ottenimento di risultati accurati.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Una delle caratteristiche strutturali dei dendrimeri è l'evoluzione della struttura e della forma che si ha passando dalla prima generazione alle successive. Per generazioni piccole, le molecole hanno una struttura amorfa mentre, a mano a mano che la dimensione della molecola aumenta, è evidente la tendenza ad assumere una forma sferica, come si può notare dalle immagini riportate in Figura 1, che illustra i modelli molecolari ottimizzati, rispettivamente, per la generazione 1, 2 e 3 del dendrimero VAL-OH. L'analisi dei rapporti degli assi d'inerzia per tali dendrimeri ha rivelato che la transizione da una struttura amorfa ad una pressoché sferica si verifica, per questa serie di molecole, tra la terza e la quarta generazione (i.e.,  $I_i/I_j \rightarrow 1$ ), così come la generazione critica  $G_c$  ottenuta, seguendo la procedura proposta da de Gennes, diagrammando il rapporto tra l'area del dendrimero e il numero di gruppi terminali corrispondenti a ciascuna generazione in funzione del numero di generazioni, risulta essere proprio la quarta. Un'indagine più attenta dei dati, in particolare di quelli relativi al raggio di girazione, rivela che  $R_g$  cresce linearmente con la generazione; inoltre, il logaritmo del peso molecolare può essere posto, con buona approssimazione, in relazione lineare con il logaritmo del raggio di girazione dei dendrimeri, e che la pendenza di

tale retta, che rappresenta la dimensione frattale di questa serie di polimeri, è pari a 2.76. Ricordando che per le proteine, e per gran parte delle molecole biologiche, la dimensione frattale  $d_f$  è un numero prossimo a 2.7 (8), il risultato può essere considerato promettente per l'incapsulamento di aminoacidi e nucleotidin in tali macromolecole.

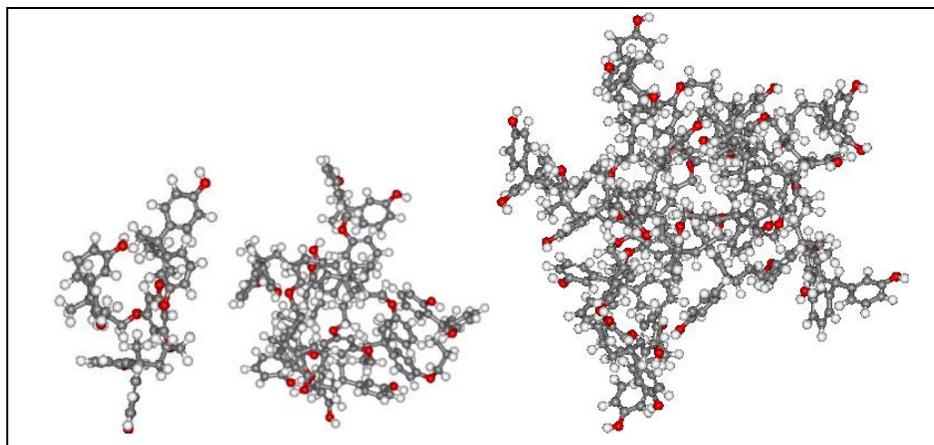


Figura 1: Modelli molecolari della generazione 1 (sinistra), della generazione 2 (al centro) e della generazione 3 (a destra) del dendrimero VAL-OH considerato..

L'analisi condotta mediante una procedura basata sull'algoritmo di Connolly modificato (9) ha permesso di concludere che, già dalla seconda generazione, in VAL-OH è in grado di ospitare al suo interno le molecole ospiti da noi considerate, ovvero la serie degli L-alfa-aminoacidi Ala, Cys, Phe, Lys, Pro, Asn e Tyr, ed i seguenti nucleotidi dAMP, dCMP, dGMP, dTMP e dUMP.

Le energie di complessazione VAL-OH/molecole ospiti sono state calcolate dai valori delle componenti dell'energia di non legame ottenute dalle simulazioni di dinamica molecolare usando la seguente relazione:  $E_{compl} = E_{host/guest}^{nl} - E_{host}^{nl} - E_{guest}^{nl}$ . La Tabella 1 riporta i valori calcolati per tutte le serie di composti considerati, mentre la Figura 2 illustra il modello molecolare relativo al complesso di inclusione tra il VAL-OH e l'aminoacido Ala.

Host	$E_{compl}$ (kcal/mole)	Host	$E_{compl}$ (kcal/mole)
Ala	-8.4	Tyr	13.1
Cys	-9.9	dAMP	-2.0
Phe	-16.5	dCMP	-4.0
Lys	19.2	dGMP	-4.3
Pro	-0.1	dTMP	-2.9
Asn	-9.8	dUMP	-3.2

Tabella 1. Valori dell'energia di complessazione tra la seconda generazione del VAL-OH e tutte le molecole ospiti considerate.

