

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS EM BIOCÊNCIAS

HANDRIELA HOFF DE OLIVEIRA SOBRINHO

**INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DA UTILIZAÇÃO DO DENDRÍMERO DE
POLIAMIDOAMINA (PAMAM) PARA O TRANSPORTE E
LIBERAÇÃO DO FÁRMACO DOXORRUBICINA**

TOLEDO

2023

HANDRIELA HOFF DE OLIVEIRA SOBRINHO

**INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DA UTILIZAÇÃO DO DENDRÍMERO
DE POLIAMIDOAMINA (PAMAM) PARA O TRANSPORTE E
LIBERAÇÃO DO FÁRMACO DOXORRUBICINA**

**THEORETICAL INVESTIGATION OF THE USE OF
POLYAMIDOAMINE DENDRIMER (PAMAM) FOR THE
TRANSPORT AND RELEASE OF THE DRUG DOXORUBICIN**

Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias em Biociências.
Orientação: Dr. Ernesto Osvaldo Wrasse
Coorientação: Dr. Renato Eising

TOLEDO

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Toledo**



HANDRIELA HOFF DE OLIVEIRA SOBRINHO

INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DA UTILIZAÇÃO DO DENDRÍMERO DE POLIAMIDOAMINA (PAMAM) PARA O TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DO FÁRMACO DOXORRUBICINA.

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologias Em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Em Biociências.

Data de aprovação: 05 de Dezembro de 2022

Dr. Ernesto Osvaldo Wrasse, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Douglas Jose Coutinho, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Joao Batista De Oliveira, Doutorado - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 05/12/2022.

RESUMO

Um dos métodos de tratamento do câncer é por uso de drogas quimioterápicas, pois se apresentam tóxicas às células cancerosas, porém, em inúmeros casos possuem baixa especificidade e elevada toxicidade, atingindo também as células saudáveis do organismo. A doxorubicina é um destes fármacos efetivos no tratamento de câncer, mas com toxicidade ao sistema cardiovascular. Um direcionamento ativo deste fármaco por um sistema nanoparticulado pode proporcionar um tratamento preciso com possível redução dos efeitos colaterais. Este trabalho descreve as propriedades eletrônicas e estruturais das interações que ocorrem num sistema nanoparticulado com potencial entrega de fármaco por meio das simulações computacionais *ab initio*, baseada na teoria do funcional da densidade, utilizando o código SIESTA, no qual avalia-se a energia de formação, níveis energéticos e densidade de carga. O sistema de entrega é formado por uma molécula de dendrímero PAMAM (G0), o fármaco doxorubicina (DOXO) e duas moléculas de direcionamento, sendo o ácido fólico (FA) e o ácido cis-aconítico (CIS). As interações são compreendidas por etapas de complexidade da estrutura, iniciando pela interação apenas do dendrímero PAMAM e da doxorubicina (G0-DOXO), seguido do dendrímero PAMAM acetilado e conjugado ao ácido fólico com doxorubicina (G0.NHAc.FA-DOXO) e concluindo com o dendrímero PAMAM acetilado, conjugado ao ácido fólico interagindo com a doxorubicina ligada ao ácido cis-aconítico (G0.NHAc.FA-DOXO.CIS). Submeteu-se as estruturas propostas a três modelos de posição de interação para verificação da formação de ligação de hidrogênio, sendo que não aplicou-se nenhuma restrição aos átomos e aos spins durante a otimização. Dos resultados, observou-se que em todas as estruturas e modelos não houve transferência de carga significativa. As distâncias de ligação encontram-se na ordem de 2,5 Å. Obtiveram-se energias de formação negativas, indicando a formação de sistemas de transporte estáveis. A posição das bandas energéticas HOMO e LUMO em uma mesma estrutura nos três modelos mantiveram-se semelhantes, gerando um gap de energia constante, porém, acima do orbital HOMO e abaixo do orbital LUMO as posições das bandas eletrônicas apresentaram-se diferentes de um modelo para o outro, demonstrando a presença de interações. A densidade de carga demonstrou que no sistema de transporte a densidade de carga do orbital HOMO provém do sistema dendrídico e do orbital LUMO provém da doxorubicina, exceto para o Modelo 2 da estrutura G0.NHAc.FA-DOXO.CIS, em que tanto a doxorubicina quanto o dendrímero apresentaram densidade de carga no orbital HOMO. Com estes resultados; é possível confirmar a formação das ligações de hidrogênio entre o dendrímero PAMAM e a doxorubicina, o que indica um sistema promissor para transporte seletivo e específico do fármaco no qual contribuiria para a redução de sua toxicidade e na precisão do tratamento.

Palavras-chave: transporte de fármaco; dendrímero PAMAM; doxorubicina; propriedades eletrônicas e estruturais; teoria do funcional da densidade.

ABSTRACT

One of the methods of treating cancer is the use of chemotherapy drugs, as they are toxic to cancer cells, but in many cases they have low specificity and high toxicity, also affecting healthy cells in the body. Doxorubicin is one of these drugs effective in the treatment of cancer, but with toxicity to the cardiovascular system. An active drug targeting by a nanoparticle system can provide a precise treatment with possible reduction of side effects. This work describes the electronic and structural properties of the interactions that occur in a nanoparticle system with potential drug delivery through computational simulations *ab initio*, based on the density functional theory, using the SIESTA code, in which the formation energy is evaluated, energy levels and charge density. The delivery system is formed by a PAMAM dendrimer molecule (G0), the drug doxorubicin (DOXO) and two targeting molecules, folic acid (FA) and cis-aconitic acid (CIS). The interactions are understood by stages of structure complexity, starting with the interaction of only the PAMAM dendrimer and doxorubicin (G0-DOXO), followed by the PAMAM dendrimer acetylated and conjugated to folic acid with doxorubicin (G0.NHAc.FA-DOXO) and concluding with the acetylated PAMAM dendrimer, conjugated to folic acid interacting with doxorubicin linked to cis-aconitic acid (G0.NHAc.FA-DOXO.CIS). The proposed structures were submitted to three models of interaction position to verify the formation of hydrogen bonds, and no restrictions were applied to atoms and spins during the optimization. From the results, it was observed that in all structures and models there was no significant load transfer. Connection distances are on the order of 2.5 Å. Negative formation energies were obtained, indicating the formation of stable transport systems. The position of the HOMO and LUMO energy bands in the same structure in the three models remained similar, generating a constant energy gap, however, above the HOMO orbital and below the LUMO orbital, the positions of the electronic bands were different from a model to the other, demonstrating the presence of interactions. The charge density showed that in the transport system the charge density of the HOMO orbital comes from the dendritic system and the LUMO orbital comes from doxorubicin, except for Model 2 of the G0.NHAc.FA-DOXO.CIS structure, in which both the doxorubicin and dendrimer showed charge density in the HOMO orbital. According to these results; it is possible to confirm the formation of hydrogen bonds between PAMAM dendrimer and doxorubicin, which indicates a promising system for selective and specific drug transport in which it would contribute to the reduction of its toxicity and the precision of the treatment.

Keywords: drug transport; PAMAM dendrimer; doxorubicin; electronic and structural properties; density functional theory.

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1 - Classificação geral das estruturas poliméricas</u>	16
<u>Figura 2 - Estrutura do dendrímero poliamidoamina (PAMAM) de geração 1</u>	17
<u>Figura 3 - Representação da estrutura geral de um dendrímero</u>	17
<u>Figura 4 - Esquema de possíveis reações que uma molécula de dendrímero pode apresentar como encapsulamento e ligação e interações com diferentes grupos</u>	19
<u>Figura 5 - Estrutura da doxorubicina</u>	20
<u>Figura 6 - Mecanismo de ação da doxorubicina - NADH (dinucleótido de nicotinamida adenina reduzido); NAD⁺ (dinucleótido de nicotinamida adenina oxidado); ADP (difosfato de adenosina); ATP (trifosfato de adenosina); Pi (fosfato inorgânico)</u>	21
<u>Figura 7 - Estrutura química do dendrímero PAMAM G0 no estado relaxado, sendo os átomos representados em forma de esfera</u>	30
<u>Figura 8 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO para o G0</u>	30
<u>Figura 9 - Estrutura química do dendrímero G0.NHAc no estado relaxado</u>	32
<u>Figura 10 - Bandas eletrônicas e densidade de carga no orbital HOMO e LUMO do G0.NHAc</u>	32
<u>Figura 11 - Estrutura química do ácido fólico</u>	33
<u>Figura 12 - Estrutura química do ácido fólico ligado ao G0.NHAc</u>	34
<u>Figura 13 - Mecanismo de absorção por meio de endocitose do conjugado de folato em uma célula cancerígena</u>	35
<u>Figura 14 - Bandas eletrônicas e densidade de carga do orbital HOMO e LUMO do G0.NHAc.FA</u>	36
<u>Figura 15 - Estrutura química da doxorubicina no estado relaxado</u>	37
<u>Figura 16 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO da doxorubicina</u>	38
<u>Figura 17 - Estrutura química da doxorubicina conjugada ao ácido cis-aconítico</u>	39
<u>Figura 18 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO da DOXO.CIS</u>	40
<u>Figura 19 - Níveis energéticos das estruturas DOXO e DOXO.CIS</u>	40
<u>Figura 20 - Modelos de posição de interação entre o sistema dendrídico e a doxorubicina</u>	41
<u>Figura 21 - Modelo 1 de interação entre PAMAM e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera</u>	42
<u>Figura 22 - Modelo 2 de interação entre PAMAM e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera</u>	42
<u>Figura 23 - Modelo 3 de interação entre PAMAM e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera</u>	43
<u>Figura 24 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 1</u>	46
<u>Figura 25 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 2</u>	46
<u>Figura 26 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 3</u>	47
<u>Figura 27 - Níveis energéticos dos três modelos</u>	48
<u>Figura 28 - A direita, densidade de carga no dendrímero PAMAM e na doxorubicina antes da ligação de hidrogênio. No Modelo 1, ao centro, após a ligação</u>	49

<u>Figura 29 - A direita, densidade de carga no dendrímero PAMAM e na doxorubicina antes da ligação de hidrogênio. No Modelo 2, ao centro, após a ligação.</u>	50
<u>Figura 30 - A direita, densidade de carga no dendrímero PAMAM e na doxorubicina antes da ligação de hidrogênio. No Modelo 3, ao centro, após a ligação.</u>	51
<u>Figura 31 - Modelo 1 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.</u>	52
<u>Figura 32 - Modelo 2 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.</u>	53
<u>Figura 33 - Modelo 3 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.</u>	53
<u>Figura 34 - Ligação de hidrogênio no Modelo 3, com distância de 2,38 Å, em que o H provem da DOXO e o O provem do G0.NHAc.FA.</u>	55
<u>Figura 35 - Ligação de hidrogênio no Modelo 3, com distância de 2,70 Å, em que o H provem do G0.NHAc.FA e o O provem da DOXO.</u>	56
<u>Figura 36 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 1.</u>	58
<u>Figura 37 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 2.</u>	59
<u>Figura 38 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 3.</u>	60
<u>Figura 39 - Diferença na distribuição de bandas entre os modelos 1, 2 e 3 na estrutura G0.NHAc.FA-DOXO.</u>	61
<u>Figura 40 - Modelo 1 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS sendo os átomos representados em forma de esfera.</u>	62
<u>Figura 41 - Modelo 2 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS, sendo os átomos representados em forma de esfera.</u>	63
<u>Figura 42 - Modelo 3 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS, sendo os átomos representados em forma de esfera.</u>	63
<u>Figura 43 Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 1.</u>	66
<u>Figura 44 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 2.</u>	67
<u>Figura 45 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 3.</u>	68
<u>Figura 46 - Diferença na distribuição de bandas entre os modelos 1, 2 e 3 na estrutura G0.NHAc.FA-DOXO.CIS.</u>	69

SUMÁRIO

<u>1</u>	<u>INTRODUÇÃO</u>	11
<u>2</u>	<u>OBJETIVOS</u>	13
<u>2.1</u>	<u>OBJETIVO GERAL</u>	13
<u>2.2</u>	<u>OBJETIVO ESPECÍFICOS</u>	13
<u>3</u>	<u>JUSTIFICATIVA</u>	15
<u>4</u>	<u>REFERENCIAL TEÓRICO</u>	16
<u>4.1</u>	<u>DENDRÍMERO PAMAM</u>	16
<u>4.2</u>	<u>DOXORRUBICINA</u>	19
<u>4.3</u>	<u>SIMULAÇÕES</u>	22
<u>4.4</u>	<u>PRINCÍPIOS E TÉCNICA</u>	23
<u>5</u>	<u>METODOLOGIA</u>	26
<u>5.1</u>	<u>MÉTODO</u>	26
<u>5.2</u>	<u>SIMULAÇÕES</u>	27
<u>6</u>	<u>RESULTADOS E DISCUSSÕES</u>	28
<u>6.1</u>	<u>DENDRÍMERO PAMAM</u>	28
<u>6.1.1</u>	<u>Dendrímtero pamam acetilado</u>	31
<u>6.1.2</u>	<u>Dendrímtero pamam acetilado e conjugado ao ácido fólico</u>	33
<u>6.2</u>	<u>DOXORRUBICINA</u>	37
<u>6.2.1</u>	<u>Doxorrubicina ligada ao ácido cis-aconítico</u>	38
<u>6.3</u>	<u>INTERAÇÃO ENTRE O SISTEMA DENDRÍDICO E O FÁRMACO DOXORRUBICINA</u>	41
<u>6.3.1</u>	<u>Interação do dendrímtero PAMAM G0 com a doxorrubicina</u>	41
<u>6.3.2</u>	<u>Interação do dendrímtero PAMAM G0 acetilado e ligado ao ácido fólico com a doxorrubicina</u>	52
<u>6.3.3</u>	<u>Interação do dendrímtero PAMAM G0 acetilado e ligado ao ácido fólico com a doxorrubicina ligada ao ácido cis-aconítico</u>	62
<u>7</u>	<u>CONCLUSÃO</u>	70
	<u>REFERÊNCIAS</u>	72

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que envolve a pesquisa e o desenvolvimento de materiais em escala nanométrica, como as nanopartículas (NPs)[1]. No entanto, a nanociência pode ser aplicada em diferentes campos, sendo o diagnóstico médico e o tratamento dois deles [2], isso porque o tamanho (1-100 nm), forma e superfície característica das NPs desempenham um papel importante na sua biodistribuição in vivo. [3]. A utilização destes sistemas proporciona uma melhor entrega de medicamentos pouco solúveis em água e uma entrega direcionada a alvos específicos, o que diminui a possibilidade de efeitos colaterais graves que os pacientes com câncer frequentemente experimentam [4,5]. Em geral, os sistemas de nanopartículas para distribuição direcionada de drogas podem ser divididos em duas categorias: direcionamentos passivo e ativo. O direcionamento passivo ocorre devido à natureza rápida e descontrolada dos tecidos tumorais, o que resulta em um sistema de drenagem linfática com vazamento e fenestração muito maior entre as células da parede dos vasos sanguíneos da vasculatura tumoral (aquelas sendo de 20-150 nm, enquanto em tecidos normais eles seriam inferiores a 10 nm). Esse fenômeno é chamado de permeabilidade e retenção aprimoradas (EPR), como resultado, NPs se acumulam no local do tumor [6,7,8].

No entanto, pode-se alcançar o direcionamento ativo projetando a superfície da NP de uma forma que seja conjugada a ligantes de direcionamento - ou frações -, de modo que reconhecerá especificamente e terá como alvo células tumorais. As características do ligante são importantes para o tempo de circulação, afinidade, captação celular e extravasamento. Dessa forma, vários materiais podem ser usados como transportadores, dependendo de suas singularidades tanto quanto do tumor, alguns exemplos de ligantes são proteínas, peptídeos, anticorpos, carboidratos [9,6,7]. As estruturas das NPs têm vários tamanhos e formas, incluindo esferas, estruturas ramificadas, cascas, tubos, fulerenos, emulsões e lipossomas. As singularidades das partículas diferem em termos de capacidade de carga de drogas, estabilidade, taxas de liberação de drogas e capacidade de entrega direcionada, mas geralmente são constituídas de três partes: um material constituinte do núcleo, uma carga útil terapêutica e modificadores de superfície biológica para melhorar a biodistribuição e o tumor segmentação [10,11].

Atualmente, há uma diversidade de sistemas NP sendo estudados para a terapêutica do câncer, incluindo dendrímeros [2,4]. Estas são estruturas poliméricas simetricamente

ramificadas em forma de árvore com uma molécula de núcleo central, rodeadas por gerações radialmente ligadas que possuem grupos funcionais em suas superfícies terminais [10,12]. Seus pontos de ramificação, tamanho nanométrico, grupos funcionais externos, alta solubilidade em água, biocompatibilidade e polivalência afetam seu grau de ligação com frações ou lipossomas preenchidos com compostos de drogas de entrega e os habilitam como nanoveículos promissores para aplicação biomédica [12, 13].

A complexidade e o alto custo na obtenção de sistemas dendrídicos na entrega de fármacos busca nas simulações a confirmação da viabilidade reacional, pois permite avaliar e prever em termos de distância de ligação, energia de formação, transferência de carga, níveis energéticos e da densidade de carga se o sistema é estável, com acurácia e precisão. Os resultados obtidos por meio dos modelos matemáticos auxiliam e direcionam estudos na entrega e transporte de fármacos de forma mais efetiva e consequentemente em tratamentos mais eficazes.

2 OBJETIVOS

O nanosistema de entrega terapêutica a ser estudado é formado por uma molécula de dendrímero PAMAM de geração zero e pelo fármaco doxorrubicina, utilizando ácido fólico e o ácido cis-aconítico como moléculas direcionadoras. Este sistema carregador será avaliado por simulações computacionais baseadas na teoria do funcional da densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*), a fim de compreender suas interações e estabilidade.

2.1 Objetivo geral

Este trabalho tem por objetivo compreender as interações intermoleculares de um sistema nanoparticulado polimérico de potencial entrega de fármaco na terapia do câncer por meio de simulações computacionais utilizando o software SIESTA.

2.2 Objetivo específicos

- Avaliar as propriedades estruturais do dendrímero PAMAM de geração zero e do fármaco doxorrubicina isoladamente;
- Propor três modelos de interação por ligação de hidrogênio, entre o dendrímero PAMAM de geração zero e o fármaco doxorrubicina para realizar as simulações;
- Submeter à simulação as estruturas abaixo:
 - 1) Dendrímero PAMAM G0 (G0.NH₂)
 - 2) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados (G0.NHAc)
 - 3) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados + ácido fólico (G0.NHAc.FA)
 - 4) Doxorrubicina (DOXO)
 - 5) Doxorrubicina + ácido cis-aconítico (DOXO.CIS)
 - 6) Dendrímero PAMAM G0 + DOXO (G0-DOXO)

- 7) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados + um grupo ligado ao ácido fólico + e um grupo ligado a doxorrubicina (G0.NHAc.FA-DOXO)
- 8) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados + um grupo ligado ao ácido fólico + e um grupo ligado a doxorrubicina com o ácido cis-aconítico (G0.NHAc.FA-DOXO.CIS)

- Avaliar e comparar os modelos propostos em termos de distância de ligação, energia de formação, transferência de carga, níveis energéticos e densidade eletrônica.

3 JUSTIFICATIVA

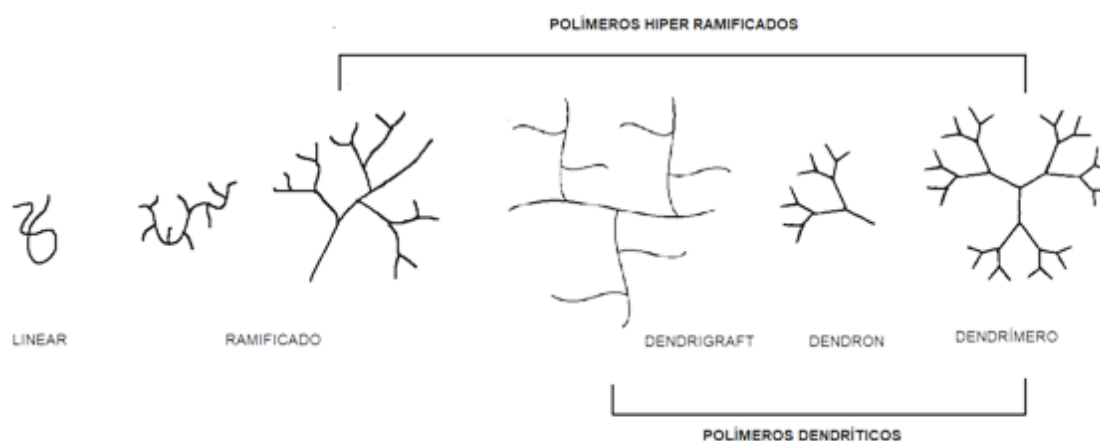
Compostos de estruturas complexas demandam um custo operacional elevado para síntese e posterior elucidação. A modelagem computacional é um meio rápido e de baixo custo de confirmar a viabilidade de produção de um novo material e de conhecer suas propriedades eletrônicas e estruturais. Neste trabalho o código de simulação SIESTA possibilita compreender as interações intermoleculares que ocorrem entre o dendrímero PAMAM, o fármaco doxorrubicina e as moléculas direcionadoras (ácido fólico e ácido cis-aconítico) comparando-os com suas propriedades antes da formação das ligações de hidrogênio. Os parâmetros de energia de formação, transferência de carga, níveis energéticos e densidade eletrônica caracterizam o sistema e verificam o potencial para transporte do fármaco.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

O uso de sistemas dendrídicos para terapia antitumoral é vantajoso, e há muito a ser explorado e compreendido para validar seu uso clínico. Apesar da aprovação de algumas formulações baseadas em nanopartículas para tratamento do câncer e do aumento no número de estudos envolvendo esses tipos de sistemas de administração, o mecanismo de ligação e transporte dos dendrímeros ainda não foi totalmente elucidado. Nesta seção revisam-se alguns conceitos e mecanismos que envolvem o transporte da doxorubicina.

4.1 Dendrímtero PAMAM

Os polímeros podem ser classificados como lineares, ramificados e hiper ramificados, conforme representado na figura 1. Na classe dos polímeros hiper ramificados encontram-se os dendrímeros; apresentam estrutura homogênea bem definida, radialmente simétrica e altamente ramificada.[14]

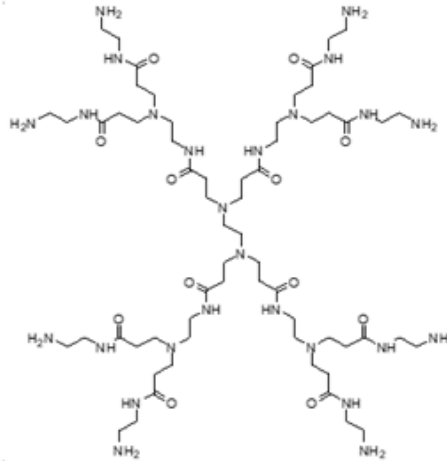


Fonte: Boas et. al., 2006.

