

ESTUDO DA PERMEAÇÃO DA VITAMINA E NA PELE HUMANA USANDO DINÂMICA MOLECULAR

L. dos Santos*, N. Azoia**, A. Cavaco-Paulo**, P.P. Favero* e A.A. Martin*

*Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D, Universidade do Vale do Paraíba - Univap, São José dos Campos, SP, Brasil

**Centro de Engenharia Biológica - CEB, Universidade do Minho, Braga, Portugal

E-mail: lauritas9@gmail.com

Resumo: O interesse pelo processo de permeação de substâncias na pele humana está crescendo, particularmente pelas indústrias cosméticas, para desenvolvimento de novas tecnologias e produtos. Dentre as substâncias de interesse, as vitaminas podem ser destacadas, devido ao seu papel antioxidante e de anti-envelhecimento cutâneo. A vitamina E é reconhecida como a mais importante antioxidante em membranas biológicas e a análise do processo de permeação e localização é fundamental para compreensão das suas funções. Diante disto, este trabalho tem por objetivo simular, usando dinâmica molecular, o processo de penetração da vitamina E na pele humana.

Palavras-chave: Dinâmica Molecular, Permeação Cutânea, Vitamina E, Estrato Córneo.

Abstract: *The interest about the permeation process of substances in human skin is growing, particularly by the cosmetics industry to develop new technologies and products. The vitamins can be highlighted due to its antioxidant role and skin anti-aging. Vitamin E is recognized as the major antioxidant in biological membranes and analysis of permeation and localization process is key to understanding their functions. Thus, this work aims at using molecular dynamics to simulate the permeation process of vitamin E in human skin.*

Keywords: *Molecular Dynamics, Cutaneous Permeation, Vitamin E, Stratum Corneum.*

Introdução

O interesse pelo processo de permeação de substâncias pela pele humana está crescendo nos últimos anos, em particular pela indústria cosmética, com o desenvolvimento e teste de novas formulações cosméticas e/ou dermatológicas [1]. Nos estudos de permeação o principal desafio é determinar o percurso exato pelo qual compostos penetram na pele e como isso pode afetar as formulações [2]. Sabe-se que a pele é uma camada heterogênea que controla a absorção e fornece proteção, sendo o estrato córneo a representação da barreira mais externa [3].

A compreensão deste complexo processo que é a permeação dos compostos no estrato córneo envolve desde experimentos *in vivo* até simulações computacionais. Na literatura, encontram-se diversos

trabalhos que fazem uso da dinâmica molecular (DM) para simulação da interação entre compostos cosméticos ou terapêuticos com a pele [4-8]. A DM é uma abordagem teórica para analisar o processo biológico/físico em nível atômico [5]. Basicamente, essa abordagem é uma simulação computacional dos movimentos físicos das moléculas ou átomos dado um determinado intervalo de tempo. Há diversas aplicações de DM em diferentes áreas, por exemplo, simulações físicas, biológicas e médicas.

Dentre as substâncias usadas em estudos de permeação do estrato córneo destacam-se as vitaminas, em particular neste trabalho, a vitamina E. A vitamina E é reconhecida como a maior antioxidante em membranas biológicas, persistindo muitas questões sobre as especificações de suas funções [9]. Uma das questões importantes relacionada à permeação da vitamina E é determinar o caminho de penetração no estrato córneo, que neste contexto, é representado por uma bicamada de lipídios de acordo com Huzil *et al* 2011 [10]. Segundo Atkinson *et al* 2010 [9] a vitamina E em membranas celulares permanece na primeira camada da membrana.

Este trabalho tem por objetivo apresentar um modelo computacional para o processo de penetração da vitamina E no estrato córneo. As simulações são realizadas com as representações *coarse grained* (onde cada esfera da molécula representa quatro átomos – pequenas variações são permitidas) ao invés da representação *fine grained* (onde cada esfera da molécula representa um átomo). A representação *coarse-grained* permite obter uma aproximação correspondente ao sistema analisado, diminuindo o tempo computacional dos cálculos envolvidos. A análise deste modelo visa contribuir na compreensão do processo de permeação de substâncias na pele humana.

Materiais e métodos

Para a simulação de um sistema é fundamental conhecer a estrutura a ser simulada. Por apresentar alta concentração no estrato córneo humano são escolhidas as seguintes moléculas: ceramida-2, ácido graxo com cadeia de carbono de comprimento C24 e colesterol [10]. A membrana com bicamada de lipídios é construída usando o pacote CELLmicrocosmos 2.2 [11]. No modelo da bicamada de lipídios de uma pele normal jovem são usadas 1433 moléculas, sendo 430 de colesterol (30%),

87 de colesterol sulfato (6%), 357 de ceramida (25%) e 559 de ácido graxo (39%). Considerou-se a bicamada imersa em água e as cargas negativas neutralizadas com sódio (Na^+).

Na simulação da bicamada de lipídios e do processo de permeação da vitamina E é usado o pacote computacional de dinâmica molecular GROMACS [12].

