



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

DOUGLAS XAVIER DE ANDRADE

**Versatilidade estrutural de aminoácidos
agregados: *design* de nanomateriais orgânicos via
dinâmica molecular**

GOIÂNIA
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE FÍSICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

Douglas Xavier de Andrade

3. Título do trabalho

Versatilidade estrutural de aminoácidos agregados: *design* de nanomateriais orgânicos via dinâmica molecular

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Colherinhas De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 02/03/2022, às 16:42,



conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **DOUGLAS XAVIER DE ANDRADE, Discente**, em 02/03/2022, às 16:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2728872** e o código CRC **F8654072**.

Referência: Processo nº 23070.002176/2022-91

SEI nº 2728872



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE FÍSICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Douglas Xavier de Andrade

3. Título do trabalho

Versatilidade estrutural de aminoácidos agregados: *design* de nanomateriais orgânicos via dinâmica molecular

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **DOUGLAS XAVIER DE ANDRADE, Discente**, em 13/10/2022, às 16:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Colherinhas De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 13/10/2022, às 16:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3261455** e o código CRC **918827E4**.

DOUGLAS XAVIER DE ANDRADE

Versatilidade estrutural de aminoácidos agregados: *design* de nanomateriais orgânicos via dinâmica molecular

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Física.

Área de concentração: Física

Área de pesquisa: Estrutura Eletrônica de Moléculas, Líquidos e Sólidos

Orientador: Professor Doutor Guilherme Colherinhas de Oliveira

GOIÂNIA
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Andrade, Douglas Xavier de
Versatilidade estrutural de aminoácidos agregados [manuscrito] :
design de nanomateriais orgânicos via dinâmica molecular / Douglas
Xavier de Andrade. - 2022.
176 f.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Física (IF), Programa de Pós-Graduação em Física, Goiânia, 2022.
Bibliografia. Apêndice.
Inclui abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Dinâmica Molecular. 2. Aminoácidos. 3. Peptídeos. 4.
Nanomateriais. I. Oliveira, Guilherme Colherinhas de, orient. II. Título.

CDU 53



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE FÍSICA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº 61 da sessão de Defesa de Tese de Douglas Xavier de Andrade que confere o título de Doutor em Física, na área de concentração em Física.

Aos 25 dias do mês de fevereiro de 2022, a partir das 13h00min, por meio de videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “Versatilidade estrutural de aminoácidos agregados: *design* de nanomateriais orgânicos via dinâmica molecular”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor Guilherme Colherinhas de Oliveira (CEPAE/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor Doutor Vinícius Wilian Dias Cruzeiro (Stanford University / EUA), membro titular externo; Professor Doutor Valdemir Eneias Ludwig (ICE/UFJF), membro titular externo; Professor Doutor Tertius Lima da Fonseca (IF/UFG), membro titular interno; e Professor Doutor Herbert de Castro Georg (IF/UFG), membro titular interno. Durante a arguição, os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese, tendo sido o candidato aprovado pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Guilherme Colherinhas de Oliveira, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 25 dias do mês de fevereiro de 2022.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Valdemir Eneias Ludwig, Usuário Externo**, em 25/02/2022, às 17:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Herbert De Castro Georg, Professor do Magistério Superior**, em 25/02/2022, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vinícius Wilian Dias Cruzeiro, Usuário Externo**, em 25/02/2022, às 17:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Tertius Lima Da Fonseca, Professor do Magistério Superior**, em 25/02/2022, às 17:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Colherinhas De**



Oliveira, Professor do Magistério Superior, em 02/03/2022, às 16:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2630599** e o código CRC **4293C4B8**.

Referência: Processo nº 23070.002176/2022-91

SEI nº 2630599

Aos meus Pais.

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais, Gleicimar Inácia Xavier de Andrade e Divino Eterno de Andrade, por terem suportado de forma incondicional todos os meus sonhos e, especialmente, pelas inúmeras orações. Vocês foram meu refúgio nos dias difíceis.
- Ao meu irmão, Cássio Xavier de Andrade, pela compreensão e por me motivar a seguir em frente.
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira. Não consigo mensurar o quanto o senhor me ensinou ao longo destes últimos 4 anos. O caminho que seguirei futuramente como professor e pesquisador estará repleto de suas inspirações.
- Aos meus familiares e amigos por todo o apoio.
- Ao Dr. Marco Aurélio Pessoa de Souza pelo companherismo, paciência, conselhos e apoio nessa jornada.
- Aos professores do Instituto de Física-UFG, em especial aos professores Dr. Herbert de Castro Georg e Dr. Tertius Lima da Fonseca que participaram da minha banca de qualificação e forneceram inúmeras contribuições para a melhoria deste trabalho.
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio financeiro.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro que proporcionou os recursos computacionais utilizados neste trabalho.
- Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Goiás, em especial o Câmpus Aparecida de Goiânia, pelo incentivo à qualificação.

“Toda tese científica é provisória”

– **Richard Feynman**

RESUMO

Neste trabalho, realizamos a caracterização estrutural e energética de nove nanomembranas e duas nanofibras compostas por peptídeos do tipo surfactante (SLPs), utilizando simulações de Dinâmica Molecular (DM) com resolução atomística. As nanomembranas [nanofibras] estudadas são formadas pelos peptídeos $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ [$G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$]; A_6H_ϵ e A_6H_δ ; e $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}). As nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ são constituídas por peptídeos com os mesmos aminoácidos, mas ligados em sequências primárias invertidas, o que altera a torção, a disposição das cadeias laterais e os terminais C e N dos peptídeos, com consequência direta na hidratação e na estabilidade das nanomembranas. Já as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ se diferenciam pela posição do átomo de hidrogênio ligado ao anel aromático da histidina (H), o que modifica a forma como este resíduo fica exposto à água e, conseqüentemente, o encaixe lateral dos resíduos de alanina (A). Ao estudar as nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}) verificamos que os peptídeos com resíduos \mathbf{X} polares, \mathbf{Q}, \mathbf{S} , ou \mathbf{N} , apresentam propriedades de zíperes polares ligando lateralmente folhas- β vizinhas. Sendo assim, este trabalho também buscou elucidar e caracterizar a formação dos zíperes polares que, recentemente, têm atraído grande interesse científico e tecnológico. As nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ são formadas por peptídeos com aminoácidos iguais, mas ligados em sequências primárias invertidas, semelhante ao caso das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$. Dessa forma, ao estudar nanomembranas e nanofibras compostas pelos mesmos aminoácidos, este trabalho permite compreender como alterações na disposição das cadeias laterais dos peptídeos leva à formação de nanoestruturas distintas, evidenciando a versatilidade estrutural de aminoácidos agregados. As análises realizadas são baseadas nos perfis de densidade de massa, nas espessuras das nanomembranas, nas funções de distribuição radial de pares, $g(r)$, no número médio de Ligações de Hidrogênio (LHs) entre os aminoácidos e entre cada aminoácido e as moléculas de água – para uma melhor caracterização das LHs entre os peptídeos e, conseqüentemente, da hidratação das nanoestruturas, são apresentadas as funções de correlação temporal das LHs – e nas interações energéticas de Coulomb e van der Waals (vdW) que, juntamente com as LHs, desempenham papel fundamental na organização dos peptídeos formando as nanoestruturas. Nossos resultados indicam que o terminal C ligado à lisina (K) carregada leva à formação de nanomembranas mais hidratadas; as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ são estruturas com elevado grau de organização e com características de estruturas cristalinas;

os zíperes polares apresentam uma rota para o *design* de nanoestruturas robustas e estáveis, pela união de folhas- β vizinhas; as estruturas peptídicas apresentadas neste trabalho possuem características interessantes sugerindo que possam ser utilizadas no encapsulamento e transporte de fármacos, como hidrogéis e como agentes antimicrobianos. Nossos resultados de simulações de DM mostram excelente acordo com resultados experimentais reportados na literatura. Além disso, mostramos que o campo de força CHARMM36 é indicado para o estudo das nanomembranas e nanofibras peptídicas apresentadas. Esta validação é importante pois possibilita que novas características das estruturas desta espécie sejam previstas do ponto de vista teórico, proporcionando avanços no desenvolvimento de nanoestruturas orgânicas.

Palavras - chave: Dinâmica Molecular, Aminoácidos, Peptídeos, Nanomateriais.

ABSTRACT

In this work, we carried out structural and energetic characterization of nine nanomembranes and two nanofibers composed of surfactant-like peptides (SLPs), using Molecular Dynamics (MD) simulations with atomistic resolution. The nanomembranes [nanofibers] studied are formed by the peptides $I_3V_3A_3G_3K_3$ and $K_3G_3A_3V_3I_3$ [$G_3A_3V_3I_3K_3$ and $K_3I_3V_3A_3G_3$]; A_6H_ϵ and A_6H_δ ; and $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ or \mathbf{L}). The nanomembranes $I_3V_3A_3G_3K_3$ and $K_3G_3A_3V_3I_3$ are formed by the same amino acids, but linked in inverted primary sequences, which changes torsions, the side chains, and the C and N peptide terminals, affecting the hydration and stability of the nanomembranes. The A_6H_ϵ and A_6H_δ nanomembranes are differentiated by the position of the hydrogen atom attached to the aromatic ring of histidine (H) residues, alternating the way that this residue is exposed to water, and consequently, the lateral attachment of alanine residues (A). By studying the $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ or \mathbf{L}) nanomembranes, we realized that the peptides with polar residues ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}$, or \mathbf{N}) present properties of polar zippers connecting β -sheets laterally. Therefore, this work aims at elucidating and characterizing the formation of polar zippers that, recently, have attracted significant scientific and technological interest. The nanofibers $G_3A_3V_3I_3K_3$ and $K_3I_3V_3A_3G_3$ are formed by peptides with the same amino acids, but linked in inverted primary sequences, similar to the case of the nanomembranes $I_3V_3A_3G_3K_3$ and $K_3G_3A_3V_3I_3$. This way, by studying nanomembranes and nanofibers composed with the same amino acids, this work allows us to understand how changes in the disposition of the peptide side chains lead to the formation of distinct nanostructures, evidencing the structural versatility of aggregate amino acids. The analyses performed are based on the mass density profiles, on nanomembrane thicknesses, on the radial distribution functions, $g(r)$, on the average number of Hydrogen Bonds (HBs) between amino acids and between each amino acid and water molecules – for a better characterization of HBs between peptides and consequently the nanomembranes’ hydration, HB’s time correlation functions are presented – and in the Coulombic and *vdW* energetic interactions which together with the HBs play a fundamental role in the organization of the peptides forming the nanostructures. Our results indicate that the C-terminal attached to the charged lysine (K) leads to the formation of more hydrated nanomembranes; the A_6H_ϵ and A_6H_δ are nanostructures with a high degree of organization and with features of crystalline structures; the polar zippers present an interesting route for the design of

robust and stable nanostructures, by joining neighboring β -sheets; the peptide nanostructures presented in this work have interesting characteristics suggesting that they can be used to encapsulate and transport drugs, as hydrogels and as an antimicrobial agent. Our MD results show excellent agreement with experimental data reported in the literature. In addition, we show that the CHARMM36 force field could be recommended for the study of the peptide nanomembranes and nanofibers presented. This validation is important because it allows the prediction from the theoretical point of view of new features of peptide structures of this species, providing advances in the development of organic nanostructures.

Keywords: Molecular Dynamics, Amino acids, Peptides, Nanomaterials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1:	Estrutura geral de um aminoácido	32
Figura 1.2:	Fórmula molecular dos 20 aminoácidos codificados no genoma humano, organizados segundo as propriedades de suas cadeias laterais (R). As cadeias laterais (R), que distinguem as propriedades físicas e químicas de cada aminoácido, estão marcadas em vermelho. Para detalhes sobre a hidrofobicidade e a propensão de cada aminoácido em formar folhas- β ou hélices- α , as referências [2,24,25] podem ser consultadas.	34
Figura 2.1:	Representação esquemática dos 5 principais termos de um campo de força típico – estiramento, dobramento, torção, interações eletrostáticas e interações de van der Waals. Adaptada de Leach, 2001 [77].	49
Figura 2.2:	(a) Energia de interação em função da distância interatômica (\mathbf{r}) modelada pelo potencial de LJ. Nota-se que há repulsão quando os dois átomos ficam muito próximos e atração para distâncias próximas a distância de equilíbrio, r_e . Na figura estão representados os parâmetros σ , distância de separação entre as moléculas para a qual a energia de interação entre elas é zero, e ε , profundidade do poço de potencial. (b) Modelo de Drude para interações dispersivas. (c) Comparação entre a solução exata da energia de interação em função da distância interatômica (\mathbf{r}) com as soluções modeladas pelos potenciais de LJ, Buckingham e Morse. Adaptada de Jensen, 2007 [76] e Leach, 2001 [77].	53
Figura 2.3:	Representação das variáveis usadas na Eq. (2.3.41) para modelar o potencial diedral impróprio. Adaptada de Jensen, 2007 [76]	55

Figura 2.4:	Representação das condições periódicas de contorno em duas dimensões. Quando uma molécula deixa uma caixa, uma outra entra nela pelo lado oposto (representações em vermelho). Na figura, está a representação de um raio de corte (círculo pontilhado no interior de uma caixa de simulação, quadrado pontilhado, com as mesmas dimensões da caixa original centrada na partícula 1). Adaptada de Tildesley, 2017 [56].	69
Figura 2.5:	Representação bidimensional das “esfera” construídas a partir das caixas de simulação (para um sistema de 10 partículas – sistema neutro) utilizando a soma de Ewald. A área bege representa o dielétrico externo contínuo de permissividade elétrica ϵ_e . Adaptada de Coutinho, 2007 [75].	71
Figura 3.1:	Um peptídeo do tipo surfactante (SLPs) é formado por uma cauda apolar (hidrofóbica) e uma cabeça polar (hidrofílica). Os SLPs podem se auto-organizar em diferentes estruturas, tais como <i>nanobelts</i> , nanofitas, nanovesículas, nanomembranas, nanotubos, nanofibras, nanoesferas e micelas, dependendo da sequência primária de aminoácidos que os constituem, bem como do ambiente em que se encontram [11, 37–42].	75
Figura 3.2:	Monômeros A) $NH_2 - I_3V_3A_3G_3K_3 - COOH$ e B) $NH_2 - K_3G_3A_3V_3I_3 - COOH$. Os monômeros são compostos por resíduos de isoleucina (I), valina (V), alanina (A) e glicina (G) (em roxo, ferrugem, cinza e amarelo, respectivamente) formando uma cauda hidrofóbica e lisina (K) (em vermelho) constituindo uma cabeça polar carregada. Os terminais N e C estão representados em verde e laranja, respectivamente.	81
Figura 3.3:	Representação dos planos yz , xz e xy e uma vista lateral das caixas de simulação das nanomembranas iniciais $I_3V_3A_3G_3K_3$ (acima) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (abaixo). Isoleucina (I), valina (V), alanina (A), glicina (G), lisina (K) e água estão representadas em roxo, ferrugem, cinza, amarelo, vermelho e azul, respectivamente. As nanomembranas peptídicas foram inseridas entre duas camadas de água, formando uma dupla superfície de interação com as moléculas do solvente.	82

- Figura 3.4:** Monômeros iniciais A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ ; e suas respectivas caixas finais de simulação. Nota-se que os peptídeos tendem a se dobrar, devido as interações entre seus resíduos e com as moléculas de água, na tentativa de atingir uma conformação que reduza a energia potencial do sistema. Alanina (A) e histidina (H) estão representadas em roxo e vermelho, respectivamente. As moléculas de água estão representadas em azul-claro. A diferença entre os dois monômeros está na posição de um átomo de hidrogênio no anel aromático (marcado em azul-escuro) – um no nitrogênio épsilon (H_ϵ) e outro no nitrogênio delta (H_δ). 84
- Figura 3.5:** Vista lateral das configurações iniciais das nanomembranas A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ . Dois monômeros foram emparelhados, um invertido em relação ao outro, formando um dímero. Este dímero foi replicado 5 vezes na direção y e 10 vezes na direção x , formando nanomembranas compostas por 100 monômeros. A diferença entre as duas nanomembranas está na posição de um átomo de hidrogênio no anel aromático (marcado em azul-escuro) – um no nitrogênio épsilon (H_ϵ) e outro no nitrogênio delta (H_δ). 84
- Figura 3.6:** Estrutura molecular dos peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ (\mathbf{X} = glutamina (**Q**), serina (**S**), asparagina (**N**), glicina (**G**), e leucina (**L**)). **Q**, **S** e **N** são aminoácidos polares. **G** e **L** são aminoácidos não polares. Carbono, nitrogênio, oxigênio e hidrogênio estão representados em azul-claro, azul, verde e branco, respectivamente. 86
- Figura 3.7:** Configuração inicial da membrana $I_3\mathbf{QGK}$. A) Dois monômeros empilhados formando um dímero com lados de diferentes características: um polar constituído pelas cadeias laterais dos resíduos de **Q** e **I** e outro apolar constituído pelas cadeias laterais dos resíduos de **I** e **G**. B) Os dímeros foram replicados e posicionados de maneira que um lado polar ficasse voltado para outro lado polar e um lado não polar ficasse voltado para outro lado não polar, formando uma membrana com regiões onde há possibilidade de formação de zíperes polares. C) Diferentes vistas da configuração inicial da membrana. Lisina (**K**), isoleucina (**I**), glicina (**G**) e glutamina (**Q**) estão representadas em azul-claro, verde, cinza e laranja, respectivamente. As configurações iniciais das demais nanomembranas estão presentes na Figura (B.2), no Apêndice (**B**). 87

Figura 3.8:	Representação dos planos yz , xz e xy das configurações finais das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (acima) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (abaixo). Isoleucina (I), valina (V), alanina (A), glicina (G), lisina (K) e água estão representadas em roxo, amarelo ferrugem, cinza, amarelo, vermelho e azul, respectivamente. Uma vista lateral das caixas de simulação contendo somente o perfil das moléculas de água, no plano yz , após 110 ns de simulação, também, está representada. . .	90
Figura 3.9:	Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z (normal à membrana) em 10^3 kg.m^{-3} . Acima, estão representados os sistemas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (à esquerda) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (à direita). Abaixo, estão representados os perfis de densidade de massa para cada resíduo que compõe os sistemas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$. Água, peptídeo, íons cloreto, Isoleucina (I), Valina (V), Alanina (A), Glicina (G), e Lisina (K) estão representados em azul, verde, roxo, vinho, cinza, verde oliva e vermelho, respectivamente.	91
Figura 3.10:	Mapas superficiais com as espessuras em vários pontos XY das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (à esquerda) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (à direita). As cores representam as espessuras de 1,5 nm (azul) até 5,5 nm (vermelho).	92
Figura 3.11:	Funções de distribuição radial, $g(r)$, entre o centro de massas dos peptídeos para as nanomembranas A) $I_3V_3A_3G_3K_3$ e B) $K_3G_3A_3V_3I_3$. Os átomos de hidrogênio não foram considerados para a obtenção da $g(r)$	92
Figura 3.12:	Representação das LHs estabelecidas entre os peptídeos das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (acima) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (abaixo). Os peptídeos estão representados em cinza e as LHs em vermelho. As LHs entre os peptídeos e a água não estão representadas na figura. . . .	94
Figura 3.13:	Vistas lateral (plano xz) e frontal (plano xy) das configurações finais (após 110 ns de simulações de DM) das nanomembranas A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ . Alanina (A) e histidina (H) estão representadas em roxo e vermelho, respectivamente. Os átomos de hidrogênio ligados ao anel aromático no nitrogênio épsilon (H_ϵ), ou no nitrogênio delta (H_δ) estão marcados em azul.	102
Figura 3.14:	Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z (normal à superfície da membrana) em 10^3 kg.m^{-3} . Acima, nanomembranas A_6H_ϵ (à esquerda) e A_6H_δ (à direita) – peptídeos e água estão marcados em azul e preto, respectivamente. Abaixo cada resíduo compondo o peptídeo – alanina (A) e histidina (H) estão representados em verde e vermelho, respectivamente.	103

Figura 3.15:	Estruturas termodinamicamente equilibradas das nanomembranas A_6H_ϵ e B) A_6H_δ após 110 ns de simulação de DM. A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ vistas frontal (plano xy), lateral (plano xz) e da região preenchida com água. Alanina (A) e histidina (H) estão representadas em roxo e vermelho, respectivamente.	104
Figura 3.16:	Mapas superficiais das nanomembranas com as espessuras calculadas em vários pontos do plano (xy). A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ . As cores representando as espessuras variam de 1,8 nm (azul) até 2,4 nm (amarelo).	105
Figura 3.17:	Funções de Distribuição Radial de Pares (FDRP) entre peptídeos (pep-pep) para as nanomembranas A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ ; e entre os peptídeos e a água para as nanomembranas C) A_6H_ϵ e D) A_6H_δ	106
Figura 3.18:	Representação das LHs na membrana A_6H_ϵ , simulada no <i>ensemble</i> NPT. Nota-se que há uma direção preferencial para o estabelecimento das LHs. As LHs entre os peptídeos e as moléculas de água não estão representadas. As setas em azul indicam regiões onde há lacunas, ou “falhas”, na rede de LHs para a configuração selecionada.	110
Figura 3.19:	Funções de autocorrelação $C(t)$ das LHs entre A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ , e entre os peptídeos e a água para as nanomembranas C) A_6H_ϵ e D) A_6H_δ	111
Figura 3.20:	Vistas lateral e superficial das configurações equilibradas das nanomembranas A) I_3NGK e B) I_3SGK , bem como suas respectivas caixas de simulação com as moléculas de água em destaque. Nota-se que a forma membranar é mantida após um longo processo de simulações MD. Isoleucina (I), glicina (G), lisina (K), asparagina (N) e serina (S) estão mostrados em verde, cinza, azul-claro, vermelho e ferrugem, respectivamente. As estruturas finais das demais nanomembranas estão apresentadas na Figura (B.3), no Apêndice (B).	116

- Figura 3.21:** Espessuras em vários pontos xy das nanomembranas A) $I_3\mathbf{Q}GK$, B) $I_3\mathbf{S}GK$, C) $I_3\mathbf{N}GK$, D) $I_3\mathbf{G}GK$ e E) $I_3\mathbf{L}GK$. As espessuras variam de 1,0 nm (azul) até 3,0 nm (vermelho). As bicamadas são formadas por dímeros invertidos, conforme apresentado na Seção (3.2.1.3). Por meio do programa GridMat [124], a espessura foi calculada considerando a distância entre um átomo de carbono na extremidade de um resíduo de lisina com outro átomo de carbono na extremidade do resíduo invertido de lisina. As regiões com espessuras abaixo de 1,0 nm surgem porque o programa calcula a distância entre átomos de carbono em resíduos de lisina adjacentes. Programas mais recentes, como o SuAVE, são capazes de contornar este problema fornecendo resultados de espessuras mais precisos [136]. 119
- Figura 3.22:** Configuração inicial A) duas nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$ (M_1 e M_2) sobrepostas na direção z , B) caixa inicial de simulação; moléculas de água foram colocadas em cerca de 3 nm acima e abaixo das nanomembranas utilizando o programa Packmol. Íons de cloro Cl^{1-} foram adicionados ao sistema, C) vista lateral e superficial das configurações finais das nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$ sobrepostas e seu respectivo perfil de água. Lisina (K), isoleucina (I), glicina (G) e glutamina (Q) estão representados em azul-claro, verde, cinza e laranja, respectivamente. As outras nanomembranas exibiram características semelhantes às apresentadas nesta figura. 121
- Figura 3.23:** Funções de distribuição radial, $g(r)$, entre peptídeos, excluindo os átomos de hidrogênio, para as nanomembranas A) $I_3\mathbf{Q}GK$, B) $I_3\mathbf{S}GK$, C) $I_3\mathbf{N}GK$, D) $I_3\mathbf{G}GK$ e E) $I_3\mathbf{L}GK$ 122
- Figura 3.24:** Representação das LHs na nanomembrana $I_3\mathbf{N}GK$. A) Vista lateral (plano xy); nota-se claramente que nas regiões onde um lado polar está voltado para outro lado polar formam-se LHs (representadas em vermelho) entre as cadeias laterais dos monômeros (entre folhas- β) – zíperes polares; Em regiões onde não há resíduos polares, as folhas- β se mantêm ligadas por interações hidrofóbicas, coulombianas e de vdW ; B) Vista frontal (plano xy) da nanomembrana $I_3\mathbf{N}GK$. As LHs são preferencialmente estabelecidas entre as cadeias principais dos peptídeos, como esperado, mas ocorrem LHs também entre folhas- β vizinhas. Moléculas de água estão representadas em verde. Enfatiza-se que as ligações entre os peptídeos e água não estão representadas na figura. 125
- Figura 3.25:** Funções de autocorrelação $C(t)$ das LHs entre os peptídeos nas nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ 126

Figura 4.1:	Monômeros A) $NH_2 - G_3A_3V_3I_3K_3 - COOH$ e B) $NH_2 - K_3I_3V_3A_3G_3 - COOH$. Os monômeros são constituídos por uma cabeça hidrofílica (lisina (K) em azul) e uma cauda hidrofóbica (glicina (G), alanina (A), valina (V) e isoleucina (I) em cinza, roxo, laranja e verde, respectivamente). Os terminais N e C estão representados em vermelho e amarelo, respectivamente	133
Figura 4.2:	Representação dos planos xy e xz e das caixas de simulação para as nanofibras A) $G_3A_3V_3I_3K_3$ e B) $K_3I_3V_3A_3G_3$. As caixas de simulação foram replicadas duas vezes na direção z , representando as condições periódicas de contorno utilizadas. Glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) estão representados em cinza, roxo, laranja, verde e azul, respectivamente. Os terminais N e C estão representados em amarelo e vermelho, respectivamente.	135
Figura 4.3:	Representação dos planos xz e yx e das caixas finais de simulação para as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ [$K_3I_3V_3A_3G_3$] simuladas nos <i>ensembles</i> A) [B)] NPT e C) [D)] NVT. As caixas de simulação foram replicadas duas vezes na direção z , representando as condições periódicas de contorno utilizadas. Glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) estão representados em cinza, roxo, laranja, verde e azul, respectivamente	138
Figura 4.4:	Representação das LHs na fibra peptídica $G_3A_3V_3I_3K_3$ simulada no <i>ensemble</i> NVT. Os peptídeos estão representados em azul-claro e as LHs em vermelho. As LHs entre os peptídeos e as moléculas de água não estão representadas.	141
Figura A.1:	Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ formadas por monômeros replicados em sua configuração inicial: A) vista no plano xz ; B) configuração final vista plano xz ; C) configuração final vista no plano xy . Representação da configuração inicial da nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ formada por dímeros, simulada segundo o protocolo C_2 (Seção C.1): D) vista do plano xy ; E) configuração final vista no plano xz ; e F) configuração final vista no plano xy . A nanomembrana formada por monômeros, apesar de possuir características de membranas, possui uma espessura diferente da reportada experimentalmente por Cao <i>et. al.</i> [8]. No caso da nanomembrana formada por dímeros, notamos que uma forma final com características de aglomerado amorfo foi estabelecida.	154

- Figura A.2:** Diferentes configurações iniciais utilizadas no processo de simulação de DM: A) Nanofibras em formato de cones com a caixa de simulação completamente preenchida com água; B) nanofibras em formato de cone em que as caixas de simulação foram preenchidas com água de maneira que não houvesse moléculas de água no interior das nanofibras; C) nanofibra planar, com camadas rotacionadas de 4° umas em relação às outras e caixa de simulação completamente preenchida com água. 155
- Figura A.3:** Diferentes configurações finais obtidas após 110 ns de simulações de DM: A) Nanofibras em formato de cones com a caixa de simulação completamente preenchida com água, simuladas com o acoplamento de pressão isotrópico; B) nanofibras em formato de cones com a caixa de simulação completamente preenchida com água, simuladas com o acoplamento de pressão semi-isotrópico; C) nanofibras em formato de cone em que as caixas de simulação foram preenchidas com água de maneira que não houvesse moléculas de água no interior das nanofibras, simuladas com o acoplamento de pressão isotrópico; D) nanofibras planas, com camadas rotacionadas de 4° umas em relação às outras e com as caixas de simulação completamente preenchidas com água, simuladas com o acoplamento de pressão isotrópico. Em todas estas nanoestruturas podemos notar que a característica de fibra foi perdida durante as etapas de simulações de DM, demonstrando um alongamento da fibra de forma não homogênea ou um orifício central hidratado, característico de nanotubos. 156
- Figura B.1:** Perfis de densidade de massa ao longo dos eixos x (acima) e y (abaixo) em $10^3 kg.m^{-3}$ para as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ . . . 157
- Figura B.2:** Configurações iniciais das nanomembranas simuladas: A), B) e C) I_3SGK ; D), E) e F) I_3NGK . Nestas nanomembranas há resíduos polares e, portanto, espera-se que sejam formados zíperes polares; G), H) e I) I_3GGK ; J), K) e L) I_3LKG . Nestas nanoestruturas há apenas resíduos não polares na cauda neutra, portanto, espera-se que as folhas- β se mantenham unidas por efeitos hidrofóbicos. Lisina (K), isoleucina (I), glicina (G e G), serina (S), asparagina (N) e leucina (L) estão representadas em azul-claro, verde, cinza, ferrugem, vermelho e rosa, respectivamente. 158