A palavra dendrímtero deriva da palavra grega *dendron*, que significa árvore, e *meros*, que significa parte, sendo que a representação dessa molécula no espaço é semelhante a copa de uma árvore, envolvendo camadas concêntricas ao centro inicial desta molécula.[15,16]

Em 1985, Tomalia e colaboradores sintetizaram os poliamidoamina (PAMAM), Figura 2, até a décima geração e foi nesse trabalho que essas moléculas foram nomeadas como dendrímeros. [17,18]

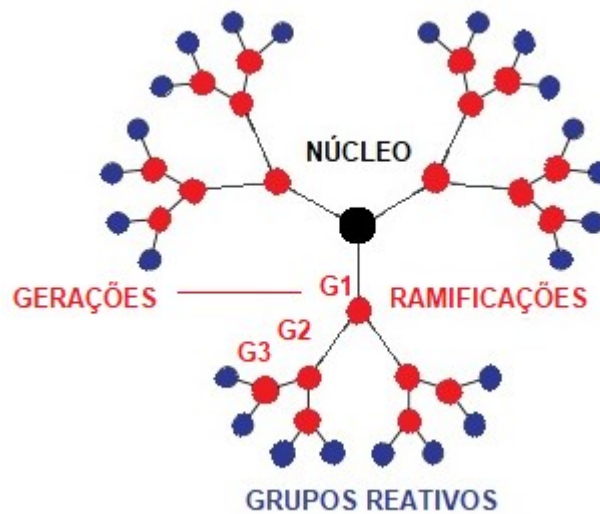
Figura 2 - Estrutura do dendrímero poliamidoamina (PAMAM) de geração 1.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Os dendrímeros são formados por três partes principais: núcleo, camadas interiores ou ramificações e uma camada externa, formada por um grupo reativo ou uma superfície funcional [19], conforme Figura 3.

Figura 3 - Representação da estrutura geral de um dendrímero.



Fonte: Bhattacharya et. al., 2013.

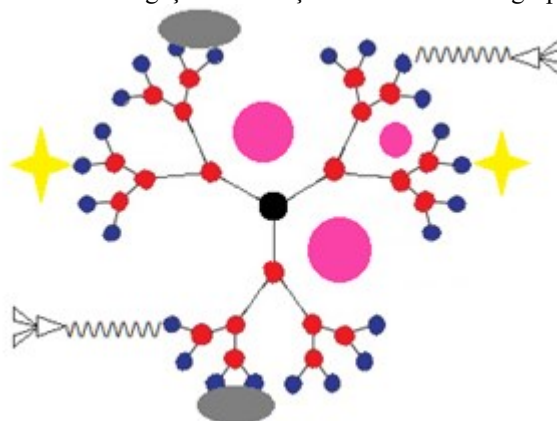
A escolha do núcleo iniciador afeta diretamente a forma que o dendrímero é sintetizado, sendo esférica com uma molécula de NH_3 ou elíptica com uma molécula de alquilamina, por exemplo. [20] As ramificações são compostas por unidades de repetição que são ligadas ao núcleo e que descrevem as gerações de interesse. A funcionalidade terminal pode ser modificada adicionando pequenas moléculas, incluindo íons, fármacos e biomoléculas.

A adição de moléculas ou a mudança reacional dos grupos terminais do dendrímero PAMAM é de interesse para redução do caráter tóxico que estes geram ao entrarem em contato com o organismo. Malik et. al. aborda em seu trabalho que dendrímeros com grupos terminais amina (PAMAM) induzem a hemólise devido as cargas positivas que carregam e que o grau de toxicidade está relacionado a concentração destes grupos, ou seja, quanto maior a geração, mais grupos aminas disponíveis para interação com o meio.[21] Em outro trabalho, Jevprasesphant, R. (2003), relata sobre uma diminuição acentuada da citotoxicidade com a adição de lauroíla e polietilenoglicol à superfície dos dendrímero G2, G3 e G4, devido a redução das cargas positivas com as cadeias anexadas.[22]

Esses sistemas podem proporcionar terapias ideais por suas características de multiplicidade e auto replicação de forma geometricamente progressiva, pela presença de sítios reativos em sua parte externa.[23,25] Esses sítios reativos podem ligar-se a moléculas que reconhecem o meio relacionado às células cancerígenas, entre elas anticorpos, ácido fólico, glicose e peptídeos.

Na síntese dessas moléculas é possível controlar seu tamanho e também a disposição das funções orgânicas desejadas, sendo elas sintetizadas passo a passo o que as difere dos polímeros convencionais. [23] Essas estruturas apresentam vantagens por seu alto número de grupos funcionais na superfície que aumentam com o aumento das gerações, além da possibilidade de encapsulamento e/ou interação no núcleo e nas ramificações do dendrímero. Na representação genérica do dendrímero, figura 4, é possível identificar alguns modos de interação do fármaco com o dendrímero. As esferas em rosa representam o encapsulamento e as demais formas representativas demonstram as possíveis ligações e interações com os grupos externos do sistema, podendo apresentar variadas ligações químicas permanentes ou cliváveis.[17,19].

Figura 4 - Esquema de possíveis reações que uma molécula de dendrímero pode apresentar como encapsulamento e ligação e interações com diferentes grupos.



Fonte: Majoros et. al., 2008.

Com a diversidade de interações e reações que essas moléculas podem apresentar, há uma grande variedade de aplicações em múltiplas áreas das ciências, como química, biologia e medicina, sendo utilizadas como sensores de espécies inorgânicas e moléculas orgânicas, na solubilização de moléculas hidrofóbicas em meio aquoso, no processo de execução de liberação controlada e específica de entrega de drogas (*drug delivery*) e na estabilização de nanopartículas metálicas com aplicações na área de catálise.[1,3,4,10,12]

4.2 Doxorrubicina

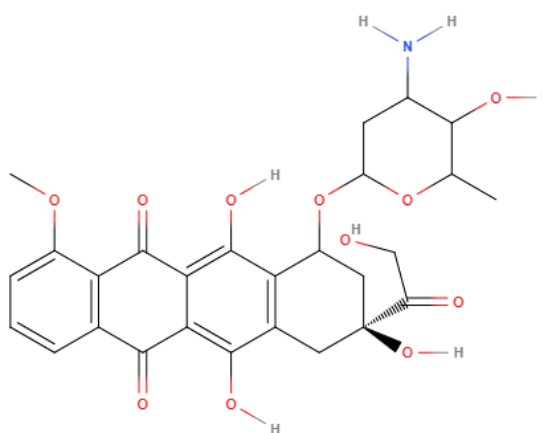
A doxorrubicina (DOXO), um tipo de antraciclina, é um dos agentes quimioterápicos mais potentes e têm sido a base da terapia do câncer desde a década de 1960. [26,27] A DOXO foi isolada de culturas de *Streptomyces peucetius*, variante *caesius*, e foi um marco importante na farmacologia das substâncias anticâncer. [28]

Esse medicamento é mais comumente utilizado para tratar cânceres de bexiga, mama, estômago, pulmões, ovários, tireóide, sarcoma de tecidos moles, mieloma múltiplo e linfoma de Hodgkin. Ademais, a doxorrubicina tem papel fundamental no tratamento de câncer de ovário em que houve progressão ou recorrência após quimioterapia à base de platina ou para o tratamento de sarcoma de Kaposi relacionado à AIDS. [27]

A doxorrubicina possui basicamente um grupo aglicona e um glicona. A aglicona consiste nos quatro anéis adjacentes, que contêm grupos quinona-hidroquinona, um

substituinte metoxila e uma cadeia lateral curta com um grupo carbonila. A glicona, chamada de daunosamina, está ligada por ligação glicosídica a um dos anéis e consiste em uma porção 3-amino-2,3,6-tri deoxi-L-fucosil. A cadeia lateral da DOXO é terminada com um álcool primário, conforme figura 05.[29]

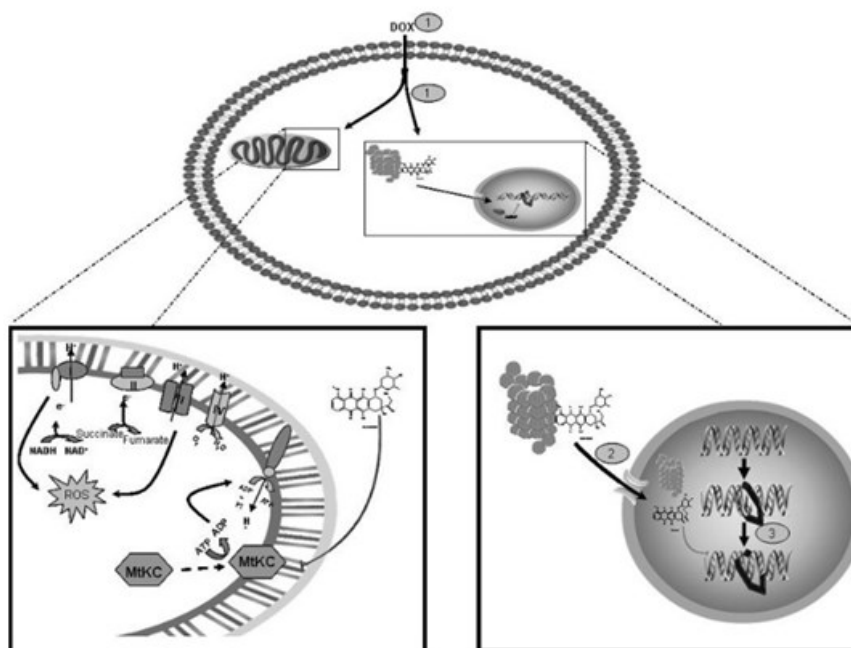
Figura 5 - Estrutura da doxorubicina.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Muitos estudos atribuíram a ampla abrangência de tipos de cânceres que a DOXO é capaz de tratar a sua atividade antitumoral e a sua capacidade de intercalar na hélice do DNA e/ou ligar-se covalentemente a proteínas envolvidas na transcrição e replicação de DNA. Seu mecanismo de ação está representado na figura 06. De acordo com Carvalho *et al.* 2009, a doxorubicina é capaz de entrar nas células cancerosas por difusão simples e se ligar com alta afinidade ao proteassoma no citoplasma (Etapa 1). Em seguida, a DOXO se liga à subunidade proteassoma 20S, formando um complexo de proteassoma DOXO que se transloca para o núcleo por meio de poros nucleares (Etapa 2). Finalmente, a DOXO se dissocia do proteassoma e se liga ao DNA devido à sua maior afinidade com o DNA do que com o proteassoma (Etapa 3). Este fármaco também pode interagir com as mitocôndrias e se ligar à cardiolipina, bloqueando a ligação da creatina quinase mitocondrial (MtCK) às membranas mitocondriais. Além disso, o aumento da ciclagem redox da DOXO pelo complexo I da cadeia respiratória mitocondrial leva a um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) [29].

Figura 5 - Mecanismo de ação da doxorubicina - NADH (dinucleótido de nicotinamida adenina reduzido); NAD⁺ (dinucleótido de nicotinamida adenina oxidado); ADP (difosfato de adenosina); ATP (trifosfato de adenosina); Pi (fosfato inorgânico).



Fonte: Carvalho et. al., 2009.

Em contrapartida, o mecanismo de ação da doxorubicina traz efeitos colaterais ao seu uso. Os efeitos mais comuns são náuseas e vômitos agudos, estomatite, distúrbios gastrointestinais, calvície, distúrbios neurológicos (alucinações, vertigens, tontura), cardiotoxicidade cumulativa e aplasia de medula óssea. Os efeitos depressores da medula ocasionados pela DOXO podem resultar em uma elevação na incidência de infecção microbiana, sangramento gengival e cicatrização retardada. Outros efeitos colaterais que também podem ocorrer são: hipersensibilidade (febre, calafrios, urticária), hiperpigmentação das unhas, lacrimejamento e conjuntivite [29].

O uso de altas doses da doxorubicina pode produzir necrose severa no tecido local. É possível também ocasionar celulite, vesicação, tromboflebite, linfangite ou um endurecimento dolorido, resultando em limitação da mobilidade das articulações adjacentes. Alguns estudos relatam que a DOXO pode levar à ocorrência de flebosclerose, especialmente quando administrado em uma veia pequena ou repetidamente em uma única veia [29]. Por isso, um tratamento com doses menores e que atue somente na região tumoral é fundamental para eficácia, associada à redução dos efeitos colaterais. Utilizar o PAMAM para transportar a DOXO têm se mostrado promissor na solução deste problema, no entanto o mecanismo ainda

não é bem compreendido. Este trabalho propõe a caracterização do PAMAM com a DOXO em nível atômico, bem como a análise da influência dos grupos direcionadores.

4.3 Simulações

Em um trabalho experimental utilizando a cristalografia de raio X, a ressonância magnética nuclear entre outras análises pode prover uma caracterização detalhada da estrutura molecular de um ligante e de seu receptor. Porém, estes métodos apresentam limitações em sua utilização, tais como a falta de mobilidade da molécula estudada e o tamanho do sistema [30]. As simulações baseadas em princípios físicos têm proporcionado preencher os "espaços" não conhecidos pelas análises citadas, modelando o modo pelo qual estas moléculas interagem, reagem e funcionam [31].

A modelagem molecular é uma importante ferramenta na seleção, identificação, manipulação, otimização e caracterização de novos fármacos por sua capacidade de determinar propriedades termodinâmicas, energéticas e estruturais de complexos receptor-ligante. Para descrever as energias de troca e correlação foi proposta inicialmente a aproximação da densidade local (LDA - *Local-Density Approximation*), no qual é muito utilizada na descrição de sólidos metálicos, porém não é considerada a melhor opção na descrição de ligações de hidrogênio [32]. Por isso, outras aproximações foram propostas com o objetivo de descrever melhor os sistemas, dentre estas, as mais comuns são as aproximações de gradiente generalizado (GGA, *Generalized-Gradient Approximation*), um pouco mais complexas que a LDA por envolver o gradiente de densidade, [33].

Atualmente há um grande interesse na identificação de sistemas nanocarregadores adequados para entrega de drogas. Um estudo investigou por cálculos de teoria funcional de densidade, fluorescência e espectroscopias de fotoelétrons de raios-x a adsorção da doxorubicina (DOX) em grafeno (G) e óxido de grafeno (GO) onde concluíram que G é um melhor ligante de DOX comparado a GO, no qual é baseada em fortes interações de empilhamento π - π [34]. Em outro estudo elaborado por Tonel et. al. é apresentado a interação da doxorubicina com o grafeno onde os resultados mostram que o grafeno puro interage com DOX por uma adsorção física e que configuração mais estável é quando a molécula DOX é paralela ao grafeno [35].

No estudo publicado por Wang, C et.al, foram analisadas a adição de moléculas de doxorrubicina (DOX) a superfície de nanotubos de carbono (CNTs) e nanotubos de carbono funcionalizadas (f-CNT) pelo DFT. Descobriu-se que o complexo se torna mais estável à medida que o número de moléculas de DOX aumenta, e a adsorção de alta densidade de moléculas de DOX na superfície do CNT/f-CNT é mais vantajosa. Ainda, avaliou-se as ligações de hidrogênio, os maiores orbitais moleculares ocupados e os menores orbitais moleculares desocupados, a estabilidade e as características termodinâmicas dos complexos 20DOX/CNT e 24DOX/f-CNT à temperatura ambiente através de simulações de dinâmica molecular, fornecendo uma nova estratégia para montar uma alta densidade de moléculas de DOX nas superfícies dos NTCs, [36].

Farmanzadeh, D., & Ghaderi, M., estudaram a interação do dendrímero poliamidoamina PAMAM geração zero (G0) com trans isômero do fármaco antineoplásico picoplatina (AMD) pela teoria funcional da densidade. De acordo com a estrutura do dendrímero e do fármaco, o fármaco AMD pode ligar-se ao PAMAM através dos grupos funcionais Cl e NH₃. Os resultados indicaram que a interação do dendrímero PAMAM com drogas anticancerígenas picoplatina é adsorção física. Os complexos PAMAM-AMD mostraram uma melhoria das propriedades estruturais e eletrônicas de acordo com os resultados obtidos a partir de diferentes arranjos dos complexos PAMAM G0-AMD; um complexo [G0-AMD (Cl-1)] é o arranjo de adsorção preferido. Como resultado, o dendrímero PAMAM de geração zero sendo combinado com a droga AMD é promissor para uso na entrega de drogas [37].

4.4 Princípios e técnica

Para obter as propriedades eletrônicas de um sistema multieletrônico (como é o caso das moléculas consideradas neste trabalho) é necessário resolver a equação de Schrödinger [38].

$$\hat{H}\Psi = E\Psi,$$

onde \hat{H} é o hamiltoniano do sistema, Ψ é a função de onda de todos os núcleos e elétrons, e E é a energia total do sistema. O hamiltoniano \hat{H} é dado por:

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{T}_N + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{eN} + \hat{V}_{NN}$$

onde \hat{T}_e é o operador energia cinética dos elétrons, \hat{T}_N o operador energia cinética dos núcleos, \hat{V}_{ee} o operador interação elétron-elétron, o \hat{V}_{eN} operador interação elétron-núcleo, e \hat{V}_{NN} o operador interação núcleo-núcleo. Essa equação pode ser simplificada pela aproximação de Born-Oppenheimer, que assume uma posição fixa para os núcleos devido ao fato destes possuírem massas muito maiores do que os elétrons. Dessa forma $T_N = 0$ e V_{NN} é constante. Com isso, temos uma equação de Schrödinger apenas para os elétrons:

$$(T_e + V_{ee} + V_{eN})\psi_{el} = \epsilon\psi_{el}.$$

Apesar de simplificada, essa equação ainda não tem solução. Isso porque a função de onda é para todos os elétrons, e dispõe-se apenas de uma equação. Assim há mais variáveis do que equações. Para resolver essa questão, utiliza-se um método que não considera a função de onda, mas sim a densidade eletrônica como objeto fundamental.

As simulações atomísticas são comumente classificadas como simulações *ab initio* e baseiam-se na teoria do funcional da densidade (DFT). Os métodos *ab initio* são puramente teóricos e descrevem a natureza quântica dos elétrons, porém exigem grande esforço computacional. Assim, é possível descrever o comportamento realístico para sistemas de até algumas centenas de átomos e torna-se inviável, do ponto de vista computacional, descrever um sistema com muitos átomos [39].

A teoria DFT considera a densidade eletrônica como objeto fundamental ao invés da função de onda. Assim, os termos do hamiltoniano eletrônico são descritos como funcionais da densidade, e a solução dessa equação são os chamados orbitais de Kohn-Sham, que nada mais são do que os níveis de energia para todos os elétrons de valência. Para resolver esse problema é preciso conhecer o potencial de interação elétron-elétron (V_{ee}), e também a densidade eletrônica ρ , já que V_{ee} é um funcional de ρ . Porém, para obter ρ se faz necessário conhecer as funções de onda ψ_{el} , que só podem ser obtidas se determinado o potencial V_{ee} . A única saída para essa incógnita é propor uma densidade eletrônica inicial, escrever o potencial V_{ee} para essa densidade, resolver a equação obtendo as funções de onda e com estas escrever uma nova densidade. Se essa densidade é igual a densidade tentativa (dentro de um critério de

convergência pré-estabelecido) o problema está resolvido. Por isso chama-se essa solução de autoconsistente.

Embora a DFT seja uma teoria de extrema utilidade, o problema multieletrônico não é simples e a sua solução exige o emprego de algumas aproximações. A primeira delas é a utilização de pseudopotenciais, onde ao invés de descrever todos os elétrons do sistema, apenas os elétrons mais externos (de valência) são considerados durante o processo autoconsistente. Os núcleos atômicos e os elétrons mais próximos a eles formam o chamado caroço iônico, e a interação dos caroços iônicos com os elétrons de valência é descrita pelos pseudopotenciais. Nos cálculos deste trabalho foram utilizados os pseudopotenciais de norma conservada de Troullier Martins [38]. Outras aproximações necessárias são para o termo presente no potencial V_{ee} chamado termo de troca e não possui análogo clássico, e para o termo de correlação eletrônica presente em T_e . A soma desses termos é chamada de termo de troca e correlação, o qual não se conhece exatamente. Neste trabalho utilizamos a aproximação GGA (Generalized Gradient Approximation) na parametrização PBE [40].

5 METODOLOGIA

O transporte do fármaco ocorre pelas interações químicas entre o dendrímero PAMAM e o fármaco doxorrubicina. Para compreender essas interações submeteram-se os sistemas para análise no código computacional SIESTA (*Spanish Initiative for Electronic Simulations with Thousand of Atoms*) [41], de forma isolada e por hipóteses de interações entre as estruturas químicas. O software possibilita a avaliação das energias de formação, energia dos orbitais HOMO e LUMO, distância das interações, transferência de carga e densidade de carga. Analisou-se todos os parâmetros energéticos para correlacionar a estrutura e a estabilidade do sistema conjugado. Em todos os cálculos realizados neste trabalho, nenhuma restrição foi imposta aos átomos e aos spins durante a otimização.

5.1 Método

O mecanismo da interação entre o dendrímero PAMAM e a doxorrubicina, bem como a influência dos grupos funcionais presentes nas duas moléculas, foi investigado através de cálculos de primeiro princípios através do formalismo da DFT, conforme implementado no código computacional SIESTA. Nesse método a densidade eletrônica para o estado fundamental é obtida a partir dos orbitais de Kohn-Sham, que são expandidos em uma combinação linear de orbitais atômicos, chamado de método LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals). Para a obtenção de resultados mais acurados utilizou-se uma base double- ζ incluindo funções polarizadas. Aplicou-se uma energia de corte (ou cut-off) de 170 Ry para descrição do estado fundamental dos sistemas aqui estudados. Utilizou-se pseudopotenciais de norma conservada de Troullier-Martins, e o funcional GGA para o termo de troca e correlação. Em todas as simulações utilizou-se um vácuo de pelo menos 15 Å, garantindo assim que não ocorresse a interação entre o sistema em questão e as suas imagens periódicas. Propuseram-se três modelos para descrever a interação entre o PAMAM e a doxorrubicina. Quando todos os grupos funcionais foram incluídos, obteve-se uma célula unitária contendo 225 átomos.