São usados os parâmetros padrões para o GROMACS e para o campo de força Martini [13] (representação *coarse grained*). Para obtenção do modelo de vitamina E em *coarse-grained*, usou-se a transformação de resolução (representação *fine-grained* para *coarse-grained*) sugerida em [13].

A pressão e temperatura são fixada em 1bar e 340k. Condições de contorno periódicas são empregadas nas direções x , y e z da simulação.

Para a DM do processo de penetração são consideradas 10 moléculas de vitamina E interagindo com a bicamada de lipídios. O tamanho da caixa de simulação é de $16,42 \times 16,80 \times 12,41\text{nm}$ contendo além da bicamada e das vitaminas E, 13499 esferas representando o solvente água (cada esfera representa 4 moléculas de água em representação *fine grained*) e 366 íons Na^+ para neutralizar as cargas do sistema.

Resultados

A Figura 1 apresenta a bicamada de lipídios em sua configuração final após 500ns de simulação. O tamanho total do modelo de estrato córneo é tamanho de $15 \times 15 \times 9,7\text{nm}$.

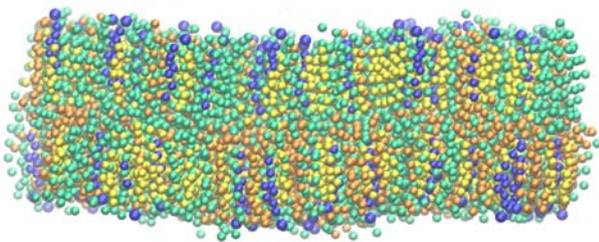


Figura 1: *Snapshot* da Bicamada de Lipídios do Estrato Córneo normal jovem após 500 ns: Ceramida NS (verde) (25%), Colesterol (amarelo) (30%), Colesterol Sulfato (azul) (6%), Ácido Graxo (laranja) (39%).

A representação *coarse grained* da vitamina E foi obtida a partir da sua representação *fine grained* (conforme Fig.2B). Cada esfera *coarse grained* representa aproximadamente 4 átomos da representação *fine grained*.

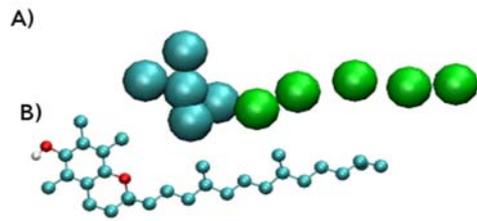


Figura 2: Representação da vitamina E em *fine grained* (B) e *coarse grained* (A). Na representação (2A) as cinco esferas em azul representam os anéis e as cinco esferas verdes representam a cauda da vitamina E.

Para a visualização do processo de penetração foram retirados o solvente e os íons adicionados (ver Fig.3). É importante salientar que em ambos os casos (Figs.3A e 3B) os dois lados mais externos da bicamada são simétricos para representar o processo de penetração apenas da camada mais externa do estrato córneo.

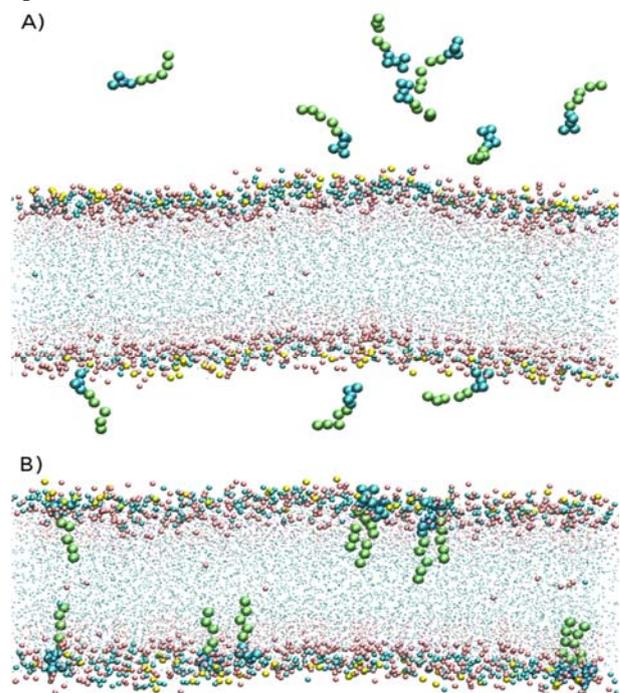


Figura 3: *Snapshot* do modelo de penetração da vitamina E no estrato córneo. A) configuração inicial com a bicamada de lipídios (Fig. 1) e com 10 moléculas de vitamina E. B) Configuração final do sistema após 125ns evidenciando a penetração da vitamina E na primeira camada de lipídios. As cores dos componentes da bicamada foram alteradas (em relação à Fig. 1) com a finalidade de melhor visualização do processo de penetração.

