



A CURA DI SILVIA CAUTERUCCIO E MONICA CIVERA  
DIPARTIMENTO DI CHIMICA  
UNIVERSITÀ DI MILANO  
silvia.cauteruccio@unimi.it  
monica.civera@unimi.it

## Nanosistemi a base di oro in ambito biomedico

Quando un metallo nobile assume dimensioni nella scala dei nanometri (1-100 nm) presenta proprietà fisiche e chimiche uniche e completamente diverse da quelle mostrate dal metallo tal quale (*bulk*). I nanosistemi a base di oro (AuNS), ad esempio, stanno suscitando sempre più interesse soprattutto in ambito biomedico, per applicazioni nell'*imaging* diagnostico, come sistemi di *drug delivery* oppure in terapia antitumorale. Le loro proprietà ottiche ed elettriche possono essere modulate variandone la dimensione, la forma, l'area superficiale, lo stato di aggregazione o la chimica di superficie, quest'ultima particolarmente importante in quanto legata alla composizione chimica, alla presenza di siti reattivi e alla solubilità dei nanosistemi stessi. La *review* di Jiang [X. Jiang, *Chem. Sci.*, 2020, DOI: [10.1039/c9sc06497d](https://doi.org/10.1039/c9sc06497d)] sottolinea come la comprensione dei principi molecolari che governano la chimica di superficie rappresenti un obiettivo molto importante al fine di migliorare e/o conferire nuove proprietà biologiche ai AuNS. D'altra parte, la purezza e la stabilità a lungo termine dei AuNS e dei nanosistemi in generale sono dei requisiti essenziali in ambito biomedico. Per questo motivo nel campo delle nanotecnologie si stanno sviluppando diverse metodologie basate su fenomeni fisici piuttosto che su metodologie di sintesi chimica, in quanto i primi consentono una produzione su larga scala di AuNS con elevata purezza e senza la necessità di purificare le nanoparticelle da sali metallici, generalmente utilizzati nelle sintesi chimiche. La tecnica di ablazione laser in soluzione (*Pulsed Laser Ablation in Liquid, PLAL*) è tra i metodi più promettenti, in termini di purezza, costi e tempi ed utilizza impulsi laser su un target del materiale da rimuovere immerso in un liquido puro o in soluzione, in assenza di stabilizzanti. Una versione ottimizzata della PLAL ha permesso di ottenere in un singolo passaggio delle nuove nanoparticelle di oro rivestite con silice su larga scala, caratterizzate da un diametro medio di 13 nm e stabilità per oltre 20 giorni [N. Hampp, *Nanoscale*, 2020, DOI: [10.1039/c9nr07129f](https://doi.org/10.1039/c9nr07129f)]. Esperimenti *in vitro* hanno dimostra-

to una buona biocompatibilità e una bassa tossicità, mentre studi sulla loro biodistribuzione *in vivo* indicano l'accumularsi delle nanoparticelle in diversi organi, ma non nel cervello, suggerendo, quindi, la loro incapacità di attraversare la barriera ematoencefalica.

Concludo evidenziando un'altra applicazione molto interessante dei AuNS nello sviluppo di superfici o film ad azione antibatterica, questi ultimi molto utili nel contrastare la diffusione di batteri farmaco-resistenti. In particolare, superfici costituite da nanoparticelle metalliche e contenenti un colorante fotosensibile, se irraggiate con luce opportuna, liberano specie ossidanti reattive (ROS) che sono in grado di uccidere i batteri. Anche in questo caso la dimensione e la forma dei nanosistemi influenza notevolmente l'attività antibatterica dei film. Thanh ha dimostrato, ad esempio, che film ottenuti con *nanorods* di oro (32 nm di lunghezza X 16 nm di diametro) e *nanostars* di oro (50 nm di diametro) in presenza del violetto di genziana come colorante, una volta sottoposti a risonanza plasmonica di superficie per liberare i ROS, forniscono una risposta diversa nei confronti di batteri Gram-positivi e Gram-negativi, dimostrando, quindi, la possibilità di creare superfici non solamente efficaci ma anche selettive per determinate specie batteriche [T.K. Thanh, *ACS Appl. Bio Mater.*, 2020, **3**, 315].

## Una procedura computazionale per generare e valutare l'energia libera di legame di stapled peptides

Gli *hydrocarbon-stapled peptides* sono una classe di molecole bioattive con struttura ad elica progettate per colpire le interazioni proteina-proteina (PPI). Infatti i peptidi  $\alpha$  elica sono un motivo strutturale molto presente all'interfaccia proteina-proteina, stimabile a circa al 40% in quelle omodimeriche e al 26% in quelle eterodimeriche. Rispetto alle *small drugs* sviluppate per le PPIs, i peptidi si legano a superfici proteiche più estese con grande selettività e minore tossicità (infatti sono degradati in amminoacidi) e, rispetto ad anticorpi ricombinanti e proteine ingegnerizzate, hanno costi di produzione inferiori e sono più stabili a tempera-