5.2 Simulações

Para compreensão das propriedades eletrônicas e estruturais deste sistema carregador, serão analisadas via simulações as seguintes estruturas:

- 1) Dendrímero PAMAM G0 (G0);
- 2) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados (G0.NHAc);
- 3) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados + ácido fólico (G0.NHAc.FA);
- 4) Doxorrubicina (DOXO);
- 5) Doxorrubicina + ácido cis-aconítico (DOXO.CIS);
- 6) Dendrímero PAMAM G0 + DOXO (G0-DOXO);
- 7) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados + um grupo ligado ao ácido fólico + e um grupo ligado a doxorrubicina (G0.NHAc.FA-DOXO);
- 8) Dendrímero PAMAM G0 com dois grupos funcionais acetilados + um grupo ligado ao ácido fólico + e um grupo ligado a doxorrubicina com o ácido cis-aconítico (G0.NHAc.FA-DOXO.CIS).

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A doxorubicina é um princípio ativo amplamente utilizado em tratamentos de cânceros, onde inibe a síntese do DNA [42]. Apesar de efetiva na regressão tumoral, um de seus vários efeitos colaterais é o envenenamento do músculo cardíaco. Para analisar a viabilidade de transporte e entrega deste fármaco ao tumor de forma menos tóxica, minimizando ou até anulando seus efeitos colaterais, a DOXO e o dendrímero PAMAM G0 foram avaliados em termos de energia de formação, transferência de carga, bandas de energia e densidade eletrônica.

6.1 Dendrímero PAMAM

Os dendrímeros apresentam dimensões nanométricas e outras propriedades como forma, tamanho e superfície que podem assemelhar-se às proteínas. Desta forma, possuem propriedades que podem imitar macromoléculas importantes dependendo de sua geração. Por exemplo, os dendrímeros PAMAM, podem assemelhar-se à insulina quando em G3,0 (geração 3), com aproximadamente 30 Å de diâmetro; ao citocromo C em G4,0, com aproximadamente 40 Å, e a hemoglobina em G5,0, próximo a 55 Å [17,19].

A cada geração obtida, o peso molecular e, conseqüentemente, o diâmetro do dendrímero, aumenta. O número de grupos superficiais é duplicado a cada nova geração, conforme apresentado na Tabela 1 [43,44].

Tabela 1. Dados sobre peso molecular, diâmetro e número de grupos superficiais dos dendrímeros PAMAM de geração inteira.

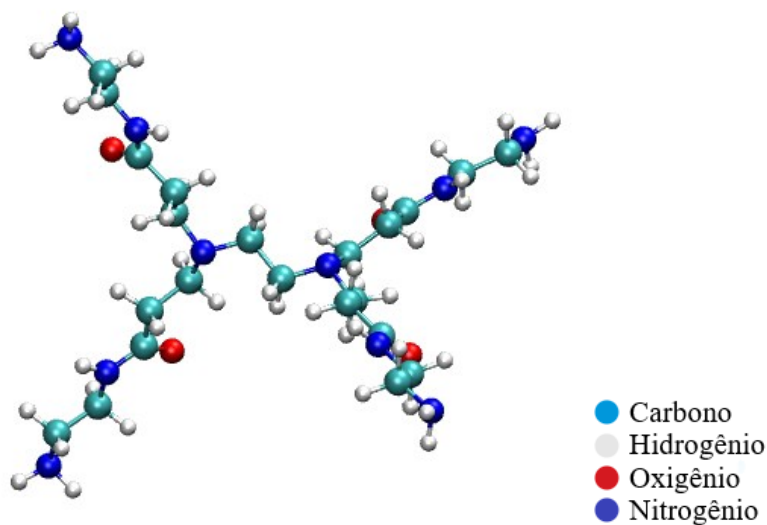
Geração	Peso Molecular	Diâmetro (Å)	Grupos Superficiais NH₂
0	517	15	4
1	1430	22	8
2	3256	29	16
3	6909	36	32
4	14215	45	64
5	28826	54	128
6	58048	67	256
7	116493	81	512
8	233383	97	1024
9	467162	114	2048
10	934720	135	4096

Fonte: De autoria própria, 2022.

Para a realização deste estudo aplicou-se o dendrímero PAMAM de geração 0 (G0), devido ao limite computacional da máquina para descrição pelo código. A descrição é satisfatória já que os grupos funcionais presentes no G0 representam de forma efetiva os grupos funcionais presentes no dendrímero de G5.

O dendrímero PAMAM G0 é formado por 22 átomos de carbono, 48 de hidrogênio, 4 de oxigênio e 10 de nitrogênio, $C_{22}H_{48}O_4N_{10}$, sendo sua massa molar de $516,692 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. A estrutura foi otimizada sem impor nenhuma restrição quanto à posição dos átomos, de forma a buscar a geometria mais estável para o dendrímero. Essa estrutura tem no ramo terminal grupos de aminas que localizam-se a uma distância média de 15 \AA , conforme figura 7.

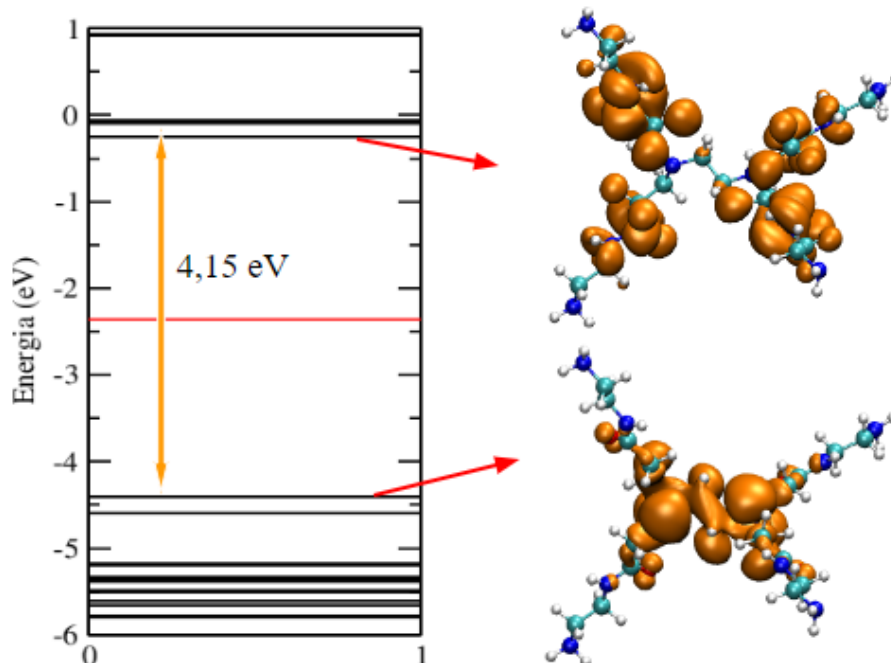
Figura 6 - Estrutura química do dendrímero PAMAM G0 no estado relaxado, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Após a otimização da estrutura, analisou-se as propriedades eletrônicas através dos níveis de energia e pela densidade de carga. A densidade eletrônica representa a probabilidade de encontrar um elétron em uma determinada região. Para o dendrímero PAMAM essa probabilidade está demonstrada na Figura 08, em que o HOMO representa o estado ocupado de maior energia e o LUMO o estado não ocupado de menor energia.

Figura 7 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO para o G0.



Fonte: De autoria própria, 2022.

A densidade dos orbitais HOMO e LUMO permitem avaliar a estabilização deste composto químico. Para apresentação da estrutura de bandas utilizou-se os níveis de energia dos elétrons com *spin up*, sendo que para o *spin down* é idêntico, o que significa que a magnetização do sistema é nula.

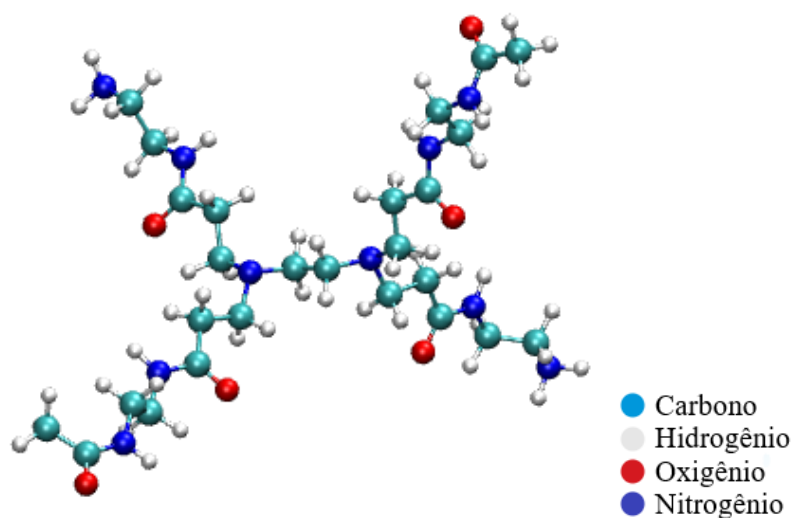
O gap nas moléculas orgânicas é medido pela diferença dos orbitais HOMO e LUMO, que serve como medida da excitação da molécula. A transição eletrônica que requer menor energia é a que ocorre entre os elétrons que estão no HOMO e são promovidos para o LUMO. A energia necessária para essa transição é justamente o gap de energia, e por meio do cálculo obteve-se um gap de 4,15 eV.

6.1.1 Dendrímero pamam acetilado

O fator determinante da citotoxicidade aos dendrímeros PAMAM se deve a sua estrutura ionizável. Os grupos funcionais terminais amins ao entrarem em contato com o organismo se tornam protonados e esses grupos catiônicos são responsáveis pela desestabilização da membrana celular ocasionando a lise celular. Com a modificação da funcionalidade do grupo terminal do dendrímero PAMAM é possível reduzir seu grau de toxicidade e viabilizar a adição de moléculas de interesse. A primeira modificação na estrutura foi por adição de dois grupos acetil em terminações diferentes [45], aqui denominada de G0.NHAc.

A estrutura G0.NHAc é formado por 26 átomos de carbono, 52 de hidrogênio, 6 de oxigênio e 10 de nitrogênio, $C_{26}H_{52}O_6N_{10}$, sendo sua massa molar de 600,766 $g \cdot mol^{-1}$. Essa estrutura mantém dois grupos terminais amina e duas terminações funcionalizadas com um grupo acetil, conforme figura 9. A distância entre as terminações é da ordem de 18 Å, o que significa que a funcionalização de uma terminação não deve influenciar a interação com o fármaco em outra terminação.

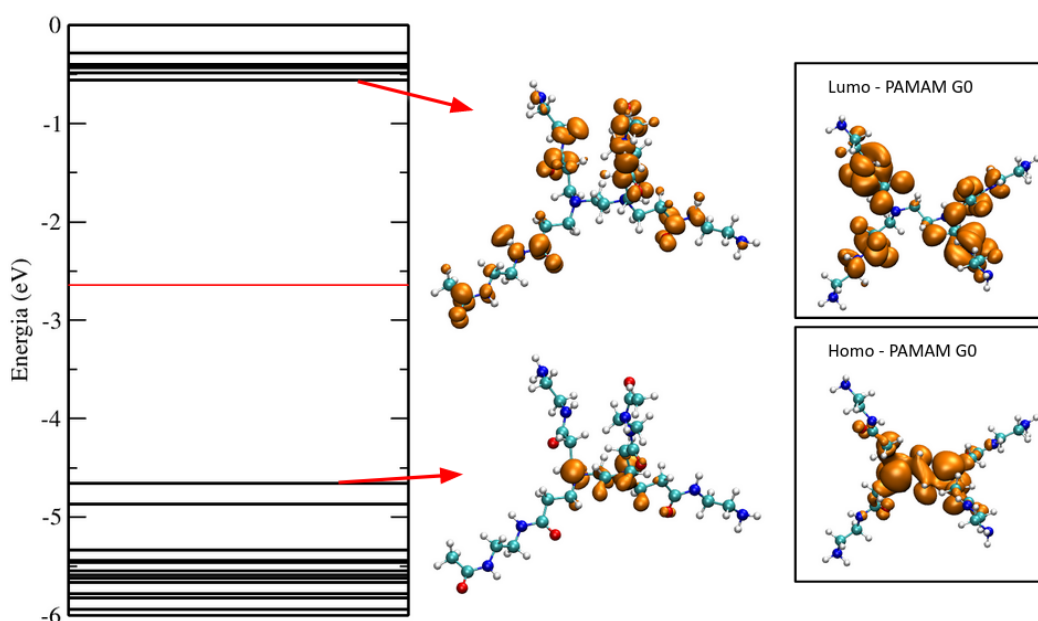
Figura 8 - Estrutura química do dendrímero G0.NHAc no estado relaxado.



Fonte: De autoria própria, 2022.

A acetilação de grupos terminais reduz a toxicidade do dendrímero frente ao organismo, por diminuir a quantidade de amins protonadas em sua superfície, [45]. Dois grupos amins foram mantidos para permitir a ligação com um grupo direcionador e a interação com o fármaco. Essa modificação provocou uma pequena mudança nas bandas eletrônicas e na distribuição da densidade de carga comparada à estrutura de partida.

Figura 9 - Bandas eletrônicas e densidade de carga no orbital HOMO e LUMO do G0.NHAc.



Fonte: De autoria própria, 2022.

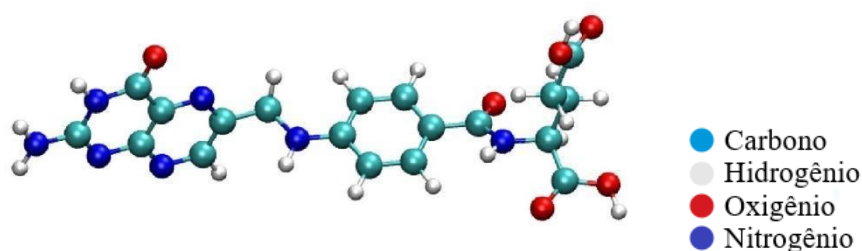
O G0.NHAc apresentou um gap de energia de 4,10 eV. A adição de dois grupos acetil a duas terminações aminas provocou uma leve redução no gap de energia comparada ao G0. A densidade de carga no orbital HOMO do G0.NHAc concentra-se mais ao núcleo da estrutura, semelhante a densidade de carga no HOMO do G0, porém de uma forma menos intensa, enquanto que no orbital LUMO encontra-se mais distribuída nas ramificações e principalmente nos novos grupos da estrutura (grupos acetil, NHAc).

6.1.2 Dendrímero pamam acetilado e conjugado ao ácido fólico

O folato é um componente celular básico envolvido essencialmente nas reações de transferência de carbono para a síntese de purinas e pirimidinas, importantes para a síntese e replicação de DNA, além da divisão, crescimento e sobrevivência celular. A natureza hidrofílica e aniônica dos folatos em pH fisiológico impede sua difusão passiva através da membrana plasmática [46].

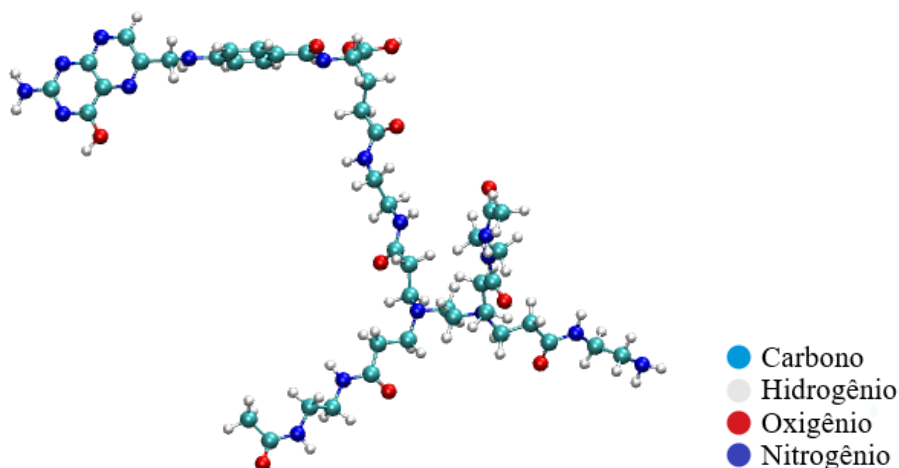
O ácido fólico tem em sua estrutura dois grupos de ácido carboxílico e uma amina não reativa, conforme Figura 11, sendo o grupo funcional ácido carboxílico suficientemente reativo para ligar-se ao dendrímero [46], Figura 12.

Figura 10 - Estrutura química do ácido fólico.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 11 - Estrutura química do ácido fólico ligado ao G0.NHAc.



Fonte: De autoria própria, 2022.

O grupo direcionador, como o nome já diz, tem a função de dirigir o sistema transportador para as células tumorais por meio da ligação do ácido fólico a receptores de folato presentes nessas células [45]. A estrutura de transporte contendo o ácido fólico tem fórmula molecular de $C_{45}H_{69}O_{13}N_{17}$, formada por 45 átomos de carbono, 69 de hidrogênio, 13 de oxigênio e 17 de nitrogênio, sendo sua massa molar de $1056,153 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Com a ligação do ácido fólico ao dendrímero por meio do ácido carboxílico o grupo amina fica posicionado em direção ao meio e em pH fisiológico se torna um grupo carregado positivamente, conferindo ao complexo dendrídico um caráter positivo.

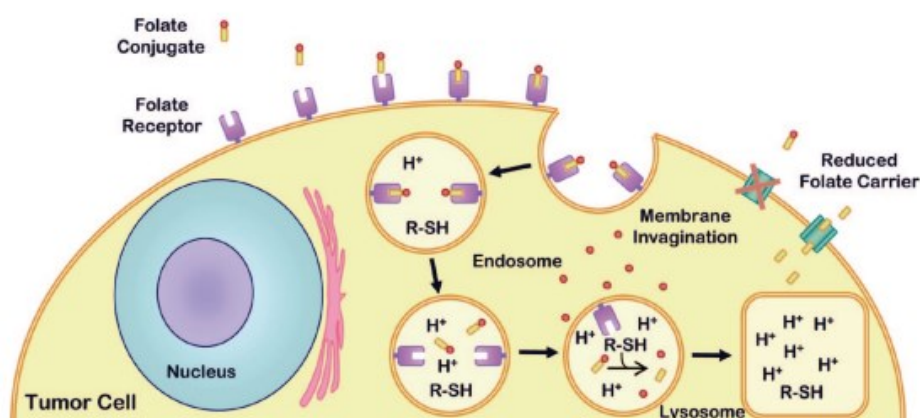
No experimento elaborado por Wenjun Le et.al, [47] foram investigadas 22 linhagens de células cancerígenas testadas aleatoriamente de diferentes espécies e órgãos, utilizado uma técnica de captura magnética, onde descobriram que todas as células cancerígenas estavam carregadas negativamente e várias células normais foram encontradas com carga neutra ou levemente positiva. Os resultados deste trabalho indicam que um sistema carregado positivamente consegue passar entre as células saudáveis sem que haja a liberação da droga, pois todas as nanopartículas carregadas positivamente ligam-se massivamente às células cancerígenas (carregadas negativamente), enquanto as células normais não respondem às partículas carregadas independente do sinal, pois são praticamente neutras.

Além de relatos na literatura [48] sobre a atração por cargas opostas, outro mecanismo de captura do sistema transportador é por endocitose, conforme relatado por Cho, K. et al [49]. O conjugado de folato liga-se ao receptor folato com alta afinidade e é posteriormente internalizado em endossomos. Dentro do endossomo, um conjugado folato-dissulfeto-fármaco

é liberado do receptor folato e o pró-fármaco é reduzido para liberar a carga do fármaco original.

No estudo proposto por Low, P. S. et. al [50] foi preparado um complexo de transferência de energia de ressonância de fluorescência ligado ao folato, que mudou de fluorescência vermelha para verde após a redução de uma ligação dissulfeto intramolecular. Esse sistema foi avaliado tanto em células cancerosas cultivadas quanto em camundongos portadores de tumores vivos onde demonstrou que o conjugado folato-dissulfeto-droga não ocorre na circulação antes da captura do conjugado pelas células tumorais; ocorre após a endocitose com meia-vida de 6 h; começa nos endossomos e não depende significativamente do mecanismo redox localizado na superfície celular. Em outro estudo, envolvendo o mecanismo de absorção do medicamento por endocitose, relatam o caráter ácido dos endossomos contendo receptor folato e a dificuldade que ligantes fracos ao meio ácido têm em liberar o fármaco de forma eficiente. Uma característica marcante do ambiente do endossoma é o pH ácido, $\text{pH} < 6,0$, e é ainda mais ácido dentro dos lisossomos [51]. Na figura 13 está representado o mecanismo de absorção de um sistema folato.

Figura 12 - Mecanismo de absorção por meio de endocitose do conjugado de folato em uma célula cancerígena.



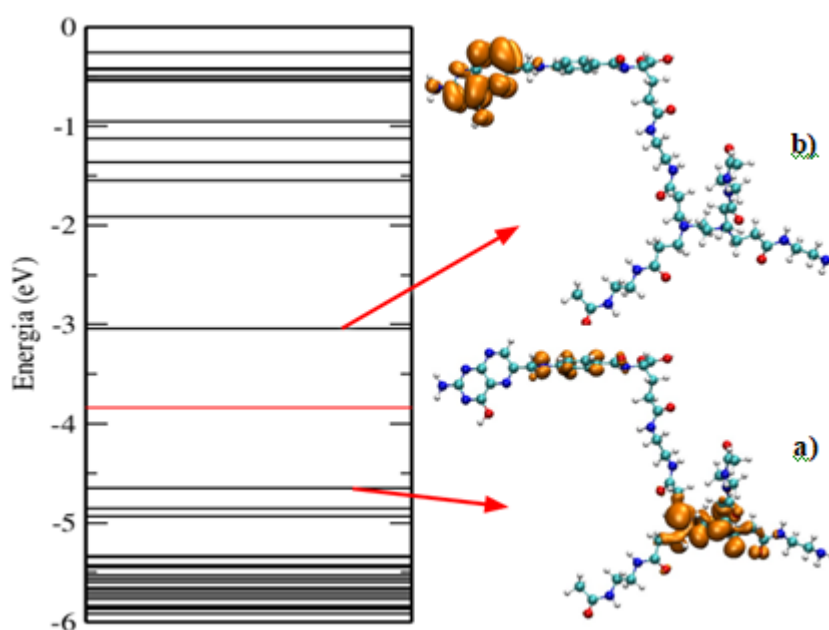
Fonte: Low, P. S. 2008.