Figura B.3:	Configurações finais das nanomembranas A) $I_3\mathbf{Q}GK$, B) $I_3\mathbf{G}GK$ e C) $I_3\mathbf{L}GK$ com respectivos perfis de água. As nanoestruturas membranares foram mantidas para todas as configurações após 110 ns de simulação MD. Isoleucina (I), glicina (G e G), glutamina (Q) e leucina (L) estão mostradas em verde, cinza, azul-claro, laranja e rosa, respectivamente.	159
Figura B.4:	Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , em $10^3 kg.m^{-3}$, para as nanomembranas: A) $I_3\mathbf{Q}GK$, B) $I_3\mathbf{S}GK$, C) $I_3\mathbf{N}GK$, D) $I_3\mathbf{G}GK$ e E) $I_3\mathbf{L}GK$	160
Figura B.5:	Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , em $10^3 kg.m^{-3}$, para cada resíduo que compõe as nanomembranas: $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$	161
Figura B.6:	Perfis de densidade de massa ao longo do eixo y , em $10^3 kg.m^{-3}$, para as nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$	162
Figura B.7:	Perfis de densidade de massa ao longo do eixo x , em $10^3 kg.m^{-3}$, para as nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$	163
Figura D.1:	Perfis de densidade de massa ao longo dos eixos X e Y , em $10^3 kg.m^{-3}$, para as nanofibras compostas por $G_3A_3V_3I_3K_3$, simuladas no <i>ensemble</i> NPT ensemble. Os perfis de densidade de massa são mostrados para cada resíduo que compõe a fibra.	166
Figura D.2:	Perfis de densidade de massa ao longo dos eixos X e Y , em $10^3 kg.m^{-3}$, para as nanofibras compostas por $K_3I_3V_3A_3G_3$, simuladas no <i>ensemble</i> NPT ensemble. Os perfis de densidade de massa são mostrados para cada resíduo que compõe a fibra.	167

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1:	Cargas pontuais distribuídas em um aminoácido de lisina de acordo com o campo de força CHARMM36.	56
Tabela 3.1:	Número de átomos que compõem as caixas de simulação para os monômeros e para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ e o número de ocupação de peptídeos, pep/nm ²	83
Tabela 3.2:	Composição dos monômeros e nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ simulados em solução aquosa e o número de peptídeos por nm ² em cada membrana.	85
Tabela 3.3:	Número de átomos nos monômeros e nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}) e o número de peptídeos por nm ²	88
Tabela 3.4:	Número médio de LHs realizadas pelos peptídeos, pelos resíduos entre si e pelos resíduos com a água. Apresentamos também o número de LHs realizadas pelos terminais C e N. As LHs foram normalizadas pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 56. I = isoleucina, V = valina, A = alanina, G = glicina e K = lisina.	96
Tabela 3.5:	Energia média de interação coulombiana (E_c) [em kJ.mol ⁻¹ /pep] nos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores foram normalizadas pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 56. I = isoleucina, V = valina, A = alanina, G = glicina e K = lisina.	98
Tabela 3.6:	Energia média de interação de LJ [em kJ.mol ⁻¹ /pep] nos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores foram normalizados pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 56. I = isoleucina, V = valina, A = alanina, G = glicina e K = lisina.	100
Tabela 3.7:	Momento de dipolo total [em Debye] dos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores apresentados foram obtidos classicamente utilizando as cargas do campo de forças CHARMM36.	101

Tabela 3.8:	Número médio de LHs entre peptídeos (pep-pep), entre os resíduos (A) e (H) e pelos resíduos (A) e (H) com as moléculas de água. O número médio de LHs foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 100. As LHs foram calculadas considerando que existe uma LH quando a distância d_{OO} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio é $d_{OO} \leq 3,5\text{\AA}$ e o ângulo α_{OHO} ($OH \cdots O$) é $\alpha_{OHO} \leq 30^\circ$	107
Tabela 3.9:	Energia média de interação coulombiana [em $\text{kJ.mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 100. Pep = peptídeo; A = alanina e H = histidina.	112
Tabela 3.10:	Energia média de interação <i>vdW</i> [em $\text{kJ.mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 100. Pep = peptídeo; A = alanina e H = histidina.	113
Tabela 3.11:	Momento de dipolo total [em Debye] dos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores apresentados foram obtidos classicamente utilizando as cargas do campo de forças CHARMM36.	114
Tabela 3.12:	Número médio de LHs entre os peptídeos, entre os resíduos e pelos resíduos com a água. O número total de LHs foi normalizado pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 64. As LHs foram calculadas considerando que existe uma LH quando a distância d_{OO} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio é $d_{OO} \leq 3,5\text{\AA}$ e o ângulo $\alpha_{OH \cdots O} \leq 30^\circ$. Pep (peptídeo); I = isoleucina; G e G = glicina; K = lisina; Q = glutamina; S = serina; N = asparagina.	123
Tabela 3.13:	Energia média de interação coulombiana [em $\text{kJ.mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ na conformação de nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 64. Pep = peptídeo; I = isoleucina; G e G = glicina; K = lisina; Q = glutamina; S = serina; N = asparagina.	128

Tabela 3.14:	Energia média de interação vdW [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos $I_3\mathbf{X}GK$ na conformação de nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 64. Pep = peptídeo; I = isoleucina; G e \mathbf{G} = glicina; K = lisina; \mathbf{Q} = glutamina; \mathbf{S} = serina; \mathbf{N} = asparagina.	129
Tabela 3.15:	Momento de dipolo total [em Debye] das nanomembranas formadas pelos peptídeos $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}, \mathbf{L}$). Os valores apresentados foram obtidos classicamente utilizando as cargas do campo de forças CHARMM36.	130
Tabela 4.1:	Número de átomos nos monômeros e nanofibras formados pelos peptídeos $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$, comprimentos iniciais (L_0) e finais (L) na direção z [nm] e os diâmetros iniciais (D_0) e finais (D) de cada configuração.	136
Tabela 4.2:	2 Número médio de LHs estabelecidas entre os peptídeos, entre os resíduos e pelos resíduos com a água. As LHs foram normalizadas pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 120. Pep (peptídeo), A (alanina), V (valina), G (glicina), K (lisina) e I (isoleucina).	140
Tabela 4.3:	Energia de interação de Coulomb [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanofibras solvatadas em água. Os valores de energia de interação de Coulomb foram normalizados pelo número de peptídeos nas caixas de simulação, isto é, dividido por 120. Pep (peptídeo), A (alanina), V (valina), G (glicina), K (lisina) e I (isoleucina).	144
Tabela 4.4:	Energia de interação de vdW [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] obtida por meio do potencial de LJ, para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanofibras solvatadas em água. Os valores de energia de interação vdW foram normalizados pelo número de peptídeos nas caixas de simulação, isto é, dividido por 120. Pep (peptídeo), A (alanina), V (valina), G (glicina), K (lisina) e I (isoleucina).	145

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

vdW van der Waals

CHARMM *Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*

CPC Condies Periodicas de Contorno

DM Dinâmica Molecular

FDRP Função de Distribuição Radial de Pares

FE Física Estatística

GridMAT Grid-Based Membrane Analysis Tool

GROMACS Groningen Machine for Chemical Simulations

LHs Ligações de Hidrogênio

LINCS *Linear Constraint Solver for molecular simulations*

LJ Lennard-Jones

MDF Métodos de Diferenças Finitas

ME Mecânica Estatística

MM Mecânica Molecular

MQ Mecânica Quântica

NPT *ensemble* isobárico-isotérmico - Número de partículas, Pressão e Temperatura fixos

NVE *ensemble* microcannico - Número de partículas, Volume e Energia fixos.

NVT *ensemble* canônico - Número de partículas, Volume e Temperatura fixos

OA Oxigênio do Aceitador

OD Oxigênio do Doador

PME *Particle Mesh Ewald*

RMN Ressonância Magnética Nuclear

SLPs Peptídeos do Tipo Surfactantes

TIP3P *Three-site Transferrable Intermolecular Potential*

VMD *Visual Molecular Dynamics*

SUMÁRIO

Capítulo 1: INTRODUÇÃO	32
Capítulo 2: ASPECTOS TEÓRICOS	37
2.1 Simulações computacionais	37
2.2 Fundamentos da Dinâmica Molecular	39
2.2.1 Equações de movimento	39
2.2.2 Algoritmos de Integração	42
2.2.2.1 Algoritmo de Verlet	42
2.2.2.2 Algoritmo de <i>Leap-Frog</i>	44
2.2.2.3 Algoritmo de <i>Velocity-Verlet</i>	45
2.3 Campo de Força	46
2.3.1 Interações Não-ligadas	50
2.3.1.1 Potencial de Coulomb	50
2.3.1.2 Potencial van der Waals	51
2.3.2 O Campo de Força CHARMM	54
2.4 Fundamentos de Mecânica Estatística	56
2.5 Dinâmica Molecular em diferentes <i>ensembles</i>	59
2.5.1 Acoplamento de temperatura: Termostatos	59
2.5.1.1 Termostato de <i>Velocity-Rescaling</i>	61
2.5.2 Acoplamento de pressão: Barostatos	61
2.5.2.1 Barostato de Parrinello-Rahman	62
2.6 Extraíndo Propriedades da Dinâmica Molecular	63
2.6.1 Propriedades médias	64
2.6.2 Funções de correlação temporal	65
2.6.3 Propriedades estruturais	65
2.6.3.1 Distribuição Radial de Pares $g(r)$	65
2.6.3.2 Ligações de Hidrogênio	66
2.7 Outros detalhes sobre a Dinâmica Molecular	67
2.7.1 Modelagem das condições iniciais	67
2.7.2 Condições Periódicas de Contorno	68
2.7.3 Mínima imagem e Raio de corte	69

2.7.4	Soma de Ewald e <i>Particle Mesh Ewald</i>	70
Capítulo 3:	NANOMEMBRANAS PEPTÍDICAS	75
3.1	Introdução	75
3.2	Metodologia	80
3.2.1	Sistemas Simulados	80
3.2.1.1	Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$	80
3.2.1.2	Nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ	83
3.2.1.3	Nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$	85
3.2.2	Protocolo Geral de Simulação	88
3.3	Resultados e Discussão	89
3.3.1	Nanomembranas formadas por: $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$	89
3.3.1.1	Resultados estruturais e perfis de densidade	89
3.3.1.2	Ligações de Hidrogênio	93
3.3.1.3	Interações Coulombianas	97
3.3.1.4	Interações de van der Waals	99
3.3.1.5	Momento de Dipolo	101
3.3.2	Nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ	101
3.3.2.1	Resultados estruturais e perfis de densidade	101
3.3.2.2	Ligações de Hidrogênio	107
3.3.2.3	Interações Coulombianas	111
3.3.2.4	Interações de <i>vdW</i>	113
3.3.2.5	Momento de Dipolo	114
3.3.3	Nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$	114
3.3.3.1	Resultados estruturais e perfis de densidade	114
3.3.3.2	Ligações de Hidrogênio	122
3.3.3.3	Interações Coulombianas	127
3.3.3.4	Interações de <i>vdW</i>	128
3.3.3.5	Momento de Dipolo	130
3.4	Considerações Finais	130
Capítulo 4:	NANOFIBRAS PEPTÍDICAS	131
4.1	Introdução	131
4.2	Metodologia	133
4.2.1	Sistemas Simulados	133
4.2.2	Protocolo de Simulação	134
4.3	Resultados	136
4.3.1	Resultados estruturais e perfis de densidade	136
4.3.2	Ligações de Hidrogênio	139
4.3.2.1	Interações Coulombianas	142

4.3.2.2	Interações de van der Waals	143
4.4	Considerações Finais	145
Capítulo 5:	CONCLUSÕES	146
5.0.1	Perspectivas Futuras	150
APÊNDICES		152
Apêndice A:	Estruturas iniciais que não obtiveram sucesso	153
A.1	Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$	153
A.2	Nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$	153
Apêndice B:	Material suporte Membranas	157
B.1	Membranas A_6H_ϵ e A_6H_δ	157
B.2	Membranas I_3XGK	157
Apêndice C:	Detalhes da etapa de equilibração	164
C.1	Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$	164
C.2	Nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ	165
Apêndice D:	Material suporte Fibras	166
D.1	Nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$	166

INTRODUÇÃO

As proteínas são as biomoléculas mais abundantes nos sistemas vivos [1]. Elas desempenham diversas funções metabólicas e estruturais, atuando em forma de enzimas, hormônios, anticorpos, dentre outras. Essa variedade de funções é consequência da diversidade estrutural encontrada nas proteínas. Contudo, apesar de serem macromoléculas bastante complexas, as proteínas são resultantes da união de moléculas mais simples, os aminoácidos [1].

Os aminoácidos, unidades fundamentais das proteínas, são relativamente simples: todos (exceto a prolina) têm em comum um grupo carboxila ($-COOH$), um grupo amina ($-NH_2$), um átomo de hidrogênio e uma cadeia lateral (R), a qual distingue os aminoácidos, ligados a um átomo de carbono α (C_α), conforme representado na Figura (1.1).

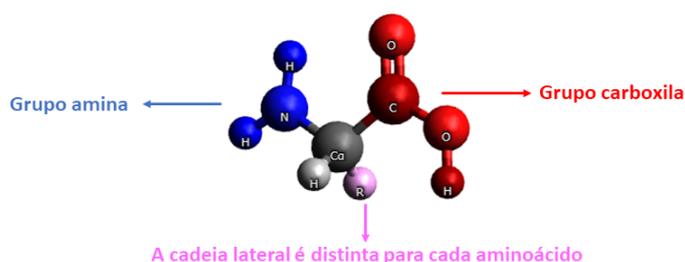


Figura 1.1: Estrutura geral de um aminoácido

Embora uma grande quantidade de aminoácidos tenha sido descrita e sintetizada a partir de fontes naturais, apenas 20 deles são codificados no genoma humano. A Figura (1.2) apresenta a fórmula molecular destes 20 aminoácidos. De acordo com as propriedades da cadeia lateral (R), os aminoácidos apresentam diferentes características físicas, químicas e biológicas. As cadeias laterais (R) dos aminoácidos podem ser apolares, polares neutras, carregadas positivamente ou carregadas negativamente e, além disso, por possuírem diferentes tamanhos e formas, podem levar a aminoácidos com hidrofobicidades

variadas e a possuírem diferentes propensões em formar folhas- β ou hélices- α , que serão responsáveis pela determinação da estrutura secundária¹ das proteínas [2].

Para formar as proteínas, os aminoácidos se unem covalentemente por meio de ligações peptídicas. A sequência linear de aminoácidos ligados forma o que é conhecido como sequência peptídica primária [1]. De acordo com o número de aminoácidos compondo a sequência peptídica primária, as estruturas podem ser classificadas como peptídeo (poucos aminoácidos), polipeptídeo (até ≈ 50 aminoácidos) ou proteína (muitos aminoácidos) [1]. A sequência peptídica adquire sua conformação estrutural nativa por meio de um processo espontâneo conhecido como auto-organização². A forma estrutural da proteína apresenta uma importância singular, uma vez que ela somente desempenhará suas funções se estiver conformada espacialmente em sua forma nativa, onde apresenta energia livre mínima, a qual é alcançada em condições fisiológicas apropriadas. Inclusive, a perda da sua organização nativa e a formação de amiloides, *i.e.*, proteínas com má formação terciária³, pode causar sérias doenças, *e.g.*, Alzheimer, Parkinson, diabetes tipo II, fibrose cística, encefalopatia, espongiforme bovina (doença da “vaca-louca”), além de muitas formas de câncer [3–7].

Além da importância de se entender a auto-organização para o desenvolvimento de tratamentos específicos para as doenças causadas pela perda da conformação nativa, ela é fundamental para que nanoestruturas com formas e características controláveis sejam concebidas, possibilitando aplicações em diversas áreas científicas e tecnológicas [8–15]. A busca pelo entendimento de como ocorre a formação de estruturas específicas por meio da auto-organização tem atraído atenção de pesquisadores de diversas áreas: biologia, química, física, ciência e engenharia de materiais; ressaltando o caráter multidisciplinar dos estudos envolvendo estruturas nanométricas formadas por aminoácidos. Inicialmente, os estudos de nanotecnologia baseados em proteínas buscaram identificar e caracterizar diferentes estruturas, onde se destacaram os nanotubos [16–18], nanofibras [19], nanopartículas [20], dentre outras. Em seguida, novas estruturas começaram a ser desenvolvidas, inclusive com a inserção de grupos funcionais e nanopartículas inorgânicas, aumentando a diversidade de suas características físicas e químicas [21–23]. Atualmente, o desenvolvimento de nanomateriais baseados em proteínas se encontra em acelerado crescimento e, apesar de ter se consolidado com uma área bem estabelecida, ainda há lacunas no que diz

¹ Estrutura secundária \rightarrow padrões estruturais definidos pela organização dos aminoácidos da biomolécula [1]. As estruturas secundárias mais conhecidas são as folhas- β e hélices- α .

² Auto-organização \rightarrow também chamada de automontagem ou dobramento. Os termos utilizados em inglês são *foldind* e *self-assembly*.

³ Estrutura terciária \rightarrow estrutura tridimensional da proteína completamente enovelada. Há ainda a estrutura quaternária que se refere a uma organização definida pela agregação de múltiplas estruturas terciárias.

respeito à compreensão da dinâmica da auto-organização e como as interações moleculares mantêm as estruturas em conformações estáveis [22].

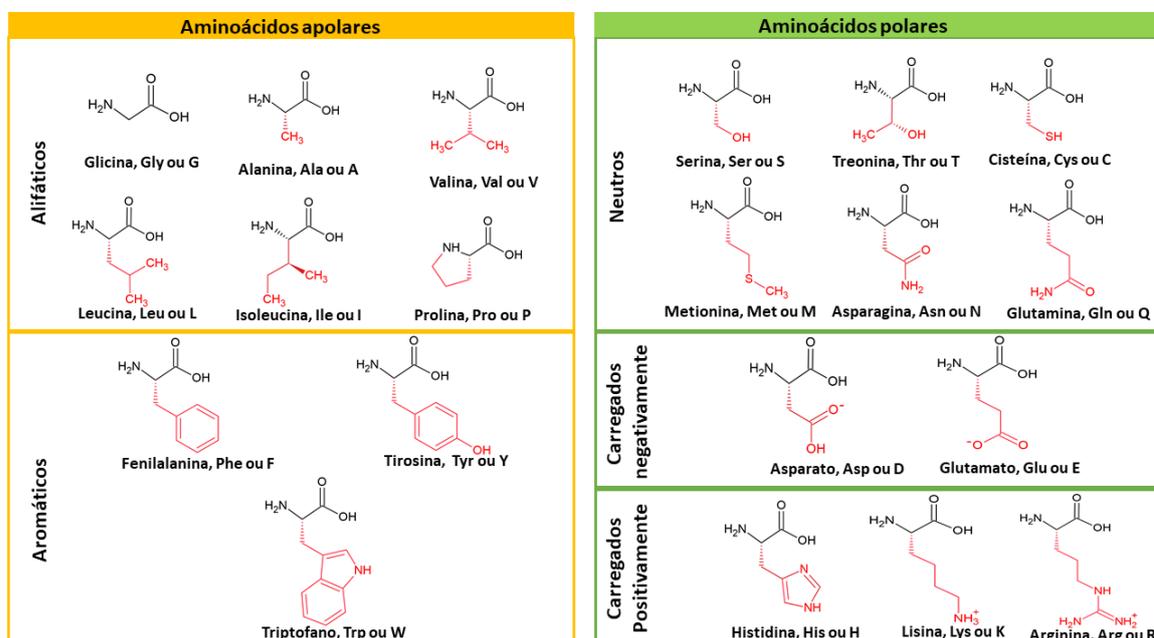


Figura 1.2: Fórmula molecular dos 20 aminoácidos codificados no genoma humano, organizados segundo as propriedades de suas cadeias laterais (R). As cadeias laterais (R), que distinguem as propriedades físicas e químicas de cada aminoácido, estão marcadas em vermelho. Para detalhes sobre a hidrofobicidade e a propensão de cada aminoácido em formar folhas- β ou hélices- α , as referências [2, 24, 25] podem ser consultadas.

Atualmente, é sabido que a auto-organização envolve várias forças (interações eletrostáticas, hidrofóbicas e de van der Waals, interações $\pi - \pi$, ligações de hidrogênio e ligações de hidrogênio mediadas por água) [26–28] e pode ser afetada pelas condições do meio, tais como, tipo de solvente, pH e temperatura [29, 30]. Ressalta-se que estas interações não covalentes, apesar de menos intensas que as covalentes, são suficientes para produzir estruturas robustas e organizadas [31–33]. Embora estas interações tenham sido identificadas, determinar a forma final adquirida pelas proteínas e pelos peptídeos ainda é um desafio. Sendo assim, investigações teóricas de um ponto de vista atomístico, que buscam elucidar a dinâmica destas interações, e como elas mantêm estáveis as estruturas, ainda se fazem necessárias, principalmente porque o conhecimento cada vez mais detalhado dos mecanismos da auto-organização levaria o desenvolvimento de nanoestruturas a uma vanguarda, tornando possível construir novas arquiteturas, com formas não encontradas na natureza até o momento, possibilitando o desenvolvimento econômico e a redução de impactos ambientais dos materiais atualmente existentes [34]. É nesta perspectiva que surge a proposta da presente tese.

Nosso estudo foca em caracterizar estruturas formadas por peptídeos, macromoléculas menores que as proteínas. Embora a natureza comumente utilize proteínas como blocos de construção de materiais funcionais, sequências de poucos aminoácidos (peptí-

deos) também podem se auto-organizar em nanoestruturas altamente sofisticadas [35]. Dessa forma, a área de nanotecnologia baseada em peptídeos também se encontra em expansão acelerada [35, 36]. Além de apresentarem diversas aplicações, as estruturas formadas por peptídeos são particularmente importantes na compreensão dos mecanismos envolvidos na auto-organização, tanto porque os peptídeos são mais facilmente sintetizados quanto porque a investigação da forma estrutural adquire por elas é menos complexa. Sendo assim, a partir dos peptídeos é possível entender como estruturas mais elaboradas são formadas, além de possibilitar o uso como blocos de construções para o desenvolvimento de arquiteturas mais robustas.

Ao longo dos anos, observou-se que os peptídeos podem se organizar em diversas formas estruturais, que incluem nanotubos, nanofibras, nanoesferas, nanovesículas, misceladas, nanomembranas, filmes, nanofitas, hidrogéis, dentre outras [8, 11, 12, 26, 37–42]. Estas nanoestruturas têm sido utilizadas no desenvolvimento de nanomateriais com excelentes propriedades, tais como: biocompatibilidade, bioatividade, biodegradabilidade e flexibilidade [27, 37, 43–46]; encontrando solo fértil em aplicações biológicas e medicinais, especialmente no transporte de drogas [8–12, 36, 47], como agente antimicrobiano [15, 47–50], como andaimes na engenharia de tecidos [14, 51], na homeostasia⁴ [13], na estabilização de proteínas de membranas [35, 52], de suspensões coloidais [53] e de complexos fotossintéticos [41]⁵. De forma particularmente importante, recentemente, peptídeos construídos para se auto-organizar em nanoarquiteturas específicas têm se mostrado como biomateriais de grande potencial para o desenvolvimento de vacinas, podendo ser utilizadas tanto como antígenos, quanto como adjuvantes, com vantagens quando comparadas às vacinas baseadas em proteínas [54, 55].

Há uma diversidade de peptídeos conhecidos, entre eles, se destaca a classe de peptídeos do tipo surfactantes (SLPs) [11, 37–42]⁶, que são anfifílicos. Os SLPs possuem semelhanças com lipídios, no sentido de serem anfifílicos, mas se diferenciam pela organização estrutural, principalmente porque na manutenção de estruturas formadas por peptídeos as LHs são essenciais, o que não ocorre nas estruturas lipídicas. Além disso, os SLPs possuem apenas uma cauda hidrofóbica, enquanto os lipídeos comumente possuem duas. Recentemente têm surgido estudos de peptídeos do tipo surfactantes conhecidos com *gemini*, que possuem duas caudas hidrofóbicas. Estes peptídeos têm apresentado grande

⁴ Homeostasia se refere à resposta fisiológica do corpo para a prevenção e interrupção de sangramento e hemorragias.

⁵ Complexos fotossintéticos, proteínas localizadas na membrana do cloroplasto, são capazes de transformar a energia solar com altíssima eficácia.

⁶ Do inglês *Surfactant-like peptides* (SLPs). SLPs são anfifílicos, isto é, peptídeos constituídos por aminoácidos apolares formando uma cauda hidrofóbica e aminoácidos polares carregados formando uma cabeça hidrofílica.

potencial de aplicações [36], reforçando que *insights* de novos peptídeos e nanoestruturas peptídicas, a partir de outras já conhecidas, estão sempre presente quando se trabalha com aglomerados de aminoácidos. Entre as diversas nanoestruturas formadas por SLPs [11, 37–42], neste trabalho, nós estudamos aquelas do tipo membranas e fibras com dimensões nanométricas, utilizando simulações de DM.

As nanoestruturas peptídicas são mais que nanocomponentes estáticos, portanto, é importante compreender a dinâmica temporal do processo de auto-organização. Dessa forma, uma importante abordagem para o estudo de nanomateriais formados por peptídeos, e das interações que estabilizam as nanoestruturas, é a Dinâmica Molecular (DM). Por meio desta técnica, é possível compreender, em nível atomístico, como são as interações moleculares entre os peptídeos e como eles estão organizados compondo as estruturas. Sendo assim, este trabalho busca estudar, via simulações de DM, a versatilidade estrutural de aminoácidos agregados, especialmente os que se auto-organizam formando nanomembranas, Cap.3, e nanofibras, Cap.4. A partir da modelagem computacional, em nível atomístico, de nanomembranas e nanofibras peptídicas, buscaremos elucidar como a dinâmica das interações moleculares propicia a estabilidade destes tipos de arquiteturas.

No Cap.3, faremos um estudo de 9 nanomembranas, compostas por peptídeos do tipo surfactante (SLPs), a saber 1) $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$; 2) A_6H_ϵ e A_6H_δ ; 3) $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}, \mathbf{L}$), com o intuito de realizar uma caracterização teórica das estruturas, evidenciando as interações coulombianas e *vdW* e as ligações de hidrogênio entre os aminoácidos destas nanomembranas, além de indicar algumas possíveis aplicações. As nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ são formadas por peptídeos compostos pelos mesmos aminoácidos, mas ligados em sequências primárias invertidas. As nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ possuem superfícies formadas por resíduos de histidina (H) onde os átomos de hidrogênio se encontram em duas posições diferentes no anel aromático, épsilon (ϵ) ou delta (δ). Em seguida, realizamos o estudo das nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}, \mathbf{L}$). Quando, na posição \mathbf{X} , há resíduos polares, \mathbf{Q}, \mathbf{S} e \mathbf{N} , espera-se que ocorra a formação de zíperes polares ligando folhas- β vizinhas. Este fenômeno é particularmente importante porque a partir dele estruturas complexas podem ser formadas. No Cap.4 serão estudadas duas nanofibras, uma composta por peptídeos com a sequência primária direta, $G_3A_3V_3I_3K_3$, e outra com a sequência reversa, $K_3I_3V_3A_3G_3$.

Como panorama, no Cap. 2, apresentaremos uma revisão teórica sobre o método de DM, explicando suas equações básicas, os algoritmos utilizados para resolvê-las e como são realizadas simulações de DM em diferentes *ensembles*. Indicaremos como extrair resultados desejados a partir da trajetória de DM, com o auxílio da Física Estatística (FE). Nos Cap. 3 e 4, apresentamos os resultados relacionados às nanomembranas e nanofibras, respectivamente, contemplando um estudo teórico que possibilite a compreensão da agregação de aminoácidos formando nanoestruturas peptídicas específicas. No Cap. 5 apresentamos as conclusões desta tese.

ASPECTOS TEÓRICOS

Neste capítulo, serão abordados os principais aspectos teóricos relacionados à Dinâmica Molecular (DM). Inicialmente, detalharemos as equações fundamentais que regem o movimento das partículas de um sistema e faremos uma breve introdução sobre alguns algoritmos de integração utilizados para resolvê-las. Em seguida, apresentaremos as ideias centrais sobre o campo de força, que define o potencial de interação entre as partículas em uma simulação de DM, e faremos a conexão da DM com a FE, indicando como é possível obter propriedades estruturais, energéticas, termodinâmicas e dinâmicas dos sistemas estudados, a partir da simulação computacional em diferentes *ensembles*. Por fim, apresentaremos outros detalhes pertinentes ao assunto.

2.1 Simulações computacionais

As primeiras simulações computacionais foram realizadas há cerca de 70 anos nos laboratórios de Los Alamos, nos Estados Unidos, utilizando o computador mais poderoso disponível àquela época, conhecido como MANIAC¹ [56]. Desde então, a área de simulação computacional se desenvolveu bastante e, atualmente, suas ferramentas são utilizadas por pesquisadores de diversos campos da ciência, permitindo a observação de fenômenos onde abordagens puramente experimentais não são suficientes, ou impossíveis.

As simulações computacionais desempenham um papel duplo, sendo uma espécie de ponte entre modelos e predições teóricas com resultados experimentais. Em princípio, o resultado de uma simulação computacional é comparado com resultados experimentais, fornecendo um teste para avaliar o modelo usado na simulação, e, eventualmente, se o

¹ Do inglês, Mathematical Analyzer, Numerical Integrator, And Computer: an early Los Alamos computer.

modelo é adequado, a simulação pode oferecer *insights* tanto para a compreensão de resultados já obtidos experimentalmente quanto para fazer novas previsões.

Os modelos utilizados nas simulações precisam ser robustos e exaustivamente testados, fazendo comparações tanto com parâmetros obtidos a partir de cálculos de Mecânica Quântica (MQ) quanto através de técnicas experimentais, tais como Difração de Raios-X (DRX) e de nêutrons, Ressonância Magnética Nuclear (RMN), infravermelho, dentre outras. Uma vez que bons modelos são desenvolvidos, os resultados das simulações de um determinado sistema podem trazer previsões mesmo antes da sua preparação experimental [56]. Então, em condições em que a realização de um experimento seja extremamente complicada, altíssimas temperaturas e pressões, por exemplo, as simulações computacionais podem ser utilizadas. Devido a forma em que as simulações são conduzidas e aos cuidados metodológicos necessários, tanto para obtenção de resultados quanto para suas análises, elas são, frequentemente, chamadas de experimentos computacionais.

