

INTERACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA HIDROFÍLICAS CON SISTEMAS BIOMIMÉTICOS

Julie V. Maya Girón; María E. Vela.

Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata – CONICET. Diagonal 113 y Calle 64. Sucursal 4 Casilla de Correo 16, (1900), La Plata, Argentina.

jmaya@inifta.unlp.edu.ar

RESUMEN: Se estudió la interacción de AgNPs cargadas negativamente, de tamaño y sección transversal similar, funcionalizadas con citrato (CIT-AgNPs) o ácido 4-mercaptobenzoico (MBA-AgNPs) con monocapas de Langmuir de 1,2-dimiristoil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina (DMPC) como modelo de biomembrana. A bajas presiones de superficie, ambos tipos de AgNPs interactúan de forma similar, expandiendo el área molecular del lípido. Después de la compresión, las CIT-AgNPs son excluidas de la interfaz, mientras que las MBA-AgNPs permanecen adsorbidas. Los resultados de XPS y los cálculos de DFT, indican que las MBA-AgNPs tienen una mayor cantidad de aniones carboxilato que las CIT-AgNPs, y su permanencia en la interfaz podría interpretarse debido a interacciones electrostáticas sumadas a interacciones hidrofóbicas entre el anillo aromático y las cadenas hidrocarbonadas del DMPC.

PALABRAS CLAVE: Nanopartículas de plata (AgNPs), Monocapas de Langmuir, Nano-bio interfaz.

Uno de los sistemas experimentales más empleados para comprender las interacciones de biomoléculas y nanomateriales con membranas biológicas naturales, involucra la formación de monocapas de fosfolípidos en balanza de Langmuir. En este diseño experimental es posible controlar la composición y organización de los lípidos en la interfaz y controlar la composición de la subfase donde se encuentran las sustancias o partículas cuya interacción se desea investigar.^[1,2]

En el presente trabajo, se estudiaron las interacciones de la dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), presente en una monocapa de Langmuir, como modelo de biomembrana, con AgNPs recubiertas con moléculas simples como el citrato (CIT-AgNPs) y el ácido 4-mercaptobenzoico (MBA-AgNPs) en la subfase acuosa.

El DMPC es un fosfolípido zwitteriónico que a temperatura ambiente se muestra en su fase líquido expandido completo a lo largo de toda la isoterma de Langmuir y presenta una topografía homogénea en el rango de la mesoescala según la información obtenida mediante Microscopía de Ángulo de Brewster (BAM).

Ambos ligandos, CIT y MBA, exponen sus grupos carboxilo y difieren en la naturaleza alifática o aromática de la sección espaciadora de la molécula. Las CIT-AgNPs y las MBA-AgNPs se preparan fácilmente y se caracterizaron con una variedad de técnicas, tales como la Espectroscopía UV-Vis, Espectroscopía de fotoelectrones de Rayos-X (XPS), Espectroscopía Raman y Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM), entre otras técnicas.

Nuestro objetivo es discutir el papel de la carga superficial y la naturaleza química de los modificadores de superficie de las nanopartículas a nivel molecular y en su interacción con las monocapas de DMPC, tomadas como un sistema biomimético de las membranas biológicas.

Caracterización de NPs

En la Figura 1 se muestran imágenes típicas de TEM de CIT-AgNPs y MBA-AgNPs recién preparadas. Las imágenes de baja magnificación a) y b), indican que ambas AgNPs son de forma esférica con tamaños promedio de 8.7 ± 2.5 nm para CIT-AgNPs y de 8.2 ± 2.1 nm para MBA-AgNPs, calculados a partir de sus correspondientes histogramas c) y d).

Las imágenes de HRTEM permiten resolver la estructura atómica de las AgNPs y son compatibles con una mayor contribución de caras [1 1 1] de una estructura cúbica centrada en las caras (fcc). Además, la presencia de estos planos, evidencia la cristalinidad de las AgNPs.