A Figura 4 apresenta a densidade de algumas moléculas no modelo computacional elaborado. Observe que a densidade das vitaminas E é maior na primeira camada da bicamada de lipídio (sem transição entre camadas), reforçando o resultado obtido na Fig.3B. O aumento da densidade de ácidos graxos no centro do modelo (aproximadamente $4,5\text{nm}$ no eixo Z) dá-se em

virtude do empacotamento da bicamada e aproximação das suas caudas hidrofóbicas.

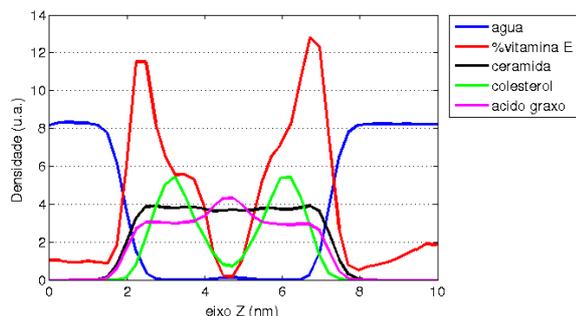


Figura 4: Perfil de densidade (unidades arbitrárias) para as moléculas que compõem o sistema: água, vitamina E, ceramida, colesterol e ácido graxo em relação ao eixo Z (nm). Para melhor visualização a densidade da vitamina E é apresentada em porcentagem.

Discussão

É possível verificar pela simulação do processo de penetração da vitamina E que ao final de 125ns todas as moléculas de vitaminas estão presentes na primeira camada da bicamada de lipídios, conforme evidenciado nas Figs. 3B e 4. Este resultado é análogo com a localização predita em [9] que verificou (entre outras características) a localização da vitamina E em membranas celulares. Apesar da constituição do estrato córneo ser distinto, nota-se uma localização equivalente neste modelo.

Esta equivalência é importante pois corrobora na validação do modelo computacional obtido para o estrato córneo no estudo do processo de permeação de substâncias, em particular vitaminas, na pele humana.

Outro ponto relevante desta análise está relacionado à representação *coarse grained*, uma vez que, mostrou-se adequada para estes estudos, não caracterizando perda de informação para a análise desejada.

Conclusão

Este trabalho apresentou um modelo computacional para o processo de penetração da vitamina E no estrato córneo. O modelo mostrou-se adequado e de acordo com resultados apresentados na literatura. Conclui-se que as representações *coarse-grained* reproduzem grandes sistemas moleculares e corroboram aos estudos da fenomenologia esperada ao processo de penetração da vitamina E no estrato córneo.

Agradecimentos

Laurita dos Santos (bolsista pós-doutorado CNPq) agradece ao CNPq (processo número 151597/2013-8).

Referências

- [1] Christensen S, D'Oyen R. Computational formulation of a new composite matrix. *Scripta Materialia*. 2014; 70:18–24.
- [2] Hadgraft J. Skin, the final frontier. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001; 224:1–18.
- [3] Bouwstra JA, Ponc M. The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2006; 1758:2080–2095.
- [4] Das C, Noro MG, Olmsted PD. Simulation studies of stratum corneum lipid mixtures. *Biophysical Journal*. 2009; 97:1941–1951.
- [5] Imai Y, Liu X, Yamagishi J, Mori K, Neya S, Hoshino T. Computational analysis of water residence on ceramide and sphingomyelin bilayer membranes. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2010; 29:461–469.
- [6] Hoopes MI, Noro MG, Longo M L, Faller R. Bilayer structure and lipid dynamics in a model stratum corneum with oleic acid. *J. Phys. Chem. B*, 2011;115:3164–3171.
- [7] Laszlo J A, Evans KO, Compton DL, Appell M. Dihydrolipoyl dioleoylglycerol antioxidant capacity in phospholipid vesicles. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2012; 165:160–168.
- [8] Martins M, Azoia NG, Ribeiro A, Shimanovich U, Silva C, Cavaco-Paulo A. In vitro and computational studies of transdermal perfusion of nanoformulations containing a large molecular weight protein. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013; 108:271–278.
- [9] Atkinson J, Harroun T, Wassall SR, Stillwell W, Katsaras J. The location and behavior of α -tocopherol in membranes. *Mol. Nutr. Food Res*. 2010; 54:641–651.
- [10] Huzil JT, Sivaloganathan S, Kohandel M, Foldvari, M. Modeling the effects of lipid composition on stratum corneum bilayers using molecular dynamics simulations. *AIP Conf. Proc.* 2011; 1368:175–178.
- [11] Sommer B, Dingersen T, Gamroth C, Schneider S, Rubert S, Kruger J, K.-J.Dietz. Cellmicrocosmos 2.2 membraneditor: a modular interactive shapebased software approach to solve heterogeneous membrane packing problems. *J. Chem. Inform. Model.* 2011; 51:1165–1182.
- [12] Berendsen H, van der Spoel D, van Drunen R. Gromacs: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Computer Physics Communications*. 1995; 91:43–56.
- [13] Marrink SJ, Risselada HJ, Yefimov S, Tieleman DP, de Vries AH. The martini force field: Coarse grained model for biomolecular simulations. *J. Phys. Chem. B*. 2007; 111:7812–7824.