Entre as diversas áreas em que as simulações computacionais têm sido utilizadas, a área de Mecânica Molecular (MM) merece destaque. Os métodos de MM buscam imitar o comportamento de átomos e moléculas no sistema. De maneira geral, com o auxílio da FE, estes métodos permitem que a partir de detalhes microscópicos de um sistema (massa dos átomos, geometria molecular e interações entre os átomos), propriedades macroscópicas de interesse experimental (coeficiente de transporte, pressão, energia, equação de estado, etc.) sejam obtidas [56].

Após estudos iniciais envolvendo pequenas moléculas rígidas [57] e hidrocarbonetos flexíveis [58] a MM, por meio de simulações computacionais, se desenvolveu rapidamente permitindo que sofisticados problemas de interesse físico, químico e biológico fossem estudados [56], tais como proteínas, lipídios, ácidos nucleicos, carboidratos [59], e até supercapacitores orgânicos [60]. Atualmente, a MM tem auxiliado no desenvolvimento de diversas aplicações na área de nanomateriais, uma vez que, utilizando computadores especiais, em grandes centros de pesquisa, simulações com até milhões de átomos podem ser realizadas. Além disso, nestes centros, é possível realizar simulações por tempos bastante longos, permitindo, inclusive, que o processo de enovelamento de uma proteína (na escala de micro e até milissegundo) seja estudado. Este avanço se deve tanto ao rápido desenvolvimento dos *hardwares*, hoje qualquer computador pessoal tem capacidade de processamento e armazenamento superior à disponível na época de surgimento das simulações computacionais, quanto ao refinamento teórico dos métodos de MM.

Entre os diversos métodos de MM, a DM merece atenção. As simulações de DM são amplamente utilizadas para estudos de diversos tipos de sistemas físicos com muitos átomos, em especial aqueles envolvendo peptídeos e lipídios. Em síntese, a DM é um método que obtém a variação temporal das posições e velocidades de um sistema de partículas submetidas a um potencial de interação $\mathcal{V}(r)$ e, a partir das informações microscópicas (posições e velocidades dos átomos), permite a obtenção

de informações macroscópicas, com o auxílio da FE. Ao final da década de 1950, os primeiros passos do método de DM se concentraram em modelar o comportamento de líquidos a partir de interações entre esferas rígidas [61, 62]. Alguns anos depois, as primeiras simulações utilizando potenciais de interação mais realista foram realizadas para átomos de argônio [63] e para água líquida [64]. A partir de então, esta técnica evoluiu, permitindo que diversos tipos de sistemas fossem estudados [59]. Por exemplo, G. Colherinhas *et. al.* têm realizado estudos principalmente envolvendo sistemas peptídicos e lipídicos [9, 26, 42, 44, 60, 65–69] e demonstrado que excelentes resultados (comparáveis aos experimentais) podem ser obtidos com o uso da DM, possibilitando a predição de novos nanomateriais e aplicações em bionanotecnologia.

A DM é um método baseado na utilização de campo de força empírico. Os métodos empíricos apesar de apresentarem uma série de limitações, por não considerarem efeitos quânticos, ainda são capazes de produzir bons resultados dependendo do sistema estudado. Em uma hierarquia de aproximações, primeiramente vêm os métodos quânticos sem aproximações, seguidos pelos métodos quânticos com aproximações e pelos métodos semiempíricos e, só então, se chega aos métodos empíricos. Logo, o desejável é que os sistemas físicos sejam tratados por meio de cálculos quânticos. No entanto, o tratamento de efeitos quânticos só é possível, atualmente, para sistema com poucos átomos. O estudo de nanoestruturas peptídicas, como as que serão apresentadas nesta tese, é factível por meio de métodos empíricos. Além disso, as simulações de DM têm apresentado excelentes resultados no tratamento destes sistemas o que justifica sua utilização [9, 26, 42, 44, 60, 65–69].

2.2 Fundamentos da Dinâmica Molecular

Nesta seção, detalharemos as equações fundamentais da DM. De forma simplificada, a DM consiste em resolver, durante um tempo t , as equações de movimento clássicas (evoluir temporalmente o sistema) para um sistema de N partículas interagindo por meio de um potencial $\mathcal{V}(r)$ [56].

2.2.1 Equações de movimento

Uma forma fundamental de se descrever a evolução temporal de um sistema físico é por meio da equação de movimento de Lagrange [70],

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial \dot{q}_k} \right) - \left(\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial q_k} \right) = 0, \quad (2.2.1)$$

onde a Lagrangiana, $\mathcal{L}(\mathbf{q}, \dot{\mathbf{q}}, t)$, função das coordenadas generalizadas q_k e das suas derivadas parciais com respeito ao tempo \dot{q}_k (velocidades), é definida em termos da energia

cinética (\mathcal{K}) e potencial (\mathcal{V}),

$$\mathcal{L} = \mathcal{K} - \mathcal{V}. \quad (2.2.2)$$

Considerando a definição usual de energia cinética,

$$\mathcal{K} = \sum_{i=1}^N \sum_{\alpha} \frac{p_{i\alpha}^2}{2m_i}, \quad (2.2.3)$$

onde a soma em α corre sobre as diferentes componentes do momento (x, y, z), e um potencial de interação \mathcal{V} , dependente das posições das partículas, na Lagrangiana do sistema, é possível escrever, utilizando a Eq. (2.2.1), a equação de movimento de um sistema de átomos com coordenadas cartesianas \mathbf{r}_i da seguinte forma [70],

$$m_i \ddot{\mathbf{r}}_i = \mathbf{f}_i, \quad (2.2.4)$$

sendo m_i a massa do átomo i e

$$\mathbf{f}_i = -\nabla_{\mathbf{r}_i} \mathcal{V}, \quad (2.2.5)$$

a força no átomo i . A Eq. (2.2.4) é conhecida como equação de movimento do sistema de N partículas sujeitas ao potencial \mathcal{V} no formalismo Newtoniano. Logo, para um sistema com n graus de liberdade, pela equação de Lagrange, Eq. (2.2.1), obtém-se n equações diferenciais de 2^a ordem no tempo, Eq. (2.2.4).

Há uma outra maneira equivalente para se obter as equações de movimento para o sistema, a abordagem Hamiltoniana [70]. Nesta abordagem, o movimento de um sistema com n graus de liberdade é governado por $2n$ equações de 1^a ordem no tempo. Para obter estas $2n$ equações, primeiramente definimos o momento canônico,

$$p_k = \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial \dot{q}_k} \quad (2.2.6)$$

e a função Hamiltoniana,

$$\mathcal{H}(\mathbf{q}, \mathbf{p}) = \sum_k \dot{q}_k p_k - \mathcal{L}(\mathbf{q}, \dot{\mathbf{q}}). \quad (2.2.7)$$

Escrevendo $\dot{\mathbf{q}}$ como uma função do momento conjugado e realizando uma transformada de Legendre da Hamiltoniana, obtemos as equações de movimento na forma Hamiltoniana [70],

$$\dot{q}_k = \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial p_k} \quad (2.2.8)$$

$$\dot{p}_k = -\frac{\partial \mathcal{H}}{\partial q_k}. \quad (2.2.9)$$

Para um potencial \mathcal{V} , independente das velocidades e do tempo, a Hamiltoniana é igual à energia total do sistema [70], isto é,

$$\mathcal{H}(\mathbf{q}, \mathbf{p}) = \mathcal{K}(\mathbf{p}) + \mathcal{V}(\mathbf{q}). \quad (2.2.10)$$

Para um sistema de coordenadas cartesianas e utilizando a energia cinética dada pela Eq. (2.2.3) e um potencial de interação \mathcal{V} dependente das posições das partículas, as Eqs. (2.2.8) e (2.2.9) se tornam,

$$\dot{\mathbf{r}}_i = \frac{\mathbf{p}_i}{m_i} \quad (2.2.11)$$

$$\dot{\mathbf{p}}_i = -\nabla_{\mathbf{r}_i} \mathcal{V} = \mathbf{f}_i. \quad (2.2.12)$$

Logo, para evoluir o sistema, é possível utilizar tanto a equação de Newton, Eq. (2.2.4), quanto as equações de Hamilton, Eqs. (2.2.11) e (2.2.12). Os algoritmos de integração, a serem discutidos na Seção (2.2.2), comumente utilizam a equação de movimento na forma Newtoniana, Eq. (2.2.4). No entanto, a abordagem Hamiltoniana nos permite enunciar uma importante Lei de Conservação, a conservação da energia. Para um sistema cuja Hamiltoniana não dependa explicitamente do tempo, *i.e.*, $\partial\mathcal{H}/\partial t = 0$, a derivada total da Hamiltoniana em relação ao tempo pode ser escrita como,

$$\frac{d\mathcal{H}}{dt} = \sum_k \left(\frac{\partial\mathcal{H}}{\partial q_k} \dot{q}_k + \frac{\partial\mathcal{H}}{\partial p_k} \dot{p}_k \right) = 0. \quad (2.2.13)$$

Assim, as equações de movimento na forma Hamiltoniana, Eqs. (2.2.8) e (2.2.9), levam à conservação da energia total do sistema. Deve-se lembrar que a exigência para a conservação da Hamiltoniana é que não haja atuação de forças explicitamente dependentes do tempo no sistema. Este resultado, mostra que a integração das equações de movimento leva o sistema a configurações que conservam a energia e será importante para entender o tipo de *ensemble* estatístico em que a trajetória da DM está sendo produzida, a saber: *ensemble* microcanônico (NVE).

Para realizar uma simulação de DM, primeiramente, são estabelecidas as condições iniciais, posição e velocidade de todas as partículas (que serão utilizadas para determinar o potencial \mathcal{V} de interação das partículas) que compõe o sistema. O próximo passo de um programa que executa a DM é determinar as posições e velocidades de cada partícula em etapas posteriores, produzindo, assim, uma trajetória no espaço de fase a partir da qual se obtém propriedades termodinâmicas, estruturais e dinâmicas do sistema de interesse. Sendo assim, é preciso resolver as equações de movimento do sistema. Um ponto importante é compreender como se dá a resolução destas equações (utilizando os algoritmos de integração) para as partículas, permitindo evoluir o sistema temporalmente.

2.2.2 Algoritmos de Integração

Para resolver a Eq. (2.2.4), ou as Eqs. (2.2.11) e (2.2.12), existem diversos métodos (algoritmos de integração ou integradores), cada um apropriado a um tipo de sistema. Inicialmente, ressaltamos algumas características desejáveis de um integrador [56]:

- a) ser rápido e utilizar pouca memória computacional;
- b) permitir a utilização de passos temporais, δt , de simulações mais longos;
- c) satisfazer as leis de conservação de energia e momento, além de ser reversível no tempo;
- d) ser simples e fácil de programar.

Os integradores baseados nos Métodos de Diferenças Finitas (MDF) são bastante convenientes. Um MDF consiste em descrever uma função contínua de forma discreta e assim expressar uma derivada em termos dos valores da função em intervalos de tempos sucessivos (diferença para frente, diferença para trás, ou diferença central); tornando possível que derivações e integrações sejam realizadas utilizando cálculo numérico [71]. Por meio destes métodos, as equações de movimento são resolvidas passo-a-passo, a cada intervalo de tempo δt . Em geral, o passo temporal, (δt), é muito menor que o tempo típico para uma molécula percorrer seu próprio comprimento [56]. Nas próximas seções, optamos por descrever três algoritmos de integração bastante conhecidos, algoritmo de Verlet [72], *Leap Frog* [73] e *Velocity Verlet* [56, 74], ressaltando as vantagens e a precisão de cada um deles. No entanto, há diversos outros algoritmos de integração disponíveis. Dentre eles, merecem destaque os algoritmos de Runge-Kutta e preditor-corretor [56, 71]. Nesta tese, as simulações de DM foram realizada utilizando o algoritmo de *Leap-Frog*, no entanto, consideramos importante descrever outros algoritmos, de maneira que os futuros leitores possam ter um entendimento mais amplo do assunto.

2.2.2.1 Algoritmo de Verlet

Desejamos resolver a equação de movimento de Newton, Eq. (2.2.4), de forma que sabendo a posição \mathbf{r}_i da partícula i no tempo t , possamos avaliar a sua posição em um tempo infinitesimal posterior ($t + \delta t$). Podemos fazer isto utilizando uma expansão temporal em Taylor em torno de $\mathbf{r}_i(t)$, truncando a expansão em 2^a ordem,

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \delta t \dot{\mathbf{r}}_i(t) + \frac{\delta t^2}{2!} \ddot{\mathbf{r}}_i(t) + \vartheta(\delta t^3). \quad (2.2.14)$$

Utilizando a Eq. (2.2.14) já teríamos condições de determinar a posição de cada partícula em um tempo δt posterior, a partir do conhecimento da posição, da velocidade e da aceleração (obtida por meio do gradiente do potencial) no tempo t . Esta abordagem é

conhecida como método de Euler [71]. Nota-se que pelo método de Euler a aproximação introduz um erro da ordem de δt^3 . Em geral, o valor de δt deve ser cuidadosamente escolhido de maneira a não produzir instabilidades numéricas.

Para melhorar a precisão deste método, reduzindo o erro associado ao incremento de tempo (tornando a ordem do erro maior), Verlet utiliza o fato de que também pode ser realizada uma expansão em Taylor em torno de $\mathbf{r}_i(t)$ para avaliar a posição em um intervalo de tempo infinitesimal anterior $-\delta t$, ou seja [56, 71, 75],

$$\mathbf{r}_i(t - \delta t) = \mathbf{r}_i(t) - \delta t \dot{\mathbf{r}}_i(t) + \frac{\delta t^2}{2!} \ddot{\mathbf{r}}_i(t) - \vartheta(\delta t^3). \quad (2.2.15)$$

Somando as Eqs. (2.2.14) e (2.2.15), obtêm-se,

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \delta t) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t)\delta t^2 + \vartheta(\delta t^4). \quad (2.2.16)$$

A Eq. (2.2.16) permite a evolução da posição associada ao método de Verlet [56, 71, 75]. Nota-se que são necessárias as posições em um instante t anterior, $\mathbf{r}_i(t)$, e em dois instantes anteriores, $\mathbf{r}_i(t - \delta t)$, à que desejamos determinar, $\mathbf{r}_i(t + \delta t)$. Além disso é necessário conhecer a aceleração na qual a partícula está sujeita no instante t , $\ddot{\mathbf{r}}_i(t)$. A cada passo, as posições das partículas mudarão, e, conseqüentemente, o potencial de interação. Dessa forma, é necessário calcular o valor da aceleração a cada passo da simulação. Entre um incremento de tempo e outro, a aceleração é considerada constante porque desconsideramos os valores de $\ddot{\mathbf{r}}_i(t)$ (variação da aceleração em função do tempo) na expansão de Taylor. Vemos que o erro introduzido no método de Verlet é da ordem de $\vartheta(\delta t^4)$. Assim é possível utilizar incrementos δt maiores que no método de Euler sem introduzir instabilidades numéricas.

A velocidade não aparece explicitamente nas equações que determinam as trajetórias no método de Verlet. No entanto, para verificamos a conservação da energia durante a evolução do sistema, e assegurar que o espaço de fase no *ensemble* NVE está sendo mapeado, é necessário calcular a energia total do sistema. Sendo assim, precisamos da velocidade de cada partícula em cada instante de tempo. Para fazer isto, podemos subtrair as Eqs. (2.2.14) e (2.2.15) para obter [56, 71, 75],

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) - \mathbf{r}_i(t - \delta t) = 2\dot{\mathbf{r}}_i(t)\delta t + \vartheta(\delta t^3), \quad (2.2.17)$$

de onde podemos isolar $\dot{\mathbf{r}}_i(t)$ e chegar a,

$$\dot{\mathbf{r}}_i(t) = \frac{\mathbf{r}_i(t + \delta t) - \mathbf{r}_i(t - \delta t)}{2\delta t} + \vartheta(\delta t^2). \quad (2.2.18)$$

Vemos que o erro na velocidade associado ao incremento de tempo é grande, da ordem de $\vartheta(\delta t^2)$. Além disso, podem surgir problemas numéricos por ser necessária a divisão por números pequenos (δt). Outro inconveniente deste algoritmo é que as posições e

as velocidades são avaliadas em tempos distintos uma vez que para calcular o valor da velocidade da partícula i no tempo t , $\dot{\mathbf{r}}_i(t)$, é preciso saber a posição da partícula i no tempo posterior, $\mathbf{r}_i(t + \delta t)$.

Ao final de um tempo de simulação t será gerada uma trajetória, conjunto de posições e velocidades das partículas calculadas a cada intervalo de tempo δt . Esta trajetória é utilizada para o cálculo de grandezas física por meio da FE. Esta conexão será apresentada na Seção (2.4).

2.2.2.2 Algoritmo de *Leap-Frog*

Outro método bastante utilizado para integrar as equações diferenciais de movimento é desenvolvido por meio de uma modificação no algoritmo de Verlet, chamado de *Leap-Frog* [73, 75, 76]. Neste método há melhoria de desempenho na obtenção da velocidade, calculada explicitamente sem a necessidade de realizar divisões por δt [75, 76]. Neste método, é necessário o cálculo das velocidades na metade do intervalo de tempo, $(\delta t/2)$. Pensando em uma expansão em Taylor da velocidade em torno do tempo t para avaliar o valor da velocidade em um intervalo de tempo $(\delta t/2)$ posterior e truncando em 1ª ordem, obtemos,

$$\dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) = \dot{\mathbf{r}}_i(t) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t) \frac{\delta t}{2} + \vartheta(\delta t^2). \quad (2.2.19)$$

A Eq. (2.2.14) pode ser reescrita na forma,

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \left[\dot{\mathbf{r}}_i(t) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t) \frac{\delta t}{2} \right] \delta t + \vartheta(\delta t^3). \quad (2.2.20)$$

Sendo assim, substituindo a Eq. (2.2.19) na Eq. (2.2.20), obtemos,

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) = \mathbf{r}_i + \dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) \delta t + \vartheta(\delta t^3). \quad (2.2.21)$$

Aqui temos a equação que permite evoluir as posições de cada partícula do sistema desde que seja conhecida a velocidade em $(t + \delta t/2)$. Para obter este valor de velocidade em $(t + \delta t/2)$ podemos realizar uma expansão em Taylor em torno de t obtendo a velocidade em um intervalo de tempo $(-\delta t/2)$ anterior,

$$\dot{\mathbf{r}}_i \left(t - \frac{\delta t}{2} \right) = \dot{\mathbf{r}}_i(t) - \ddot{\mathbf{r}}_i(t) \frac{\delta t}{2} + \vartheta(\delta t^2), \quad (2.2.22)$$

de maneira subtraindo as Eqs. (2.2.19) e (2.2.22), chegamos a

$$\dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) - \dot{\mathbf{r}}_i \left(t - \frac{\delta t}{2} \right) = \ddot{\mathbf{r}}_i(t) \frac{2\delta t}{2} + \vartheta(\delta t^3). \quad (2.2.23)$$

Assim, conseguimos isolar a velocidade no tempo $(t + \frac{\delta t}{2})$, isto é,

$$\dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) = \dot{\mathbf{r}}_i \left(t - \frac{\delta t}{2} \right) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t) \delta t + \vartheta(\delta t^3). \quad (2.2.24)$$

Logo, notamos que para iniciar este algoritmo precisamos fornecer a velocidade em um tempo $(t - \delta t/2)$. O valor da velocidade da Eq. (2.2.24) é utilizado na Eq. (2.2.21) para evoluir a posição da partícula i .

Para obter uma expressão para a velocidade no tempo t , basta somar as Eqs. (2.2.19) e (2.2.22) e concluir que,

$$\dot{\mathbf{r}}_i(t) = \frac{\dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) + \dot{\mathbf{r}}_i \left(t - \frac{\delta t}{2} \right)}{2} + \vartheta(\delta t^2). \quad (2.2.25)$$

Vemos que o erro na velocidade continua sendo da ordem de $\vartheta(\delta t^2)$, e a velocidade e a posição são calculadas em tempos distintos, no entanto, neste método as velocidades são calculadas explicitamente e não há problemas numéricos causados pela necessidade de se realizar divisões por números pequenos (δt), como no caso de Verlet [75, 76].

2.2.2.3 Algoritmo de *Velocity-Verlet*

Uma alternativa de integrador, também baseado no método de Verlet, é o algoritmo de *Velocity-Verlet* [56, 74]. Este algoritmo embora precise do cálculo da velocidade em um tempo intermediário, $(\delta t/2)$, traz a vantagem de permitir o cálculo da velocidade no mesmo tempo em que se calcula a posição, $t + \delta t$, ao contrário dos métodos de Verlet e *Leap-Frog* [56, 75]. Neste método a posição e a velocidade das partículas são atualizadas pelas seguintes expressões [56, 75]:

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) \delta t + \vartheta(\delta t^4) \quad (2.2.26)$$

e

$$\dot{\mathbf{r}}_i(t + \delta t) = \dot{\mathbf{r}}_i(t) + \frac{\ddot{\mathbf{r}}_i(t) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t + \delta t)}{2} \delta t + \vartheta(\delta t^2). \quad (2.2.27)$$

Estas expressões podem ser obtidas partindo das equações da posição e velocidade do método de Verlet, Eq. (2.2.16) e Eq. (2.2.18). A fins de implementação computacional do método, o algoritmo calcula primeiramente a velocidade na metade do intervalo de tempo,

$$\dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) = \dot{\mathbf{r}}_i(t) + \frac{1}{2} \ddot{\mathbf{r}}_i(t) \delta t \quad (2.2.28)$$

e, em seguida, este resultado, Eq. (2.2.28), é utilizado para o cálculo das posições,

$$\mathbf{r}_i(t + \delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \dot{\mathbf{r}}_i \left(t + \frac{\delta t}{2} \right) \delta t + \vartheta(\delta t^4), \quad (2.2.29)$$

e velocidades,

$$\dot{\mathbf{r}}_i(t + \delta t) = \dot{\mathbf{r}}_i\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) + \frac{\ddot{\mathbf{r}}_i(t + \delta t)}{2}\delta t + \mathcal{O}(\delta t^2), \quad (2.2.30)$$

da partícula i no tempo $(t + \delta t)$, ou seja, após a partícula i ter evoluído um incremento inteiro de tempo, δt [75]. É como se evoluíssemos as velocidades para a metade do intervalo de tempo e, então, este valor da velocidade (na metade do intervalo de tempo) fosse utilizado para calcular as posições no intervalo inteiro de tempo, $t + \delta t$. Após isso, a força é calculada, o que permite obter o valor da aceleração $a(t + \delta t)$, a qual é utilizada para calcular a velocidade no tempo $(t + \delta t)$, completando um passo. A implementação das Eqs. (2.2.28), (2.2.29) e (2.2.30) em um código computacional é fácil e quase direta. Este método, além de ser numericamente estável, é bastante simples e conveniente; ele tem mostrado excelentes resultados para a conservação da energia, dependendo do valor de δt utilizado [56].

2.3 Campo de Força

Para resolver as equações de movimento das partículas do sistema, conforme abordado na Seção (2.2.2), é necessário conhecer como são as interações entre elas, ou seja, o potencial $\mathcal{V}(r)$. Na DM, este potencial é definido por meio de campo de força. Antes de fornecer uma definição para um campo de força, vamos ressaltar alguns detalhes importantes:

- (i) Os métodos baseados em campo de força (também chamados de MM ou métodos empíricos) ignoram o movimento dos elétrons e calculam a energia do sistema como uma função da posição do núcleo, tratado classicamente. O efeito dos elétrons é considerado de forma indireta ao se ajustar uma forma analítica e parâmetros (constantes que dependem de quais átomos estão interagindo) na obtenção de um potencial que coincida e/ou se aproxime do potencial de interação destes átomos, obtido de forma experimental ou por meio de cálculos de MQ. Desta forma, o efeito dos elétrons está embutido na forma e nos parâmetros do campo de força. Assim, informações sobre as ligações devem ser fornecidas explicitamente ao invés de serem resultado da solução da equação de Schrödinger [56]. Portanto, o potencial deve conter as informações relevantes a respeito das interações intramoleculares e intermoleculares. Geralmente, o potencial é um conjunto de parâmetros de entrada para os programas de simulações computacionais;
- (ii) Uma aproximação muito utilizada nas simulações computacionais consiste em separar as contribuições para a energia potencial devido as interações intermoleculares em termos envolvendo pares, trios etc. de partículas. Considerando um sistema de

N átomos, o potencial pode ser dividido em termos que dependa das coordenadas de pares de átomos, trios de átomos etc. [56], isto é,

$$\mathcal{V} = \sum_i v_1(\mathbf{r}_i) + \sum_i \sum_{j>i} v_2(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j) + \sum_i \sum_{j>i} \sum_{k>j} v_3(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j, \mathbf{r}_k) + \dots, \quad (2.3.31)$$

onde o primeiro termo representa o efeito de um campo externo ao sistema e os demais representam as interações entre as partículas: interação entre pares de partículas, trios de partículas etc. Embora o terceiro termo seja relevante, comumente os programas computacionais utilizam apenas o segundo termo, ou seja, truncam o potencial na interação por pares de átomos [56]. O efeito médio da interação de três (ou mais) corpos é parcialmente incluída ao se definir um potencial efetivo de pares [56],

$$\mathcal{V} = \sum_i v_1(\mathbf{r}_i) + \sum_i \sum_{j>i} v_2^{eff}(\mathbf{r}_{ij}). \quad (2.3.32)$$

O potencial de pares depende da distância de separação entre as partículas i e j , $|\mathbf{r}_{ij}| = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$. Dessa forma, por simplicidade, escreveremos o potencial apenas como $v_2(\mathbf{r}_{ij})$. Este potencial efetivo de pares representa o efeito de muitos corpos. Portanto, ao longo deste capítulo, quando nos referirmos à interação de pares no potencial de Lennard-Jones (LJ) e de Coulomb, por exemplo, estamos nos referindo à interação efetiva de pares. Apesar desta aproximação, os resultados obtidos, considerando apenas as interações por pares, são, para alguns sistemas, bastantes semelhantes aos conseguidos por meio de cálculos quânticos;

- (iii) Nos métodos baseados em campo de força as moléculas são descritas por esferas e molas, isto é, átomos de diferentes tamanhos e dureza são representados por esferas e as ligações entre eles são representados por molas, que podem possuir diferentes comprimentos e rigidezes [76].

Após ter explicitado estes detalhes importantes, finalmente podemos fornecer uma definição para um campo de força. Dizemos que um campo de força se refere a uma forma funcional para descrever o potencial de interação intramolecular e intermolecular de um conjunto de átomos, bem como aos parâmetros que determinam o potencial de uma dada configuração [56, 76, 77]. Por exemplo, se desejamos modelar um sistema composto por moléculas de CH_4 , devemos considerar que há interações intramoleculares que mantêm cada átomo de hidrogênio ligado ao átomo de carbono, a intensidade dessas ligações, bem como a distância de equilíbrio entre os átomos de carbono e hidrogênio. Ainda, é preciso possibilitar que eles possam vibrar em torno de uma posição de equilíbrio, e, até mesmo, rotacionar em torno de determinado eixo. Além disso, precisam ser consideradas as interações intermoleculares, que são interações não ligadas, devidas às cargas e aos

momentos de dipolos dos átomos envolvidos, à correlação eletrônica e à repulsão devida ao princípio da exclusão de Pauli.

Geralmente a forma funcional e os parâmetros são obtidos de forma sistemática a partir de trabalhos experimentais e de cálculos de MQ, como mencionado anteriormente. A Eq. (2.3.33) apresenta uma forma funcional comumente utilizada em diversos campos de força,

$$\begin{aligned} \mathcal{V} = & \sum_{\text{ligações}} \frac{1}{2} k_r (r_{ij} - r_0)^2 + \sum_{\text{ângulos}} \frac{1}{2} k_\theta (\theta_{ijk} - \theta_0)^2 + \\ & + \sum_{\text{torção}} \sum_n k_{\phi,n} [\cos(n\phi_{i,j,k,l} + \delta_n) + 1] + \\ & + \sum_{\text{não-ligadas}} \left[\frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} + \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right]. \end{aligned} \quad (2.3.33)$$

A Figura (2.1) traz uma representação de cada um dos termos presentes nesta expressão. Os três primeiros termos se referem às interações ligadas, intramoleculares. O primeiro, conhecido como estiramento, se refere à interação entre pares de átomos ligados e é modelada por meio de um oscilador harmônico, permitindo que os átomos ligados possam esticar em torno de uma posição de equilíbrio. Um potencial que melhor descreve a ligação entre dois átomos é o potencial de Morse [76], mas para muitos sistemas, a aproximação harmônica é suficiente. O segundo termo, chamado de dobramento, busca modelar variações angulares entre três átomos e também utiliza o modelo de oscilador harmônico. Nestes dois primeiros termos, temos um parâmetro k que representa a rigidez e um termo do tipo $(x - x_0)$ que descreve a oscilação em torno de uma posição de equilíbrio, x_0 . O terceiro termo é um potencial de torção, que surge quando há quatro átomos ligados, e busca modelar como é a variação na energia quando ocorre a torção de uma ligação. Este termo é modelado por uma soma de cossenos. O quarto termo se refere às interações não ligadas, descritas pelo potencial de Coulomb e LJ, respectivamente. Este potencial é calculado para pares de átomos (i e j) que estão em diferentes moléculas ou que estão na mesma molécula, mas separados por pelo menos 3 ligações. Uma descrição mais detalhada sobre os potenciais intermoleculares será dada na Seção (2.3.1).

É importante notar que além da forma funcional, para que o campo de força fique definido é preciso que sejam fornecidos também os valores dos parâmetros ($k_r, k_\theta, k_{\phi,n}, \dots$). Assim, dois campos de força que utilizem a mesma forma funcional, Eq. (2.3.33), podem se diferir por meio de seus parâmetros e, dessa forma, não é correto misturá-los.