Na figura 13, os conjugados de folato ligam-se ao receptor folato, que encontra-se na superfície da célula cancerígena, com alta afinidade e são posteriormente internalizados em endossomos que podem reduzir as ligações dissulfeto. Dentro do endossomo, um conjugado folato-dissulfeto-fármaco é liberado do receptor folato e o pró-fármaco é reduzido para liberar a carga do fármaco original [50]. Como o pH dos endossomos contendo o receptor folato é apenas levemente ácido, os ligantes lábeis ao ácido não liberam o fármaco ligado de forma tão

eficiente então é interessante uma estrutura de transporte que considere e tenha afinidade pelo meio ácido.

A adição do ácido fólico ao sistema carregador apresentou uma grande alteração nas bandas eletrônicas e na distribuição da densidade de carga comparada a estrutura do G0, com gap de 4,15 eV e do G0.NHAc com gap de 4,10 eV. A distribuição dos níveis energéticos e a densidade de carga do G0.NHAc.FA pode ser visualizada na figura 14, em que o ácido fólico reduz drasticamente o gap de energia.

Figura 13 - Bandas eletrônicas e densidade de carga do orbital HOMO e LUMO do G0.NHAc.FA



Fonte: De autoria própria, 2022.

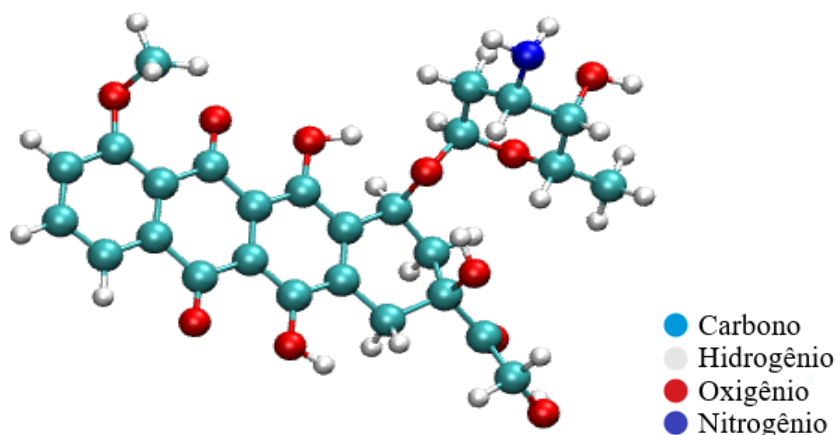
A energia necessária para a transição de elétron do orbital HOMO para o LUMO no G0.NHAc.FA é de 1,61 eV. Nesta estrutura a densidade de carga no orbital HOMO continua concentrando-se ao centro do dendrímero, comparado ao G0 e G0.NHAc, porém agora essa densidade também encontra-se em parte da estrutura do ácido fólico, conforme figura 5.a). No orbital LUMO toda a densidade de carga encontra-se na parte mais externa da estrutura do ácido fólico, conforme figura 14.b). enquanto que anteriormente, no G0 e G0.NHAc, localizava-se nas terminações. Esse resultado mostra que o ácido fólico atua como um receptor de elétrons, o que facilita a ligação com as células tumorais que possuem carga negativa (doadoras de elétrons) [47].

6.2 Doxorrubicina

Os efeitos colaterais do emprego do princípio ativo doxorrubicina limitam seu uso clínico por poder reduzir a qualidade de vida do paciente e até levá-lo a fatalidade [52]. Perante o número de grupos funcionais contendo oxigênios na estrutura química deste fármaco, este tem potencial para ser transportado pelo dendrímero PAMAM por ligações de hidrogênio e conseqüentemente uma melhor aceitação pelo organismo.

A doxorrubicina tem massa molar de $543,525 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ e é composta por 27 átomos de carbono, 29 de hidrogênio, 11 de oxigênio e 1 de nitrogênio, $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{O}_{11}\text{N}$ sendo que nela há grupos carbonila, álcool, éter e amina, conforme figura 15.

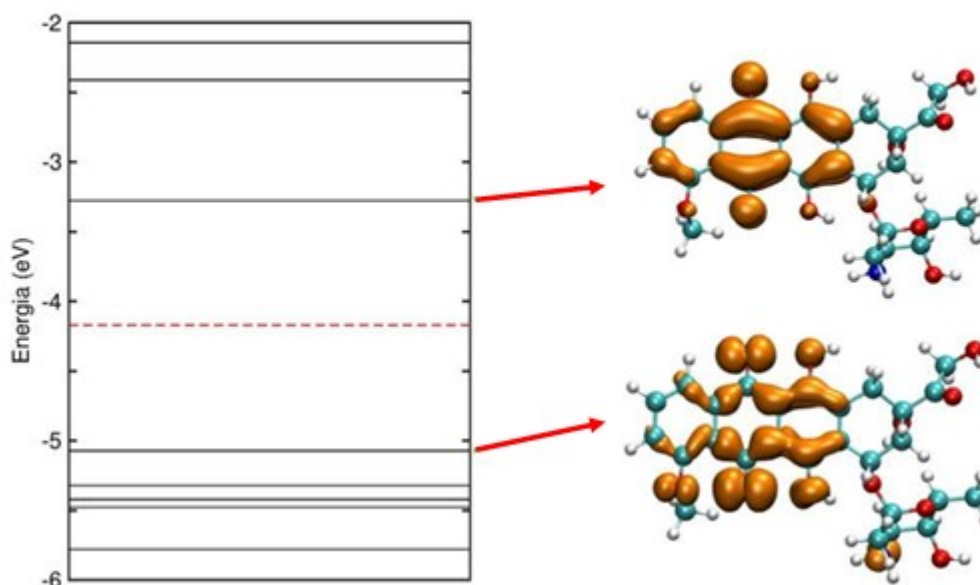
Figura 14 - Estrutura química da doxorrubicina no estado relaxado.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Para que ocorra a transição eletrônica do orbital HOMO para o LUMO na doxorrubicina é necessário uma absorção de $1,78 \text{ eV}$. Esse valor corresponde ao gap desta molécula e é a diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO, sendo que $-5,07 \text{ eV}$ é a energia do estado HOMO e $-3,29 \text{ eV}$ é a energia do estado LUMO, conforme a Figura 16.

Figura 15 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO da doxorubicina.



Fonte: De autoria própria, 2022.

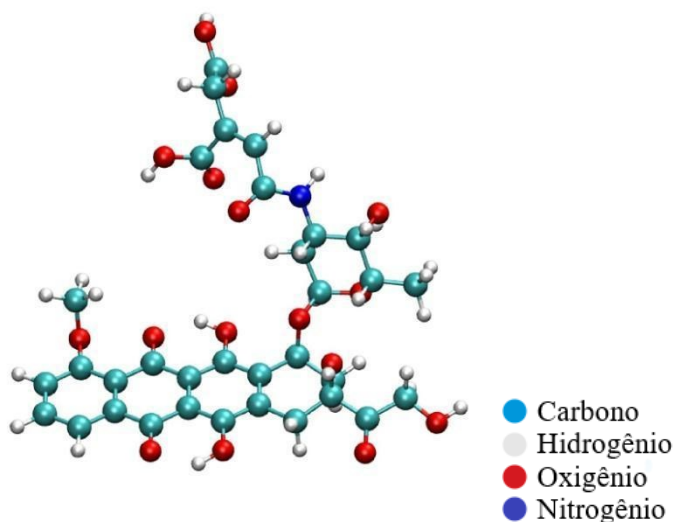
Conforme pode ser observado na figura 16, tanto para o HOMO quanto para o LUMO a densidade eletrônica se localiza nos anéis aromáticos. Esse resultado indica que essa região apresenta uma probabilidade maior de interação com o dendrímico, orientando a escolha dos modelos que serão estudados a seguir. Da mesma maneira que foi observado para o dendrímico, a densidade eletrônica é a mesma para os spins *up* e *down*, e dessa forma o sistema não apresenta magnetização.

6.2.1 Doxorubicina ligada ao ácido *cis*-aconítico

A molécula direcionadora ligada covalentemente a doxorubicina é o ácido *cis*-aconítico. Os grupos funcionais presentes na estrutura química do ácido *cis*-aconítico, confere a molécula a capacidade de identificar o pH do meio. No estudo proposto por Karini and Namazi a liberação da doxorubicina acontece preferencialmente em meio ácido, e essa característica possibilita o controle na liberação do fármaco que assim impede que ocorra em pH neutro ou básico [53]. Tumores com tecidos ácidos (conforme citado na sessão 4.2.2 sobre o mecanismo de absorção por endocitose em que o meio tem caráter ácido) terão afinidade com a estrutura do composto e receberão o fármaco. Em meios como a corrente sanguínea,

em que o pH é próximo ao neutro, esta liberação não acontece, ou seja, a doxorubicina não afetará as células saudáveis do organismo e sim será entregue às tumorais, não ocasionando todos os efeitos colaterais citados anteriormente. Na figura 17, encontra-se a estrutura química da doxorubicina ligada ao ácido cis-aconítico [54].

Figura 16 - Estrutura química da doxorubicina conjugada ao ácido cis-aconítico.

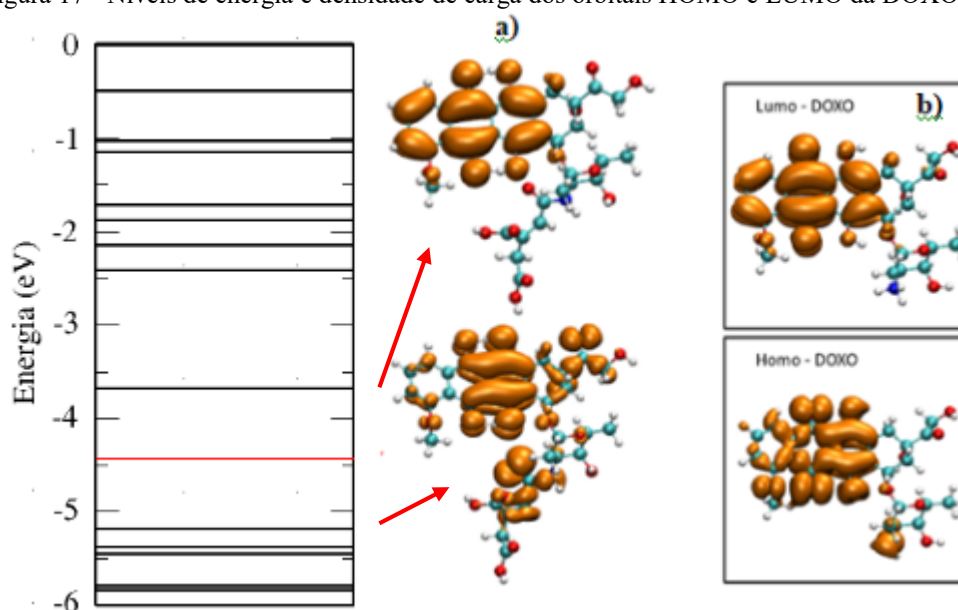


Fonte: De autoria própria, 2022.

A doxorubicina ligada covalentemente ao ácido cis-aconítico tem massa molar de $628,56 \text{ g.mol}^{-1}$, é formada por 27 átomos de carbono, 34 de hidrogênio, 16 de oxigênio e 1 de nitrogênio, $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{16}\text{N}$. Fazem parte da molécula grupos carbonila, ácido carboxílico, álcool, éter e amina.

Analisou-se os níveis energéticos desta estrutura verificou-se que para ocorrer a transição eletrônica do orbital HOMO para o LUMO é necessário a absorção de $1,50 \text{ eV}$. A densidade eletrônica no orbital HOMO está relativamente distribuída sobre toda a estrutura; encontra-se de forma intensa nos dois anéis aromáticos centrais, menos intensa nos demais anéis aromáticos, e com média intensidade na cadeia lateral da doxorubicina e no ácido cis-aconítico. Já no orbital LUMO a densidade eletrônica localiza-se principalmente nos anéis aromáticos, conforme apresentado na figura 18.

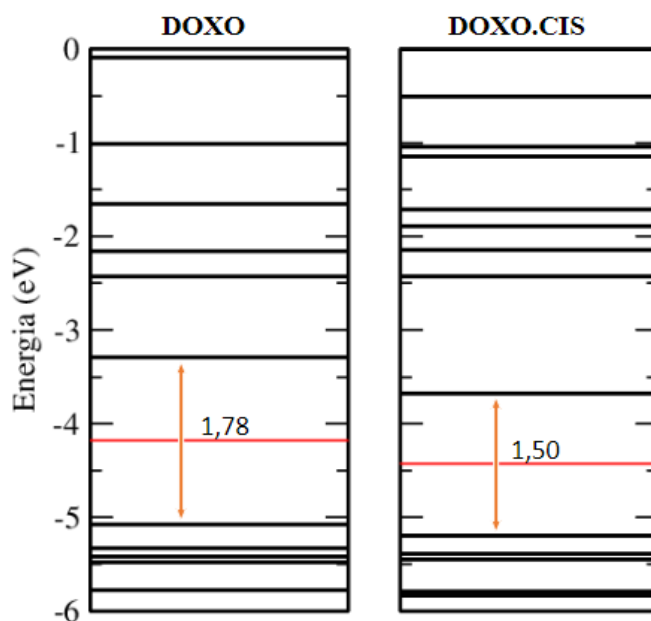
Figura 17 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO da DOXO.CIS.



Fonte: De autoria própria, 2022.

A adição da molécula de ácido cis-aconítico na estrutura da doxorrubicina provocou uma redução no gap de energia quando comparada a doxorrubicina isolada, em que de 1,78 eV o gap passa a ser de 1,50 eV, conforme figura 19.

Figura 18 - Níveis energéticos das estruturas DOXO e DOXO.CIS.

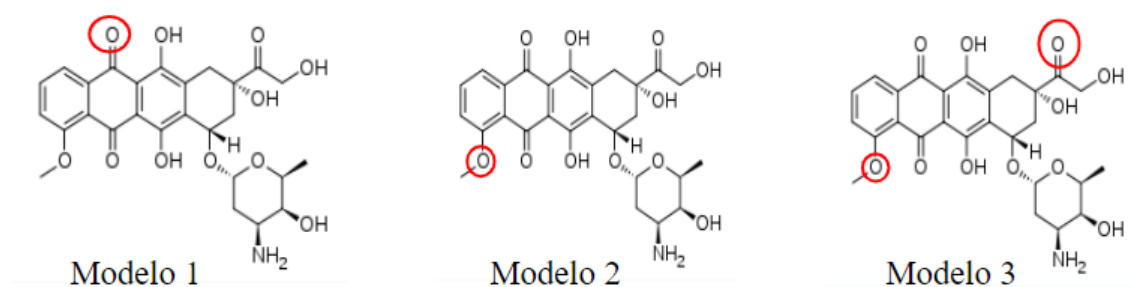


Fonte: De autoria própria, 2022.

6.3 Interação entre o sistema dendrídico e o fármaco doxorrubicina

Os modelos de interação propostos são formados pelo sistema dendrídico, do mais simples ao mais complexo (G0, G0.NHAc, G0.NHAc.FA), com o fármaco doxorrubicina isolado e ligado ao ácido cis-aconítico (DOXO, DOXO.CIS). Com o objetivo de analisar essas interações foram propostos três modelos de aproximação para verificar a formação da ligação de hidrogênio com a estrutura da doxorrubicina. As interações ocorreram com a aproximação dos grupos amins do dendrímero PAMAM nas posições circulares em vermelho no fármaco doxorrubicina, conforme figura 20.

Figura 19 - Modelos de posição de interação entre o sistema dendrídico e a doxorrubicina.

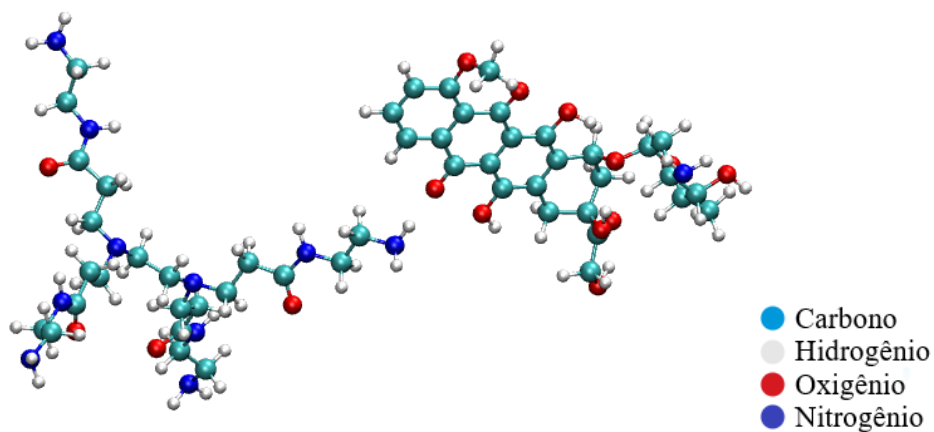


Fonte: De autoria própria, 2022.

6.3.1 Interação do dendrímero PAMAM G0 com a doxorrubicina

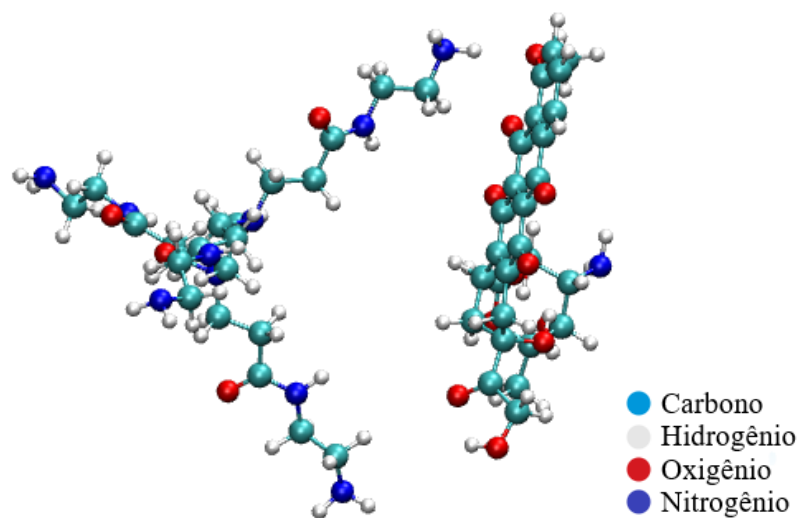
Nesta etapa, a estrutura proposta é formada por uma molécula do dendrímero PAMAM G0 e uma molécula de doxorrubicina. O dendrímero PAMAM G0 tem quatro grupos amins como grupos funcionais terminais e pode interagir de diversas formas com os grupos funcionais do fármaco doxorrubicina. Avaliou-se a interação das moléculas nos três modelos propostos, que estão representados nas figuras 21, 22 e 23.

Figura 20 - Modelo 1 de interação entre PAMAM e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.



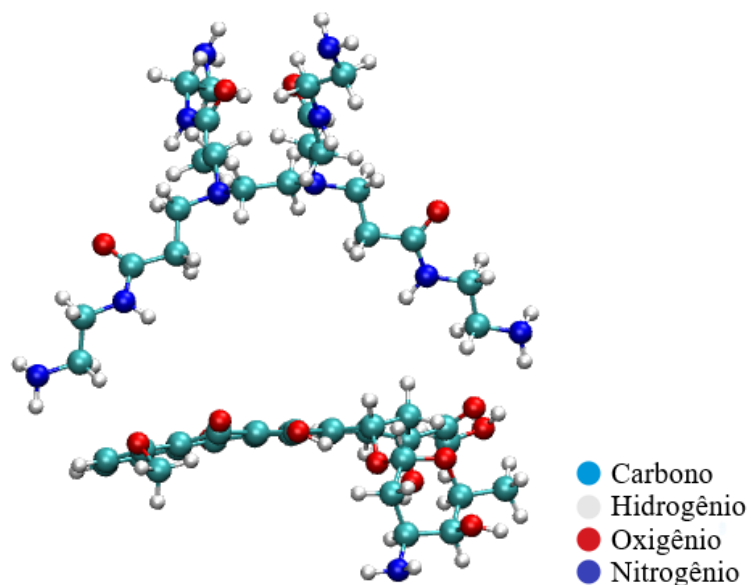
Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 21 - Modelo 2 de interação entre PAMAM e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 22 - Modelo 3 de interação entre PAMAM e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Na formação desta estrutura para transporte do fármaco as moléculas mantêm-se unidas por atração. Essa atração pode ser explicada pela teoria da ligação química que classifica as interações intermoleculares como eletrostáticas, Van der Waals⁵⁵ e ligação de hidrogênio. Neste caso, os substratos de interesse atraem-se por interação não-covalente e sim por ligação de hidrogênio. Essas ligações são mais fracas do que as ligações covalentes e são facilmente rompidas pelo movimento cinético que reflete a energia térmica das moléculas, o que é desejável, uma vez que possibilita a liberação do fármaco na região de interesse. As distâncias destas interações estão apresentadas no quadro 1.

Quadro 1. Distância das ligações de hidrogênio para os modelos 1, 2 e 3.

	Distância de ligação (Å)		
	O--H-N	O--H-C	
Modelo 1	2,24	-	-
Modelo 2	2,11	-	-
Modelo 3	-	2,18	2,71

Fonte: De autoria própria, 2022.

No Modelo 1 e no Modelo 2 a ligação de hidrogênio ocorre entre um átomo de oxigênio provindo da doxorubicina e o hidrogênio provindo de um grupo amina do dendrímero, estes apresentaram distância de ligação de 2,24 e 2,11Å, respectivamente. Já no Modelo 3 há duas interações simultâneas por ligação de hidrogênio, ambas são formadas por dois átomos de oxigênio do fármaco doxorubicina porém, os hidrogênios são provenientes do carbono adjacente ao grupo amina, e essas interações acontecem a uma distância de ligação de 2,18 e 2,71Å.

Com os cálculos *ab initio* dos orbitais moleculares pode-se compreender as propriedades moleculares destes complexos de ligação de hidrogênio que estão diretamente relacionadas às propriedades de estabilidade energética e estruturais. Inicialmente as energias totais dos sistemas foram avaliadas para posterior cálculo da energia de ligação, conforme quadro 2.

Quadro 2. Energia total e energia de ligação dos sistemas.

	Energia total (eV)	Energia de ligação (eV)
G0	- 8929,01	
DOXO	- 10037,17	
Modelo 1	- 18967,46	- 1,27
Modelo 2	- 18967,55	- 1,36
Modelo 3	- 18967,31	- 1,12

Fonte: De autoria própria, 2022.

Para avaliar a estabilidade dos sistemas, uma das propriedades a ser determinada é a energia de ligação por meio das energias totais obtidas das simulações dos compostos isolados e dos compostos conjugados. A energia de ligação do sistema é calculada pela equação 1:

$$E_{\text{ligação}} = E (\text{PAMAM+ DOXO}) - E (\text{PAMAM}) - E (\text{DOXO}) \quad (1)$$

onde $E (\text{PAMAM+DOXO})$ é a energia do sistema formado pelo dendrímero e pela doxorubicina e $E (\text{PAMAM})$ e $E (\text{DOXO})$ representam a energia dos sistemas isolados.