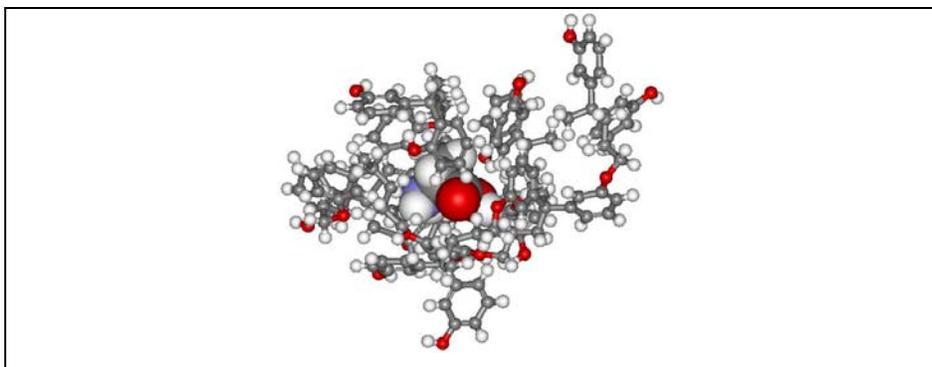


Figura 2: Modello molecolare del complesso di inclusione tra la seconda generazione del VAL-OH e l'aminoacido Ala.

Come si può vedere dalla Tabella 1, tutte le energie di complessazione sono negative, e quindi favorevoli, tranne che per due aminoacidi, la lisina e la tirosina. Nel caso della lisina, in particolare, la sua struttura lineare a catena lunga fa sì che il dendrimero non riesca, pur piegandosi per massimizzare le interazioni favorevoli di van der Waals ed elettrostatiche, a trattenerla al suo interno. Per questi due aminoacidi occorre ricorrere alla terza generazione del dendrimero VAL-OH per ottenere un complesso di inclusione stabile ( $E_{compl} = -5.3$  kcal/mole per la Lys e  $-12.0$  per la Tyr, rispettivamente). La Figura 3 riporta il confronto tra i modelli molecolari del complesso di inclusione tra il VAL-OH e la tiroxina.

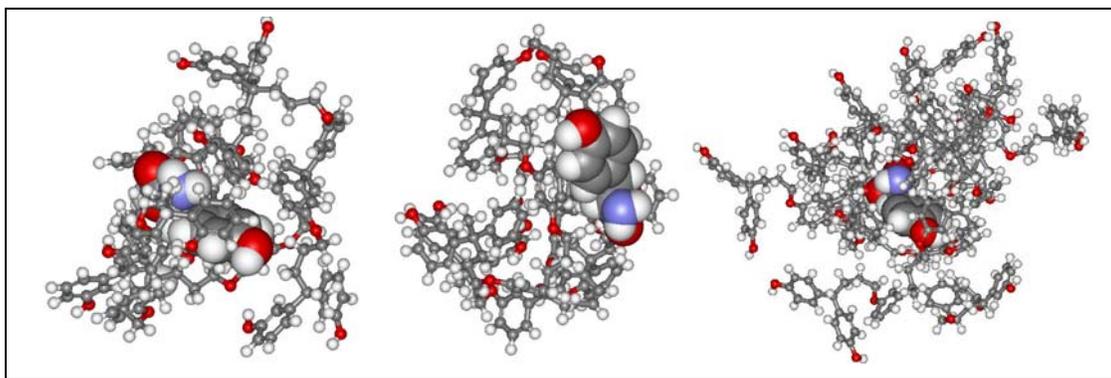


Figura 3: Modelli molecolari del complesso di inclusione tra la seconda generazione del VAL-OH e la Tyr prima della simulazione dinamica (a sinistra), dopo 300 ps (al centro) e modello molecolare del complesso di inclusione tra la terza generazione del VAL-OH e la Tyr dopo 300 ps di simulazione dinamica.

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- (1) Tomalia, D.A., Naylor, A.M., Goddard, W.A. III, *Angew. Chem. Engl. Ed.*, 29, 138 (1990).
- (2) Tomalia, D.A., Durst, H.D., *Topics in Current Chemistry*, 165, 193 (1993).
- (3) Sun, H., *J. Phys. Chem.*, 102, 7338 (1998).
- (4) Rappé, A. K. and Goddard III, W. A., *J. Phys. Chem.*, 95, 3358 (1991).
- (5) Waldman, M. and Hagler, A. T., *J. Comput. Chem.*, 14, 1077 (1993).
- (6) Berendsen, H.J.C., Postma, J.P.M., Di Nola, A., van Gunsteren, W.F. and Haak, J.R., *J. Chem. Phys.*, 81, 3684 (1984).
- (7) Verlet, L., *Phys. Rev.*, 159, 98 (1967).
- (8) Birdi, K.S., *Fractals in Chemistry, Geochemistry and Biophysics*, Plenum Publishing Corporation, New York (1993).
- (9) Blasizza, E., Fermeglia, M., Pricl, S. *Molecular Simulation*, 24, 167 (2000).