Um campo de força, normalmente, é parametrizado para prever propriedades específicas. Dessa forma, é necessário conhecer se o campo de força a ser utilizado foi parametrizado para obter as propriedades desejadas para o sistema de interesse. Embora o campo de força seja útil para prever outras propriedades que não foram incluídas na parametrização, não é necessariamente um erro caso ele falhe na descrição delas. Outro

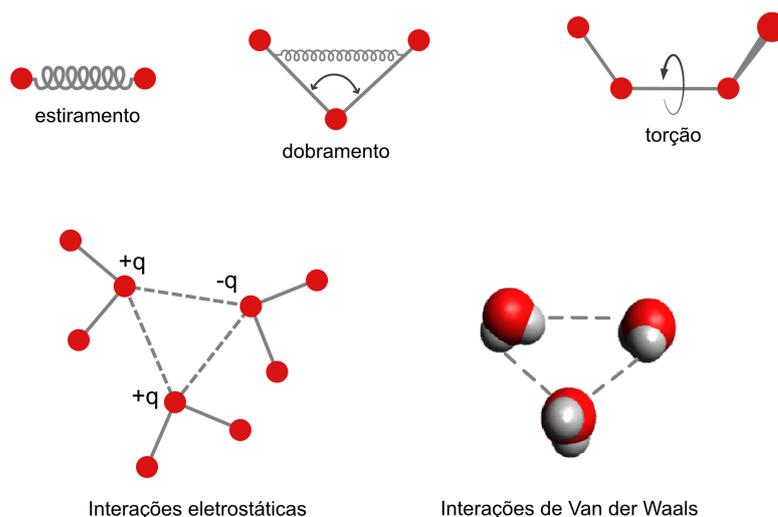


Figura 2.1: Representação esquemática dos 5 principais termos de um campo de força típico – estiramento, dobramento, torção, interações eletrostáticas e interações de van der Waals. Adaptada de Leach, 2001 [77].

ponto relevante é a transferibilidade tanto da forma funcional quanto dos parâmetros de um campo de força. Ou seja, o mesmo conjunto de parâmetros pode ser usado para uma série de moléculas, desde que sejam semelhantes. Por exemplo, os mesmos parâmetros utilizados para a molécula de pronano podem ser utilizados para as moléculas de etano, butano e toda a família de alcanos. Outro ponto importante é que comumente se leva em consideração o tipo de átomo no sistema e o ambiente químico em que eles se encontram para realizar a parametrização. Em muitos campos de força é necessário distinguir entre átomos de carbono com hibridização sp^3 , sp^2 e sp .

É preciso reforçar, ainda, que o campo de força é considerado empírico. Portanto, não se pode dizer que há apenas uma forma correta para um campo de força. Assim, é extremamente importante ter consciência de que o campo de força empregado no estudo foi parametrizado para o sistema que se deseja estudar, além disso, se ele é capaz de reproduzir com precisão as propriedades que se pretende observar.

É importante ressaltar que há uma classificação para os campos de força, de acordo com os termos presentes na sua forma funcional. Os campos de força do tipo I são aqueles em que se consideram o estiramento, o dobramento, a torção e os termos não ligados de van der Waals (*vdW*) e Coulomb, conforme apresentado na Eq. (2.3.33). Nos campos de força do tipo II são adicionadas anormacidades e termos cúbicos, considerando termos cruzados, ou seja, como a variação no ângulo entre três átomos altera o comprimento das ligações entre pares de átomos. Já os campos de força do tipo III fazem um tratamento mais preciso das interações eletrostáticas e consideram a polarizabilidade.

Por fim, nos campos de força, existem diferentes níveis de simplificação na

descrição dos átomos. Os campos de força que descrevem todos os átomos do sistema são chamados de *all atoms*. Esta abordagem é desejável porque descreve de maneira mais completa o sistema, mas pode ser computacionalmente proibitiva no estudo de sistemas com uma grande quantidade de partículas. Uma primeira simplificação consiste em unir os átomos de hidrogênio ligados aos átomos de Carbono, dando origem a um pseudoátomo. Estes campos de força são denominados (*united atoms*). Uma maior simplificação, denominada (*coarse grained*) considera que vários átomos podem ser agregados formando uma partícula única (um aminoácido inteiro pode ser considerado apenas uma partícula, por exemplo). Quanto maiores as simplificações, menor é o custo computacional, no entanto, elas trazem consigo limitações intrínsecas e algumas propriedades ficam proibidas de serem analisadas com o rigor necessário.

2.3.1 Interações Não-ligadas

2.3.1.1 Potencial de Coulomb

Os elétrons são atraídos para determinada região de uma molécula de acordo com a eletronegatividade dos átomos que a constituem. Isso gera uma distribuição de cargas desigual na molécula mesmo nos casos em que ela seja considerada neutra. Assim, pode haver interações eletrostáticas entre duas moléculas (ou mesmo entre diferentes partes de uma mesma molécula) devido à distribuição de cargas na estrutura. Nos casos em que as moléculas estão carregadas, ou são moléculas polares, os efeitos da distribuição de cargas são mais relevantes, mas além dos efeitos das interações carga-carga, também são importantes as interações dipolo-carga, dipolo-dipolo, quadrupolo-quadrupolo, etc. [56]. Existem algumas maneiras de se tratar a distribuição de cargas e o cálculo das interações entre elas, sendo a mais utilizada aquela em que são distribuídos pontos parciais de carga na molécula e a interação eletrostática, entre as cargas i e j , é calculada por meio do potencial de Coulomb [56, 77],

$$\mathcal{V}_{ele} = \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}}. \quad (2.3.34)$$

Dessa forma, a polarização média é considerada de forma implícita. O importante nesta abordagem é obter uma distribuição de cargas que modele/reproduza com boa qualidade as propriedades eletrostáticas das moléculas. Muitas vezes, uma distribuição que modela de forma precisa uma molécula pode requerer que cargas elétricas sejam colocadas em posições distintas das posições dos núcleos dos átomos [56].

Há também modelos que utilizam da expansão multipolar para descrever as interações eletrostáticas [77]. Assim, a energia de interação entre duas moléculas seria calculada por uma série infinita que considera as interações carga-carga, carga-dipolo, dipolo-dipolo, carga-quadrupolo, dipolo-quadrupolo, quadrupolo-quadrupolo etc. A expansão em

multipolos fornece uma alternativa para se calcular as interações eletrostáticas entre duas moléculas, no entanto, a maioria dos campos de força se baseiam na distribuição de pontos parciais de carga, uma vez que a utilização da expansão multipolar pode levar a problemas de convergência [77].

Como vimos, para que o modelo de cargas pontuais funcione é necessária uma distribuição bastante precisa das cargas. Assim, há inúmeros esforços na tentativa de se criar distribuição de cargas de forma precisa. Os métodos mais utilizados são baseados na distribuição de cargas por meio do potencial eletrostático. O objetivo seria obter um conjunto discreto de cargas que melhor reproduza o potencial eletrostático obtido pela mecânica quântica² em uma série de pontos (*grids*) ao redor da molécula [56].

Nesta seção, foram abordados os efeitos eletrônicos das distribuições de cargas permanentes. Os campos de força baseados nesta abordagem são chamados de aditivos por não permitirem que, durante a simulação, os parâmetros do potencial eletrostático sejam alterados em função do ambiente, sendo a energia eletrostática a soma de cada par de átomos individuais. No entanto, se sabe que quando uma distribuição de cargas está sujeita a um campo elétrico externo há uma redistribuição de cargas fazendo com que a distribuição de cargas se comporte como um dipolo induzido e a polarização da molécula varia de acordo com o ambiente no qual ela se encontra. Sendo assim, outras abordagens buscam incluir de forma explícita a polarização em determinado modelo de campo de força, sendo os modelos mais conhecidos: modelo de oscilador de Drude; modelo de flutuação de cargas; e modelo de multipolo induzido. Para maiores detalhes sugerimos que as seguintes referências sejam consultadas [56, 79–81].

2.3.1.2 Potencial van der Waals

O potencial de van der Waals (*vdW*) é responsável por modelar a atração e a repulsão entre átomos apolares não diretamente ligados (pode ocorrer entre átomos que estão em uma mesma molécula, desde que não estejam ligados diretamente) [77]. O potencial de *vdW* é importante porque as interações eletrostáticas não conseguem modelar todas as interações não ligadas. Isso fica claro ao se estudar um gás nobre. Nos gases nobres os momentos de multipolo são nulos. Mesmo assim há interações entre os átomos, uma vez que pode ocorrer transição de fase nestes sistemas. Assim, o comportamento de um gás nobre se desvia do comportamento de um gás ideal, o que foi objeto de estudos do cientista Johannes Diderik van der Waals [77].

² O potencial eletrostático pode ser calculado quanticamente por meio do módulo quadrado da função de onda [78].

Uma curva típica para a energia potencial em função da distância entre dois átomos apolares está representada na Figura (2.2a). Claramente se nota que o potencial de interação de vdW é aproximadamente zero para longas distâncias e bastante repulsivo para distâncias muito pequenas. Assim, a forma da curva de potencial de interação de vdW é devida a um termo repulsivo (à pequenas distâncias) e a um termo atrativo. Na MQ, o termo repulsivo pode ser explicado pela sobreposição de nuvens eletrônicas de dois átomos, a qual é proibida pelo princípio da exclusão de Pauli. À distâncias intermediárias surge uma pequena atração entre os elétrons devido à interação dipolo induzido-dipolo induzido. A atração entre os elétrons está relacionada à correlação eletrônica, que dá origem às forças de dispersão de London.

É possível obter uma expressão matemática para o termo atrativo por meio de um modelo de Drude, Figura (2.2b). Este modelo pode ser pensado como um sistema onde cada molécula é representada por duas cargas ($+q$ e $-q$) separadas por uma distância dz . A carga negativa realiza um movimento harmônico simples com frequência angular ω ao longo do eixo z , em torno da carga positiva estacionária. Se há apenas uma molécula, este sistema é bastante conhecido, tanto classicamente quanto quanticamente, o oscilador harmônico simples. Se uma segunda molécula for adicionada, Figura (2.2b), separada da primeira por uma distância r , elas podem interagir, e a intensidade da interação depende da distância. Se a distância r for infinita, o sistema consistiria apenas de dois osciladores isolados, mas se as moléculas se aproximam surge uma interação entre os dois dipolos induzidos [77]. A energia de interação é dada aproximadamente por,

$$\mathcal{V} = -\frac{C_6}{r^6}. \quad (2.3.35)$$

Na verdade, o modelo de Drude leva a uma expansão na forma [77],

$$\mathcal{V} = -\frac{C_6}{r^6} - \frac{C_8}{r^8} - \frac{C_{10}}{r^{10}} + \dots, \quad (2.3.36)$$

onde além das interações dipolo induzido – dipolo induzido, também estão presentes as interações dipolo induzido – quadrupolo induzido, quadrupolo induzido – quadrupolo induzido, etc. [77].

Uma forma matemática para o potencial de vdW seria, então,

$$\mathcal{V}_{vdW}(r_{ij}) = \mathcal{V}_{repulsão}(r_{ij}) - \frac{C_{ij}}{(r_{ij})^6}. \quad (2.3.37)$$

Sobre o termo repulsivo não há um consenso [56,76,77]. Vimos que ele é devido à proibição de sobreposição de nuvens eletrônicas para o caso de moléculas de camada fechada. Quanticamente, se prevê uma repulsão que decai exponencialmente com a distância de separação entre os elétrons. Sendo assim, este termo vai ao infinito se as duas moléculas se aproximarem muito e vai à zero, rapidamente, quando o módulo de \mathbf{r} cresce [77]. Uma

função bastante conhecida capaz de reproduzir este comportamento é o potencial de LJ, Eq. (2.3.38). No potencial de LJ a parte repulsiva é dada por um decaimento com r^{-12} ,

$$\mathcal{V}_{LJ}(r_{ij}) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right]. \quad (2.3.38)$$

Nesta expressão σ é a distância de separação entre as moléculas para a qual a energia de interação entre elas é zero e ε é a profundidade do poço de potencial, Figura (2.2a). O potencial de LJ também pode ser escrito em termos da distância de equilíbrio r_0 ,

$$\mathcal{V}_{LJ}(r_{ij}) = \varepsilon \left[\left(\frac{r_0}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{r_0}{r_{ij}} \right)^6 \right]. \quad (2.3.39)$$

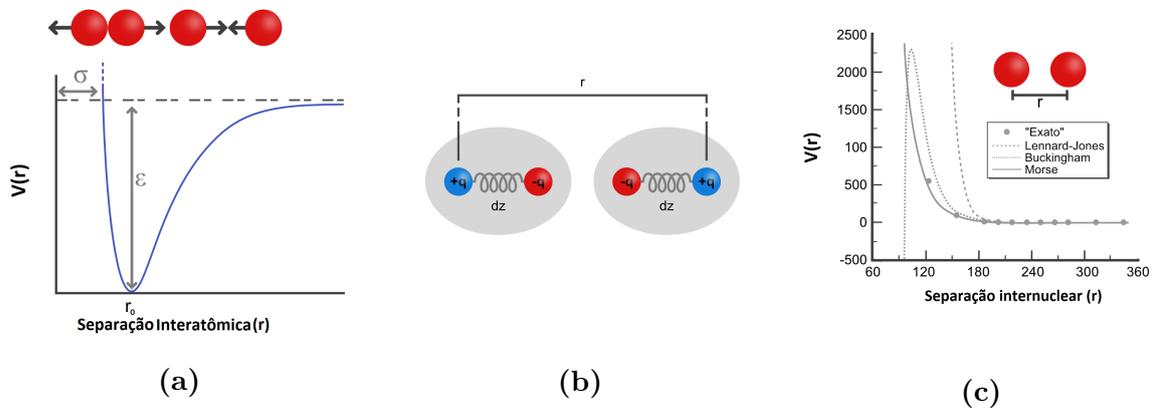


Figura 2.2: (a) Energia de interação em função da distância interatômica (\mathbf{r}) modelada pelo potencial de LJ. Nota-se que há repulsão quando os dois átomos ficam muito próximos e atração para distâncias próximas a distância de equilíbrio, r_e . Na figura estão representados os parâmetros σ , distância de separação entre as moléculas para a qual a energia de interação entre elas é zero, e ε , profundidade do poço de potencial. (b) Modelo de Drude para interações dispersivas. (c) Comparação entre a solução exata da energia de interação em função da distância interatômica (\mathbf{r}) com as soluções modeladas pelos potenciais de LJ, Buckingham e Morse. Adaptada de Jensen, 2007 [76] e Leach, 2001 [77].

Há outras variações que buscam reproduzir o comportamento da curva de potencial em função da distância. Halgren propôs um potencial do tipo 7 – 14 onde o termo atrativo cai com r^{-7} e o termo repulsivo cai com r^{-14} [76]. Já os potenciais de “Buckingham” ou “Hill” levam em consideração uma repulsão com decaimento exponencial, uma vez que cálculos de estrutura eletrônica indicam um termo repulsivo devido à sobreposição das nuvens eletrônicas com esta característica [76]. Ainda, é possível modelar a interação de vdW por meio de um potencial do tipo Morse [76]. A Figura (2.2c) apresenta uma comparação entre os potenciais de LJ, Buckingham e Morse. Vemos que os potenciais de Morse e Buckingham fitam melhor a curva que o potencial de LJ. No entanto, a maioria dos campos de força usam o potencial de LJ. A razão para isto está relacionada a detalhes computacionais, uma vez que o potencial de LJ é computacionalmente mais barato.

No potencial LJ, os parâmetros σ e ε são obtidos para pares de átomos. Nos campos de força estes parâmetros são, geralmente, colocados para os átomos individuais. Para obter os parâmetros da interação entre diferentes átomos são utilizadas regras de combinação. As mais conhecidas são as regras de combinação de Lorentz-Berthelot [77].

2.3.2 O Campo de Força CHARMM

O campo de força CHARMM (*Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*) [80, 82, 83] é um campo de força aditivo que, além dos termos presentes na Eq. (2.3.33), emprega um termo adicional na energia, chamado de Urey-Bradley [84], que acopla estiramento-dobramento entre átomos envolvidos na definição de um ângulo de dobramento. Este termo busca preservar a distância entre dois (os que não estão ligados) dos três átomos que definem um ângulo de dobramento e restringir o estiramento dos átomos ligados, por meio do termo,

$$\sum_{UB} k_{UB} (r_{ik} - r_0)^2, \quad (2.3.40)$$

sendo k_{UB} a constante da ligação adicionada, r_{ik} a distância entre o par de átomos não ligados e r_0 a distância de equilíbrio entre eles.

Além disso, o campo de força CHARMM adiciona um termo para descrever a não planaridade em um conjunto de quatro átomos, usualmente chamado de diedro impróprio. Na Figura (2.3) os átomos i , k e l estão em um plano e o átomo j oscila em relação ao plano com um ângulo χ ou uma altura d . À medida que o ângulo χ cresce a energia aumenta [76]. Ou seja, há aumento da energia de acordo com a diferença conformacional no arranjo dos átomos em relação a aquela conformação considerada de equilíbrio. Sendo assim, o campo de força CHARMM utiliza um potencial harmônico para modelar este sistema,

$$\mathcal{V}_{die} = K_{\chi} (\chi - \chi_0)^2. \quad (2.3.41)$$

Além da forma funcional, a qualidade de um campo de força depende fortemente dos parâmetros utilizados. Dessa forma, a parametrização do campo de força exige constante e intensa atualização [85–87]. As primeiras versões do campo de força CHARMM foram obtidas por volta de 1992 e, após anos de desenvolvimento, o campo de força aditivo CHARMM alcançou a capacidade de tratar diversas macromoléculas relevantes biologicamente tais como proteínas, lipídios, ácidos nucleicos, carboidratos, etc. A cada versão o CHARMM traz atualizações tanto para tratar novas macromoléculas quanto para melhorar as aproximações utilizadas e as formas de parametrização (tendo iniciado na versão 22, hoje já se encontra em desenvolvimento a versão 45 do CHARMM). A versão CHARMM36 é bastante indicada para o estudo de proteínas. Esta versão evoluiu

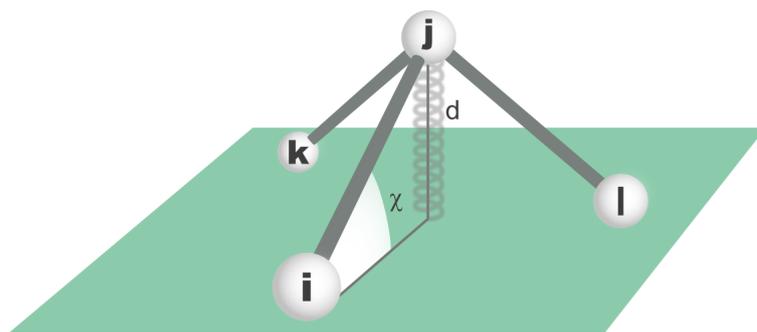


Figura 2.3: Representação das variáveis usadas na Eq. (2.3.41) para modelar o potencial diedral impróprio. Adaptada de Jensen, 2007 [76]

do CHARMM22/CMAP³ que já apresentava bons resultados por parametrizar os ângulos de torção ϕ e ψ da cadeia principal das proteínas [80, 83]. Apesar de apresentar bons resultados, na versão CHARMM22/CMAP havia problemas relacionados ao envelhecimento das proteínas, devidos, principalmente, aos parâmetros utilizados na descrição dos ângulos ϕ e ψ das cadeias principais. O CHARMM36 também utiliza a correção da energia diedral pelo mapa de energia calculado quanticamente para os ângulos de torção ϕ e ψ da cadeia principal e, além disso, faz um refinamento utilizando uma grande quantidade de dados experimentais. Ainda, apresenta um novo potencial para os ângulos diedrais χ_1 e χ_2 das cadeias laterais dos aminoácidos, baseado em resultados de cálculos quânticos de energia e de experimentos de RMN. Este tratamento trouxe melhorias na qualidade do campo de força e, assim, ele é capaz de reproduzir uma grande quantidade de resultados observados experimentalmente para sistemas constituídos de peptídeos e proteínas.

É importante ressaltar que, neste campo de força, cargas pontuais são distribuídas ao longo da molécula, de maneira a considerar sua polarização média. Sendo assim, ao modelar uma molécula com carga $+1e$ não significa que esta carga esteja concentrada em apenas um átomo, o que resultaria em uma intensa interação eletrostática. Como exemplo, apresentamos, na Tabela (2.1), como estão distribuídas as cargas pontuais nos átomos que compõem uma molécula de lisina. Atualmente, trabalhos desenvolvidos por G. Colherinhas *et. al.* vêm aprimorando a descrição das cargas atômicas para o potencial CHARMM36, considerando um processo sequencial de simulações clássicas e quânticas [85–87].

³ A abordagem CMAP utiliza um mapa bidimensional, obtido por meio de cálculos quânticos, para a energia diedral dos ângulos de torção ϕ e ψ da cadeia principal de uma proteína [80, 83].

Tabela 2.1: Cargas pontuais distribuídas em um aminoácido de lisina de acordo com o campo de força CHARMM36.

Átomo	Carga Parcial	Carga Total
N	-0.47	-0.47
HN	0.31	-0.16
CA	0.07	-0.09
HA	0.09	0.00
CB	-0.18	-0.18
HB1	0.09	-0.09
HB2	0.09	0.00
CG	-0.18	-0.18
HG1	0.09	-0.09
HG2	0.09	0.00
CD	-0.18	-0.18
HD1	0.09	-0.09
HD2	0.09	0
CE	0.21	0.21
HE1	0.05	0.26
HE2	0.05	0.31
NZ	-0.30	0.01
HZ1	0.33	0.34
HZ2	0.33	0.67
HZ3	0.33	1.00
C	0.51	1.51
O	-0.51	1.00

2.4 Fundamentos de Mecânica Estatística

Conforme apresentado na Seção (2.2), a DM consiste em evoluir as posições e velocidades de um conjunto de partículas durante um tempo t , de acordo com as leis de movimento, gerando uma trajetória. Portanto, uma simulação de DM gera informações a nível microscópico, com extração de resultados de grandezas macroscópicas, tais como pressão, energia, capacidade calorífica, etc., com o auxílio da Física Estatística (FE). Nesta seção faremos uma breve apresentação de alguns tópicos da FE [88–90].

O estado termodinâmico de um sistema é usualmente definido por uma função dependente de uma pequena quantidade de parâmetros macroscópicos (por exemplo, temperatura, pressão e número de partículas) capaz de descrever completamente o sistema. Sendo assim, o estado termodinâmico é uma função cujos valores são completamente definidos por poucas variáveis macroscópicas e não por todas as posições e velocidades de todos os átomos em um determinado instante de tempo [56].

Por outro lado, o microestado de um sistema é definido a partir de todas as posições, \mathbf{q} , e momentos, \mathbf{p} , das partículas que o constituem, ou ainda, como uma coordenada em um espaço multidimensional, conhecido como espaço de fases. Para um sistema de N partículas, o espaço de fases tem $6N$ dimensões. Um ponto no espaço de

fases, denotado por Γ , descreve o estado microscópico de um sistema, *i.e.*, cada ponto no espaço de fases representa um microestado do sistema em um instante de tempo particular. Uma coleção de pontos no espaço de fase que satisfaz as condições de um determinado estado termodinâmico particular é denominada de *ensemble*.

Geralmente um experimento é feito em uma amostra macroscópica que contém um número extremamente grande de átomos e moléculas e, portanto, há um enorme número de microestados acessíveis e, ao longo do tempo, o sistema visita estes microestados. Suponha que possamos escrever o valor instantâneo de uma propriedade A como uma função de pontos no espaço de fases $A(\Gamma)$. O sistema evolui no tempo e, conseqüentemente o valor da propriedade $A(\Gamma)$ varia. O valor observado macroscopicamente seria a média temporal dos valores adquiridos $A(\Gamma)$ ao longo do tempo, isto é,

$$\langle A \rangle_{obs} = \langle A \rangle_{tempo} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{\tau} \int_{t=0}^{\tau} A(\Gamma(t)) dt. \quad (2.4.42)$$

A DM se utiliza desta abordagem, de médias temporais. Como vimos, uma DM gera uma seqüência de pontos no espaço de fases (em função do tempo), pertencentes ao mesmo *ensemble*. No entanto, é extremamente complicado resolver esta integral, Eq. (2.4.42), uma vez que deve ser considerado um tempo infinito de simulação. Assim, geralmente é feita uma aproximação para um tempo finito, utilizando um artifício matemático de tempo discreto. Com isto, utilizamos [56, 77]:

$$\langle A \rangle_{tempo} = \frac{1}{\tau_{obs}} \sum_{t=1}^{\tau_{obs}} A(\Gamma(t)). \quad (2.4.43)$$

Na Mecânica Estatística (ME), as médias, correspondentes ao observado experimentalmente, são definidas em termos de uma média no *ensemble*, onde o conjunto de pontos no espaço de fases é distribuído de acordo com uma densidade de probabilidade $\rho_{ens}(\Gamma)$. A função densidade de probabilidades ρ_{ens} é definida após a escolha de quais parâmetros macroscópicos permanecerão fixos (ρ_{NPT} para *ensemble* isobárico-isotérmico (NPT), ρ_{NVT} para *ensemble* canônico (NVT) e ρ_{NVE} para o *ensemble* NVE, sendo N o número de partículas, P a pressão, T a temperatura, V o volume e E a energia do sistema).

Em sistemas onde a energia pode flutuar, enquanto a temperatura (T), o número de partículas (N) e o volume (V) permanecem constantes, temos o *ensemble* NVT. Neste caso, é possível mostrar que a densidade de probabilidade de o sistema S , em contato com um reservatório térmico à temperatura T , estar em um estado microscópico particular j é:

$$\rho_j(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N) = \frac{1}{Q_{NVT}} e^{-\mathcal{H}(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N)/k_B T}, \quad (2.4.44)$$

onde \mathcal{H} é o Hamiltoniano do sistema, T é a temperatura, k_B é constante de Boltzmann e Q_{NVT} é a função de partição, definida como:

$$Q_{NVT} = \iint d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N e^{-\mathcal{H}(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N)/k_B T}. \quad (2.4.45)$$

Assim, o *ensemble* NVT é constituído pelo conjunto de microestados $\{j\}$ distribuídos de acordo com a distribuição de probabilidades, Eq. (2.4.44). Para cada *ensemble* há uma expressão diferente que permite calcular a probabilidade de obter o sistema em determinado microestado j [88]. A partir da função de partição é possível relacionar os estados microscópicos do sistema com grandezas macroscópicas.

Na abordagem da ME de Gibbs, baseada em médias no *ensemble*, o valor da grandeza num estado específico é multiplicado pela densidade de probabilidade (ρ_{ens}) de o sistema estar naquele estado. Matematicamente, as médias no *ensemble* são definidas como [56, 88, 89],

$$\langle A \rangle_{ensemble} = \iint d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N A(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N) \rho(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N), \quad (2.4.46)$$

onde $A(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N)$ é a grandeza de interesse expressa em função das posições, \mathbf{r} , e momentos, \mathbf{p} , do sistema. A integração é feita sobre todos os possíveis valores de \mathbf{r} e \mathbf{p} .

É interessante verificarmos a equivalência entre as duas abordagens apresentadas: médias temporais e médias no *ensemble*. Vimos que os pontos no espaço de fase são distribuídos de acordo com a densidade de probabilidades $\rho_{ens}(\mathbf{\Gamma})$ e que cada ponto no espaço de fase evolui por meio da equação de movimento do sistema de forma independente de outros pontos. Consequentemente, em geral, a densidade no espaço de fases $\rho_{ens}(\mathbf{\Gamma})$ também varia no tempo. No entanto, não há pontos sendo criados ou destruídos durante a evolução do sistema. Como o Teorema de Liouville garante que $d\rho_{ens}/dt = 0$, ou seja, a derivada total da densidade de probabilidade com respeito ao tempo é nula, temos a garantia de que os pontos no espaço de fase se movem como um líquido incompressível [56, 89]. Dessa forma, à medida que o sistema deixa um estado particular $\mathbf{\Gamma}(t)$ e se move para um próximo estado $\mathbf{\Gamma}(t+1)$, outro sistema sai de $\mathbf{\Gamma}(t-1)$ para substituí-lo. Nestes casos, para tempos suficientemente longos a equivalência,

$$\langle A \rangle_{ensemble} = \langle A \rangle_{tempo} \quad (2.4.47)$$

fica estabelecida pela Hipótese Ergódica [88, 89].

As simulações computacionais são baseadas na hipótese de que tanto um processo determinístico, baseado em médias temporais, quanto um processo estocástico, baseado em médias no *ensemble*, para gerar configurações, são ergódicos (com tempos suficientemente longos para visitar o espaço de fase) [91]. Assim, espera-se que, em uma simulação infinitamente longa, todo o espaço de configurações seja visitado [91]. Entretanto, as simulações são feitas durante um tempo finito e, portanto, não há garantia da ergodicidade. O desafio da DM é, portanto, garantir que sejam geradas trajetórias representativas do sistema, de forma que grande parte do espaço de fases seja amostrada [91]. Embora tenha-

mos dito que tanto os métodos estocásticos quanto os determinísticos sejam equivalentes para estudar propriedades termodinâmicas e estruturais de sistemas, somente os métodos determinísticos, DM, podem ser usados para estudar dependências temporais das suas propriedades [91].