Por meio do cálculo da energia de ligação obteve-se a menor energia para o Modelo 2, com valor de -1,36 eV, representando o sistema mais estável e favorável à formação. Neste modelo a interação O-H possui uma distância de 2,11Å, conforme quadro 2. Apesar do Modelo 2 apresentar o menor valor de energia e comprimento de ligação, todos os modelos apresentaram-se favoráveis à interação visto que para todos os modelos estudados a energia de ligação é negativa.

A estabilidade das ligações químicas entre os complexos pode ser justificada e explicada pelo potencial eletrostático, mas também pela polarização e a transferência de cargas. A transferência de carga acontece pela interação entre orbitais ligantes de uma molécula doadora de carga e do orbital antiligante da outra molécula receptora de carga. Considerando a doxorrubicina a molécula doadora de carga, em que seu oxigênio atua como a espécie doadora, e o dendrímero o receptor em que seu hidrogênio recebe a carga. No quadro 3 apresenta-se os valores de carga transferida através das ligações de hidrogênio.

Quadro 3. Cargas transferidas.

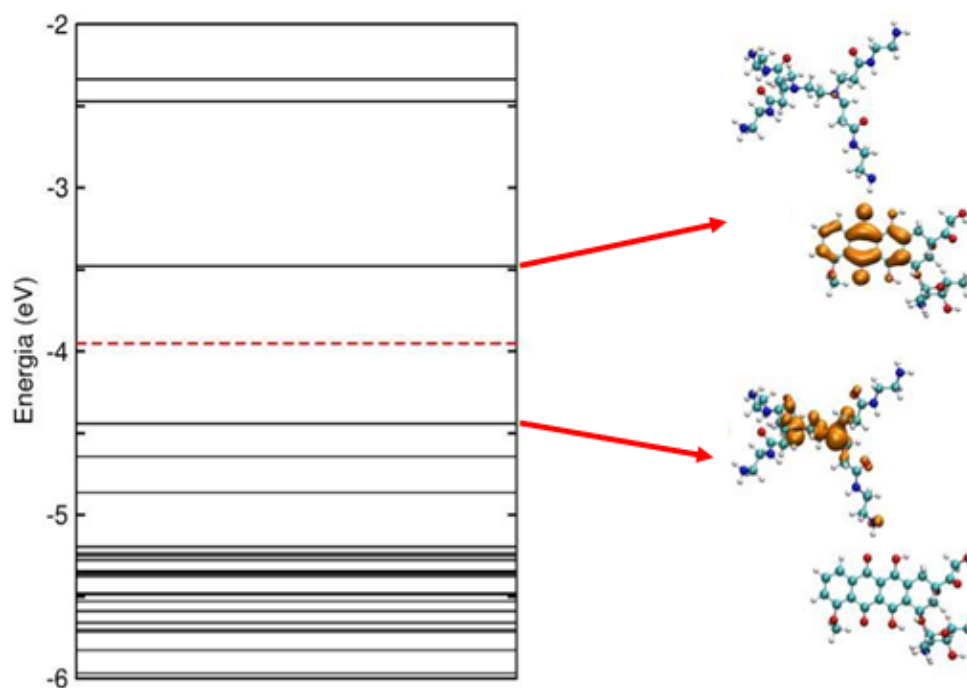
	Carga transferida oxigênio	Carga transferida hidrogênio
Modelo 1	- 0,042	0,024
Modelo 2	0,006	0,018
Modelo 3	0,002; -0,038	0,008; 0,006

Fonte: De autoria própria, 2022.

Para o Modelo 1 houve transferência de - 0,042 C no átomo de oxigênio e de 0,024 C para o hidrogênio, enquanto que para o Modelo 2 e 3 a transferência de carga não foi significativa. Os resultados de transferência de carga demonstram o esperado para G0-DOXO, visto que a ligação de hidrogênio não transfere carga e o que observa-se é relativamente pequeno comparado a uma ligação covalente.

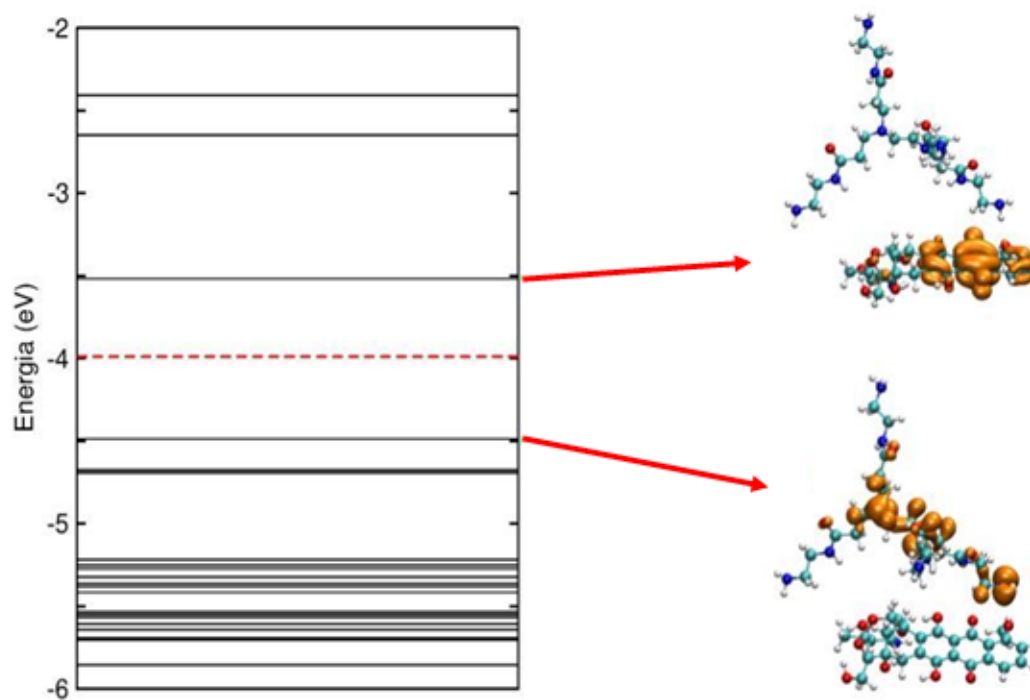
As energias dos estados estão diretamente relacionadas à reatividade dos compostos e seus níveis eletrônicos. Uma descrição mais completa da interação entre o fármaco e o dendrímero pode ser obtida a partir da análise das propriedades eletrônicas. Com esse intuito, foram calculados os níveis de energia e a densidade de carga do HOMO e do LUMO para cada um dos modelos. Esses resultados são apresentados nas figuras 24, 25 e 26.

Figura 23 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 1.



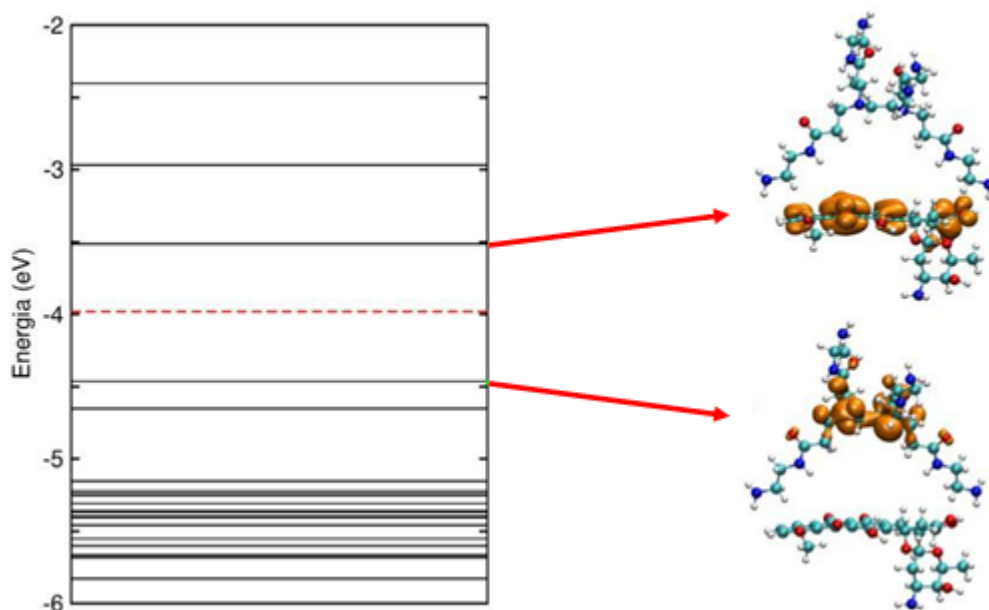
Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 24 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 2.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 25 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 3.

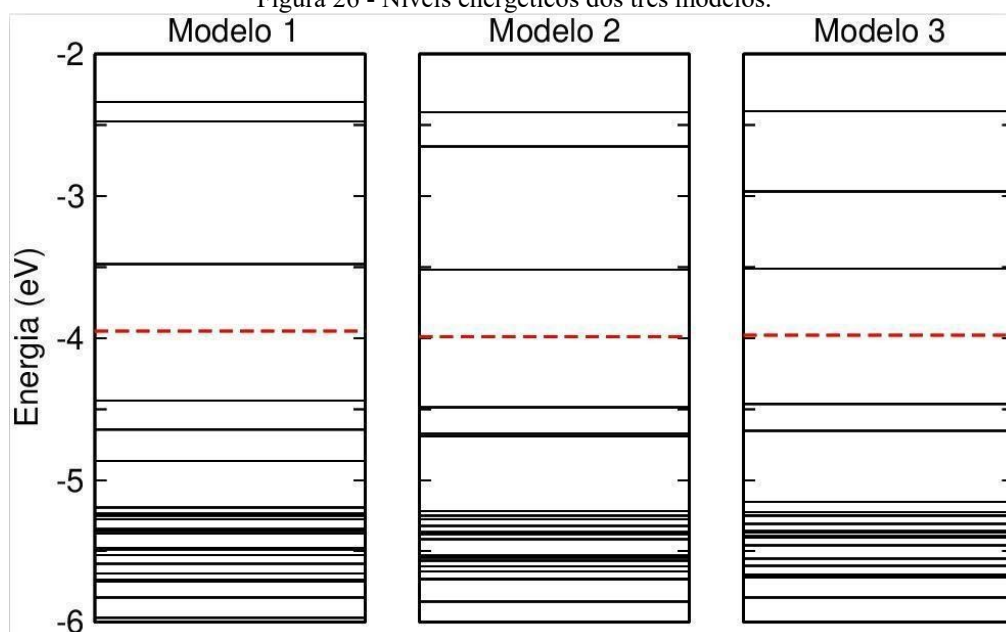


Fonte: De autoria própria, 2022.

A densidade de carga nos orbitais caracteriza as possíveis interações entre doadores e receptores de elétrons, informando a parte do sistema de possível transferência de carga. A densidade de carga é demonstrada por lóbulos alaranjados onde há a presença de carga, o que significa que nessa região a probabilidade de encontrar um elétron é igual a 1. Vale ressaltar que até aqui foi abordado sobre níveis ocupados, e no caso do LUMO a densidade de carga define a região onde a probabilidade de encontrar um buraco é igual a 1.

Os três modelos apresentam gaps de energia semelhantes, sendo de 0,96 eV para o Modelo 1, de 0,95 eV para o Modelo 2 e de 0,97 eV para o Modelo 3. Apesar da pequena diferença entre os gaps de energia, os modelos se diferem em seus níveis energéticos, conforme representado na figura 27.

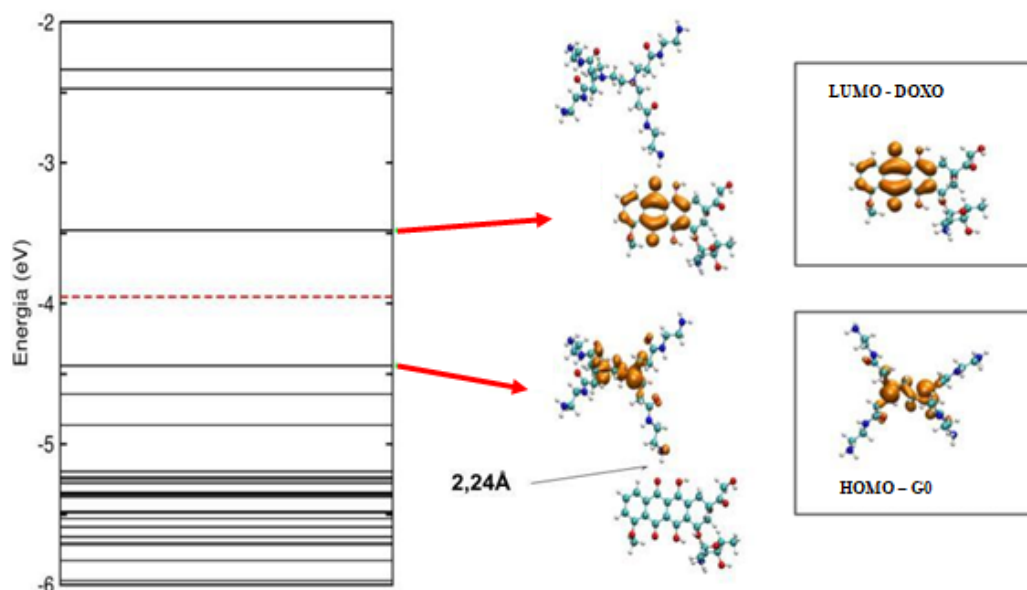
Figura 26 - Níveis energéticos dos três modelos.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Nota-se que nos modelos as bandas HOMO e LUMO estão posicionadas praticamente no mesmo nível de energia, enquanto que abaixo de HOMO e acima de LUMO há algumas diferenças entre elas. No Modelo 1 há uma banda energética em torno de -4,9 eV e outra em -2,5 eV não presentes nesta mesma posição nos Modelos 2 e 3. No Modelo 2 há uma sobreposição de bandas próximo a -4,6 eV e a presença de uma banda em torno de -2,7 eV sendo estas encontradas em outra posição nos demais modelos. Já no Modelo 3, há uma banda próxima a -3,0 eV. Esses deslocamentos de bandas energéticas representam a influência que os átomos de posições diferentes têm na formação da ligação de hidrogênio. Essa diferença nas propriedades eletrônicas é mais um indicativo da ligação entre os dois sistemas, pois se a interação não ocorresse os três modelos teriam exatamente os mesmos níveis energéticos.

Figura 27 - A direita, densidade de carga no dendrímero PAMAM e na doxorubicina antes da ligação de hidrogênio. No Modelo 1, ao centro, após a ligação.

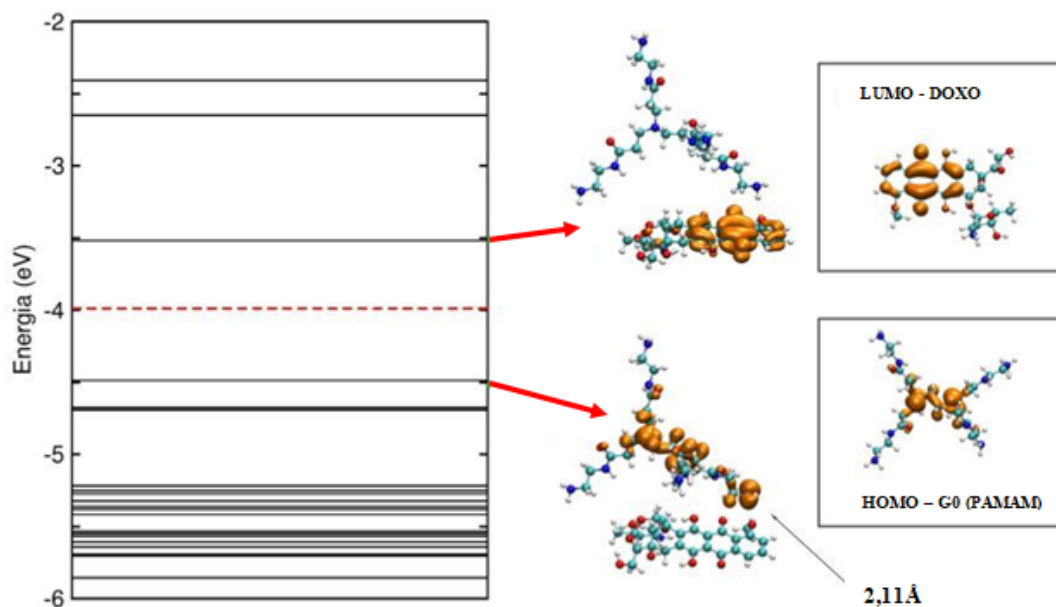


Fonte: De autoria própria, 2022.

Com níveis de energia diferentes os modelos também foram analisados em termos de comportamento da densidade de carga, a fim de compreendê-los e relacioná-los aos demais parâmetros.

Na formação das ligações de hidrogênio uma molécula (dendrímero PAMAM) participa com o orbital HOMO, e a outra (doxorubicina) com o orbital LUMO. Na figura 28, é possível visualizar uma mudança no comportamento da densidade eletrônica depois desta ligação. Antes, o dendrímero PAMAM concentrava sua carga na região do núcleo e com a aproximação do fármaco passou a apresentar densidade no grupo amina da superfície externa. Essa mudança evidencia uma interação entre o dendrímero e o fármaco. Já na doxorubicina, LUMO, não ocorreu uma mudança significativa em sua densidade eletrônica após a formação da ligação de hidrogênio.

Figura 28 - A direita, densidade de carga no dendrímero PAMAM e na doxorubicina antes da ligação de hidrogênio. No Modelo 2, ao centro, após a ligação.

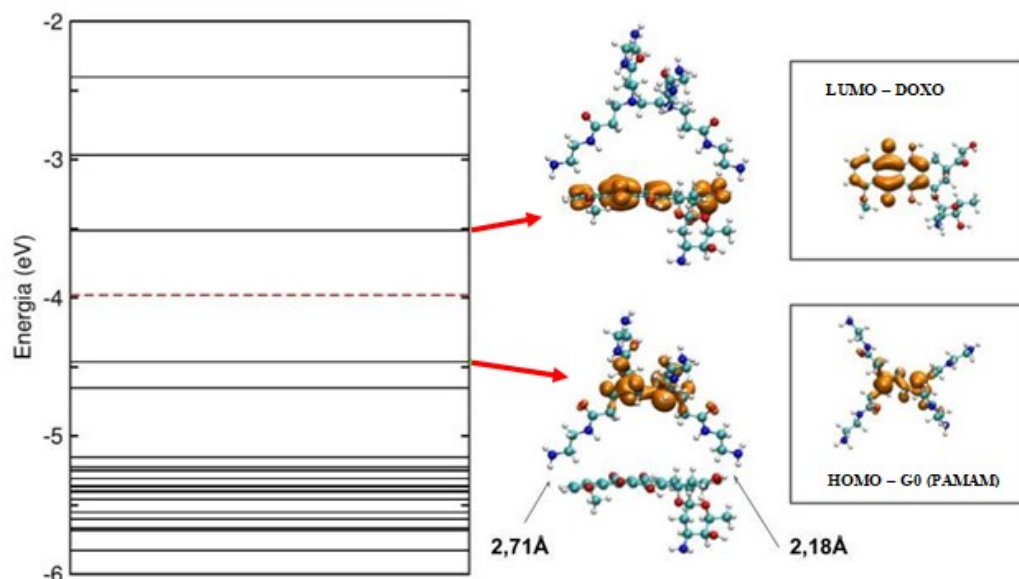


Fonte: De autoria própria, 2022.

No Modelo 2 é possível visualizar uma concentração da densidade eletrônica nos grupos periféricos do dendrímero ao aproximarem-se da doxorubicina. Esta aproximação apresentou a menor distância de ligação e a maior estabilidade em termos de energia de formação.

Comparando a densidade eletrônica do HOMO para os modelos 1 e 2, percebe-se que ambos tiveram um deslocamento de carga do núcleo em direção ao grupo amina que participa da ligação. Essa mudança é mais evidente no Modelo 2, em que de fato este modelo observa-se uma menor distância de ligação, o que resulta em uma maior perturbação na distribuição eletrônica. Essa diferença nas propriedades eletrônicas dos dois modelos, aparece nos níveis eletrônicos apresentados na figura 29, onde há uma clara distinção dos níveis próximos ao HOMO.

Figura 29 - A direita, densidade de carga no dendrímero PAMAM e na doxorubicina antes da ligação de hidrogênio. No Modelo 3, ao centro, após a ligação.



Fonte: De autoria própria, 2022.

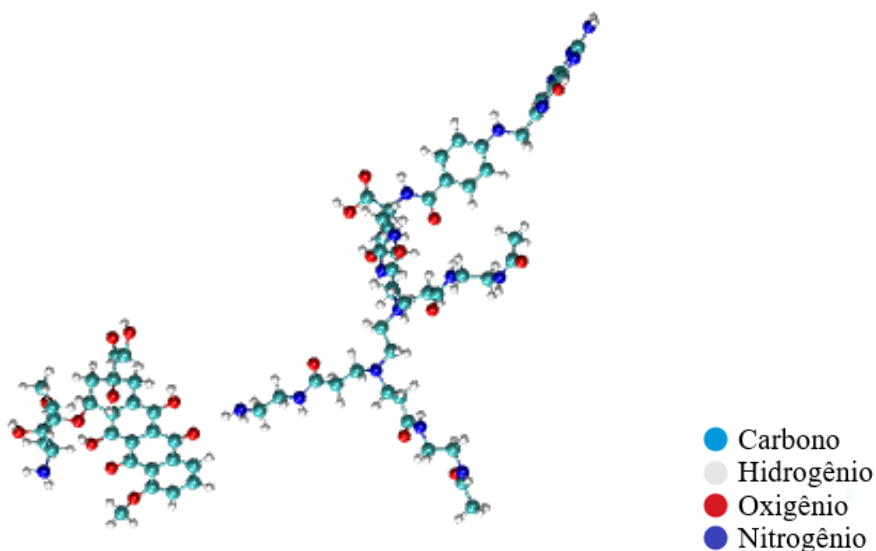
No Modelo 3 ocorrem duas interações simultâneas entre as moléculas. No dendrímero PAMAM o hidrogênio que forma a ligação de hidrogênio é diferente dos demais modelos, pertencendo a um átomo de carbono, o que pode justificar algumas mudanças nos níveis de energia. As ligações apresentaram comprimentos diferentes, a formada com o oxigênio da carbonila (do radical) tem 2,18 Å e a formada pelo oxigênio do radical metil tem 2,71 Å.