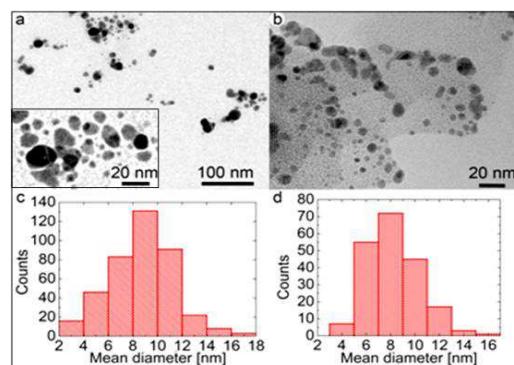


Figura 1. Imágenes TEM, histogramas de distribución de tamaño de CIT-AgNPs (a), (c) y de MBA-AgNPs (b) y (d).

Adsorción de CIT-AgNPs y MBA-AgNPs en la interfaz de monocapas de DMPC

Estudiamos las interacciones de ambas NPs, CIT-AgNPs y MBA-AgNPs con monocapas de DMPC, a diferentes presiones iniciales de superficie, lo que implica diferente empaquetamiento de las moléculas de los fosfolípidos en la interfaz.

La interacción de CIT-AgNPs y MBA-AgNPs con el modelo de biomembrana, fue caracterizada por medio de los cambios en la presión de superficie como función del tiempo ($\Delta\pi=f(t)$) (a área superficial constante) y por la inspección de las isotermas de compresión medidas después de la interacción/adsorción que se produce. Aunque los cambios observados en la presión superficial ($\Delta\pi$) fueron pequeños (Tabla 1), se encontró que la magnitud y el intervalo de presiones de fosfolípidos laterales donde se producen las interacciones, dependen del empaquetamiento de la superficie inicial del DMPC y de la naturaleza química del modificador superficial de la nanopartícula.

Tabla 1. Cambios en la presión superficial ($\Delta\pi$) producidos por la interacción de CIT-AgNPs y MBA-AgNPs con monocapas de DMPC empaquetado a diferentes presiones superficiales iniciales.

π_0 (mN/m)	$\Delta\pi$ (mN/m)	π_0 (mN/m)	$\Delta\pi$ (mN/m)
DMPC	CIT-AgNPs/DMPC	DMPC	MBA-AgNPs/DMPC
3.5	1.79	-	-
5.2	3.40	5.7	3.42
10.3	1.10	10.5	2.38
33.6	0.50	30	0

De acuerdo a los valores obtenidos para $\Delta\pi$, en ambos tipos de AgNPs, se seleccionó $\pi_0^{\text{DMPC}} \cong 5$ mN/m, para explorar la dependencia de las interacciones CIT-AgNPs/DMPC y MBA-AgNPs/DMPC cuando la monocapa de DMPC se comprime después de la interacción con las AgNPs. Tras el estudio de estas isotermas de compresión, se observa que ambos tipos de AgNPs, modifican el área ocupada por el DMPC en comparación con el área obtenida para la monocapa de fosfolípido puro en contacto con la subfase de buffer.

Las CIT-AgNPs cambian la superficie del área ocupada por el DMPC hasta una presión aproximadamente de 35–40 mN/m. Una compresión más alta produce la superposición de ambas isotermas hasta el colapso, indicando la expulsión de estas AgNPs de la interfaz. Por el contrario, con las MBA-AgNPs el cambio en el área ocupada por el DMPC se mantiene a lo largo de toda la compresión de la monocapa.

La topografía de la interfaz desde el lado del aire se visualizó por BAM, mediante una serie de imágenes desde el momento inicial de la inyección de las AgNPs en la subfase hasta los 110 min de adsorción. En este experimento, las AgNPs son inyectadas en la subfase en una cuba donde el DMPC es equilibrado a $\pi_0^{\text{DMPC}} \cong 5$ mN/m. Las imágenes para el buffer puro y el DMPC presentan una topografía homogénea, y no se observaron cambios durante períodos de tiempo comparables a los de las siguientes imágenes que corresponden a soluciones de buffer que contienen AgNPs. A lo largo de 110 min algunos puntos brillantes aparecen en la interfaz, lo que indica que ambos tipos de AgNPs están interactuando con el fosfolípido.

Estructura superficial del citrato y del MBA adsorbido en AgNPs.