2.5 Dinâmica Molecular em diferentes *ensembles*

Conforme explicado na Seção (2.4), a ME se utiliza de médias no *ensemble* para obter propriedades estruturais, termodinâmicas ou dinâmicas de determinado sistema. Vimos também que há diversos *ensembles*, os quais são caracterizados pelo tipo de grandezas que permanecem fixas e determinam o estado termodinâmico macroscópico de um sistema. A integração das equações de movimento de Hamilton (ou Newton) geram o *ensemble* NVE como uma consequência da conservação da Hamiltoniana total do sistema. Como seria possível então realizar uma simulação de DM em outro *ensemble*? Para propiciar que uma simulação de DM seja realizada em outro *ensemble*, além do NVE, surgem as ideias de termostatos e barostatos, a serem discutidas a seguir.

2.5.1 Acoplamento de temperatura: Termostatos

A forma mais simples de se manter a temperatura fixa em uma simulação de DM é por meio do reescalamiento das velocidades, devido a relação entre a temperatura e as velocidades, estabelecida por meio do teorema de equipartição de energia,

$$T = \frac{2}{N_f k_B} \langle \mathcal{K} \rangle = \frac{2}{N_f k_B} \left\langle \sum_{i,\gamma} \frac{mv_{i,\gamma}^2}{2} \right\rangle_{temporal}, \quad (2.5.48)$$

sendo \mathcal{K} a energia cinética, k_B a constante de Boltzmann, N_f o número de graus de liberdade do sistema e $v_{i,\gamma}$ as velocidades da partícula i , onde $\gamma = x, y, z$ corresponde às componentes da velocidade. Vemos, portanto, que a temperatura é obtida por meio de uma média, no *ensemble*, das velocidades. Ou seja, sabendo todos os possíveis valores de velocidades é possível determinar a energia cinética média e, conseqüentemente, a temperatura do sistema.

Pensando em uma simulação de DM, onde a cada intervalo de tempo δt as posições e velocidades dos átomos são recalculadas, deve ser possível reescalar as velocidades das partículas (com $v' = \alpha v$), em um instante de tempo t , de maneira que a energia cinética naquele instante corresponda à temperatura desejada. Para isto, definimos uma grandeza matemática (não física) chamada de temperatura instantânea,

$$T_{inst} = T(t) = \frac{2}{N_f k_B} \sum_{i,\gamma} \frac{mv_{i,\gamma}^2}{2} = \frac{2}{N_f k_B} \mathcal{K}_{inst}, \quad (2.5.49)$$

baseada na energia cinética do sistema em um determinado instante de tempo, definindo, dessa forma, uma temperatura dependente do tempo $T_{inst} = T(t)$. Para obter a temperatura física, devemos fazer: $T = \langle T_{inst} \rangle$. Assim, no início da simulação são geradas as velocidades para cada partícula do sistema de maneira que elas se relacionem à determinada temperatura alvo, T_A . Isto pode ser feito utilizando a distribuição de Maxwell-Boltzmann. O sistema então evolui de acordo com as equações de movimento e em um instante t posterior, ao observarmos as velocidades e calcularmos a temperatura instantânea $T(t)$, obteremos um valor diferente de T_A . A temperatura instantânea pode ser ajustada por meio do reescalamto das velocidades, $v' = \alpha v$, de maneira a corresponder à temperatura desejada, T_A .

Uma primeira forma de se obter o fator de reescalamto da velocidade, α , é forçando que a energia cinética total em um instante t seja igual à energia cinética média correspondente à temperatura alvo, $\mathcal{K}(t) = \bar{\mathcal{K}}(T_A)$. Nesta forma de reescalamto, a temperatura alvo possui apenas um valor fixo, e não uma distribuição como em outros métodos [92]. O fator α seria definido como,

$$\alpha = \sqrt{\frac{\bar{\mathcal{K}}(T_A)}{\mathcal{K}(t)}}, \quad (2.5.50)$$

ou também, lembrando das relações entre a energia cinética (média e instantânea) com as temperaturas, Eqs. (2.5.48) e (2.5.49),

$$\alpha = \sqrt{\frac{T_A}{T(t)}}. \quad (2.5.51)$$

E, dessa forma,

$$v' = \alpha v = \sqrt{\frac{T_A}{T(t)}} v. \quad (2.5.52)$$

Esta forma é muito simples de implementar computacionalmente, no entanto, ela não reproduz o *ensemble* NVT. Calculando a variância da temperatura instantânea no *ensemble* NVT notamos que a flutuação é igual a $2/N_f$ [89]. Ou seja, mesmo no *ensemble* NVT a temperatura instantânea varia e deixá-la fixa perturba o *ensemble* NVT. Sabemos que propriedades médias calculadas no limite termodinâmico independem do *ensemble* escolhido e este algoritmo pode produzir alguns resultados úteis. No entanto, as simulações são feitas em um tempo muito inferior ao necessário para atingir o limite termodinâmico. Ainda, há casos em que os observáveis de interesse são dependentes das flutuações, e não das médias, e, portanto, este método não pode ser utilizado. Esta forma de reescalamto é usada para etapas iniciais de equilibração, quando a distribuição inicial de velocidades gerada está distante da correspondência com o valor desejado de temperatura.

2.5.1.1 Termostato de *Velocity-Rescaling*

Este termostato também se baseia no reescalamento das velocidades. Assim como em outros termostatos (termostado de Berendsen [93]), a temperatura alvo não é mantida fixa. Ou seja, esta abordagem faz o uso de um banho térmico permitindo que a temperatura instantânea possa variar de um passo temporal para outro. O fator de reescalamento α , estaria relacionado com as energias cinéticas da seguinte forma $\alpha = \sqrt{\mathcal{K}_{T_A}/\mathcal{K}(t)}$. No entanto, aqui, as energias cinéticas alvos \mathcal{K}_{T_A} podem variar: as energias cinéticas alvos são escolhidas entre valores de uma distribuição de Maxwell-Boltzmann para o *ensemble* [92],

$$P(\mathcal{K}_{T_A})d\mathcal{K}_{T_A} \propto \mathcal{K}_{T_A}^{\left(\frac{N_f}{2}-1\right)} e^{-\beta\mathcal{K}_{T_A}} d\mathcal{K}_{T_A}. \quad (2.5.53)$$

Não é necessário que a temperatura alvo seja obtida da distribuição de Maxwell-Boltzmann a cada passo da simulação, mas é preciso garantir que a variação aleatória na energia cinética deixe a distribuição canônica inalterada.

Utilizando a distribuição de Boltzmann para a energia cinética, Bussi *et. al*, 2007 [92] mostram que a variação na energia é dada por,

$$d\mathcal{K} = (\mathcal{K}_{T_A} - \mathcal{K}) \frac{dt}{\tau} + 2\sqrt{\frac{\mathcal{K}\mathcal{K}_{T_A}}{N_f}} \frac{dW}{\sqrt{\tau}}. \quad (2.5.54)$$

O segundo termo à direita da Eq. (2.5.54) representa um caminho aleatório baseado no processo de Wiener [92]. Ou seja, a abordagem de *Velocity-Rescaling* utiliza além de uma parte determinística, primeiro termo à direita, um termo estocástico, segundo termo à direita. Sem o termo estocástico, a equação seria basicamente igual à obtida por Berendsen [93]. Quando o sistema está longe do equilíbrio (há grandes variações de energia cinética), a parte determinística domina e o algoritmo leva o sistema rapidamente ao equilíbrio [92]. Quando o equilíbrio é atingido, o termo estocástico domina e garante que o *ensemble* NVT seja amostrado [92].

2.5.2 Acoplamento de pressão: Barostatos

Assim como em alguns casos é interessante manter a temperatura fixa, há situações em que se deseja realizar simulações à pressão constante, principalmente porque esta é a condição em que diversos experimentos são realizados. Uma forma de se manter a pressão fixa é utilizando sua relação com as posições da partículas, uma vez que a pressão em um sistema é relacionada com o produto das posições pelas forças entre as partículas, por meio da expressão de virial [93],

$$P = \frac{2}{3V} (\mathcal{K} - \Xi), \quad (2.5.55)$$

onde o virial Ξ é dado por [93],

$$\Xi = -\frac{1}{2} \sum_{i < j} \mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{F}_{ij}, \quad (2.5.56)$$

sendo $\mathbf{r}_{ij} = \mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j$ e \mathbf{F}_{ij} a força na partícula i devido à partícula j . A pressão devido as interações intramoleculares desaparece, então a pressão pode ser avaliada levando em conta apenas as coordenadas do centro de massa das partículas (moléculas), e suas velocidades e forças também agindo no centro de massa. Portanto, notamos que uma variação na pressão pode ser alcançada por uma mudança no termo de virial, ou seja, por meio de um reescalamiento das distâncias entre as partículas e, conseqüentemente, do volume do sistema. Assim, em uma simulação computacional é possível manter a pressão constante por meio de variações no volume da caixa de simulação [93].

2.5.2.1 Barostato de Parrinello-Rahman

Utilizando de uma Lagrangeana estendida, Parrinello e Rahman [94] expandiram o método proposto por Andersen [95] para que além da variação no volume da caixa, pudesse haver também variação no seu formato. O método de Parrinello-Rahman é baseado em uma Lagrangiana estendida. Andersen [95] mostrou que um cálculo de DM pode ser modificado para estudar sistemas a pressão constante introduzindo o volume do sistema como uma variável dinâmica. Parrinello e Rahman mostram como a generalização dessa ideia leva a um método poderoso para estruturas cristalinas [94,96], ao usar um tensor dependente do tempo que permite que o volume e a forma da célula de simulação variem com o tempo, considerando uma célula com bordas definidas por vetores dependentes do tempo $\mathbf{a}(t)$, $\mathbf{b}(t)$ e $\mathbf{c}(t)$. Os vetores $\mathbf{a}(t)$, $\mathbf{b}(t)$ e $\mathbf{c}(t)$ podem ter comprimentos diferentes e orientações mútuas arbitrárias. Uma descrição alternativa pode ser obtida arranjando os vetores $\{\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}\}$ para formar uma matriz $\mathbb{H}_{3 \times 3}$. O volume da célula de simulação contendo N partículas seria então $\Omega = \det \mathbb{H} = \mathbf{a} \bullet \mathbf{b} \times \mathbf{c}$ [94,96].

A posição \mathbf{r}_i da partícula i pode ser escrita em termos da matriz \mathbb{H} e de um vetor coluna \mathbf{s}_i , cujos componentes são ε_i , η_i , ζ_i . Ou seja, podemos escrever [94],

$$\mathbf{r}_i = \mathbb{H}\mathbf{s}_i = \varepsilon_i \mathbf{a} + \eta_i \mathbf{b} + \zeta_i \mathbf{c}. \quad (2.5.57)$$

Definindo o tensor métrico $\overset{\leftrightarrow}{\mathbf{G}} = \mathbb{H}^T \mathbb{H}$, onde \mathbb{H}^T é a matriz transposta de \mathbb{H} , podemos calcular a distância entre as partículas i e j , $\mathbf{r}_{ij}^2 = (\mathbf{s}_i - \mathbf{s}_j)^T \overset{\leftrightarrow}{\mathbf{G}} (\mathbf{s}_i - \mathbf{s}_j)$.

Parrinello e Rahman, 1980, então, propõem que a dinâmica do sistema seja governada pela seguinte Lagrangiana estendida [94],

$$\mathcal{L} = \frac{1}{2} \sum m_i \dot{\mathbf{s}}_i^T - \sum_i \sum_{i > j} \phi(\mathbf{r}_{ij}) + \frac{1}{2} W \text{Tr}(\dot{\mathbb{H}}^T \dot{\mathbb{H}}) - p_{ext} \Omega, \quad (2.5.58)$$

sendo p_{ext} a pressão externa aplicada. A pressão aplicada é, inicialmente, considerada isotrópica. No termo de energia cinética associado a \mathbb{H} , aparece uma constante W que tem dimensão de massa. Esta Lagrangiana leva à equações de movimento de Lagrange [94],

$$\ddot{\mathbf{s}}_i = - \sum_{i \neq j} \frac{1}{m_i} \frac{1}{r_{ij}} \frac{\partial \phi}{\partial r} (\mathbf{s}_i - \mathbf{s}_j) - \frac{1}{\mathbb{G}} \overset{\leftrightarrow}{\mathbf{G}} \dot{\mathbf{s}}_i \quad (2.5.59)$$

$$\ddot{\mathbb{H}} = \frac{1}{W} (\mathbb{P} - p_{ext}) \mathbb{A}. \quad (2.5.60)$$

\mathbb{P} e \mathbb{A} são matrizes, e os detalhes sobre seus elementos podem ser consultados nas referências [94,96]. O termo W é um parâmetro que indica a intensidade do acoplamento de pressão e, portanto, da variação do volume com o tempo de acordo com a pressão aplicada. As equações acima governam a dinâmica do sistema de N partículas permitindo que o volume e as dimensões da caixa possam mudar. Parrinello e Rahman [94] mostram que a Lagrangiana proposta por elas gera uma trajetória no *ensemble* NPE (onde a pressão é mantida fixa). No ano seguinte (1981), Parrinello e Rahman generalizam o barostato para incluir casos em que a pressão seja não isotrópica. Para mais detalhes a seguinte referência pode ser consultada [96].

2.6 Extrair Propriedades da Dinâmica Molecular

Após obtida a trajetória no *ensemble* desejado, surge a pergunta sobre quais informações podem ser avaliadas a partir dela. Sabemos que se todas as configurações possíveis (microestados) para uma determinada condição macroscópica (NVE, NVT, NPT) forem obtidas, então a função de partição pode ser determinada e, portanto, todas as propriedades termodinâmicas do sistema podem ser derivadas. No entanto, esta abordagem (entrópica) só é possível para sistemas pequenos (sistemas com poucas moléculas pequenas ou com poucos átomos na fase gás). Para sistemas com as dimensões dos que foram estudados neste trabalho, a abordagem entrópica não é possível. Neste caso, a simulação gera uma quantidade representativa das configurações do sistema e, por meio de médias, flutuações e correlações de determinadas propriedades se obtêm grandezas termodinâmicas, dinâmicas e estruturais dos sistemas estudados. Nesta seção apresentaremos como algumas destas propriedades podem ser obtidas [56]. Não é objetivo desta seção apresentar uma descrição detalhada de todas as propriedades possíveis de serem extraídas a partir de uma trajetória de DM. Para maiores detalhes sugerimos que as excelentes referências de FE [88–90] e física computacional [56, 76, 77], ou mesmo o manual do programa GROMACS [97] sejam consultadas.

2.6.1 Propriedades médias

Energia: A energia potencial é a média da energia potencial obtida em cada passo da simulação, isto é,

$$U = \langle U_i \rangle = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M U_i(t), \quad (2.6.61)$$

onde M é o número de passos temporais. É possível obter a energia potencial atribuída à interação de LJ separada da contribuição da interação Coulombiana, de maneira a detalhar as intensidades destas interações em cada tipo de sistema estudado.

A velocidade das partículas também é atualizada a cada passo temporal da simulação. Assim, é possível obter a energia cinética a cada passo temporal e então calcular a energia cinética por meio da média das energias cinéticas instantâneas,

$$\mathcal{K} = \langle \mathcal{K}_i \rangle = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \mathcal{K}_i(t). \quad (2.6.62)$$

Temperatura: A temperatura pode ser obtida por meio do princípio da equipartição da energia [56],

$$\langle \mathcal{K} \rangle = \frac{3}{2} N k_B T \quad (2.6.63)$$

ou, ainda por meio da temperatura instantânea (grandeza matemática),

$$T = \langle T_i(t) \rangle. \quad (2.6.64)$$

A temperatura também pode ser obtida, no *ensemble* NVT, por meio das flutuações da energia cinética $\langle \sigma \mathcal{K}^2 \rangle = \langle \mathcal{K}^2 \rangle - \langle \mathcal{K} \rangle^2$,

$$\langle \sigma \mathcal{K}^2 \rangle_{NVT} = \frac{3N}{2} (k_B T)^2. \quad (2.6.65)$$

Pressão: No *ensemble* NVT, a pressão é usualmente calculada por meio de uma expressão simples onde é utilizado o teorema de Virial [56]. Pensando em forças intermoleculares, a pressão pode ser obtida por,

$$P = \frac{1}{V} \left[N k_B T - \left\langle \frac{1}{3} \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{f}_{ij} \right\rangle \right], \quad (2.6.66)$$

sendo o segundo termo o primeiro Virial, $\Xi(\mathbf{r})$, onde \mathbf{f}_{ij} é a força entre as partículas i e j [56]. As forças entre as partículas i e j já são calculadas a cada passo da simulação, então esta equação para o cálculo da pressão é bastante eficiente computacionalmente.

2.6.2 Funções de correlação temporal

Propriedades do sistema também podem ser obtidas por meio de funções de correlação temporal entre duas quantidades A e B . O coeficiente de correlação entre as quantidades A e B pode ser definido como [56],

$$c_{AB}(t) = \frac{\langle \sigma A(\Gamma(t)) \sigma B(\Gamma(t)) \rangle_{ens}}{\sigma^2(A) \sigma^2(B)}, \quad (2.6.67)$$

sendo o desvio padrão $\sigma^2(A) = \langle \sigma A^2 \rangle = \langle A^2 \rangle_{ens} - \langle A \rangle_{ens}^2$. A função de correlação temporal não normalizada seria,

$$c_{AB}(t) = \langle \sigma A(\Gamma(t)) \sigma B(\Gamma(t)) \rangle_{ens}. \quad (2.6.68)$$

Quando $A = B$, temos as funções de autocorrelação temporal [56]. Por meio da expressão de Green-Kubo [98] é possível estabelecer relações entre as funções de correlação temporal e os coeficientes de transporte associados a determinada propriedade. A autocorrelação das velocidades, por exemplo, permite calcular o coeficiente de difusão,

$$D = \frac{1}{3} \int_0^\infty dt \langle v_i(t) \cdot v_i(0) \rangle = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{3} \langle |r_i(t) - r_i(0)|^2 \rangle, \quad (2.6.69)$$

enquanto a correlação temporal da pressão permite obter os coeficientes de viscosidade [56].

2.6.3 Propriedades estruturais

2.6.3.1 Distribuição Radial de Pares $g(r)$

Propriedades estruturais podem ser obtidas por meio da Função de Distribuição Radial de Pares (FDRP), $g(\mathbf{r})$. Esta função dá a probabilidade de encontrar um par de átomos separados por uma distância r relativa (normalizada) à probabilidade de encontrá-los à mesma distância em uma distribuição completamente aleatória com a mesma densidade (comumente normalizada pelo gás ideal) [56].

Para definir a $g(r)$, se integra a distribuição configuracional sobre as posições de todos os átomos exceto 2, e se incorpora um fator de normalização. Para mais detalhes consultar [56, 98]. No *ensemble* NVT teríamos,

$$g(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = \frac{N(N-1)}{\rho^2 Q_{NVT}} \int d\mathbf{r}_3, d\mathbf{r}_4, \dots, d\mathbf{r}_N e^{-\beta U(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N)}. \quad (2.6.70)$$

Na prática, um histograma é construído levando em conta o número de partículas $N(r)$ que se encontra em uma faixa estreita de distâncias da partícula considerada como origem, de maneira que a $g(\mathbf{r})$ para um sistema isotrópico pode ser escrita da seguinte

forma,

$$g(r) = \frac{N(r)}{\rho 4\pi r^2 \Delta r}, \quad (2.6.71)$$

onde no fator de normalização, comumente, é considerada a densidade ρ de um gás ideal.

2.6.3.2 Ligações de Hidrogênio

Para definir a quantidade de Ligações de Hidrogênio (LHs) entre dois grupos aceitadores-doadores são utilizados critérios geométricos nas configurações. No padrão do programa GROMACS são considerados os seguintes critérios [97]:

- (i) A distância d_{O-O} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio deve ser $d_{O-O} \leq 3,5 \text{ \AA}$. Este valor de $3,5 \text{ \AA}$ está relacionado ao primeiro mínimo da FDRP da água;
- (ii) O ângulo α_{OH-O} deve ser $\leq 30^\circ$. Neste parâmetro é adotada como base a distribuição de moléculas de água.

Uma análise complementar da dinâmica das LHs é obtida por meio do tempo de vida das LHs. O tempo de vida é calculado a partir de uma função de correlação temporal [99]. Em um modelo computacional, uma configuração instantânea, $\mathbf{r}(t)$, denota a posição de todos os átomos do sistema no tempo (t). Ou seja, o sistema é caracterizado, no tempo (t), pelas posições de todos os átomos naquele tempo. Um critério configuracional para saber se um par de partículas está ligado ou não, nos permite definir um operador matemático de população de LHs, $h[\mathbf{r}(t)] = h(t)$. Este operador tem valor 1 quando um par marcado de partículas está ligado e zero do contrário. No equilíbrio dinâmico, a população de LHs flutua no tempo [99]. A flutuação é caracterizada pela função de correlação temporal,

$$C(t) = \frac{\langle h(0)h(t) \rangle}{\langle h \rangle}. \quad (2.6.72)$$

Essa função é a probabilidade de uma LH estar intacta em um tempo t , sabendo que ela estava intacta em um tempo t_0 . Esse cálculo é feito sob as configurações da trajetória, registrando a ocorrência de duas populações diferentes de 0, separadas por um tempo t .

A integral da função de correlação temporal das LHs resulta em um valor médio estimado para o tempo de vida destas interações [99],

$$\tau_{HB} = \int_0^\infty C(\tau) d\tau. \quad (2.6.73)$$

2.7 Outros detalhes sobre a Dinâmica Molecular

Nas seções anteriores, ressaltamos alguns pontos fundamentais sobre o método da DM; entre eles a importância do campo de força, como ocorre a integração das equações de movimento e como a trajetória produzida no *ensemble* adequado pode ser utilizada para obtenção dos resultados desejados. Nesta seção, vamos considerar alguns aspectos metodológicos relevantes para a realização de uma simulação de DM: a modelagem das condições iniciais e a equilibração, as condições periódicas de contorno, a convenção da mínima imagem e o raio de corte no cálculo de interações não ligadas. O custo computacional e a qualidade dos resultados obtidos estão relacionados a estes aspectos. Em linhas gerais, podemos pensar a realização de uma simulação de DM como dividido em quatro etapas:

- (i) Modelagem da configuração inicial: conjunto de posições iniciais das partículas que compõem o sistema;
- (ii) Equilibração: etapa em que a energia potencial, as dimensões da caixa de simulação e a pressão são monitoradas para avaliar o equilíbrio termodinâmico do sistema;
- (iii) Produção: nesta etapa uma simulação longa é realizada com a finalidade de produzir uma trajetória para um sistema em equilíbrio termodinâmico. Nesta etapa, a cada intervalo definido de tempo, as posições e velocidades das partículas são armazenadas;
- (iv) Análise da trajetória: extração dos resultados desejados.

2.7.1 Modelagem das condições iniciais

Para a realização de uma simulação de DM é necessário que sejam especificadas as posições iniciais das partículas que constituem o sistema. É conveniente situar as partículas nas posições de uma rede cristalina, evitando sobreposições indesejadas entre elas (as quais poderiam causar instabilidades na simulação), ou, ainda, organizá-las em configurações estruturais iniciais semelhantes às do sistema que se deseja simular. Dessa forma, se há resultados experimentais que reportam a formação de nanofibras ou nanomembranas no sistema, é preferível que as configurações iniciais possuam estas características estruturais. Assim, é comum se considerar resultados experimentais de técnicas de DRX, RMN, microscopia, dentre outras, na escolha das configurações iniciais do sistema.

Em seguida, deve-se realizar a etapa de equilibração, visando encontrar um conjunto de coordenadas que minimizam a energia potencial do sistema de interesse. O procedimento básico consiste em evoluir o sistema de maneira que ele seja levado a um mínimo de energia potencial. Assim, ocorre a relaxação do sistema e as posições

iniciais são ajustadas. O tempo necessário para que ocorra a equilibração é variável e depende do sistema em estudo. É necessário que a equilibração seja realizada até o sistema atingir o equilíbrio termodinâmico. As configurações iniciais que apresentam estabilidade durante o processo de equilibração, são boas candidatas à serem utilizadas para geração das trajetórias da DM e para o cálculo das propriedades de interesse.

2.7.2 Condições Periódicas de Contorno

Em uma caixa cúbica com aproximadamente 1000 moléculas de água, cerca da metade delas ficam próximas das faces do cubo [56]. Logo, simular computacionalmente este sistema seria muito diferente de se simular uma quantidade macroscópica de água. Sendo assim, o tratamento adequado dos efeitos de borda é essencial para simular condições de *bulk*. O tratamento correto dos efeitos de borda é crucial para possibilitar que propriedades macroscópicas sejam calculadas a partir de simulações utilizando um número reduzido de partículas.

Uma das formas de se mitigar os efeitos de borda é com utilização de Condições Periódicas de Contorno (CPC). Para compreender as CPC, imagine que N partículas estejam contidas em uma caixa bidimensional e que repliquemos infinitamente esta caixa em todas as direções, formando uma rede periódica infinita. A caixa original tem 8 caixas vizinhas imediatamente próximas, Figura (2.4). As coordenadas das partículas vizinhas (caixas imagens) podem ser calculadas somando ou subtraindo múltiplos inteiros do comprimento da caixa original. As imagens periódicas em cada caixa vizinha se movem exatamente da mesma forma que a caixa central. Assim, quando uma partícula sai da caixa outra entra na face oposta, Figura (2.4). Dessa forma, o número de partículas permanece fixo e é como se a caixa central não possuísse bordas [56]. Durante a simulação, não é necessário armazenar as coordenadas de todas as imagens, apenas das moléculas na caixa central.

Apesar de melhorar o tratamento dos efeitos de borda, as CPC introduzem uma periodicidade que muitas vezes não está presente no sistema físico original. Por exemplo, pode introduzir periodicidade em um líquido. Por isso, é essencial considerar o alcance dos potenciais intermoleculares envolvidos no sistema e o fenômeno a ser investigado. Para um fluido com interações somente do tipo LJ, uma caixa de simulação de lado $L \approx 6\sigma$ já seria suficiente para que uma partícula não percebesse o sistema como periódico [56]. Já para um potencial de longo alcance há uma interação significativa da partícula na caixa central com sua própria imagem nas caixas vizinhas. Isso faz com que a partícula perceba uma periodicidade que não existe no sistema físico original. Para conhecer outros problemas associados às CPC, consultar Tildesley, 2017 [56]. Abaixo discutimos formas de mitigar os efeitos da periodicidade introduzida no sistema ao falar sobre a convenção da mínima imagem e os raios de corte.

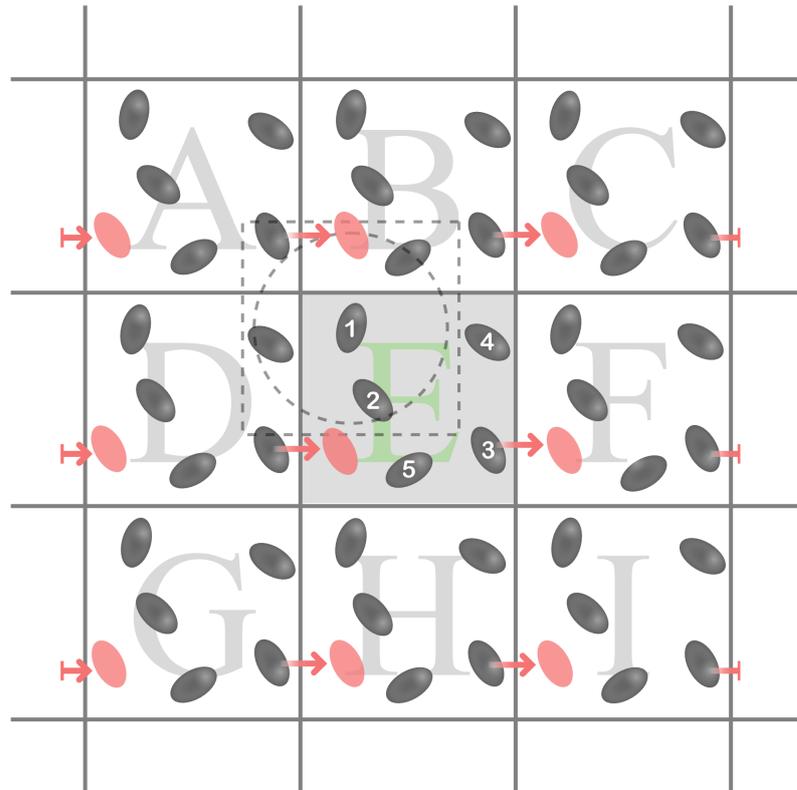


Figura 2.4: Representação das condições periódicas de contorno em duas dimensões. Quando uma molécula deixa uma caixa, outra entra nela pelo lado oposto (representações em vermelho). Na figura, está a representação de um raio de corte (círculo pontilhado no interior de uma caixa de simulação, quadrado pontilhado, com as mesmas dimensões da caixa original centrada na partícula 1). Adaptada de Tildesley, 2017 [56].

2.7.3 Mínima imagem e Raio de corte

Uma das formas de se diminuir os efeitos indesejáveis da periodicidade é por meio da utilização da convenção da mínima imagem. Conforme mencionado, o cerne da DM envolve calcular a energia potencial de uma configuração particular e as forças agindo em cada molécula. Para um sistema com N partículas, considerando interações por pares, o cálculo da energia potencial da partícula 1, deve considerar a interação dela com as outras $i = (N - 1)$ partículas do sistema. Em princípio devem ser consideradas todas as interações da partícula 1 com as demais partículas imagens nas caixas vizinhas. Então haveria inúmeros termos a serem calculados e seria, portanto, impossível de ser realizado na prática [56]. Para interações de curto alcance podemos considerar que uma molécula não interaja com a própria imagem em uma caixa vizinha. Esta aproximação é conhecida como convenção da mínima imagem. Como exemplo, podemos considerar uma partícula (partícula 1) na Figura (2.4) e centrá-la em uma caixa que tenha as mesmas dimensões (comprimentos) da caixa original – quadrado pontilhado na Figura (2.4) – nessa situação,

com a utilização do método da mínima imagem, a molécula 1 interagiria apenas com as demais moléculas que estão dentro da caixa pontilhada, sejam elas da caixa original ou das caixas imagens – assim, a partícula 1 interagiria com as partículas 2 da caixa central, 5 da caixa imagem B, 3 da caixa imagem A e 4 da caixa imagem D. Com a utilização da convenção da mínima imagem, o número de interações a serem calculados é,

$$n_{int} = \frac{N(N-1)}{2}. \quad (2.7.74)$$

Mesmo com o método da mínima imagem o número de interações por pares a serem calculados é uma quantidade considerável, escala com $\approx N^2$.