Diferente do que foi observado nos modelos 1 e 2, a densidade eletrônica do PAMAM não foi deslocada com a interação do hidrogênio, ela manteve-se ao centro da estrutura. A partir disso pensou-se que a interação não ocorreu, pois a densidade eletrônica do HOMO é a mesma observada no PAMAM isolado. Porém, comparando a densidade de carga do LUMO com a densidade de carga da doxorubicina isolada, podemos ver que houve um deslocamento significativo de cargas para os átomos do radical contendo carbonila de cetona. Isso se deve ao efeito da proximidade do dendrímero, evidenciando que a interação ocorreu.

6.3.2 Interação do dendrímero PAMAM G0 acetilado e ligado ao ácido fólico com a doxorubicina

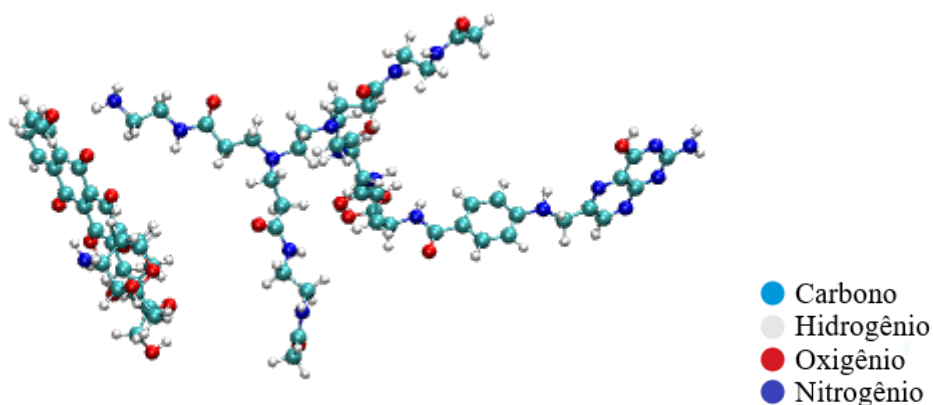
Para entender o papel dos grupos acetil e do ácido fólico no transporte da doxorubicina, nesta etapa estudou-se a interação do fármaco com o G0.NHAc.FA. Agora, no dendrímero PAMAM G0 há três ligações covalentes sendo duas terminações ligadas a grupo acetil e uma terceira a uma molécula de ácido fólico (G0.NHAc.FA). As estruturas nos modelos propostos estão representadas nas figuras 31, 32 e 33.

Figura 30 - Modelo 1 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.



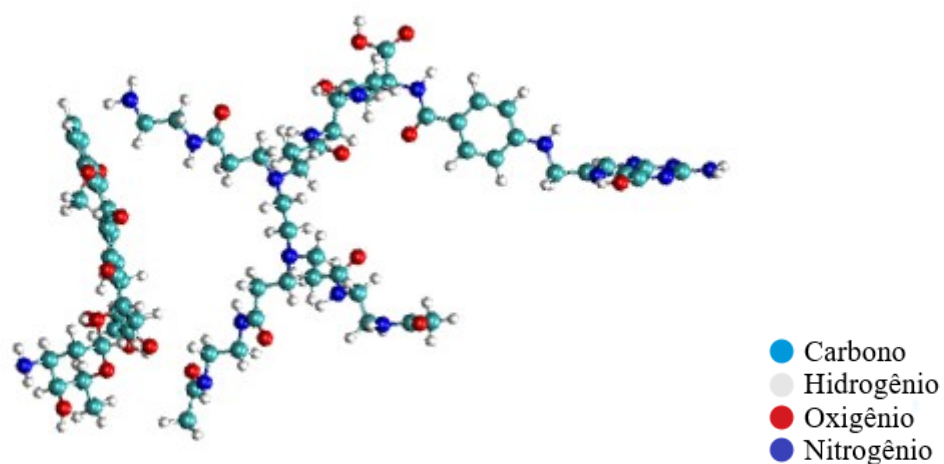
Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 31 - Modelo 2 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 32 - Modelo 3 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Os novos sistemas de transporte interagem por ligações de hidrogênio com as distâncias apresentadas no quadro 4.

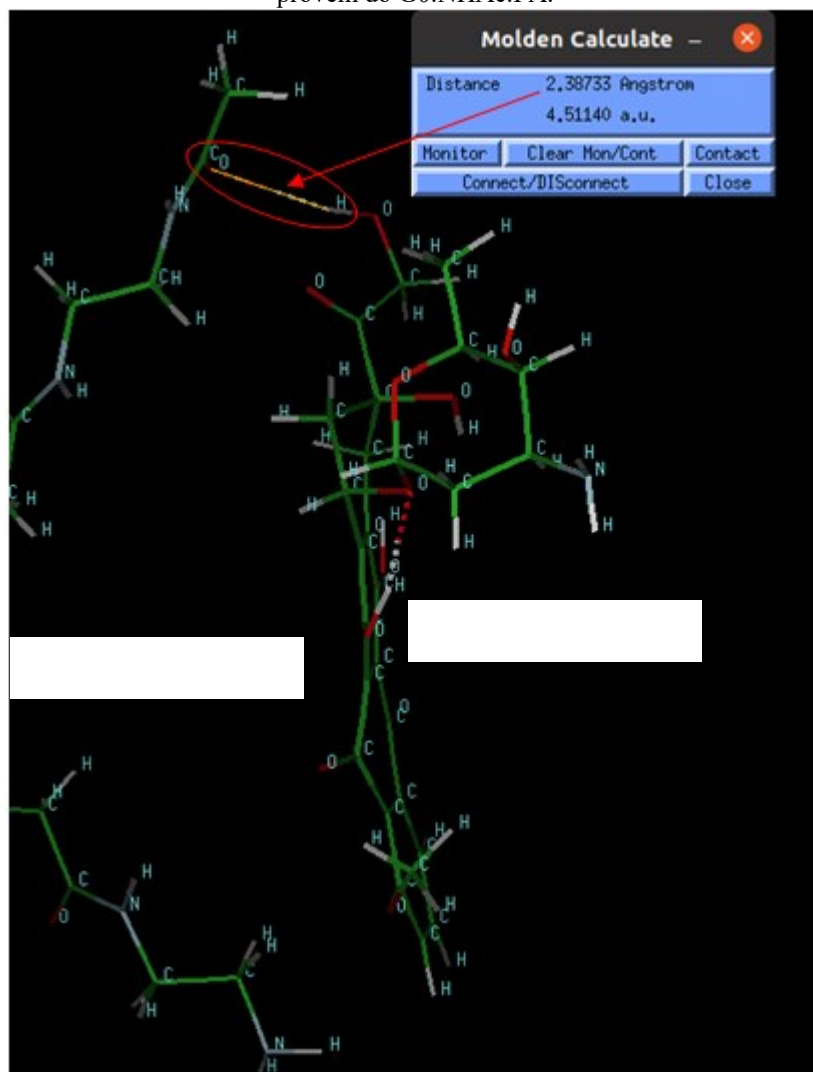
Quadro 4. Distância das ligações de hidrogênio entre G0.NHAc.FA e DOXO.

	Distância de ligação (Å)		
	N-H—O G0.NHAc.FA - DOXO	C=O--H G0.NHAc.FA - DOXO	C-H—O G0.NHAc.FA - DOXO
Modelo 1	2,31	-	-
Modelo 2	2,32	-	-
Modelo 3	-	2,39	2,70

Fonte: De autoria própria, 2022.

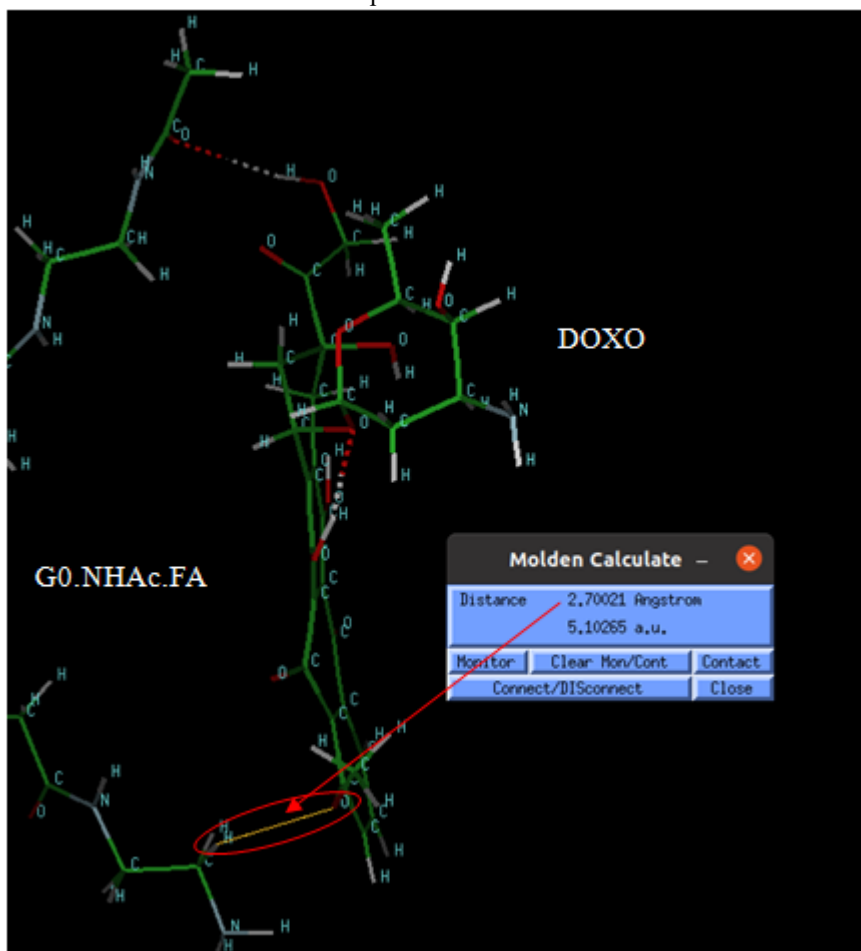
As distâncias de ligação demonstram que a maior proximidade entre G0.NHAc.FA e a DOXO acontece no Modelo 1 e Modelo 2, no qual apresentaram uma diferença muito pequena entre eles, sendo de 2,31 Å e 2,32 Å, respectivamente. O Modelo 1 e Modelo 2 apresentaram um aumento na distância de ligação comparado às distâncias do G0-DOXO, em que foram de 2,24 para 2,31 Å e de 2,11 para 2,32 Å, respectivamente. Já no Modelo 3, ocorreu uma mudança na forma como uma das interações ocorre. Anteriormente havia duas ligações de hidrogênio simultaneamente com os hidrogênios do carbono adjacente ao grupo amina, no G0, e em uma dessas ligações o oxigênio provinha da carbonila da DOXO. Agora, uma dessas interações não ocorre desta mesma forma. Na ligação mais curta, 2,39 Å, o G0.NHAc.FA participa da ligação com um átomo de oxigênio provindo do grupo acetil, enquanto que na DOXO ao invés de fornecer o oxigênio da carbonila, fornece o hidrogênio de uma ligação OH, conforme figura 34. Apesar desta modificação, as ligações permaneceram com as distâncias semelhantes da estrutura G0-DOXO, ou seja, de 2,18 para 2,39 Å e 2,71 para 2,70 Å, conforme figura 35. No entanto, pode-se observar que o grupo acetil não apenas reduz a toxicidade do dendrímero, mas também contribui na ligação com o fármaco. Isso já era previsto pela densidade de carga do sistema G0.NHAc, onde o LUMO está localizado nas ramificações e no grupo acetil.

Figura 33 - Ligação de hidrogênio no Modelo 3, com distância de 2,38 Å, em que o H provem da DOXO e o O provem do G0.NHAc.FA.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 34 - Ligação de hidrogênio no Modelo 3, com distância de 2,70 Å, em que o H provem do G0.NHAc.FA e o O provem da DOXO.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Para avaliar a estabilidade dos sistemas, determinou-se a energia de ligação por meio das energias totais obtidas das simulações dos compostos isolados e dos compostos conjugados, conforme a equação 2:

$$E_{\text{ligação}} = E (\text{G0.NHAc.FA+DOXO}) - E (\text{G0.NHAc.FA}) - E (\text{DOXO}) \quad (2)$$

onde $E (\text{G0.NHAc.FA+DOXO})$ é a energia do sistema formado pelo dendrímero PAMAM G0 acetilado e conjugado ao ácido fólico interagindo com a doxorubicina, $E (\text{G0.NHAc.FA})$ e $E (\text{DOXO})$ representam a energia dos sistemas isolados. As energias de ligação estão apresentadas no quadro 5.

Quadro 5. Energia total e energia de ligação dos sistemas.

	Energia total (eV)	Energia de ligação (eV)
G0.NHAc.FA	- 18086,20	
DOXO	- 10037,17	
Modelo 1	- 28124,91	- 1,54
Modelo 2	- 28125,06	- 1,69
Modelo 3	- 28125,19	- 1,82

Fonte: De autoria própria, 2022.

Para formação da ligação de hidrogênio o Modelo 1 requer -1,54 eV, o Modelo 2 -1,69 eV e o Modelo 3 -1,82 eV. Todos os sistemas apresentaram-se favoráveis a formação, mas o mais estável é representado pela menor energia de ligação, este seria o Modelo 3 com -1,82 eV. Além da energia de ligação avaliou-se a estabilidade do sistema através da transferência de carga, quadro 6, e posteriormente da energia de transição do elétron em cada modelo, quadro 7.

Quadro 6. Cargas transferidas.

	Carga transferida oxigênio		Carga transferida hidrogênio	
Modelo 1	-0,032		0,02	
Modelo 2	0,008		0,012	
Modelo 3	C=O -0,002	-O- -0,006	-0,002	-0,004

Fonte: De autoria própria, 2022.

Para o Modelo 1 houve transferência de - 0,032 C para oxigênio e de 0,02 para o hidrogênio, enquanto que para o Modelo 2 e 3 a transferência de carga foi praticamente nula. Os resultados de transferência de carga demonstram o esperado e comportamento semelhante ao apresentado no G0-DOXO, pois a transferência de carga é relativamente pequena em uma

ligação de hidrogênio ao se comparar a uma ligação covalente, por exemplo. No quadro 7 estão os valores da energia para que ocorra a transição eletrônica do orbital HOMO para o LUMO no sistema G0.NHAc.FA-DOXO.

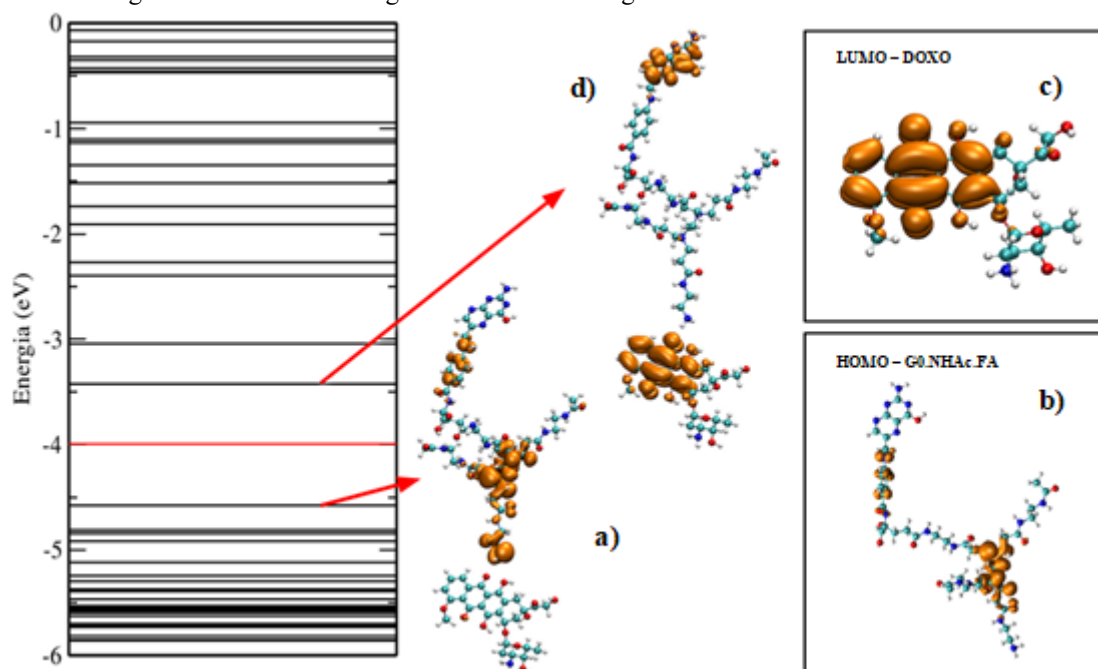
Quadro 7. Gap de energia dos modelos de ligação no sistema G0.NHAc.FA-DOXO.

G0.NHAc.FA	GAP de energia (eV)
Modelo 1	1,15
Modelo 2	1,13
Modelo 3	1,17

Fonte: De autoria própria, 2022.

Os três modelos apresentam gaps de energia semelhantes, sendo de 1,15 eV para o Modelo 1, de 1,13 eV para o Modelo 2 e de 1,17 eV para o Modelo 3. Apesar da pequena diferença entre as transições, os modelos se diferem em seus níveis energéticos, conforme representado nas figuras 36, 37 e 38.

Figura 35 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 1.

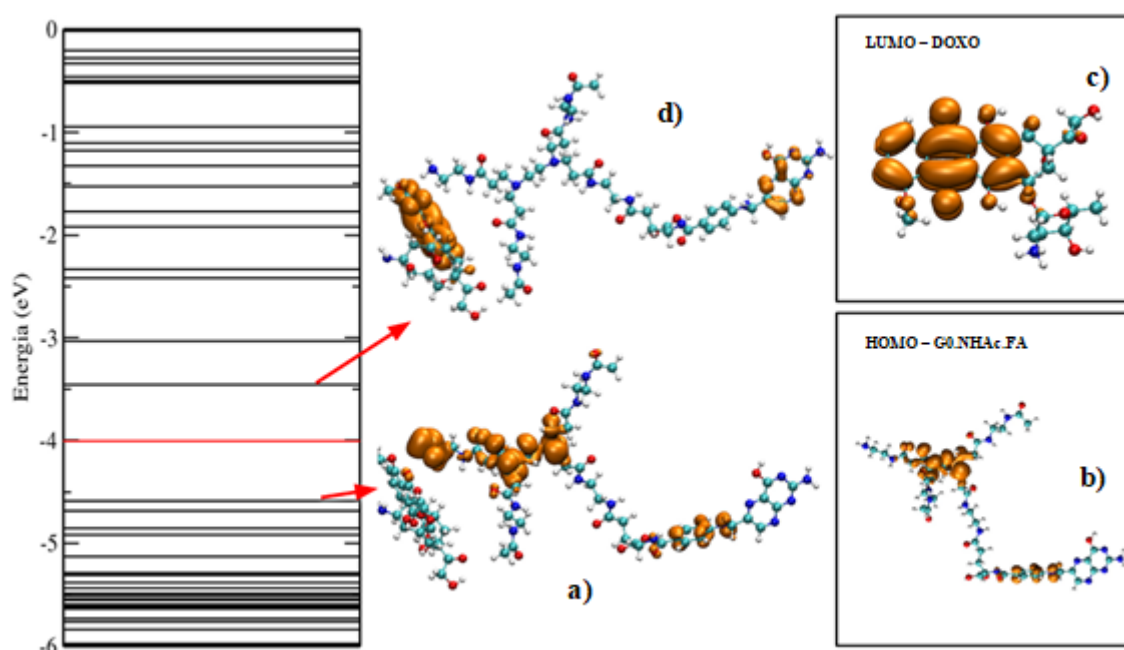


Fonte: De autoria própria, 2022.

No orbital HOMO do Modelo 1, figura 36.a), verifica-se que a densidade de carga, região alaranjada que representa a região onde um elétron pode ser encontrado, concentra-se toda no G0.NHAc.FA, com uma contribuição do grupo amina da terminação do PAMAM. Quando avaliado o orbital HOMO apenas do sistema G0.NHAc.FA, figura 36.b), percebe-se um comportamento similar, porém com ausência de carga neste mesmo grupo amina. A densidade de carga no grupo amina no orbital HOMO no G0.NHAc.FA-DOXO é um indicativo da existência da ligação de hidrogênio, visto que a doxorubicina induziu este deslocamento de carga.

No orbital LUMO, figura 36.d), a probabilidade de recepção de carga ocorre principalmente nos anéis aromáticos da DOXO, conforme o orbital LUMO da doxorubicina, figura 36.c), mas também é representativa na parte mais externa da estrutura do ácido fólico, no G0.NHAc.FA.

Figura 36 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 2.



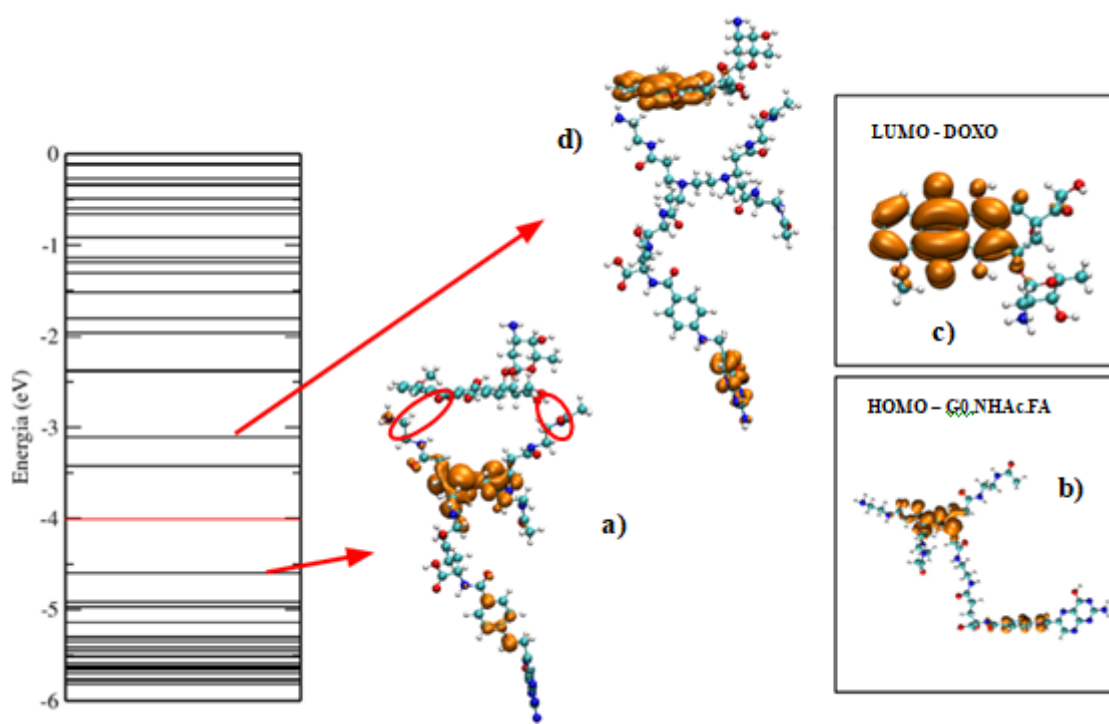
Fonte: De autoria própria, 2022.