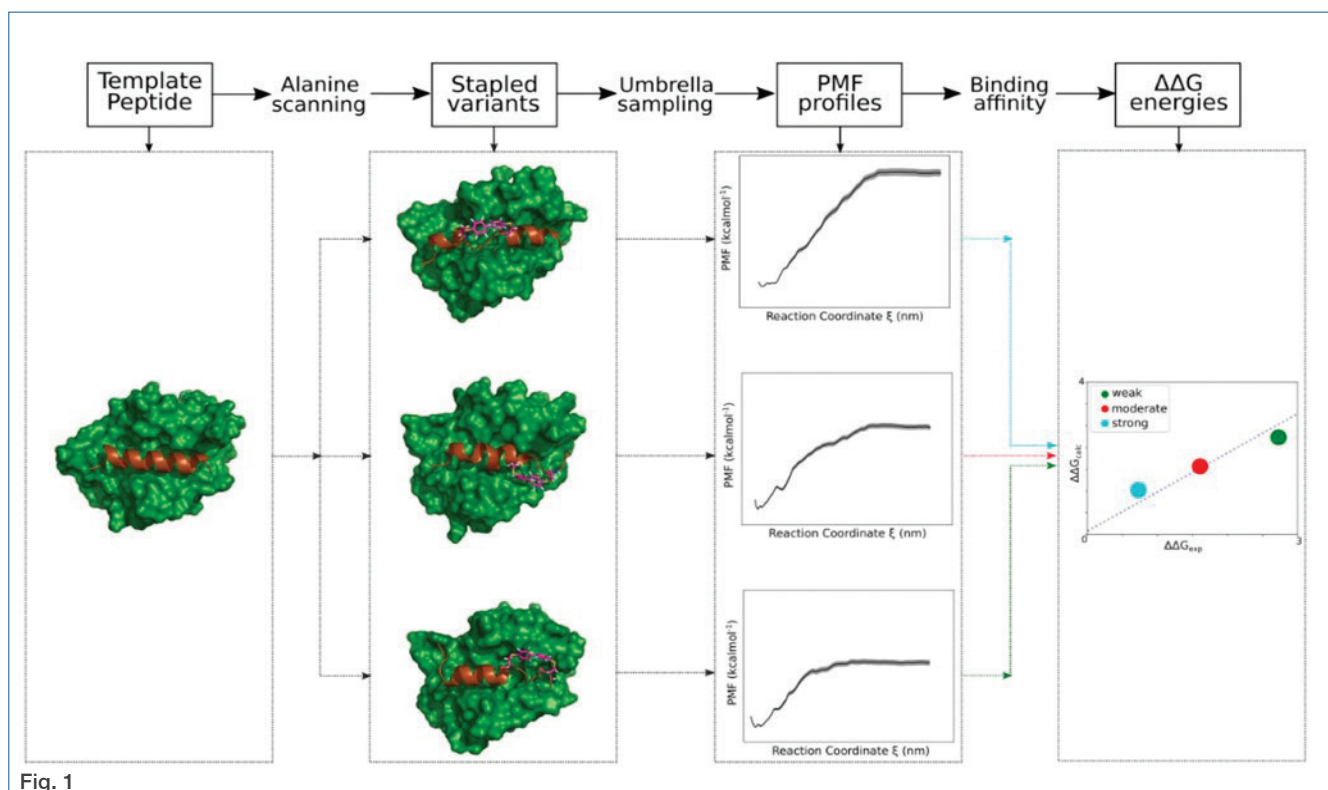


Fig. 1

tura ambiente. La sequenza peptidica può essere modificata introducendo degli *scaffolds* o residui non standard capaci di formare uno *staple*, ovvero un legame covalente tra due catene laterali di aminoacidi. In questo modo si forma un macrociclo che stabilizza la conformazione ad elica del peptide e, di conseguenza, la sua permeabilità cellulare e la resistenza alla proteolisi. Fino ad oggi nella maggior parte degli studi, le migliori posizioni per lo *stapling* sono state decise in modo empirico e arbitrario. In questo lavoro [P.A. Valiente, *Org. Chem.*, 2020, just accepted, DOI: [10.1021/acs.joc.9b03067](https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b03067)] gli autori propongono un nuovo metodo computazionale per identificare le posizioni ottimali alla formazione di *stapled peptides* e per valutare la loro interazione con la proteina.

La procedura (Fig. 1) si basa su simulazioni di dinamica molecolare (MD), calcoli di *alanine scanning* (CAS) e di energia libera in condizioni di non-equilibrio (*umbrella sampling*, US).

Il protocollo è stato applicato ad una libreria di *stapled peptide*  $\alpha$  elica sviluppata per il recetto-

re BCLXL. Il primo passaggio consiste nell'identificare gli *hot spots* di legame, ovvero i residui che contribuiscono maggiormente all'energia di legame, all'interfaccia dei complessi peptide-recettore mediante CAS. Come secondo passaggio si generano tutti i possibili *stapled peptides*, introducendo in tutte le posizioni  $i, i+4$  del peptide il gruppo perfluoroarenico. Combinando i risultati CAS con simulazioni MD, si selezionano i complessi più stabili per successivi calcoli di US. In questo modo si scartano i complessi che orientano il gruppo perfluoroarenico verso gli *hot spots* di legame o che perturbano il legame del peptide con il recettore durante la simulazione.

Nelle simulazioni US, ciascun *stapled peptide* è allontanato dal sito di legame applicando una forza lungo una coordinata di reazione ( $\xi$ ) definita dal baricentro del peptide e un residuo chiave del sito attivo. I valori di energia libera di legame ( $\Delta G$ ) calcolati dalle curve di *potential of mean force* (PMF) lungo  $\xi$  discriminano chiaramente i peptidi confermando l'attendibilità della procedura.