Para as interações de curto alcance, uma forma de reduzir o número de interações a serem calculadas, diminuindo o custo computacional, é a utilização de raios de corte esféricos, círculo pontilhado na Figura (2.4). De maneira a respeitar a convenção da mínima imagem é necessário que $r_c \leq \min(L_x/2, L_y/2, L_z/2)$. Pensando em um raio de corte $r_c = L/2$, a razão entre o volume da esfera com raio igual ao raio de corte, e o volume da caixa de simulação seria $V_{esfera}/V_{caixa} \approx 1/2$. Assim, o custo computacional se reduz aproximadamente à metade. O número de interações seria ainda $\approx N^2$. Se outro raio de corte ($r_c \leq L/2$) for utilizado, o número de interações para um sistema com densidade, ρ , constante passa a ser linear com N .

Já as interações de longo alcance exigem um tratamento especial para além da utilização de raios de corte. Uma das formas de se considerar as interações de longo alcance é por meio da Soma de Ewald e do método de *Particle Mesh Ewald* (PME) [56, 75, 100].

2.7.4 Soma de Ewald e *Particle Mesh Ewald*

Conforme mencionado, em um sistema com N partículas, o número de interações por pares é escalado com N^2 . Sendo assim, para o estudo de sistemas com um grande número de partículas, é crucial que seja evitado o cálculo de todas estas interações de modo que a simulação não se torne impraticável, do ponto de vista computacional. Esta preocupação se torna ainda mais evidente nos casos em que são utilizadas CPC. Vimos que este problema é parcialmente tratado com a utilização de raios de corte. Esta abordagem é particularmente apropriada para o caso das interações de curto alcance, mas as interações de longo alcance, como as interações coulombianas, merecem atenção especial, uma vez que o cálculo das interações por meio da Lei de Coulomb, com a utilização de raios de corte, leva à imprecisões e a um decaimento abrupto no potencial eletrostático. Assim, tornam-se necessárias abordagens que realizam um melhor tratamento do cálculo das interações coulombianas levando, assim, a um decaimento mais suave do potencial eletrostático. Para um sistema com CPC, uma maneira apropriada seria computar as interações das partículas na caixa central, com todas as partículas das caixas imagens periódicas [56], considerando, dessa forma, um sistema infinito. Um método desenvolvido por Ewald [101]

torna possível este cálculo, ao dividir as interações coulombianas em dois termos, um de curto alcance e outro de longo alcance, sendo o termo de longo alcance somado no espaço recíproco [75]. No caso de um sistema periódico, o potencial eletrostático é dado por [56, 75]:

$$\mathcal{V} = \frac{1}{2} \sum_{\mathbf{n}} \left(\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{|\mathbf{r}_{ij} + \mathbf{n}L|} \right) \quad (2.7.75)$$

sendo q_i e q_j as cargas das partículas i e j . O termo $1/4\pi\epsilon_0$ foi omitido. \mathbf{n} é um vetor com componentes n_x, n_y, n_z . A soma sobre \mathbf{n} , abrange todas as células $\mathbf{n}L = n_x L, n_y L, n_z L$. Para $\mathbf{n} = \mathbf{0}$, caixa central, o termo $i = j$ não deve ser computado. As células unitárias são adicionadas em sequência. O primeiro termo é $|\mathbf{n}| = 0$, então, $\mathbf{n} = (0, 0, 0)$. Já para $|\mathbf{n}| = 1$, podem haver seis caixas, centradas em $(\pm L, 0, 0)$, $(0, \pm L, 0)$, $(0, 0, \pm L)$. À medida que termos vão sendo adicionados, o sistema vai se aproximando de um sistema infinito de maneira grosseiramente esférica, Figura (2.5) [56, 75].

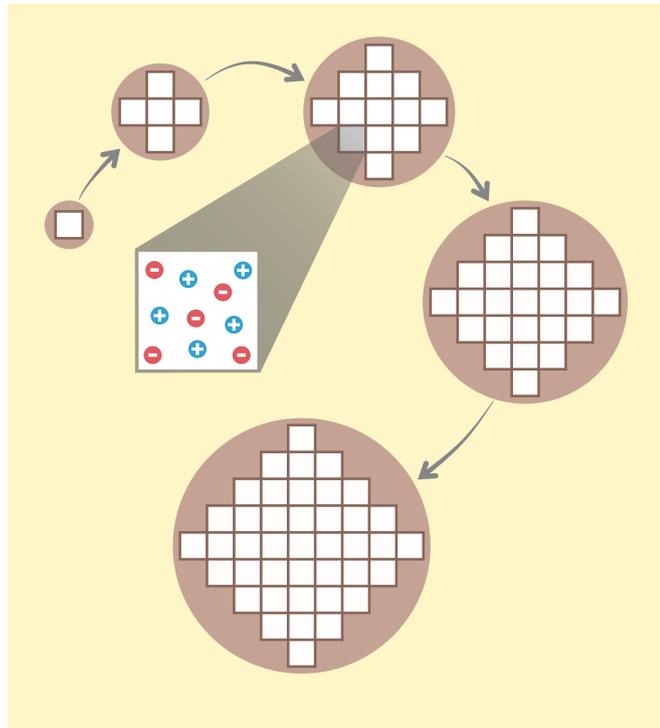


Figura 2.5: Representação bidimensional das “esfera” construídas a partir das caixas de simulação (para um sistema de 10 partículas – sistema neutro) utilizando a soma de Ewald. A área bege representa o dielétrico externo contínuo de permissividade elétrica ϵ_e . Adaptada de Coutinho, 2007 [75].

A soma infinita da Eq. (2.7.75) além de convergir muito lentamente é condicionalmente convergente. No entanto, o método de Ewald permite que esta soma convirja rapidamente e de forma absoluta, uma vez que com a utilização de CPC, a periodicidade na distribuição de cargas torna conveniente que o potencial seja calculado no espaço discreto, utilizando transformadas de Fourier. Nesta seção, apresentaremos brevemente as

ideias envolvidas no método de Ewald e no método de *Particle Mesh Ewald* (PME). Os detalhes matemáticos podem ser encontrados na referência [100].

Uma distribuição de cargas pontuais pode ser descrita por funções delta, $\rho_i(\mathbf{r}) = q_i\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i)$. À ela, podemos somar e subtrair uma distribuição de cargas (uma distribuição gaussiana $\kappa^3 e^{-\kappa^2 r^2/\pi^{3/2}}$ é bastante conveniente) que se difunde por uma região ao redor de cada carga q_i [56,102]. Dessa forma, a distribuição de cargas $\rho_i(\mathbf{r})$, pode ser dividida em dois termos,

$$\rho_i(\mathbf{r}) = \rho_i^C(\mathbf{r}) + \rho_i^L(\mathbf{r}), \quad (2.7.76)$$

sendo um termo de curto alcance,

$$\rho_i^C(\mathbf{r}) = q_i\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - q_i\kappa^3 e^{-\kappa^2 r^2/\pi^{3/2}} \quad (2.7.77)$$

e outro de longo alcance

$$\rho_i^L(\mathbf{r}) = q_i\kappa^3 e^{-\kappa^2 r^2/\pi^{3/2}} \quad (2.7.78)$$

onde κ é um parâmetro arbitrário que determina a largura da distribuição. No caso da distribuição $\rho_i^C(\mathbf{r})$, é como se as cargas q_i se encontrassem protegidas por uma distribuição gaussiana, de sinal contrário ao sinal da carga q_i . Assim, as interações dos átomos "protegidos" pela distribuição gaussiana seriam de curto alcance e o potencial gerado por esta distribuição pode ser calculado diretamente no espaço real.

Já para calcular o potencial de longo alcance gerado pela distribuição de cargas $\rho_i^L(\mathbf{r})$, podemos pensar a seguinte estratégia:

- (i) obter a transformada de Fourier da densidade de cargas, $\hat{\rho}_i^L(\mathbf{r})$;
- (ii) dividir o resultado por k^2 para obter a transformada de Fourier do potencial referente ao termo de longo alcance (uma vez que no espaço recíproco a equação de Poisson é dada por $k^2\hat{\phi}^L(\mathbf{k}) = \frac{\hat{\rho}_i^L(\mathbf{k})}{\epsilon_0}$);
- (iii) realizar a transformada de Fourier inversa para obter o potencial do termo de longo alcance no espaço real.

Calculando o potencial gerado por $\rho_i^C(\mathbf{r})$, $\rho_i^L(\mathbf{r})$, excluindo o termo de auto-interação entre as partículas e considerando o tipo de material que cerca as "esferas", obtemos [56]:

$$\begin{aligned}
\mathcal{V}(\epsilon_0 = 1) = & \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N q_i q_j \left(\sum_{|\mathbf{n}|=0}^{\infty} \frac{\text{erfc}(\kappa |\mathbf{r}_{ij} + \mathbf{n}L|)}{|\mathbf{r}_{ij} + \mathbf{n}L|} + \right. \\
& + \left. \left(\frac{1}{\pi L^3} \right) \sum_{\mathbf{k} \neq 0} \left(\frac{4\pi^2}{k^2} \right) e^{\left(-\frac{k^2}{4\kappa^2}\right)} e^{(-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}_{ij})} \right) + \\
& - \left(\frac{\kappa}{\pi^{1/2}} \right) \sum_{i=1}^N q_i^2 + \left(\frac{2\pi}{3L^3} \right) \left| \sum_{i=1}^N q_i \mathbf{r}_i \right|^2.
\end{aligned} \tag{2.7.79}$$

Na Eq. (2.7.79), o primeiro termo é uma soma no espaço real, atribuído às distribuições de carga $\rho_i^C(\mathbf{r})$. O segundo, devido à distribuição de cargas $\rho_i^L(\mathbf{r})$, é uma soma no espaço discreto, $\mathbf{k} = 2\pi\mathbf{n}/L$, sendo $\mathbf{n} = (n_x, n_y, n_z)$. O terceiro é um termo de auto-interação (porque na derivação da equação a interação da distribuição gaussiana centrada em \mathbf{r}_i com ela mesma foi considerada, e, portanto, deve ser retirada do potencial). O quarto termo está relacionado ao tipo de material que cerca a “esfera”, um termo relacionado à superfície da esfera [56]. Por fim, κ é um termo arbitrário que dá a largura da distribuição, \mathbf{k} é um vetor no espaço recíproco e $\text{erfc}(x)$ uma função erro complementar,

$$\text{erfc}(x) = 1 - \frac{2}{\pi^{1/2}} \int_x^{\infty} e^{-t^2} dt. \tag{2.7.80}$$

Um valor grande de κ representa uma distribuição estreita no espaço real. Então, muitos termos no espaço discreto \mathbf{k} devem ser incluídos na soma do termo relacionado a distribuição de cargas $\rho_i^L(\mathbf{r})$. A preocupação é escolher um valor de κ e um número suficiente de vetores \mathbf{k} que façam com que o primeiro termo da Eq. (2.7.79) possa ser truncado em $|\mathbf{n}| = 0$, levando, portanto, a uma interação de curto-alcance [56]. Tildesley, 2017 [56], apresenta alguns argumentos sobre a escolha de κ . Após escolhido, a soma do primeiro termo é facilmente implementada (seria uma soma de interação carga-carga no espaço real – como se fosse feita por meio do raio de corte e da convenção da mínima imagem), pois a função $\text{erfc}(x)$ está presente em diversos pacotes de programação.

Em suma, o método de Ewald faz a separação do potencial em um termo de longa distância que é somado no espaço discreto e em outro de curta distância, que seria uma soma de interação carga-carga no espaço real. Por meio da soma de Ewald, o cálculo das interações coulombianas escala com $\sqrt{N^3}$, desde que o parâmetro κ seja devidamente ajustado. Mesmo reduzindo o custo computacional do cálculo das interações por pares, para sistemas com uma grande quantidade de partículas, a realização desta soma se tornaria proibitiva [103]. Um método alternativo, em que as interações escalam com $N \ln N$, é chamado de PME. Neste método, o valor de κ é escolhido suficientemente grande de modo que o único termo a contribuir para a soma no espaço real é para $|\mathbf{n}| = 0$. Assim, este termo se reduz à utilização da Lei Coulomb, calculada com a utilização de raios de corte [56]. Dessa forma, a soma no espaço real é semelhante à soma das interações entre pares de cargas pontuais e, por este motivo, é conhecido como a parte *particle-particle* do

PME. Para compreender de onde vem o significado da parte *mesh* no método de PME, relembremos que o potencial de longo alcance depende da transformada de Fourier da densidade de cargas, $\hat{\rho}_i^C(\mathbf{r})$.

No método PME o cálculo da transformada de Fourier é realizada com a utilização de transformadas de Fourier rápidas, bastante conhecidas no cálculo numérico [71]. Para isto, a densidade de cargas é interpolada, distribuídas de acordo com uma função W , em uma malha na caixa de simulação; esta é parte *Particle-Mesh* do método. Uma vez que a densidade de cargas na malha é conhecida, é possível calcular o campo elétrico e o potencial elétrico por meio da equação de Poisson. Ainda, o campo na malha pode ser interpolado para produzir a força em cada carga da malha. Com este procedimento, o cálculo das interações coulombianas por pares escala com $N \ln N$, permitindo que sistemas com maior número de partículas sejam tratados, em comparação com a soma de Ewald. Além disso, Darden *et. al.* (1993) [103], ressaltam que o algoritmo é de fácil programação, eficiente e bastante preciso para o estudo de sistemas macromoleculares.

É importante ressaltar que, no método de Ewald, em sistemas cuja carga total é diferente de zero, cargas de fundo adicionais são uniformemente distribuídas para neutralizá-lo. Pelo fato de a distribuição de cargas ser uniforme, artefatos e situações não-físicas podem ser geradas quando se deseja simular sistemas não-homogêneos, conforme detalhado por Hub *et. al.* [104], e, assim, se torna necessária a inserção de contra-íons adequados no sistema.

NANOMEMBRANAS PEPTÍDICAS

3.1 Introdução

A diversidade de propriedades físicas, químicas e biológicas dos aminoácidos, propicia uma auto-organização de peptídeos com diferentes características estruturais e energéticas. Sendo assim, os peptídeos possuem grande potencial para a fabricação de materiais orgânicos com propriedades e funções ajustáveis a aplicações específicas [2]. Uma classe interessante de peptídeos é conhecida como peptídeos do tipo surfactante (SLPs)¹. SLPs são anfifílicos, ou seja, formados por uma cauda apolar (hidrofóbica) e uma cabeça polar (hidrofílica), conforme representado na Figura (3.1).

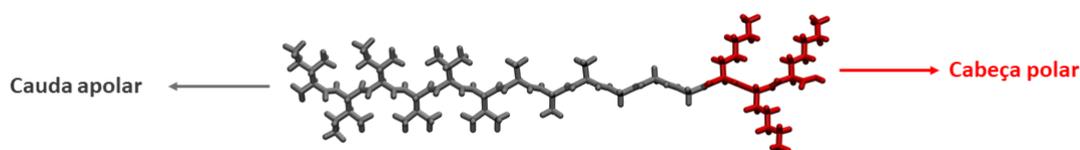


Figura 3.1: Um peptídeo do tipo surfactante (SLPs) é formado por uma cauda apolar (hidrofóbica) e uma cabeça polar (hidrofílica). Os SLPs podem se auto-organizar em diferentes estruturas, tais como *nanobelts*, nanofitas, nanovesículas, nanomembranas, nanotubos, nanofibras, nanoesferas e micelas, dependendo da sequência primária de aminoácidos que os constituem, bem como do ambiente em que se encontram [11, 37–42].

Entre as diversas nanoestruturas formadas por SLPs [11, 37–42] as bidimensionais (nanofitas e nanomembranas) merecem destaque, pois, além de possuírem diversas aplicações, conforme reportado nas referências [2, 8, 13, 49, 52, 53, 105–108], o entendimento

¹ Traduzido do inglês *Surfactant-like peptides (SLPs)*.

da auto-organização destas nanoestruturas pode auxiliar na compreensão da formação de arquiteturas mais complexas [109, 110].

Os SLPs possuem semelhanças com lipídios, no sentido de serem anfifílicos. Nos lipídios, em solução aquosa, uma forma particular de auto-organização é bastante conhecida, as bicamadas lipídicas. Nelas, as caudas hidrofóbicas interagem formando um núcleo escondido da água e a parte polar forma uma superfície bem definida de interação com o solvente, constituindo, assim, uma parte fundamental da membrana celular por onde diversas proteínas se ligam para desempenharem funções essenciais às células. Childers *et. al.*, 2010 [111], utilizando de resultados de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) dos peptídeos KLVFFAL², indicam que peptídeos também podem adquirir uma arquitetura de bicamada, assim como observado para lipídios. As nanomembranas peptídicas estudadas neste trabalho seguem esta abordagem, portanto, foram modeladas formando estruturas do tipo bicamadas.

Apesar de as bicamadas lipídicas e peptídicas apresentarem algumas semelhanças, sabe-se que em uma bicamada lipídica as principais interações responsáveis pela auto-organização são interações hidrofóbicas, que possuem pouca direcionalidade, enquanto que em uma membrana peptídica as interações de hidrogênio (intensas e com direcionalidade) também desempenham um papel fundamental, proporcionando uma significativa organização estrutural.

Trabalhos recentes desenvolvidos pelo grupo do professor G. Colherinhas investigou o comportamento das LHs em função da temperatura em nanomembranas formadas pelos SLPs A_6R^3 [112]. Foi observado que a rede de LHs é mantida na faixa de temperaturas estudada, de 300K até 500K, ressaltando que estas nanomembranas poderiam ser utilizadas em aplicações onde altas temperaturas são exigidas, como em supercapacitores [112]. Além disso, as nanomembranas peptídicas podem ter núcleos com diferentes hidrofobicidades, dependendo da sequência de aminoácidos utilizada na formação da cauda hidrofóbica, permitindo, assim, que a penetração de moléculas água e a passagem de íons pelas nanomembranas sejam reguladas, bem como, que moléculas com diferentes características possam ser ligadas aos núcleos hidrofóbicos. Esta característica mostra que membranas peptídicas podem ser adaptadas para transportar drogas com especial eficiência [8, 41, 65], principalmente porque as superfícies polares podem ser utilizadas como marcadores para atingirem regiões específicas.

Nas nanomembranas constituídas de SLPs as superfícies são bem definidas, e existe uma grande densidade de resíduos polares distribuídos. Nanomembranas com dife-

² KLVFFAL → K = lisina, L = leucina, V = valina, F = fenilalanina e A = alanina.

³ A_6R → A = alanina e R = arginina.

rentes características superficiais podem ser formadas dependendo da sequência de aminoácidos que compõe a cabeça polar, podendo ter características como: carregadas positivamente, carregadas negativamente, com anéis aromáticos, dentre outras; e, portanto, podem ser utilizadas em aplicações diversas. Nanoembranas com superfícies ricas em resíduos de histidina (H) podem ser utilizadas para quelação⁴ de íons metálicos [105]. Sabe-se que SLPs com cabeças polares constituídas de aminoácidos carregados positivamente, lisina (K) e arginina (R), têm atividade antibactericida e com baixa probabilidade de induzir resistência a drogas [49]. Além disso, os resíduos polares são reconhecidos por possuírem importantes funções em catálises, complexação de metais, transdução, entre outros. Dessa forma, nanomembranas com grande densidade de resíduos polares podem ser utilizadas para estabilização de proteínas [52], suspensões coloidais [53] e até de complexos fotossintéticos [41], que poderiam ser utilizados para desenvolvimento de baterias biodegradáveis, auxiliar na transdução de vírus [113] e possuírem propriedades úteis na hemostasia⁵ [13].

Diante da importância das nanomembranas peptídicas, este capítulo objetiva caracterizar, via simulações de DM (completamente atomística), as estruturas de nove nanomembranas compostas por SLPs, a saber 1) $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$; 2) A_6H_ϵ e A_6H_δ ; 3) I_3XGK ($X = Q, S, N, G$ ou L) com terminações N-acetilado. Assim, este trabalho estuda nanomembranas constituídas por uma variedade de aminoácidos, isoleucina (I), valina (V), alanina (A), glicina (G), lisina (L), histidina (H), glutamina (Q), serina (S), asparagina (N) e leucina (L), e sua importância reside na descrição do papel de cada resíduo na estabilidade das nanoestruturas.

No primeiro sistema, nanomembranas compostas por $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, os aminoácidos isoleucina (I), valina (V), alanina (A) e glicina (G) formam uma cauda hidrofóbica enquanto os resíduos de lisina (K) constituem uma cabeça polar carregada. Ressalta-se que os peptídeos são compostos pelos mesmos aminoácidos, mas ligados em sequências primárias invertidas. Investigar estruturas formadas por peptídeos em sequências primárias diretas ou reversas é interesse de vários pesquisadores [8, 114–117]. Embora já tenha sido verificado que peptídeos com sequências primárias invertidas podem levar à formação de estruturas distintas, o porquê isso ocorre ainda carece de maiores investigações. Sabe-se que a inversão da sequência primária modifica a torção e a disposição das cadeias laterais dos peptídeos [117]. Além disso, altera qual aminoácido está ligado ao terminal C ou ao terminal N – o peptídeo $I_3V_3A_3G_3K_3$ possui o terminal C

⁴ Quelação → interação química formada por ligações covalentes coordenadas onde um par de moléculas compartilha seus elétrons com um íon metálico prendendo-o como se fosse uma pinça.

⁵ Hemostasia se refere à resposta fisiológica do corpo para a prevenção e interrupção de sangramento e hemorragias.

ligado à lisina (K) carregada enquanto o peptídeo $K_3G_3A_3V_3I_3$ possui o terminal N ligado a ela – e, conseqüentemente, a distribuição de cargas nos peptídeos [117]. Os peptídeos $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ foram estudados experimentalmente por Cao *et. al.* [8]. No estudo experimental, notou-se que ambas as sequências de aminoácidos se auto-organizam formando nanomembranas com espessuras bem definidas, parâmetro fundamental para avaliar a qualidade dos nossos resultados, obtidos teoricamente. Assim, na etapa de modelagem, verificamos qual seria a melhor forma de organizar os peptídeos, formando as nanomembranas, para obter, após as etapas de simulação, estruturas com características membranares com espessuras semelhantes às observadas experimentalmente, conforme será apresentado na Seção (3.3.1.1). Nossos resultados, obtidos via DM, estão em bom acordo com os resultados experimentais, propiciando, dessa forma, a caracterização da organização dos peptídeos de uma forma que possa, de fato, ocorrer em uma situação real.

No segundo sistema, são estudadas nanomembranas peptídicas compostas por uma sequência de 6 alaninas (A_6), formando uma cadeia hidrofóbica, ligada a um resíduo de histidina (H_ϵ ou H_δ). Esses peptídeos foram estudados experimentalmente por Castelletto *et. al.* [105] e mostraram eficiência na quelação de íons metálicos, em particular, íons Zn^{2+} . Um estudo detalhado desses peptídeos é essencial, principalmente porque a formação de agregados peptídicos do tipo amiloide- β ($A\beta$), os quais são a chave para eventos patológicos como a doença de Alzheimer, é promovido por cátions Zn^{2+} ligados à resíduos de histidina (H) na sequência $A\beta$. Então, o tratamento de placas senílicas com agentes quelantes de Zn^{2+} poderia levar à menor ligação dos íons Zn^{2+} aos resíduos de histidina (H) da sequência do $A\beta$, levando ao rompimento do amiloide [105]. Nosso estudo obtém a distância de separação entre as lâminas peptídicas que compõem as nanomembranas e as espessuras de cada nanomembrana em bom acordo com resultados reportados experimentalmente, ressaltando o bom *insight* na modelagem da estrutura membranar inicial.

No terceiro sistema, modelamos as nanomembranas estudadas experimentalmente por Wang *et. al.* [106], constituídas da sequência primária de aminoácidos $I_3\mathbf{X}GK$, isto é, peptídeos compostos por uma cauda neutra, consistindo de resíduos de isoleucinas (I), glicina (G) e um resíduo \mathbf{X} , que varia em cada estrutura, e uma cabeça polar carregada, consistindo de resíduos de lisina (K). O aminoácido \mathbf{X} pode ser polar (glutamina (\mathbf{Q}), serina (\mathbf{S}), asparagina (\mathbf{N})), ou apolar (glicina (\mathbf{G}), e leucina (\mathbf{L})). Assim, nossos resultados buscam identificar quais alterações estruturais e energéticas ocorrem em nanomembranas que contém resíduos polares na cauda neutra ($I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, e $I_3\mathbf{N}GK$), em relação àquelas que contém apenas resíduos apolares nesta região ($I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$). Wang *et. al.* [106] indicam, por meio de observações experimentais, que nas nanomembranas onde há resíduos polares na cauda neutra, ocorre a formação de LHs entre cadeias laterais dos peptídeos em vez de apenas entre as cadeias principais, como é

largamente conhecido na literatura, formando o que denominam zíperes polares. Nossos resultados confirmam que ocorrem zíperes polares entre folhas- β vizinhas (LHs entre cadeias laterais dos peptídeos) dos peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}$) e não somente entre as cadeias principais dos peptídeos formando as folhas- β . Estes resultados sugerem que zíperes polares podem conectar várias folhas- β formando fitas bastante largas, oferecendo uma rota ágil para o desenvolvimento de nanoestruturas utilizando uma espécie de empilhamento de folhas- β [106]. Dessa forma, um estudo de caracterização destas nanomembranas se torna relevante. Neste trabalho, resultados estruturais comparáveis aos reportados experimentalmente foram obtidos, indicando a confiabilidade dos dados apresentados. Assim, nosso trabalho corrobora com o entendimento de resultados já obtidos experimentalmente [106], e fornece novos *insights* que possibilitam a elaboração de novos nanomateriais baseados na propriedade dos zíperes polares.

Esta tese realiza a caracterização estrutural e energética de nanomembranas peptídicas, por meio de análises dos perfis de densidade de massa, das funções de distribuição radial de pares, das LHs, e das interações coulombianas e *vdW*, que juntamente com as LHs desempenham papel fundamental no entendimento da estabilidade dos sistemas estudados. Em especial, foi realizada uma análise detalhada das LHs, em que é apresentado o número médio de LHs entre os peptídeos, entre os resíduos e entre os resíduos e as moléculas de água. Uma avaliação sobre as direções em que ocorrem as LHs também foi considerada, possibilitando uma boa descrição da formação dos zíperes polares, e, ainda, um estudo sobre as funções de correlação temporal das LHs, o que permitiu uma boa descrição de como são as interações soluto-solvente. Estas informações podem auxiliar no desenvolvimento de aplicações baseadas na hidratação das nanomembranas. Foi desenvolvida também uma análise estrutural sobre os núcleos hidrofóbicos de cada membrana e sobre suas superfícies carregadas, indicando como ocorre a interação delas com o meio solvente.

Do ponto de vista teórico, este trabalho traz avanços ao obter sucesso na caracterização das nanoestruturas (com resultados teóricos comparáveis aos experimentais) utilizando ferramentas computacionais. Esta validação permite que novos nanomateriais sejam projetados de maneira teórica. Assim, novas propriedades desejáveis podem ser estimadas computacionalmente, permitindo significativo avanço científico no *design* e engenharia de nanomateriais orgânicos.

Os resultados apresentados neste capítulo se encontram publicados em 3 artigos científicos, intitulados: 1) *Elucidating $NH_2-I_3V_3A_3G_3K_3-COOH$ and $NH_2-K_3G_3A_3V_3I_3-COOH$ polypeptide membranes: A classical molecular dynamics study*; 2) *A_6H polypeptide membranes: Molecular dynamics simulation, GIAO-DFT-NMR and TD-DFT spectroscopy analysis*; e 3) *The influence of polar and non-polar interactions on the self-assembly of peptide nanomembranes and their applications: An atomistic study using classical molecular dynamics*; e podem ser consultados nas referências [65, 67, 68].

3.2 Metodologia

3.2.1 Sistemas Simulados

3.2.1.1 Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$

Nesta seção, apresentamos detalhes sobre a modelagem computacional de nanomembranas compostas por peptídeos com os mesmos aminoácidos, mas com sequências primárias invertidas, $NH_2 - I_3V_3A_3G_3K_3 - COOH$ e $NH_2 - K_3G_3A_3V_3I_3 - COOH$, Figura (3.2). Foi utilizada a convenção usual para as terminações N (NH_2) e C ($COOH$), *i.e.*, o terminal N ligado ao aminoácido mais à esquerda da sequência primária enquanto o terminal C está ligado ao aminoácido mais à direita da sequência primária. Com isto, ao longo deste trabalho, as terminações dos peptídeos foram omitidas. Os resíduos apolares apresentam apenas grupos alquila na cadeia lateral, ou seja, formadas por carbonos e hidrogênios.