No orbital HOMO do Modelo 2, figura 37.a), um resultado semelhante ao observado no Modelo 1 é obtido. A localização da densidade de carga concentra-se toda no G0.NHAc.FA, também com destaque ao grupo amina da terminação do PAMAM. Nesta estrutura, a ligação de hidrogênio ocorre em outro átomo de oxigênio da doxorubicina, mas comporta-se de maneira semelhante ao modelo anterior, pois a densidade de carga no grupo

amina no orbital HOMO no G0.NHAc.FA-DOXO também se faz presente pela influência da doxorubicina.

No orbital LUMO, figura 37.d), a probabilidade de recepção de carga ocorre também principalmente nos anéis aromáticos da DOXO mas apresenta uma intensidade de carga reduzida na parte mais externa da estrutura do ácido fólico, no G0.NHAc.FA, comparado ao orbital LUMO do Modelo 1.

Figura 37 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 3.



Fonte: De autoria própria, 2022.

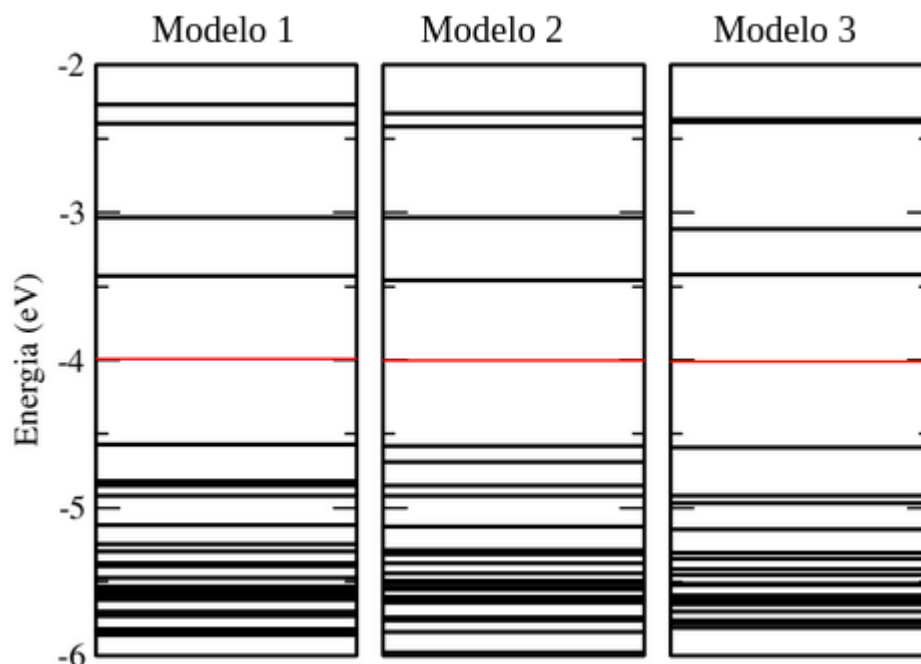
No Modelo 3 ocorrem duas ligações de hidrogênio simultaneamente na estrutura, sendo que em uma das ligações o hidrogênio provém do dendrímero e na outra ligação da doxorubicina, conforme destacado na figura 38 a). Quando o hidrogênio provém do complexo dendrítico, este está ligado ao carbono adjacente ao grupo amina, enquanto que na doxorubicina o oxigênio pertence ao grupo metóxi. Já na outra ligação de hidrogênio, o hidrogênio provém da doxorubicina, e este está ligado a um oxigênio de álcool enquanto que o complexo dendrítico fornece o oxigênio do grupo acetil para a formação da ligação.

Apesar da mudança na estrutura, no orbital HOMO a densidade de carga continua localizando-se toda na estrutura do G0.NHAc.FA, conforme figura 38 a) comparada com a b). Entretanto, a densidade de carga que localizava-se no grupo amina do complexo dendrítico agora se faz menos intensa, comparado aos modelos anteriores. No orbital LUMO a densidade

de carga localiza-se também principalmente nos anéis aromáticos da DOXO, mas também na parte mais externa da estrutura do ácido fólico, no G0.NHAc.FA, assemelhando-se ao orbital LUMO do Modelo 1.

Os modelos que apresentaram menor densidade e intensidade de carga nos átomos envolvidos na formação da ligação foram os que apresentaram maior distância de ligação.

Figura 38 - Diferença na distribuição de bandas entre os modelos 1, 2 e 3 na estrutura G0.NHAc.FA-DOXO.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Apesar das diferentes formas de ligação estudadas nestes modelos todos apresentam praticamente o mesmo gap de energia, onde até mesmo a posição do orbital HOMO e LUMO são semelhantes. As diferenças encontram-se na posição das bandas de energia acima do orbital LUMO e abaixo do orbital HOMO, conforme figura 39.

As três primeiras bandas energéticas após a banda do orbital HOMO, posicionam-se no Modelo 1 em torno de -4,8 eV em que duas estão sobrepostas, e a terceira em torno de -4,9 eV. No Modelo 2 estas não estão sobrepostas e encontram-se em torno de -4,7, -4,8 e -4,9 eV. Já para o Modelo 3, nesta mesma faixa de leitura (-4,6 a -5,2 eV) existem apenas duas bandas que encontram-se em torno de -4,9 eV e próximo a -5 eV.

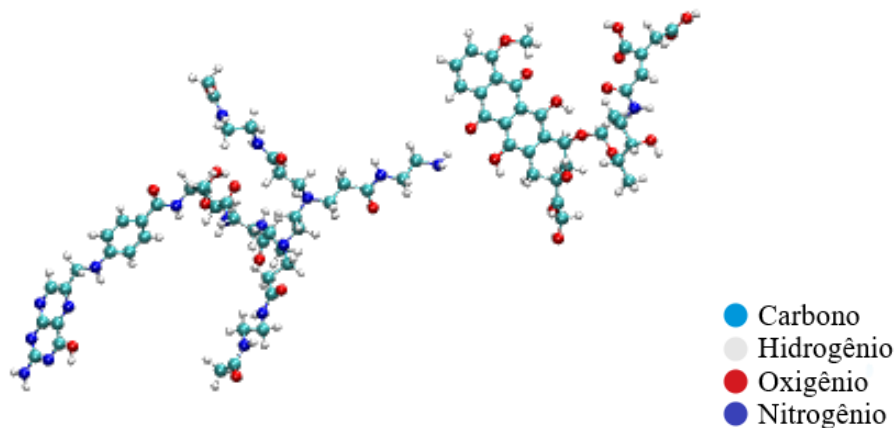
As três primeiras bandas acima do orbital LUMO no Modelo 1 encontram-se em torno de -3,1, -2,4 e -2,2 eV. No Modelo 2 encontram-se em torno de -3,1, -2,4 e -2,3 eV. Já no Modelo 3 uma encontra-se em -3,2 eV e duas sobrepostas entre -2,4 e -2,3 eV. Esses

deslocamentos de bandas energéticas representam a influência que os átomos de posições diferentes têm na formação da ligação de hidrogênio. Essa diferença nas propriedades eletrônicas é mais um indicativo da ligação entre os dois sistemas, pois se a interação não ocorresse os três modelos teriam exatamente os mesmos níveis energéticos, sendo apenas uma sobreposição dos níveis do complexo dendrídico e do fármaco.

6.3.3 Interação do dendrímero PAMAM G0 acetilado e ligado ao ácido fólico com a doxorubicina ligada ao ácido cis-aconítico

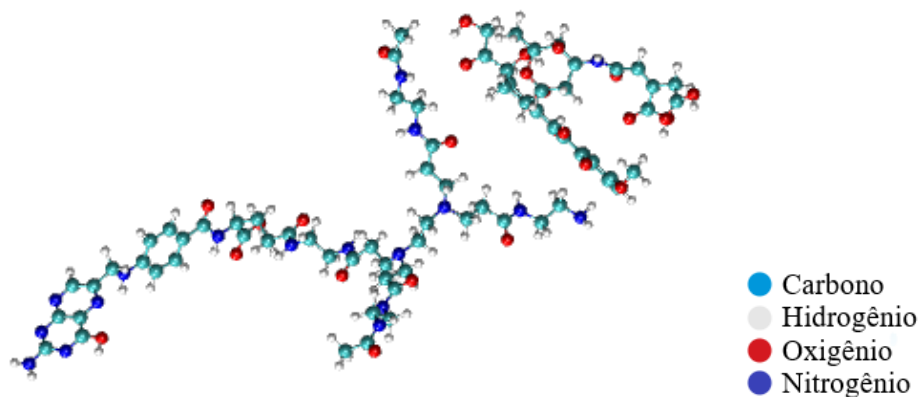
A estrutura mais completa para melhor liberação programada, redução da toxicidade e aumento da biodisponibilidade é pela estrutura G0.NHAc.FA-DOXO.CIS, em que uma molécula de ácido cis-aconítico esta ligada covalentemente a doxorubicina. Os modelos foram analisados da mesma forma até aqui apresentada. Nas figuras 40, 41 e 42 encontram-se as estruturas nos modelos de posição de interação.

Figura 39 - Modelo 1 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS sendo os átomos representados em forma de esfera.



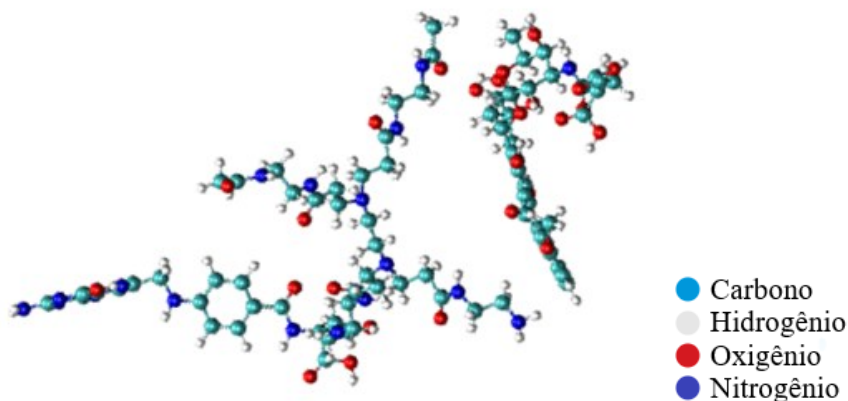
Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 40 - Modelo 2 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Figura 41 - Modelo 3 de interação entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS, sendo os átomos representados em forma de esfera.



Fonte: De autoria própria, 2022.

As distâncias dessas interações estão apresentadas no quadro 8. Para o G0.NHAc.FA-DOXO.CIS, a avaliação das distâncias de ligação entre os modelos apresentou que a maior proximidade entre G0.NHAc.FA e a DOXO.CIS acontece para uma das interações no Modelo 3, a mais curta é de 2,18 Å.

Quadro 8. Distância das ligações de hidrogênio entre G0.NHAc.FA e DOXO.CIS

G0.NHAc.FA-DOXO.CIS	Distância de ligação (Å)
Modelo 1	2,23
Modelo 2	2,36
Modelo 3	2,18 – 2,71

Fonte: De autoria própria, 2022.

As energias de ligação foram calculadas através da equação 3:

$$E_{\text{ligação}} = E (\text{G0.NHAc.FA+DOXO.CIS}) - E (\text{G0.NHAc.FA}) - E (\text{DOXO.CIS}) \quad (3)$$

onde $E (\text{G0.NHAc.FA+DOXO.CIS})$ é a energia do sistema formado pelo dendrímero PAMAM G0 acetilado e conjugado ao ácido fólico interagindo com a doxorubicina ligada ao ácido cis-aconítico, $E (\text{G0.NHAc.FA})$ e $E (\text{DOXO.CIS})$ representam a energia dos sistemas isolados. Para formação da ligação de hidrogênio o Modelo 1 requer -0,75 eV, o Modelo 2 - 0,63 eV e o Modelo 3 -0,81 eV. Perante este parâmetro o sistema mais estável em termos de energia de ligação é representado pela menor energia, este seria o Modelo 3 com -0,81 eV, conforme apresentado no quadro 9.

Quadro 9. Energia total e energia de ligação dos sistemas.

	Energia total (eV)	Energia de ligação (eV)
G0.NHAc.FA	- 18086,20	
DOXO.CIS	- 13309,41	
Modelo 1	- 31396,36	- 0,75
Modelo 2	- 31396,24	- 0,63
Modelo 3	- 31396,42	- 0,81

Fonte: De autoria própria, 2022.

A ligação de hidrogênio não ocorre por transferência de carga mais sim por atração entre as densidades de cargas negativa e positiva. Apesar disso, verifica-se uma pequena transferência de carga, os resultados encontram-se no quadro 10.

Quadro 10. Cargas transferidas.

	Carga transferida oxigênio	Carga transferida hidrogênio
Modelo 1	0,036	0,02
Modelo 2	-0,048	0,012
Modelo 3	-0,002 -0,01	0,018 -0,008

Fonte: De autoria própria, 2022.

Para o Modelo 1 houve transferência de 0,036 C para o átomo de oxigênio e de 0,02 C para o hidrogênio. No Modelo 2 houve transferência de -0,048 C para o oxigênio e 0,012 C para o hidrogênio, enquanto que no Modelo 3 a transferência de carga foi praticamente nula para o oxigênio provindo do dendrímero e de -0,01 C para o oxigênio da doxorubicina. Os resultados demonstram o esperado e comportamento semelhante comparado as interações anteriores, pois a transferência de carga é relativamente pequena se comparada a uma ligação covalente por exemplo.

Outro parâmetro de avaliação é por meio da energia de transição eletrônica do orbital HOMO para o LUMO nos sistemas, cujos resultados estão apresentados no quadro 11. Essa análise permite estabelecer as propriedades eletrônicas do sistema mais completo aqui proposto.

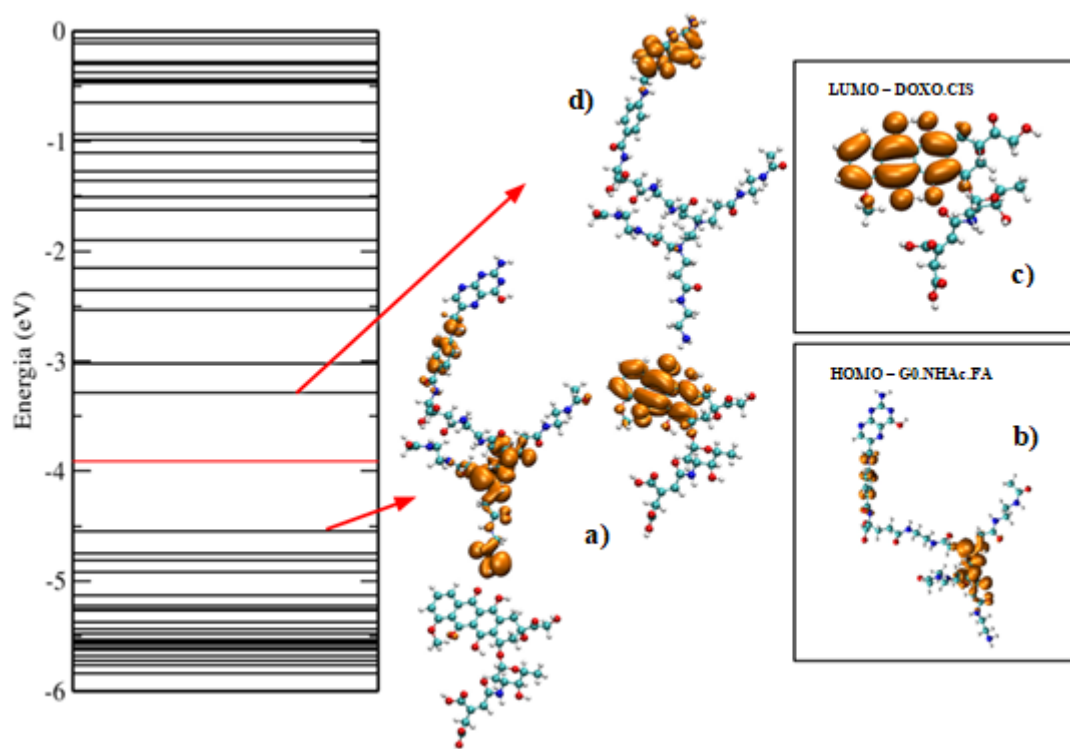
Quadro 11. Gap de energia dos modelos de ligação no sistema G0.NHAc.FA-DOXO.CIS

G0.NHAc.FA-DOXO.CIS	GAP de energia (eV)
Modelo 1	1,26
Modelo 2	1,17
Modelo 3	1,25

Fonte: De autoria própria, 2022.

Os três modelos apresentaram gaps de energia semelhantes, sendo de 1,26 eV para o Modelo 1, de 1,17 eV para o Modelo 2 e de 1,25 eV para o Modelo 3. Apesar da pequena diferença entre as transições, os modelos se diferem em seus níveis energéticos, conforme representado nas figuras 43, 44 e 45. Esse cenário é similar ao observado para o G0 e G0.NHAc interagindo com a doxorrubicina, uma vez que a posição onde ocorre a ligação O-H não influencia o gap de maneira significativa.

Figura 42 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 1.

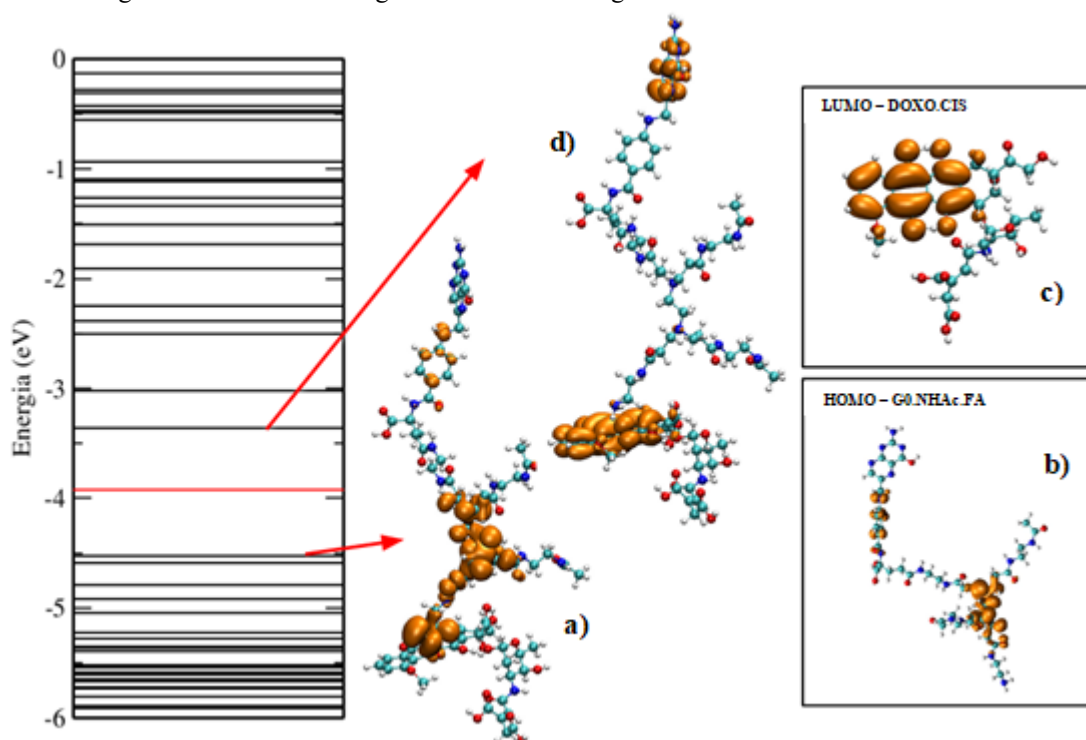


Fonte: De autoria própria, 2022.

No orbital HOMO do Modelo 1, figura 43.a), verifica-se que a densidade de carga, região alaranjada, concentra-se toda no G0.NHAc.FA, com maior intensidade no grupo amina da terminação do PAMAM, enquanto que quando avaliado o orbital HOMO apenas do sistema G0.NHAc.FA, figura 43.b), não observa-se densidade de carga no grupo amina da terminação do PAMAM. A densidade de carga no grupo amina no orbital HOMO no G0.NHAc.FA-DOXO.CIS demonstra a probabilidade da ligação de hidrogênio acontecer nesta região, visto que a doxorrubicina ligada ao ácido cis-aconítico induziu a formação desta localização de carga.

No orbital LUMO, figura 43.d), a probabilidade de recepção de carga ocorre nos anéis aromáticos da DOXO (conforme o que ocorria quando apenas DOXO.CIS, figura 43.c)) e na parte mais externa da estrutura do ácido fólico, no G0.NHAc.FA.

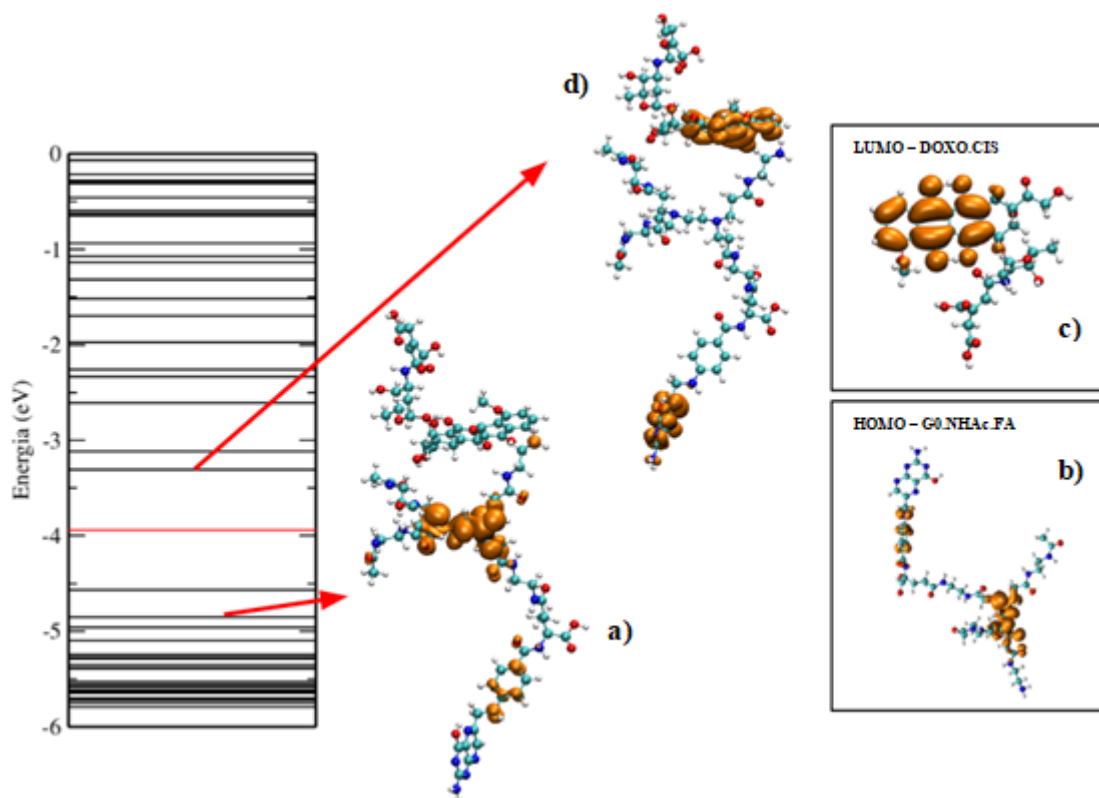
Figura 43 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 2.