Nuestros datos anteriores sobre la adsorción del ácido 4-mercaptobenzoico en superficies de plata, indican que el MBA se adsorbe sobre la Ag, a través de un enlace tiolato exponiendo sus grupos carboxilato a la parte externa de la interface (Figura 2) [3].

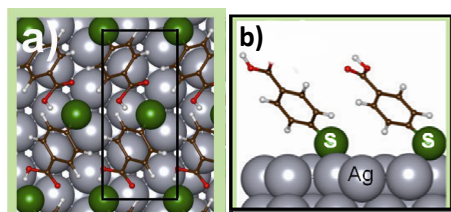


Figura 2. (a) Vista superior y (b) Vista lateral de la red $\sqrt{3}\times 4$ de MBA sobre Ag (111). (Adaptado de J. Phys.Chem.C 2013, 117, 24967-24974).

En el caso de las CIT-AgNPs y considerando que el citrato contiene tres grupos carboxilato por molécula, se plantea cuál de ellos está implicado

en la adsorción sobre Ag y cuál de ellos están expuestos a la solución y son capaces de interactuar con los grupos polares de la monocapa de DMPC.

La estructura superficial optimizada del citrato sobre Ag (1 1 1) se muestra en la Figura 3. La configuración del radical citrato que fue adsorbido sobre una superficie de Ag (1 1 1) a través del terminal y grupos centrales $\eta^2\text{-COO}^-$ con un grupo COOH libre expuesto a la solución.

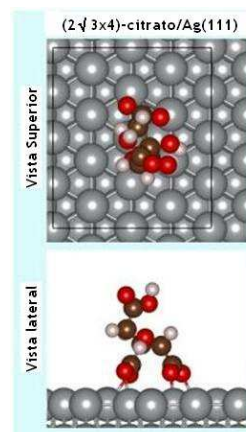


Figura 3. Estructura optimizada para el citrato (CIT) sobre Ag (1 1 1).

Los resultados obtenidos mostraron que a presiones superficiales bajas, ambos tipos de AgNPs interactúan de forma similar. Tras la compresión las CIT-AgNPs son excluidas a la interface, mientras que las MBA-AgNPs permanecen adsorbidas.

Las imágenes BAM muestran que la interacción se limita a las AgNPs/interface DMPC, ya que no hubo penetración de las NPs a través de la monocapa de DMPC.

Tanto los resultados de XPS y DFT, muestran una mayor densidad de aniones carboxilato en MBA-AgNPs que en CIT-AgNPs.

Proponemos entonces que la permanencia de las MBA-AgNPs en todo el intervalo de presiones superficiales, puede ser interpretada con base a sus interacciones electrostáticas con el extremo polar del DMPC (colina), y las interacciones hidrofóbicas mediadas por los grupos aromáticos interacciona con los grupos lipídicos salientes de la cola de los fosfolípidos, donde se favorece la proximidad del anillo aromático/cadenas de hidrocarburos, como también la posibilidad de que en defectos de la monocapa de DMPC se favorezcan las interacciones hidrofóbicas entre el anillo y las cadenas hidrocarbonadas.

REFERENCIAS

- [1] Matshaya, T. J.;Lantern, A. E.;Granados, A. M.;Krause, R. W. M.;Maggio, B.Vico, R. V.; "Distinctive interactions of oleic acid covered magnetic nanoparticles with saturated and unsaturated phospholipids in langmuir monolayers". *Langmuir* **2014**, *30*, 5888-5896.
- [2] Van Lehn, R. C.;Ricci, M.;Silva, P. H. J.;Andreozzi, P.;Reguera, J.;Voitchovsky, K.;Stellacci, F.Alexander-Katz, A.; "Lipid tail protrusions mediate the insertion of nanoparticles into model cell membranes". *Nat Commun* **2014**, *5*, 4482.
- [3] Maya Girón, J. V.;Zelaya, E.;Rubert, A.;Benítez, G.;Carro, P.;Salvarezza, R. C.Vela, M. E.; "Surface Chemistry of 4-Mercaptobenzoic Acid Self-Assembled on Ag(111) and Ag Nanoparticles". *J.Chem.Phys.C* **2013**, *117*, 24967-24974.