O resíduo de glicina (G) é o menos hidrofóbico por possuir uma cadeia lateral composta apenas por um átomo de hidrogênio. Já a alanina (A) possui a cadeia lateral formada por $-CH_3$, sendo, o segundo resíduo menos hidrofóbico a compor as nanomembranas. A valina (V) apresenta a cadeia lateral composta por $-C_3H_7$. Este resíduo já apresenta uma hidrofobicidade maior e, além disso, devido às ramificações, deve contribuir para ligações entre as cadeias laterais dos peptídeos por efeitos estéricos, *i.e.*, formando um encaixe da cadeia lateral deste aminoácido com outro aminoácido em uma folha- β vizinha [32]. Por fim, o resíduo apolar de isoleucina (I) apresenta em sua cadeia lateral o grupo $-C_4H_9$. Portanto, este resíduo é o mais hidrofóbico e, também, aquele que deve ter maior contribuição para a formação de efeitos estéricos [32] nestas nanomembranas. Já o resíduo de lisina (K), neste trabalho, apresenta uma cadeia lateral formada por $-C_4H_8NH_3^{1+}$, sendo, portanto, carregado positivamente. Sabe-se que, os peptídeos tendem a se ligar por meio de LHs entre as cadeias principais formando folhas- β paralelas ou antiparalelas e, lateralmente, elas devem se ligar por meio de efeitos estéricos [32]. Os aminoácidos ligados em sequências primárias invertidas formam peptídeos que se diferem pelos ângulos de torção, pela disposição dos resíduos nas cadeias laterais e pelos terminais ligados à lisina carregada. A diferença na torção e na disposição dos aminoácidos nas cadeias laterais altera, conseqüentemente, a interação entre elas por meio de efeitos estéricos, levando a formação de nanomembranas com diferentes níveis ou possibilidades de hidratações. Além disso, a lisina ligada ao terminal C ou ao terminal N modifica a distribuição de cargas nos peptídeos.

Nosso estudo consistiu, primeiramente, na simulação de um único peptídeo (monômero) $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ solvatado em água, Figura (3.2), com a finalidade de compreender as alterações energéticas e estruturais que ocorrem quando um peptídeo

passa de uma configuração de monômero solvatado para uma estrutura organizada formando nanomembranas.

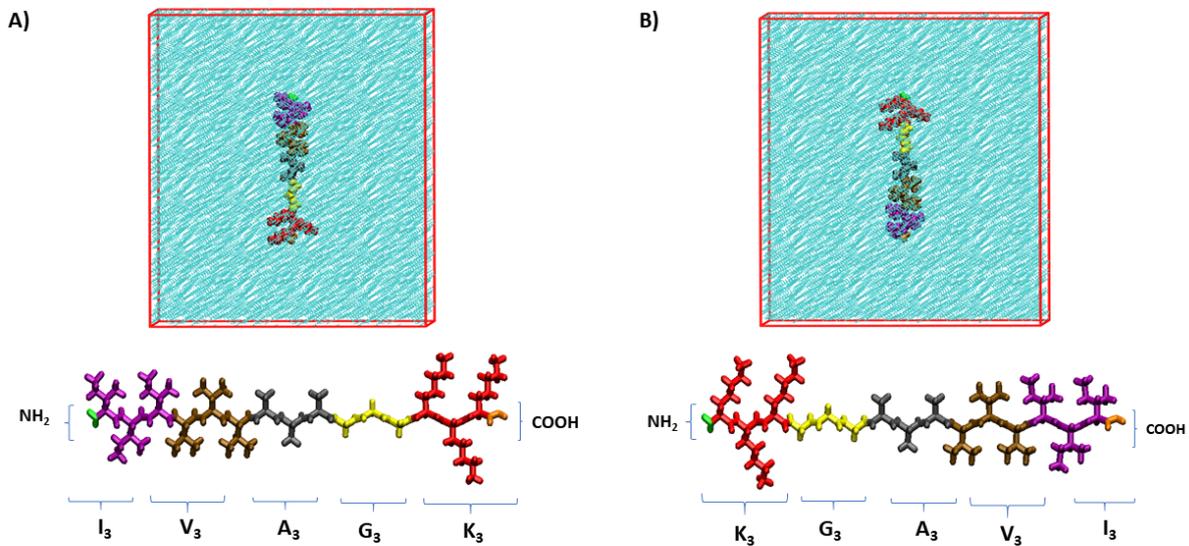


Figura 3.2: Monômeros A) $NH_2 - I_3V_3A_3G_3K_3 - COOH$ e B) $NH_2 - K_3G_3A_3V_3I_3 - COOH$. Os monômeros são compostos por resíduos de isoleucina (I), valina (V), alanina (A) e glicina (G) (em roxo, ferrugem, cinza e amarelo, respectivamente) formando uma cauda hidrofóbica e lisina (K) (em vermelho) constituindo uma cabeça polar carregada. Os terminais N e C estão representados em verde e laranja, respectivamente.

Posteriormente, os peptídeos foram organizados formando membranas de dimensões nanométricas, utilizando a seguinte lógica: construímos um monômero composto pela sequência $I_3V_3A_3G_3K_3$ e o alinhamos na direção z . Em seguida, outro monômero também composto por $I_3V_3A_3G_3K_3$ foi alinhado na direção z , rotacionado em 180° na direção x e transladado o suficiente para se encaixar no peptídeo anterior, formando, assim, um dímero com monômeros invertidos. Este dímero foi então replicado 4 vezes na direção y e 7 vezes na direção x , formando uma nanomembrana contendo $(4 \times 7 \times 2) = 56$ peptídeos, de maneira que lateralmente os monômeros ficassem o mais próximo possível, mas sem que houvesse contato direto entre cadeias laterais de folhas- β vizinhas, Figura (3.3). O mesmo procedimento foi usado para o peptídeo $K_3G_3A_3V_3I_3$. O número de réplicas foi escolhido para reproduzir uma nanomembrana com dimensões iniciais próximas de 6,0 e 5,6 nm nas direções y e x , respectivamente. Membranas maiores poderiam ser modeladas, mas o custo computacional poderia inviabilizar o estudo. Obviamente, a simulação de uma membrana maior poderia possibilitar a observação de quebras e/ou dobras na nanoestrutura, no entanto, ressaltamos que uma nanoestrutura menor, como a utilizada neste trabalho, representa parte de uma nanoestrutura maior, sendo capaz de representar suas características estruturais e energéticas.

As espessuras das nanomembranas observadas experimentalmente foram de $d(I_3V_3A_3G_3K_3) = (4,0 \pm 0,5)$ nm e $d(K_3G_3A_3V_3I_3) = (3,9 \pm 0,5)$ nm [8]. O compri-

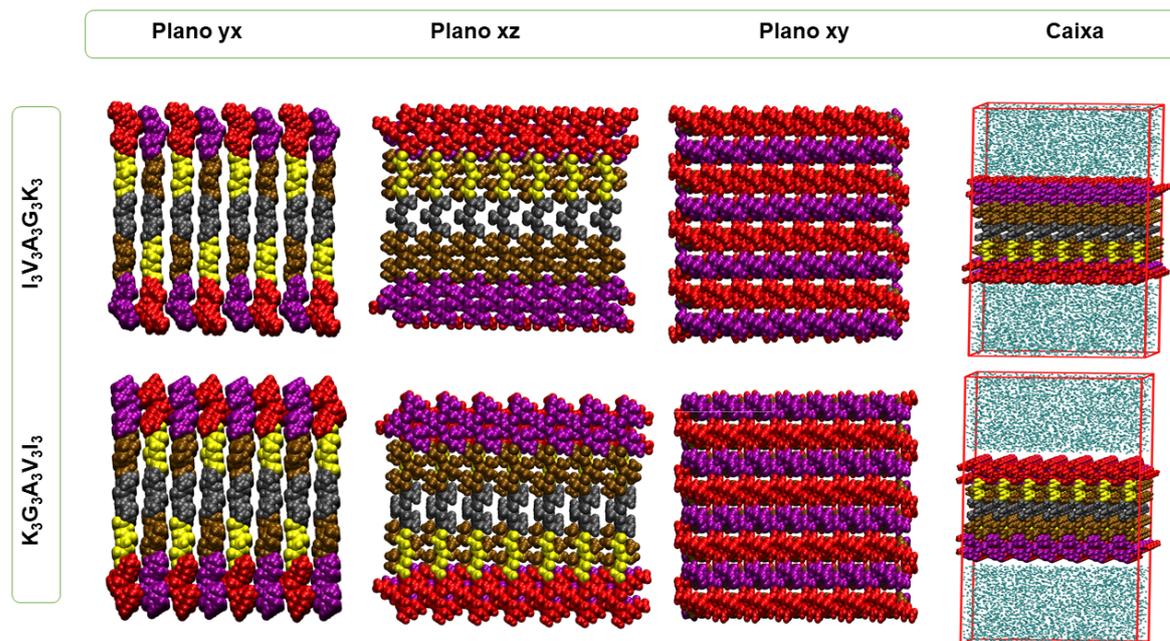


Figura 3.3: Representação dos planos yz , xz e xy e uma vista lateral das caixas de simulação das nanomembranas iniciais $I_3V_3A_3G_3K_3$ (acima) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (abaixo). Isoleucina (I), valina (V), alanina (A), glicina (G), lisina (K) e água estão representadas em roxo, ferrugem, cinza, amarelo, vermelho e azul, respectivamente. As nanomembranas peptídicas foram inseridas entre duas camadas de água, formando uma dupla superfície de interação com as moléculas do solvente.

mento de um peptídeo $I_3V_3A_3G_3K_3$ é cerca de 5,5 nm, assim, nossas nanoestruturas foram pensadas da forma apresentada na Figura (3.3), esperando que, após a relaxação dos sistemas e da interação das nanomembranas com a água, elas se tornassem mais compactas, atingindo espessuras semelhantes às observadas experimentalmente. Estas nanomembranas, compostas por 56 peptídeos, foram inseridas entre duas camadas de água, formando, em cada uma, duas superfícies de contato direto com o solvente. Não foram adicionadas moléculas de água entre as nanomembranas, na estrutura inicial. O preenchimento das caixas de simulação com moléculas de água foi feito utilizando o programa *Packmol* [118], com uma separação de 2,0 Å entre as moléculas. Assim, tornou-se possível observar como ocorre a hidratação das nanomembranas.

A Tabela (3.1) apresenta a composição dos sistemas simulados. Cada peptídeo possui 3 lisinas (K), portanto, carga elétrica $+3e$. Cada membrana simulada possui um total de 56 peptídeos, resultando em uma carga elétrica total de $+168e$. Para neutralizar o sistema, 168 íons cloreto, Cl^- , foram adicionados de forma aleatória nas caixas de simulação, na região onde foram inseridas as moléculas de água.

Em um processo de modelagem molecular, configurações iniciais distintas são testadas. Sendo assim, diferentes distâncias entre as cadeias laterais foram simuladas. Ainda, testamos nanomembranas formadas por monômeros replicados. Somente as nanoestruturas que apresentam estabilidade durante o processo de simulação e, principalmente,

levam a resultados comparáveis com resultados experimentais são utilizadas para análise. No Apêndice (A), apresentamos algumas nanoestruturas iniciais que não levaram a resultados compatíveis aos reportados experimentalmente.

Tabela 3.1: Número de átomos que compõem as caixas de simulação para os monômeros e para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ e o número de ocupação de peptídeos, pep/nm².

MD	# Peptídeos	# Íons	# Água	# Átomos	Pep/nm ²
$I_3V_3A_3G_3K_3$	1	3	23.954	72.090	–
$I_3V_3A_3G_3K_3$	56	168	7.044	33.900	1,41
$K_3G_3A_3V_3I_3$	1	3	23.425	70.503	–
$K_3G_3A_3V_3I_3$	56	168	7.044	33.900	1,86

3.2.1.2 Nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ

Investigamos nanoestruturas peptídicas compostas por 6 alaninas (A_6), formando uma cauda hidrofóbica e um resíduo polar de histidina (H_ϵ ou H_δ). O resíduo de histidina (H) possui um anel aromático na cadeia lateral, que se encontra protonado em pH < 6. O sistema simulado apresenta um pH neutro, então utilizamos uma histidina (H) desprotonada. A histidina (H) em seu estado neutro, apresenta dois tautômeros: o átomo de hidrogênio pode estar ligado ao nitrogênio épsilon (vamos denotá-la H_ϵ) ou ao nitrogênio delta (vamos denotá-la H_δ) do anel aromático. Biologicamente estes dois estados são acessíveis, dependendo das condições do meio. Trabalhos anteriores indicam que os dois tautômeros tendem a adquirir conformações diferentes de acordo com o átomo de nitrogênio livre para realizar LHs [119]. Sendo assim, neste trabalho, a modelagem das nanomembranas considerou estes dois tautômeros da histidina (H). Os peptídeos A_6H_ϵ e A_6H_δ foram simulados na conformação de monômero e, também, pré-estruturados formando nanomembranas. Então, quatro sistemas foram simulados, A_6H_ϵ (monômero e membrana) e A_6H_δ (monômero e membrana), para possibilitar a comparação entre as estruturas livres e auto-organizadas.

A Figura (3.4) apresenta as estruturas iniciais e finais dos monômeros A_6H_ϵ e A_6H_δ simulados em água. Experimentalmente, foi mostrado que estes peptídeos se auto-organizam formando nanomembranas [105]. Sendo assim, modelamos estruturas membranares para avaliar a estabilidade das mesmas, a partir de simulações de DM, Figura (3.5).

As nanomembranas foram inicialmente estruturadas pela justaposição de dois monômeros formando um dímero (com os monômeros rotacionados 180° entre si e transladados de uma certa distância de maneira que não houvesse contato entre eles). Este dímero foi então replicado 5 vezes na direção x e 10 vezes na direção y formando nanomembranas com 100 monômeros. As estruturas finais possuem dimensões de aproximadamente 5,2 e 5,6 nm nas direções x e y , respectivamente, o que é factível para simulações

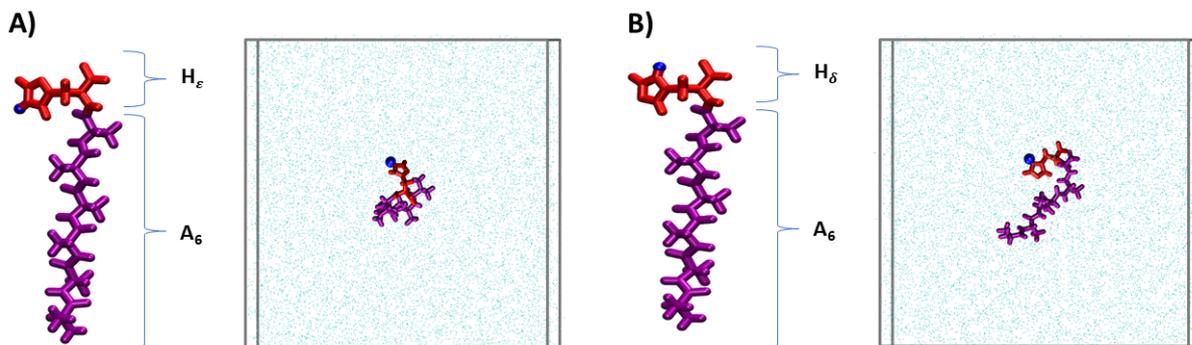


Figura 3.4: Monômeros iniciais A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ ; e suas respectivas caixas finais de simulação. Nota-se que os peptídeos tendem a se dobrar, devido as interações entre seus resíduos e com as moléculas de água, na tentativa de atingir uma conformação que reduza a energia potencial do sistema. Alanina (A) e histidina (H) estão representadas em roxo e vermelho, respectivamente. As moléculas de água estão representadas em azul-claro. A diferença entre os dois monômeros está na posição de um átomo de hidrogênio no anel aromático (marcado em azul-escuro) – um no nitrogênio épsilon (H_ϵ) e outro no nitrogênio delta (H_δ).

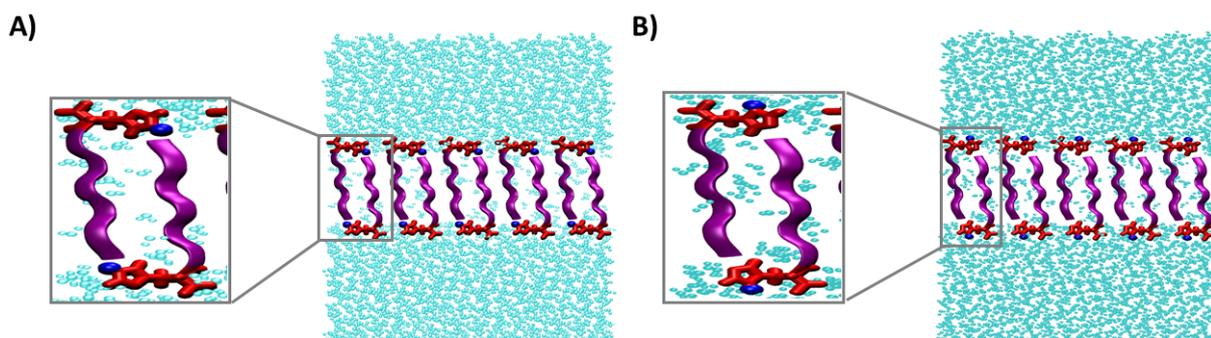


Figura 3.5: Vista lateral das configurações iniciais das nanomembranas A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ . Dois monômeros foram emparelhados, um invertido em relação ao outro, formando um dímero. Este dímero foi replicado 5 vezes na direção y e 10 vezes na direção x , formando nanomembranas compostas por 100 monômeros. A diferença entre as duas nanomembranas está na posição de um átomo de hidrogênio no anel aromático (marcado em azul-escuro) – um no nitrogênio épsilon (H_ϵ) e outro no nitrogênio delta (H_δ).

computacionais desta natureza. As nanomembranas foram colocadas em caixas de simulação contendo moléculas de água até aproximadamente 3,0 nm acima e abaixo delas, na direção z . As moléculas de água foram introduzidas na caixa de simulação de forma aleatória utilizando programa *gmx solvate*, implementado no GROMACS, e, dessa forma, moléculas de água foram inseridas inclusive entre as lâminas das nanomembranas. No entanto, ressaltamos que devido a proximidade entre os peptídeos, poucas moléculas de água foram posicionadas no interior das membranas. As vistas laterais das configurações iniciais das nanomembranas estão apresentadas na Figura (3.5) e a Tabela (3.2) mostra a composição dos sistemas simulados na conformação de monômero e membrana e o número

de pep/nm² nas nanomembranas.

Tabela 3.2: Composição dos monômeros e nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ simulados em solução aquosa e o número de peptídeos por nm² em cada membrana.

MD	# Peptídeos	# Água	# Átomos	Pep/nm ²
A_6H_ϵ	1	4.046	12.218	–
A_6H_ϵ	100	5.917	25.751	3,45
A_6H_δ	1	4.046	12.218	–
A_6H_δ	100	5.922	25.766	3,47

3.2.1.3 Nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$

Nanomembranas peptídicas compostas pela sequência primária $Ac - I_3\mathbf{XGK} - NH_2$ (\mathbf{X} = glutamina (**Q**), serina (**S**), asparagina (**N**), glicina (**G**), ou leucina (**L**)) foram estudadas via DM, Figura (3.6). As nanomembranas $Ac - I_3\mathbf{XGK} - NH_2$, foram simuladas com o terminal N-acetilado. Com isto, ao longo do restante do trabalho as terminações serão omitidas. Para estas nanomembranas, os resíduos de isoleucina (**I**), glicina (**G** e **G**), e leucina (**L**) são não polares. A glicina (**G** e **G**) é um aminoácido com apenas um nitrogênio na cadeia lateral e, assim, não é óbvio se este resíduo desempenha um papel hidrofóbico ou hidrofílico. Sendo assim, enfatizamos que ao longo deste trabalho este resíduo foi tratado como hidrofóbico. Ainda, a glicina (**G** e **G**), tem uma grande liberdade de conformação e é esperado que sua cadeia lateral não interaja de forma significativa com a cadeia lateral de aminoácidos vizinhos. A lisina (**K**) é um aminoácido polar carregado e neste estudo possui carga elétrica total igual a $+1e$. Por fim, os aminoácidos glutamina (**Q**), serina (**S**) e asparagina (**N**) são aminoácidos polares neutros.

Os peptídeos estudados aqui possuem uma cauda neutra ($I_3\mathbf{XG}$) e um cabeça polar carregada (K). De acordo com o aminoácido na posição \mathbf{X} , os peptídeos possuem diferentes propriedades físicas e químicas. Os peptídeos $I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{SGK}$, e $I_3\mathbf{NGK}$ são peptídeos com resíduos polares e apolares na cauda neutra enquanto nos peptídeos $I_3\mathbf{GGK}$ e $I_3\mathbf{LGK}$ têm apenas resíduos não polares (hidrofóbicos). Dessa forma, ao longo deste trabalho, nós denominamos as nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{SGK}$ e $I_3\mathbf{NGK}$ de nanomembranas polares e as nanomembranas $I_3\mathbf{GGK}$ e $I_3\mathbf{LGK}$ de nanomembranas não polares.

Resultados experimentais reportados por Wang *et. al.* [106], demonstraram que os peptídeos com resíduos polares na cauda neutra ($I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{SGK}$ e $I_3\mathbf{NGK}$) se auto-organizam formando nanofitas/nanomembranas onde ocorrem a formação de zíperes polares entre as cadeias laterais de folhas- β vizinhas. Por outro lado, os peptídeos com apenas resíduos apolares na cauda neutra ($I_3\mathbf{GGK}$ e $I_3\mathbf{LGK}$) se auto-organizam em estruturas do tipo fibras amiloide ou com formas pouco definidas. Neste estudo, modelamos ambas as estruturas como nanomembranas (uma vez que nanofibras podem

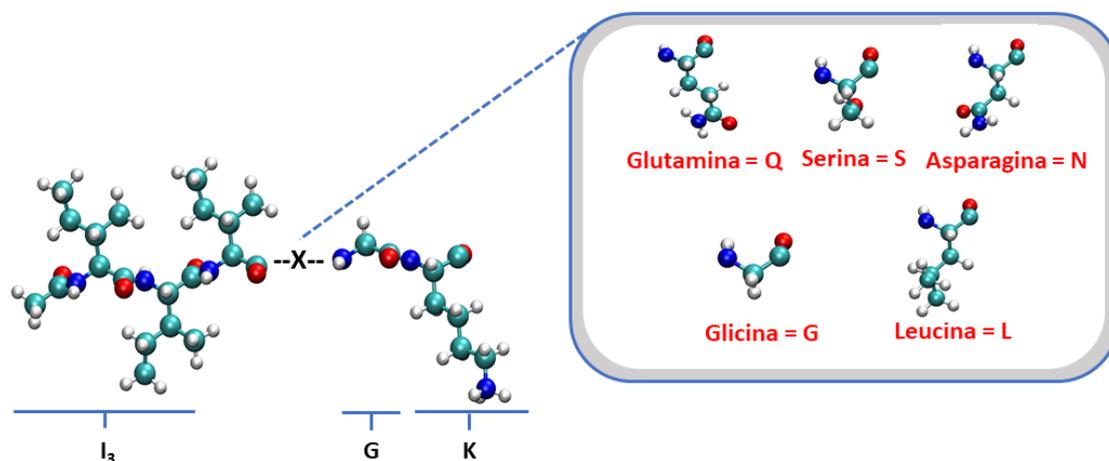


Figura 3.6: Estrutura molecular dos peptídeos I_3XGK ($X =$ glutamina (Q), serina (S), asparagina (N), glicina (G), e leucina (L)). Q, S e N são aminoácidos polares. G e L são aminoácidos não polares. Carbono, nitrogênio, oxigênio e hidrogênio estão representados em azul-claro, azul, verde e branco, respectivamente.

ser formadas por nanomembranas torcidas [120], ou entrelaçadas como as encontradas nas estruturas fibrosas do colágeno) com o objetivo de avaliar se há diferenças estruturais e energéticas que demonstrem o observado experimentalmente.

Neste estudo, nós pré-organizamos os monômeros I_3XGK ($X = Q, S, N, G$ ou L) criando nanomembranas, seguindo os modelos apresentados por Wang *et. al.* [106], e então avaliamos a estabilidade das nanoestruturas durante o processo de simulação. As nanomembranas polares foram inicialmente construídas pela justaposição de dois monômeros, formando um dímero, sendo um monômero rotacionado em 180° em relação ao outro, de maneira a ficarem invertidos, Figura (3.7 A), e com um deslocamento de um resíduo (isto é, a primeira isoleucina (I) de um dos monômeros está próxima da glicina (G) do outro - deslocado em relação ao resíduo de lisina (K)). O dímero foi construído de maneira que os resíduos polares ficassem voltados para o mesmo lado (aumentando a polaridade lateral do peptídeo). Assim, o dímero possui um lado polar e outro apolar, Figura (3.7 A).

Em seguida outro dímero semelhante foi encaixado lateralmente, de maneira que uma face polar estivesse voltada para outra face polar e uma face apolar estivesse voltada para outra face apolar do dímero vizinho, Figura (3.7 B). O encaixe lateral foi feito de maneira que a distância entre as cadeias dos resíduos X fosse mínima (mas sem que houvesse contato entre elas) facilitando a formação de LHs laterais. A melhor configuração forneceu um caráter ondulado para as nanomembranas, Figura (3.7 C). Cada membrana foi construída com 64 monômeros. A configuração inicial da nanomembrana I_3QGK está ilustrada na Figura (3.7). As configurações iniciais das demais nanomembranas estão apresentadas no Apêndice (B), Figura (B.2).

Em resumo, nas nanomembranas polares há regiões onde apenas efeitos hidrofóbicos serão as responsáveis por manterem ligadas as cadeias laterais das folhas- β vizinhas, e outras regiões em que podem existir também LHs. Um tratamento similar foi realizado para as nanomembranas não polares, mas neste caso apenas interações hidrofóbicas serão as responsáveis por estabilizar as cadeias laterais das folhas- β vizinhas, Figura (B.2) no Apêndice (B).

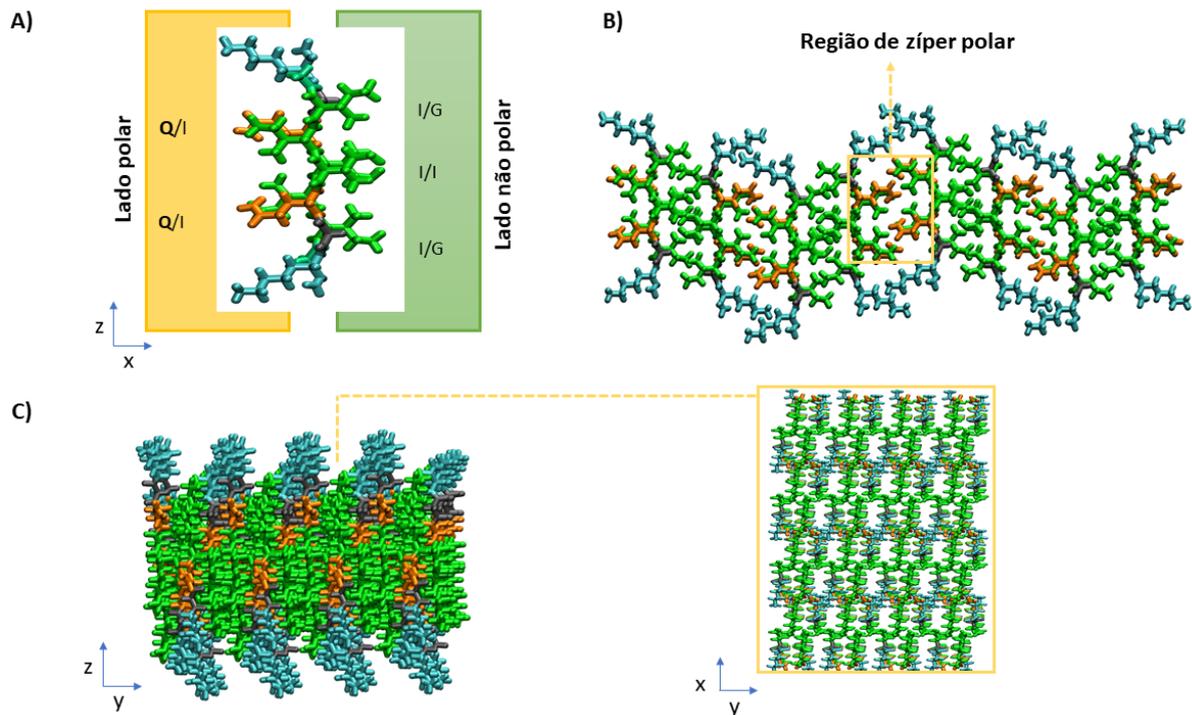


Figura 3.7: Configuração inicial da membrana I_3QGK . A) Dois monômeros empilhados formando um dímero com lados de diferentes características: um polar constituído pelas cadeias laterais dos resíduos de Q e I e outro apolar constituído pelas cadeias laterais dos resíduos de I e G. B) Os dímeros foram replicados e posicionados de maneira que um lado polar ficasse voltado para outro lado polar e um lado não polar ficasse voltado para outro lado não polar, formando uma membrana com regiões onde há possibilidade de formação de zíperes polares. C) Diferentes vistas da configuração inicial da membrana. Lisina (K), isoleucina (I), glicina (G) e glutamina (Q) estão representadas em azul-claro, verde, cinza e laranja, respectivamente. As configurações iniciais das demais nanomembranas estão presentes na Figura (B.2), no Apêndice (B).

Em seguida, cada nanomembrana foi centralizada em uma caixa de simulação de cerca de 8 nm de comprimento na direção z , contendo moléculas de água em aproximadamente 2,5 nm acima e abaixo delas. As moléculas de água foram inseridas na caixa de simulação de forma aleatória, inclusive no interior das nanomembranas, utilizando o programa *gmx solvate*. Ressaltamos ainda que, conforme indicado anteriormente, cada resíduo de lisina (K) possui carga elétrica total igual a $+1e$, então, para cada lisina (K) foi adicionado um íon de cloro, Cl^{-} , para neutralizar o sistema, totalizando assim, 64 íons de cloro dentro da caixa de simulação de cada nanomembrana.