Fonte: De autoria própria, 2022.

No orbital HOMO do Modelo 2, figura 44.a), a densidade de carga comporta-se de forma diferente comparado ao Modelo 1, pois a densidade de carga localiza-se com alta intensidade ao centro e na terminação de possível ligação no G0.NHAc.FA, mas também em uma região da DOXO o que até o momento não havia sido notado em nenhuma das estruturas estudadas até aqui, (G0-DOXO e G0.NHAc.FA-DOXO). Para o Modelo 2 do G0.NHAc.FA-DOXO.CIS o grupo do ácido cis-aconítico apresentou uma grande influência no orbital HOMO, pois no orbital LUMO, figura 44.d), a probabilidade de recepção de carga ocorre da mesma maneira que no Modelo 1, localizando-se principalmente nos anéis aromáticos da DOXO e na parte mais externa da estrutura do ácido fólico.

Figura 44 - Níveis de energia e densidade de carga dos orbitais HOMO e LUMO do Modelo 3.



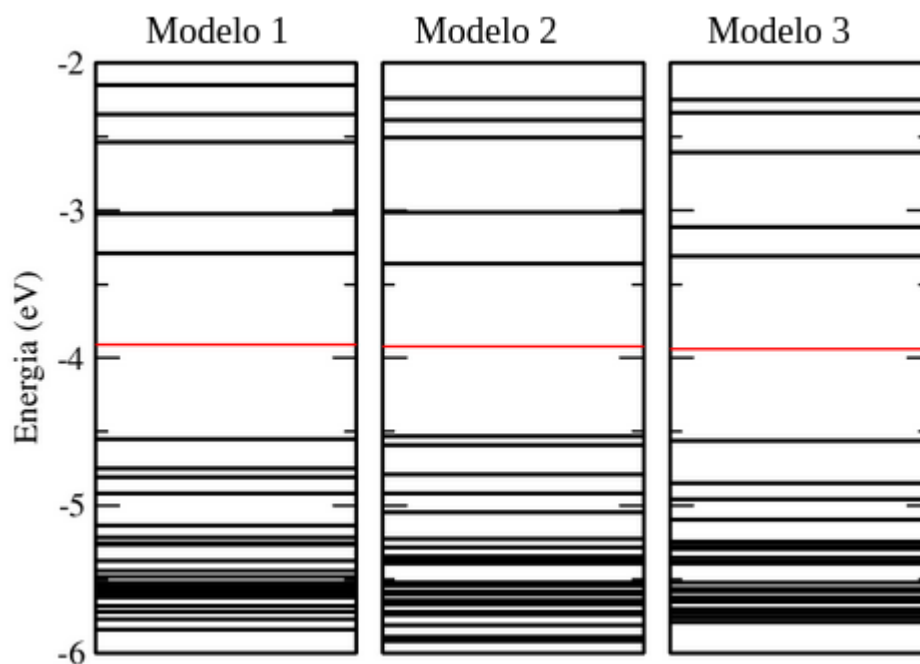
Fonte: De autoria própria, 2022.

No Modelo 3 ocorre duas ligações de hidrogênio simultaneamente, assim como nas outras estruturas já apresentadas (G0-DOXO e G0.NHAc.FA-DOXO). Em uma delas o hidrogênio provém do complexo dendrídico (está ligado ao carbono adjacente ao grupo amina) enquanto que o oxigênio da doxorubicina (pertence ao grupo metóxi). Já na outra ligação de hidrogênio, o hidrogênio provém da doxorubicina (que está ligado a um oxigênio de álcool) e o oxigênio do complexo dendrídico (do grupo acetil) para a formação da ligação.

No orbital HOMO a densidade de carga localiza-se com maior intensidade ao centro da estrutura do G0.NHAc.FA e menor intensidade no grupo amina da interação e em parte da molécula do ácido fólico, figura 45 a). Enquanto que no orbital LUMO a densidade de carga segue o comportamento do orbital LUMO do Modelo 1 e do Modelo 2, localizando-se nos anéis aromáticos da DOXO e parte mais externa da estrutura do ácido fólico.

Os modelos que apresentaram menor densidade e intensidade de carga nos átomos envolvidos na formação da ligação são os que apresentaram maior distância de ligação.

Figura 45 - Diferença na distribuição de bandas entre os modelos 1, 2 e 3 na estrutura G0.NHAc.FA-DOXO.CIS.



Fonte: De autoria própria, 2022.

Nos modelos é possível observar diferenças na posição das bandas energéticas, conforme a figura 46, visto que na região abaixo do orbital HOMO, em torno de -4,5 a -5,0 eV existem quatro bandas para o Modelo 1 e 2 e apenas três para o Modelo 3. Apesar do Modelo 1 e 2 terem o mesmo número de bandas na região mencionada observa-se que suas posições são diferentes. Desta mesma forma pode-se avaliar a região acima do orbital LUMO, em que de -3,5 a -2,0 eV há quatro bandas de energia em cada modelo e todas encontram-se em posições distintas. Essas observações indicam que as ligações de hidrogênio ocorrem entre os modelos, pois se não ocorressem as bandas energéticas comportar-se-iam de forma igual para os três modelos.

7 CONCLUSÃO

Utilizando a metodologia descrita neste trabalho, descreveu-se as propriedades estruturais, energéticas e eletrônicas do dendrímero PAMAM e da doxorubicina (G0-DOXO), do dendrímero PAMAM acetilado e conjugado ao ácido fólico e da doxorubicina (G0.NHAc.FA-DOXO) e do dendrímero PAMAM acetilado e conjugado ao ácido fólico interagindo com a doxorubicina ligada ao ácido cis-aconítico (G0.NHAc.FA-DOXO.CIS). Essa descrição é fundamental para compreender quais os efeitos da interação entre todos esses materiais e demonstrar que de fato é possível transportá-lo por interação. Foram propostos três diferentes modelos de ligação de hidrogênio que foram aplicados aos três níveis de complexidade da estrutura carregadora. Essas simulações permitiram avaliá-los, compará-los e relacioná-los através dos parâmetros de distância de ligação, energia de ligação, transferência de carga, níveis energéticos e de densidade eletrônica.

As distâncias obtidas nas simulações mantiveram-se semelhantes para todos os modelos e estruturas encontrando-se na ordem de 2,5 Å, conforme preconizado para as ligações tipo Van der Waals. Por meio das simulações executadas foi possível verificar que a formação dos complexos, dendrímero PAMAM com o fármaco doxorubicina da estrutura mais simples (G0-DOXO) até a mais complexa (G0.NHAc.FA-DOXO.CIS) são favoráveis, pois todas as estruturas em todos os modelos apresentaram energias de formação negativas, indicando a formação de estruturas estáveis.

A transferência de carga não foi significativa entre os modelos e a complexidade das estruturas, visto que as cargas transferidas apresentaram-se quase nulas, o que seria justificada pelo tipo de interação. As ligações de hidrogênio formam-se por atração eletrostática, onde polos carregados negativamente atraem-se por polos carregados positivamente e então não ocorre transferência de carga.

Quanto às propriedades eletrônicas, todos os modelos apresentaram um gap de energia semelhante dentro de cada estrutura proposta. No entanto, ao analisar os níveis de energia acima do LUMO e abaixo do HOMO perceberam-se diferenças significativas entre os três modelos, ou seja, para uma mesma estrutura aplicando os três modelos de ligação de hidrogênio observou-se que as posições das bandas energéticas apresentam-se diferentes, confirmando que todas as interações ocorrem, pois se as ligações não se formassem, as posições das bandas energéticas seriam iguais para os três modelos.

Essas diferenças aparecem também quando observada a densidade de carga desses níveis. Todos os modelos em todas as estruturas apresentaram uma mudança na densidade de carga do HOMO no sistema de transporte quando comparada à densidade de carga do HOMO em que o composto encontrava-se isolado. Essas mudanças nas propriedades eletrônicas confirmam que há interação entre o sistema dendrídico e a droga nos três modelos estudados. Nesta avaliação também observou-se que a densidade eletrônica do sistema transportador (G0-DOXO, G0.NHAc.FA-DOXO, G0.NHAc.FA-DOXO.CIS) no orbital HOMO localiza-se preferencialmente no sistema dendrídico e no orbital LUMO preferencialmente na doxorubicina. A única exceção está no Modelo 2 do G0.NHAc.FA-DOXO.CIS em que no orbital HOMO a doxorubicina também apresentou densidade de carga, e não apenas no LUMO como visto nos demais.

O desenvolvimento de nanossistemas para entrega de fármacos é complexo e requer modificações significativas das estruturas para que se atinja o alvo. Compreender em nível atômico como essas ligações ocorrem, suas preferências e entender com qual força e maneira o sistema venceria as barreiras fisiológicas aproxima-nos de tratamentos mais seletivos e eficazes. Neste trabalho descreveu-se em nível atômico as interações entre o dendrímero PAMAM e a doxorubicina considerando diferentes graus de complexidade e o papel de cada ente nessas interações. Os resultados poderão servir não apenas para estudos futuros envolvendo as moléculas já estudadas, mas também para sistemas de *drug delivery* envolvendo outras moléculas.

REFERÊNCIAS

1. RAI, Mahendra; DURAN, Nelson. **Metal Nanoparticles in Microbiology**. 1. ed. Heidelberg: Springer, 2011.
2. PEER, D.; KARP, J. M.; HONG, S; FAROKHZAD, O. C.; MARGALIT R.; LANGER, R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. **Nat Nanotechnol**, Massachusetts, v. 2, n. 12, p. 751-60, 2007.
3. ALEXIS, F.; PRIDGEN, E.; MOLNAR, L. K.; FAROKHZAD, O. C. Factors Affecting the Clearance and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles. **Molecular Pharmaceutics**, Massachusetts, v.5, n. 4, p. 505–515, 2008.
4. BAE, K. H.; CHUNG, H. J.; PARK, T. G. Nanomaterials for cancer therapy and imaging. **Molecules and Cells**, Korea, v. 31, n. 4, p. 295–302, 2011.
5. BRANNON-PEPPAS, L.; BLANCHETTE, J. O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Austian, v. 64, p. 206–212, 2012.
6. WANG, H.; YU, J.; LU, X.; HE, X. Nanoparticle systems reduce systemic toxicity in cancer treatment. **Nanomedicine**, Columbus, v. 11, n. 2, p. 103–106, 2016.
7. WANG, M. D.; SHIN, D. M.; SIMONS, J. W.; NIE, S. Nanotechnology for targeted cancer therapy. **Expert Review of Anticancer Therapy**, v. 7, n. 6, p. 833–837, 2007.
8. MUNDRA, V.; LI, W.; MAHATO, R. I. Nanoparticle-mediated drug delivery for treating melanoma. **Nanomedicine**, Omaha, v.10, n.16, p. 2613–2633, 2015.
9. BYRNE, J. D.; BETANCOURT, T.; BRANNON-PEPPAS, L. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Austian, v. 60, n. 15, p. 1615–1626, 2008.
10. HALEY, B.; FRENKEL, E. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, Dallas, v. 26, n. 1, p. 57–64, 2008.
11. FERRARI, M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. **Nature Reviews Cancer**, Columbus, v. 5, n. 3, p. 161–171, 2005.
12. PANDITA, D.; POONIA, N.; KUMAR, S.; LATHER, V.; MADAN, K. Dendrimers in drug delivery and targeting: Drug-dendrimer interactions and toxicity issues. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, Haryana, v. 6, n. 3, p. 139, 2014.
13. MANDAL, A. K. Dendrimers in targeted drug delivery applications: a review of diseases and cancer. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, Jadavpurer, p. 1–11, 2020.
14. KUMAR, P *et. al.* Dendrimer: a novel polymer for drug delivery. **JITPS**, Austian, v.1, n. 6, p. 252-269, 2010.

15. BUHLEIER, E.; WEHNER, W.; VÖGTLE, F. Cascade and Nonskid-Chain-like syntheses of molecular cavity topologies. **Synthesis**, [s.l.], v. 2, n. 55, p.158, 1978.
16. DYKES, G.M. Dendrimers: a review of their appeal and applications. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Heslington, v. 76, p. 903-918, 2001.
17. SILVA, Alexandra Rodrigues Pereira. **Estudo das propriedades bioquímicas de sistemas poliméricos arborescentes PGLD-AAS para o tratamento do câncer**. 2008. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2008.
18. SOWINSKA, M.; URBANCZYK-LIPKOWSKA, Z. Advances in the chemistry of dendrimers. **New Journal of Chemistry**, Warsaw, v. 38, n. 6, p. 2168-2203, 2014.
19. MAJOROS, Istvan; BAKER, Jr. R. **Dendrimer-Based Nanomedicine**. Florida: Pan Stanford Publishing, 2008.
20. CROOKS, R. M.; ZHAO, M.; SUN, L.; CHECHIK, V.; YEUNG, L. K. Dendrimer-encapsulated metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications to catalysis. **Accounts of chemical research**, Texas, v. 34, n. 3, p. 181-190, 2001.
21. MALIK, N.; WIWATTANAPATAPEE, R.; KLOPSCH, R.; LORENZ, K.; FREY, H.; WEENER, J.; DUNCAN, R. Dendrimers: Relationship between Structure and Biocompatibility in Vitro, and Preliminary Studies on the Biodistribution of 125I Labelled Poly(amidoamine) Dendrimers in Vivo. **Journal of Controlled Release**, London, v. 65, n.1-2, p. 133–148, 2000.
22. JEVPRASESPHANT, R. The influence of surface modification on the cytotoxicity of PAMAM dendrimers. **International Journal of Pharmaceutics**, Manchester, v. 252, n. 1-2, p. 263–266, 2003.
23. SRINIVASA, G. S.; YAREMA, K. J. Dendrimers in cancer treatment and diagnosis. **Nanotechnologies for the life sciences**. New York: Wiley, v. 7, 2007.
24. SWARUPANANDA, M. E.; SANDIP, P. S.; DHRUBAJYOT, S. Dendrimers: A novel approach in nano drug delivery. **Journal of Pharmacy and Healthcare Management**, Sunderland, v. 2, p.51-60, 2011.
25. ABBASI, E.; AVAL, S. F.; AKBARZADEH, A. *et al.* Dendrimers: synthesis, applications, and properties. **Nanoscale Research Letters**, Iran, v. 9, p.247, 2014.
26. CHATTERJEE, S.; HOFER, T.; COSTA, A.; LU, D., BATKAI, S.; GUPTA, S. K.; BÄR, C. Telomerase therapy attenuates cardiotoxic effects of doxorubicin. **Molecular Therapy**, Hannover, v. 29, n. 4, p. 1395–1410, 2021.
27. RIVANKAR, S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, Maharashtra, v. 10, n. 4, p. 853, 2014.
28. YANG, F.; TEVES, S. S.; KEMP, C. J.; HENIKOFF, S. Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. **Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer**, Seattler, v. 1845, n. 1, p. 84–89, 2014.

29. CARVALHO, C.; SANTOS, R.; CARDOSO, S.; CORREIA, S.; OLIVEIRA, P.; SANTOS, M.; MOREIRA, P. Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect. **Current Medicinal Chemistry**, Coimbra, v. 16, n. 25, p. 3267–3285, 2009.
30. DAVIS, A. M.; TEAGUE, S. J.; KLEYWEGT, G. J. Application and limitations of X-ray crystallographic data in structure-based ligand and drug design. **Angewandte Chemie** (International ed. in English), United Kingdom, v. 42, p. 2718-2736, 2003.
31. YUNTA, M. J. R. It is important to compute intramolecular hydrogen bonding in drug design? **American Journal of Modeling and Optimization**, Madrid, v. 5, n. 1, p. 24-57, 2017.
32. IRETA, J.; NEUGEBAUER, J.; SCHEFFLER, M. On the Accuracy of DFT for Describing Hydrogen Bonds: Dependence on the Bond Directionality. **J. Phys. Chem. A**, Paderborn, v. 108, n. 26, p. 5692-5698, July 2004.
33. PERDEW, J.P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. **Phys Rev Lett**, New Orleans, 1996.
34. VOVUSHA, H.; BANERJEE, D.; YADAV, M. K.; PERROZZI, F.; OTTAVIANO, L., SANYAL, S.; SANYAL, B. Binding Characteristics of Anticancer Drug Doxorubicin with 2D Graphene and Graphene Oxide: Insights from Density Functional Theory Calculations and Fluorescence Spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry C**, Coppito-L'Aquila, p. 1-24, 2018.
35. TONEL, M. Z.; MARTINS, M. O.; ZANELLA, I.; PONTES, R. B.; FAGAN, S. B. A first-principles study of the interaction of doxorubicin with graphene. **Computational and Theoretical Chemistry**, Goiânia, v. 1115, p. 270–275, 2017.
36. WANG, C., ZHANG, L., JIANG, Y., ZHANG, M., LIU, L., YE, D., YANG, Y. A DFT study on the high-density assembly of doxorubicin drug delivery by single-walled carbon nanotubes. **Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures**, [s.l], v. 134, p. 114892, 2021.
37. FARMANZADEH, D.; GHADERI, M. A computational study of PAMAM dendrimer interaction with trans isomer of picoplatin anticancer drug. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, Babolsar, v. 80, p. 1–6, 2018.
38. TROULLIER, N., MARTINS, J. N. Efficient pseudopotentials for plane-wave calculations. **Physical Review B**, Minneapolis, v. 43, p. 1993-2006, 1991.
39. PERDEW, J.P.; BURKE, K.; WANG, Y. Generalized gradient approximation for the exchange-correlation hole of a many-electron system. **Physical Review B**, New Orleans, v. 54, p. 16533-16539, 1996.
40. PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple, **Phys. Rev. Lett**, New Orleans, v. 77, p. 3865, 1996.
41. SOLER, J. M. *et. al.* The SIESTA method for ab initio order-N materials simulation. **Journal of Physics: Condensed Matter**, Madrid, v. 14, p. 2745, 2002.

42. LI, S., YUAN, S., ZHAO, Q., WANG, B., WANG, X., & LI, K. Quercetin enhances chemotherapeutic effect of doxorubicin against human breast cancer cells while reducing toxic side effects of it. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Jinzhou, v. 100, p. 441–447, 2018.
43. KLAJNERT, B.; BRYCZEWSKA, B. Review Dendrimers: properties and applications. **Acta biochimica polonica**, Tabriz, v. 48, n. 1, p. 199-208, 2001.
44. TOMALIA, D.A. The dendritic state. **Materials Today**, Carolina do Sul, v. 8, n. 3, p. 34-46, 2005.
45. KUKOWSKA-LATALLO, J. F.; CANDIDO, K. A.; CAO, Z.; NIGAVEKAR, S. S.; MAJOROS, I. J.; THOMAS, T. P.; BAKER, J. R. Nanoparticle Targeting of Anticancer Drug Improves Therapeutic Response in Animal Model of Human Epithelial Cancer. **Cancer Research**, Ann Arbor, v. 65, n. 12, p. 5317–5324, 2005.
46. MOUSA, S.; BHARALI, D.; KHALIL, M.; GURBUZ, M. S. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers. **International Journal of Nanomedicine**, Rensselaer, v. 1, 2009.
47. LE, W.; CHEN, B.; CUI, Z.; LIU, Z.; SHI, D. Detection of cancer cells based on glycolytic-regulated surface electrical charges. **Biophysics Reports**, Shanghai, v. 5, n. 1, p. 10–18, 2019.
48. QUINTANA, A.; RACZKA, E.; PIEHLER, L.; LEE, I.; MYC, A.; MAJOROS, I.; BAKER, JR. Design and Function of a Dendrimer-Based Therapeutic Nanodevice Targeted to Tumor Cells Through the Folate Receptor. **Pharmaceutical Research**, Ann Arbor, v. 19, n. 9, p. 1310–1316, 2002.
49. CHO, K.; WANG, X.; NIE, S.; CHEN, Z.; SHIN, D. M. Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. **Clinical Cancer Research**, Atlanta, v. 14, n. 5, p. 1310–1316, 2008.
50. LOW, P. S.; HENNE, W. A.; DOORNEWEERD, D. D. Discovery and Development of Folic-Acid-Based Receptor Targeting for Imaging and Therapy of Cancer and Inflammatory Diseases. **Accounts of Chemical Research**, West Lafayette, v. 41, n. 1, p. 120–129, 2008.
51. FRANZEN, S. A comparison of peptide and folate receptor targeting of cancer cells: from single agent to nanoparticle. **Expert Opinion on Drug Delivery**, Raleigh, v. 8, n. 3, p. 281–298, 2011.
52. NAJAFI, M.; SHAYESTEHE, M. R. H.; MORTEZAEI, K.; FARHOOD, B.; HAGHI-AMINJAN, H. The role of melatonin on doxorubicin-induced cardiotoxicity: A systematic review. **Life Sciences**, Kermanshah, v. 241, p. 117173, 2019.
53. KARIMI, S.; NAMAZI, H. Simple preparation of maltose-functionalized dendrimer graphene quantum dots as a pH-sensitive biocompatible carrier for targeted delivery of doxorubicin. **International Journal of Biological Macromolecules**, Tabriz, v. 156, p. 648–659, 2020.

54. ZHANG, M.; *et al.* Doxorubicin-Conjugated PAMAM Dendrimers for pH-Responsive Drug Release and Folic Acid-Targeted Cancer Therapy. **Pharmaceutics**, Shanghai, v. 10, n. 3, p. 162, 2018.
55. Grimme, S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. **J. Comput. Chem.**, Corrensstrabe, v. 27, p. 1787–1799, 2006.