Novamente, em um processo de modelagem computacional, diferentes estruturas iniciais são testadas. Quando elas não são energeticamente favoráveis, podem ocorrer rasgos ou a ruptura das nanomembranas, e, conseqüentemente, levar a resultados não comparáveis aos experimentais. As estruturas iniciais também são submetidas a diferentes protocolos de equilíbrio, alternando simulações nos *ensembles* NVT e NPT. As configurações iniciais, apresentadas aqui demonstraram boa estabilidade durante o processo de simulação e, sobretudo, levaram a estruturas finais comparáveis às obtidas experimentalmente [106].

A Tabela (3.3) contém a composição dos sistemas simulados e uma estimativa da quantidade de peptídeos por unidade de área.

Tabela 3.3: Número de átomos nos monômeros e nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}) e o número de peptídeos por nm^2 .

MD	# Peptídeos	# Íons	# Água	# Átomos	Pep/ nm^2
$I_3\mathbf{QGK}$	64	64	6824	27704	2,0
$I_3\mathbf{SGK}$	64	64	5730	24038	2,1
$I_3\mathbf{NGK}$	64	64	5833	24539	2,0
$I_3\mathbf{GGK}$	64	64	6064	24784	2,1
$I_3\mathbf{LGK}$	64	64	7656	30328	1,8

3.2.2 Protocolo Geral de Simulação

Os peptídeos e íons de cloro, Cl^{1-} , foram modelados utilizando o campo de forças CHARMM36 [83], enquanto o ambiente aquoso foi modelado utilizando o campo de forças TIP3P [121]. O tempo total de simulação foi de 111 ns para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, e de 110 ns para as nanomembranas A_6H_ϵ , A_6H_δ e $I_3\mathbf{XGK}$. O tempo total de simulação consistiu de uma etapa de equilíbrio e de uma etapa de produção da trajetória, cuja análise foi realizada. Cerca de 45% do tempo total de simulação foi utilizado para a produção da trajetória. Durante a etapa de equilíbrio, a evolução temporal da energia potencial foi monitorada e, somente após esta propriedade alcançar o equilíbrio termodinâmico é que a etapa de produção da trajetória foi realizada, no *ensemble* NPT. Para todas as nanomembranas, apenas os últimos 50 ns foram utilizados para produção da trajetória no *ensemble* NPT, de onde foram extraídas 25000 configurações igualmente espaçadas para análise estatística. Os detalhes do processo de equilíbrio para cada sistema em específico estão apresentados no Apêndice (C).

Os sistemas foram mantidos a uma temperatura apropriada de 300 K e a uma pressão de 1,013 bar por meio dos algoritmos de *velocity rescaling* [92] e Parrinello-Rahman [96] com acoplamento semi-isotrópico e constantes de acoplamento de 0,1 e 2,0 ps, respectivamente. Todos os comprimentos das ligações foram mantidos fixos por meio

do algoritmo LINCS⁶ [122]. Um raio de corte de 1,2 nm foi utilizado para as interações de LJ e as interações eletrostáticas foram tratadas por meio do esquema de PME [103], em ambas as interações um amortecimento do tipo potencial Shift-Verlet foi utilizado. Para simular sistemas eletronicamente neutros, foram adicionados contra-íons, quando necessário. O tamanho do contra-íon pode influenciar nos resultados uma vez que podem acontecer interações indesejadas do sistema com estes contra-íons, assim, átomos de Cl^{1-} foram escolhidos, pois, eles não provocam mudanças significativas no ambiente estrutural em que as nanomembranas são simuladas. Todas as simulações de DM foram realizadas utilizando o programa *Groningen Machine for Chemical Simulations* (GROMACS) [123]. Mapas das superfícies das nanomembranas foram obtidos por meio do programa *Grid-Based Membrane Analysis Tool* (*GridMAT*) [124]. A produção das imagens e as análises visuais foram realizadas utilizando o programa *Visual Molecular Dynamics* (VMD) [125].

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Nanomembranas formadas por: $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$

3.3.1.1 Resultados estruturais e perfis de densidade

Após o período de equilibração, visualmente, ambas as nanomembranas apresentaram superfícies bem definidas e uma separação do meio solvente no qual elas foram inseridas. Foi observada uma forte hidratação do interior das nanomembranas, com a presença de moléculas de água, como pode ser visualizado na Figura (3.8). Estas nanomembranas apresentaram, portanto, características de hidrogéis. Nota-se que na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ ocorreu maior hidratação. Algumas justificativas para esta diferença de hidratação serão fornecidas com base na quantidade de LHs e nas interações de Coulomb e vdW , a serem apresentadas nas seções seguintes.

A separação entre as superfícies das nanomembranas e a água pode ser observada com base nos perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , Figura (3.9). Por meio deles, também é possível notar que ocorreu maior hidratação da membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$. Na nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ os íons cloreto ficam concentrados somente na superfície enquanto na nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ eles penetram para seu interior. Apresentamos também os perfis de densidade de massa para cada resíduo ao longo do eixo z , Figura (3.9), por meio dos quais podemos concluir que na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ há uma melhor separação entre os resíduos.

⁶ Do inglês *Linear Constraint Solver for molecular simulations* (LINCS).

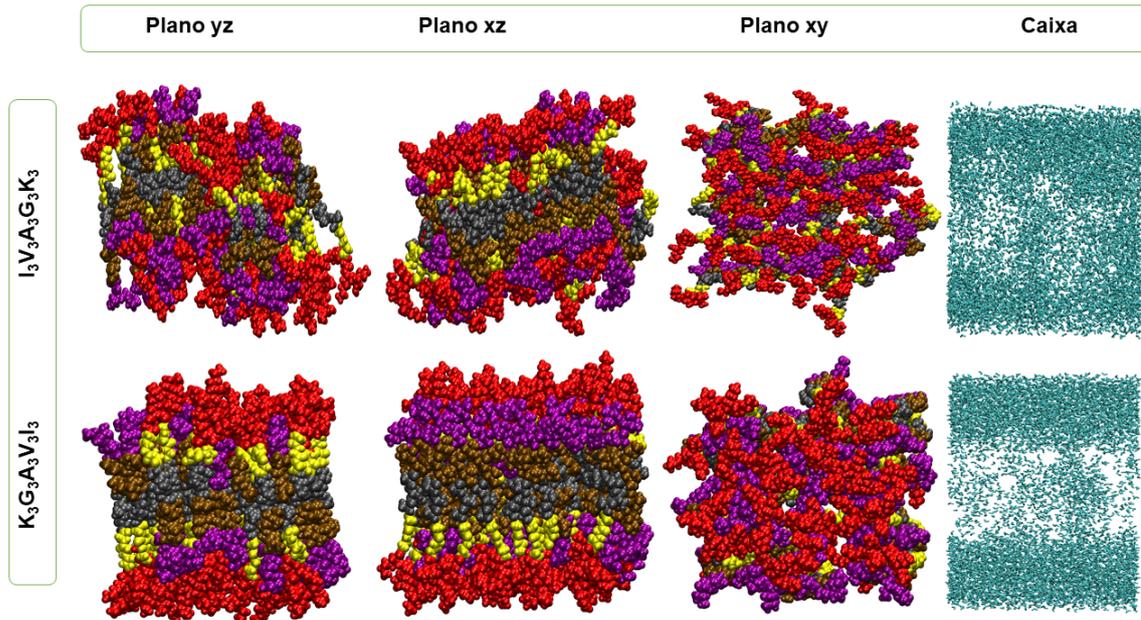


Figura 3.8: Representação dos planos yz , xz e xy das configurações finais das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (acima) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (abaixo). Isoleucina (I), valina (V), alanina (A), glicina (G), lisina (K) e água estão representadas em roxo, amarelo ferrugem, cinza, amarelo, vermelho e azul, respectivamente. Uma vista lateral das caixas de simulação contendo somente o perfil das moléculas de água, no plano yz , após 110 ns de simulação, também, está representada.

Pelos perfis de densidade de massa, ao longo do eixo z , Figura (3.9), também é possível extrair uma estimativa da espessura de cada membrana, utilizando a diferença entre as duas interfaces de separação das nanomembranas com a água. Para obter a espessura média, dividimos a trajetória de DM de 50 ns em 10 blocos com 5 ns cada e para cada um deles, foi determinada a espessura da membrana, calculando a média e o desvio padrão destes valores. As espessuras obtidas para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ foram iguais a $(3,98 \pm 0,56)$ nm e $(4,80 \pm 0,05)$ nm, respectivamente. As espessuras experimentais reportadas por Cao *et. al.* [8] são de $(4,0 \pm 0,5)$ e $(3,9 \pm 0,5)$ nm para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, respectivamente.

Resultados mais precisos para as espessuras das nanomembranas foram calculados por meio do programa *GridMat* [124], que possibilitou a construção de mapas das superfícies das nanomembranas. A superfície de cada membrana foi dividida em partes menores, $I_3V_3A_3G_3K_3$ em 380 (20×19) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ em 320 (20×16) partes, e para cada uma delas a espessura foi calculada. A espessura média obtida utilizando esta abordagem foi de $(3,49 \pm 0,80)$ e $(4,70 \pm 0,54)$ nm para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, respectivamente, em bom acordo com as espessuras obtidas experimentalmente [8]. Os mapas superficiais, apresentados na Figura (3.10), indicam que ambas as nanomembranas possuem superfícies com espessuras irregulares, não uniformes. A nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ possui superfícies com ondulações.

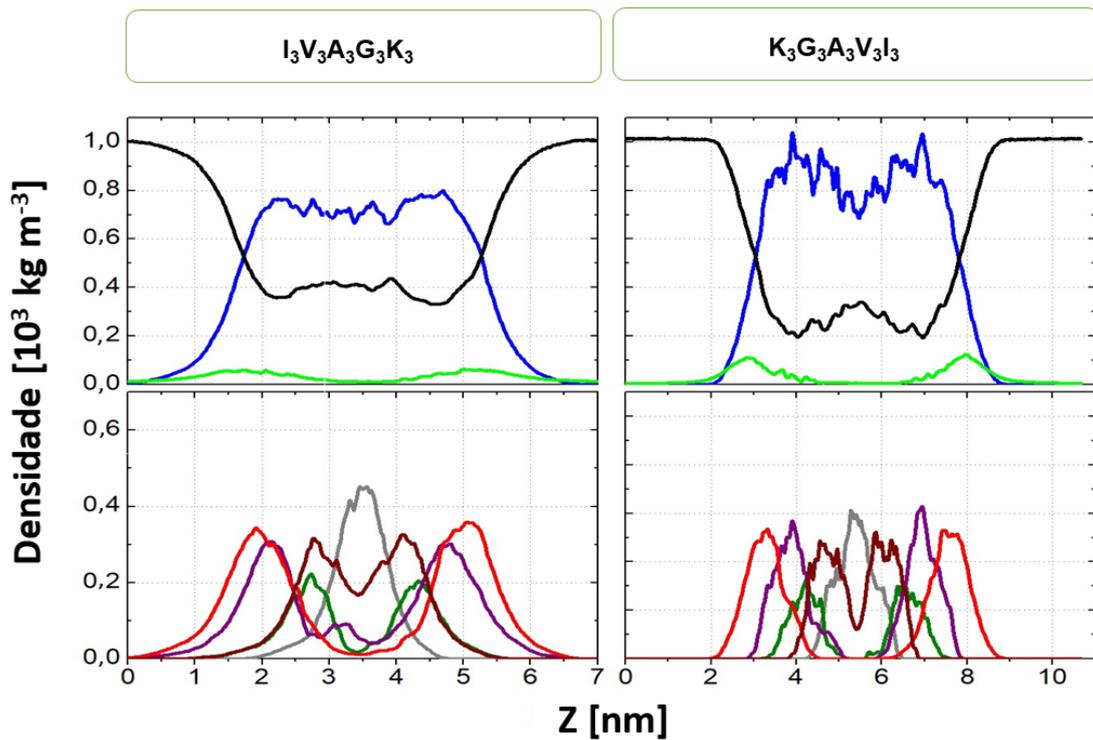


Figura 3.9: Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z (normal à membrana) em 10^3 kg.m^{-3} . Acima, estão representados os sistemas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (à esquerda) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (à direita). Abaixo, estão representados os perfis de densidade de massa para cada resíduo que compõe os sistemas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$. Água, peptídeo, íons cloreto, Isoleucina (I), Valina (V), Alanina (A), Glicina (G), e Lisina (K) estão representados em azul, verde, roxo, vinho, cinza, verde oliva e vermelho, respectivamente.

As áreas superficiais das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ são respectivamente iguais a $39,7 \text{ nm}^2$ e $30,2 \text{ nm}^2$, e, portanto, o número de peptídeos por nm^2 é igual a 1,41 e 1,85 pep/ nm^2 . Na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ os peptídeos ficam mais próximos, e isto indica que nesta membrana as interações entre os peptídeos são maiores que na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ fornecendo, dessa forma, uma menor possibilidade de hidratação devido à compactação da nanomembrana. As densidades superficiais obtidas para as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ são comparáveis com as densidades superficiais obtidas para outros sistemas: as nanomembranas EFL_4FE^7 e RFL_4FR^8 [9] apresentam densidades superficiais de 1,56 e 1,47 pep/ nm^2 ; as nanomembranas A_6K^9 e A_6R^{10} apresentam densidade superficial de 1,96 e 1,85 [26] pep/ nm^2 .

⁷ $EFL_4FE \rightarrow E = \text{glutamato}, F = \text{fenilalanina} \text{ e } L = \text{leucina}.$

⁸ $RFL_4FR \rightarrow R = \text{arginina}, F = \text{fenilalanina} \text{ e } L = \text{leucina}.$

⁹ $A_6K \rightarrow A = \text{alanina} \text{ e } K = \text{lisina}.$

¹⁰ $A_6R \rightarrow A = \text{alanina} \text{ e } R = \text{arginina}.$

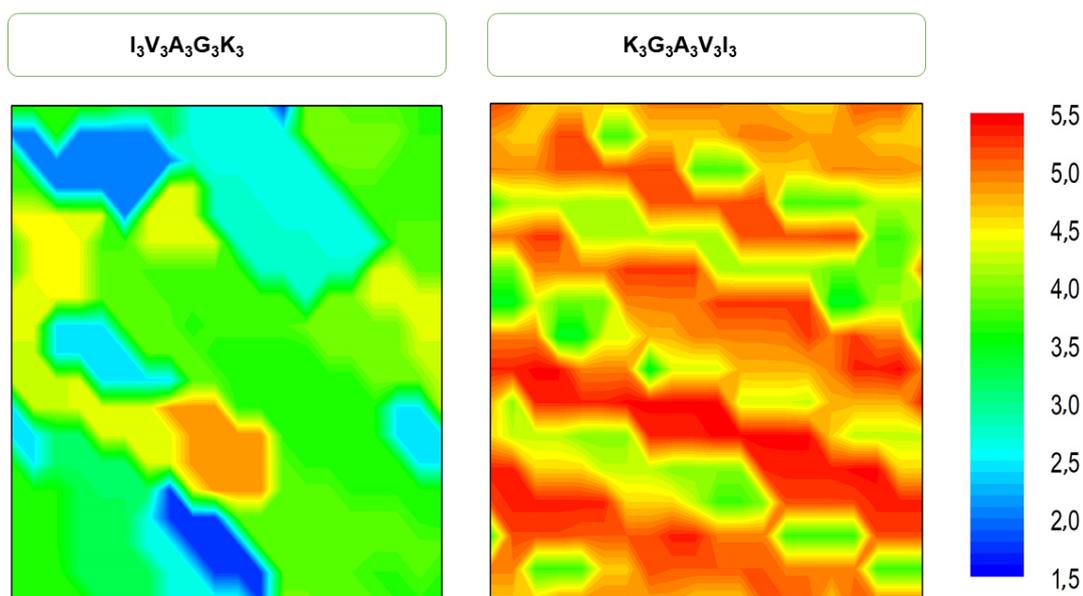


Figura 3.10: Mapas superficiais com as espessuras em vários pontos XY das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (à esquerda) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (à direita). As cores representam as espessuras de 1,5 nm (azul) até 5,5 nm (vermelho).

A organização dos peptídeos nas nanomembranas pode ser analisada por meio da função de distribuição radial de pares, $g(r)$, Figura (3.11). Nesta seção, estão apresentadas as funções de distribuição radial de pares considerando o centro de massa de um peptídeo em relação ao centro de massa de outro.

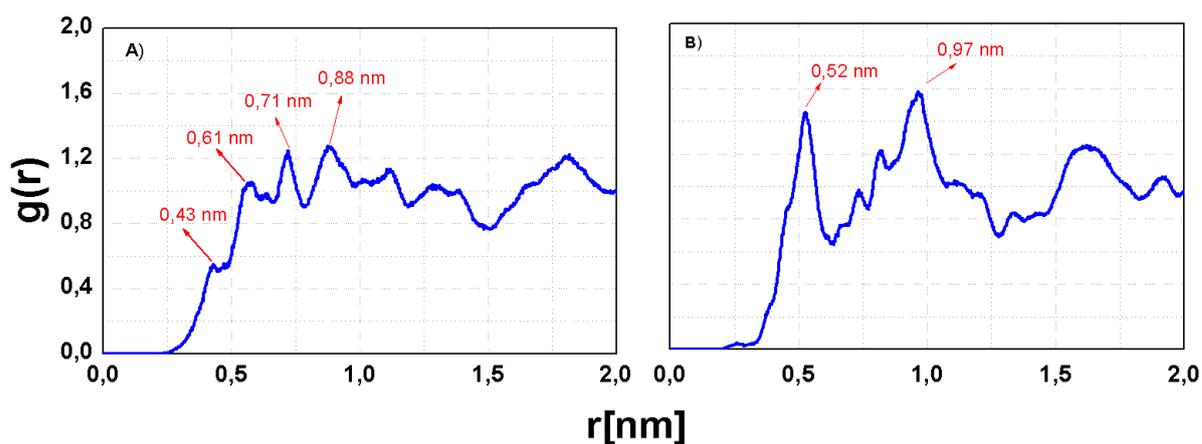


Figura 3.11: Funções de distribuição radial, $g(r)$, entre o centro de massas dos peptídeos para as nanomembranas A) $I_3V_3A_3G_3K_3$ e B) $K_3G_3A_3V_3I_3$. Os átomos de hidrogênio não foram considerados para a obtenção da $g(r)$.

Notamos que para a membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ há o primeiro máximo da $g(r)$ em aproximadamente 0,43 nm, seguido de máximos em 0,61 nm, 0,71 nm e 0,88 nm. Já para a membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ notamos que o primeiro máximo da $g(r)$ ocorre

em 0,52 nm e, posteriormente, outro pico intenso e bem definido em 0,97 nm. É possível notar, observando a $g(r)$, que há estruturas definidas e não somente monômeros agregados sem morfologia ou estrutura (aglomerado amorfo), especialmente para o caso da nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$. Os picos em 0,61 [0,52] nm e 0,88 [0,97] nm nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$] estão relacionados à distância entre as cadeias principais dos peptídeos e à distância entre folhas- β , respectivamente. Estes valores estão em bom acordo com resultados experimentais de Difração de Raio-X (DRX), conduzidos por Cao *et. al.* [8], que reportam distâncias entre as cadeias principais de 0,47 nm e entre folhas- β de 1,05 nm nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$.

3.3.1.2 Ligações de Hidrogênio

O padrão do programa GROMACS identifica uma LH quando a distância d_{OO} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio é $d_{OO} \leq 3,5 \text{ \AA}$ e o ângulo α_{OH-O} é $\leq 30^\circ$. Estes parâmetros foram utilizados para obtenção dos valores apresentados nesta seção.

Resultados anteriores [26], detalham as direções de estabelecimento das LHs. Para as nanomembranas apresentadas neste trabalho, nota-se que as interações ocorrem entre as cadeias principais dos peptídeos, conforme esperado. Ainda, há uma certa tendência de se formar LHs na direção y , uma vez que as estruturas iniciais foram projetadas de maneira que as LHs fossem estabelecidas nesta direção. No entanto, ao longo das simulações, as cadeias laterais não ficaram restritas à direção y , devido à mobilidade dos peptídeos nas nanomembranas e também devido ao tamanho dos peptídeos que apresentam uma torção ao longo de sua cadeia, mudando a direção preferencial das LHs. Deste modo, LHs entre as cadeias principais também foram observadas na direção x . Este resultado indica uma modificação no encaixe dos peptídeos nas direções x e y , especialmente entre as cadeias laterais de folhas- β vizinhas, e pode justificar a grande quantidade de água encontrada no interior das nanomembranas, especialmente na nanomembrana formada por $I_3V_3A_3G_3K_3$. Apesar da hidratação das estruturas, nossos resultados indicam um processo consistente de auto-organização das estruturas, que estabelece um *design* e não um aglomerado amorfo, caracterizando-as como nanomembranas porosas (conforme esperado devido ao tamanho e à torção da cadeia principal dos peptídeos), do tipo hidrogéis.

A Tabela (3.4) apresenta o número médio de LHs realizadas entre os peptídeos, bem como a quantidade de LHs realizadas entre os resíduos e pelos resíduos com as moléculas de água. Para comparação, também realizamos uma análise da diferença entre a quantidade de LHs do peptídeo na conformação de monômero solvatado em água com os peptídeos formando nanomembranas.

A nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ realiza um total de 23,8 LHs/pep com a água enquanto a membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ realiza 20,6 LHs/pep (15,5% menos). Por outro lado, a quantidade de LHs entre os peptídeos (pep-pep) obtida para a membrana

$K_3G_3A_3V_3I_3$ é 29,8% maior que a obtida para a membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ (7,4 e 5,7 LHs/pep, respectivamente). A existência de uma maior quantidade de LHs entre os peptídeos com a água para a membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ corrobora a interpretação de que:

- (i) ocorreu maior hidratação nesta membrana, em acordo com observações experimentais [126] que indicam maior solubilidade de estruturas onde o terminal C está ligado à parte carregada positivamente do peptídeo;
- (ii) há uma melhor organização dos peptídeos na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, sendo esta mais compacta e menos hidratada em seu interior.

No que diz respeito ao número médio de LHs estabelecidas pelos peptídeos com as moléculas de água, notamos que os monômeros realizam maior quantidade de LHs com a água: o monômero $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$] realiza cerca de 73,5% [105,3%] mais LHs com a água que os peptídeos na conformação membranar (em números absolutos os peptídeos $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$] realizam um total de 41,3 [42,3] LHs/pep com a água enquanto as membranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$] realizam 23,8 [20,6] LHs/pep). Conforme esperado, há uma diminuição na quantidade de LHs com a água quando os peptídeos estão formando as nanomembranas, porque, assim, os resíduos hidrofóbicos se escondem formando um núcleo onde não ficam acessíveis para interação com as moléculas de água.

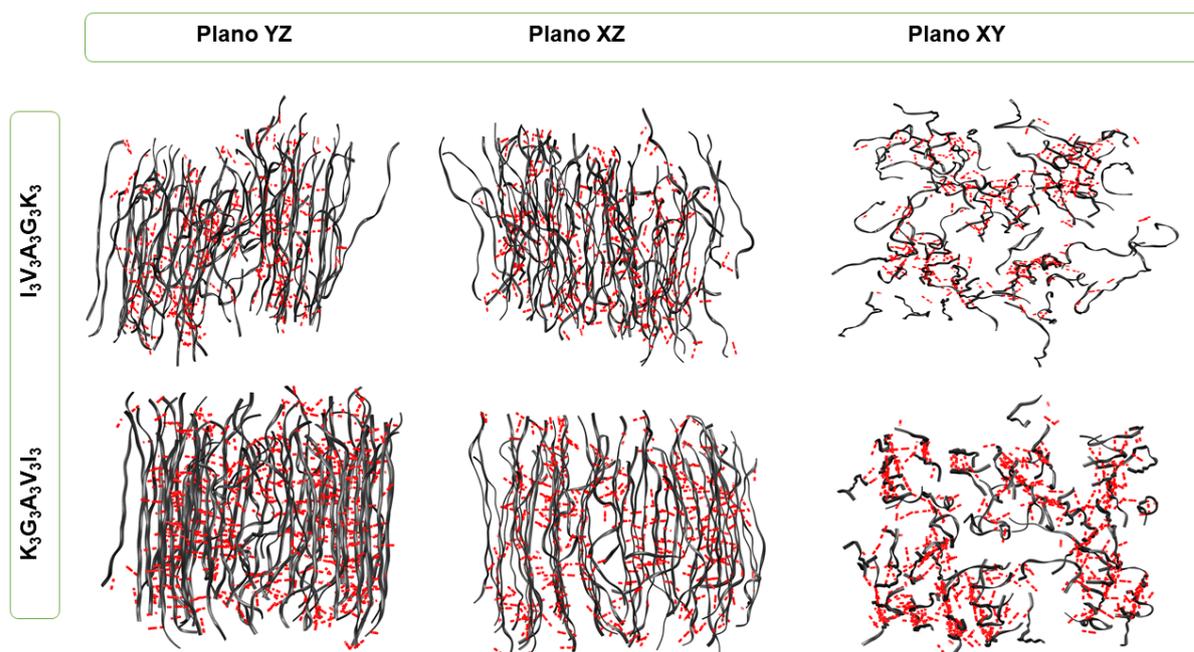


Figura 3.12: Representação das LHs estabelecidas entre os peptídeos das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (acima) e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (abaixo). Os peptídeos estão representados em cinza e as LHs em vermelho. As LHs entre os peptídeos e a água não estão representadas na figura.

Nossos resultados indicam que as LHs com a água são preferencialmente realizadas por resíduos de lisina (K). Na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ ¹¹ a quantidade de LHs da lisina (K) com a água é igual a 9,9 LHs/pep o que corresponde a 41,7% do total de LHs desta membrana com a água. Para ambas as nanomembranas, a lisina (K) aparece preferencialmente na interface membrana-solvente, realizando LHs com as moléculas de água, sugerindo nanomembranas com superfícies definidas, apesar de irregulares. Por outro lado, as menores contribuições para as LHs com a água são atribuídas às ligações entre glicina-água, valina-água e alanina-água, para ambas as nanomembranas. Na nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ o número de LHs destes resíduos (hidrofóbicos) com água é menor que o observado para a membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$, justificando, portanto, que esta membrana seja menos hidratada em seu interior.

Uma primeira explicação para isso pode ser dada considerando a alteração nos ângulos de torção das cadeias principais e laterais dos peptídeos, que possibilitou um melhor encaixe das cadeias laterais dos peptídeos na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, facilitando o estabelecimento de LHs entre os peptídeos. Além disso, há alterações relacionadas às interações de Coulomb e *vdW* que serão tratadas nas seções seguintes. Estas pequenas alterações podem ter permitido que os peptídeos na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ ficassem mais próximos facilitando a formação de LHs entre eles e, assim, dificultando a infiltração das moléculas de água. Observando o balanço entre a quantidade de LHs (e demais interações energéticas), se espera que as nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$ formem estruturas maiores, em condições experimentais. De fato, experimentalmente se observa este comportamento. Cao *et. al.* [8] reportam que as nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$ são ligeiramente mais largas que as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$. Além disso, nossos resultados mostram que a membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ possui um núcleo levemente mais hidrofóbico. Este comportamento foi de fato observado experimentalmente, onde as nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$ apresentaram maior eficiência no encapsulamento e transporte de drogas hidrofóbicas [8]. Esta boa comparação com resultados obtidos experimentalmente valida a metodologia utilizada neste trabalho e se mostra capaz de fazer previsões sobre tipos de nanoestruturas que seriam mais eficientes no encapsulamento de drogas hidrofóbicas.

Por fim, considerando as LHs entre os aminoácidos, notamos que na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ o número médio de LHs entre os resíduos A-A, V-G e I-K corresponde, cada interação, a cerca de 24 – 28% do total de interações entre os peptídeos (igual a 5,7 LHs). Considerando o monômero $I_3V_3A_3G_3K_3$, que forma apenas 0,7 LHs entre os resíduos, notamos que o aumento da interação entre os resíduos de alanina (A-A) na conformação de

¹¹Na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ o número médio de LHs dos resíduos de lisina (K) com a água foi de 10,4 LHs/pep, o que corresponde a 50,4% do total de LHs desta membrana com a água

Tabela 3.4: Número médio de LHs realizadas pelos peptídeos, pelos resíduos entre si e pelos resíduos com a água. Apresentamos também o número de LHs realizadas pelos terminais C e N. As LHs foram normalizadas pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 56. I = isoleucina, V = valina, A = alanina, G = glicina e K = lisina.

	$I_3V_3A_3G_3K_3$ Monômero	$I_3V_3A_3G_3K_3$ Membrana	$K_3G_3A_3V_3I_3$ Monômero	$K_3G_3A_3V_3I_3$ Membrana
Pep-pep	0,7	5,7	0,4	7,4
Pep-água	41,3	23,8	42,3	20,6
Pep- NH_2	0,0	0,3	0,0	0,2
Pep- $COOH$	0,0	0,1	0,0	0,2
K-água	15,6	9,9	15,5	10,4
A-água	6,2	2,5	6,6	1,8
I-água	7,3	4,2	7,4	3,9
G-água	6,3	3,4	6,4	2,7
V-água	5,9	3,3	6,4	1,8
NH_2 -água	1,9	1,2	2,0	1,5
$COOH$ -água	2,5	1,9	2,5	1,6
I-I	0,0	0,1	0,0	0,0
I-V	0,0	0,1	0,0	0,0
I-A	0,0	0,0	0,0	0,0
I-G	0,0	0,1	0,0	1,4
I-K	0,0	1,4	0,0	0,7
V-V	0,0	0,1	0,0	0,0
V-A	0,2	0,1	0,0	2,6
V-G	0,0	1,6	0,0	1,1
V-K	0,0	0,0	0,0	0,0
A-A	0,0	1,6	0,0	0,7
A-G	0,1	0,1	0,1	0,0
A-K	0,1	0,0	0,0	0,0
G-G	0,0	0,1	0,0	0,1
G-K	0,2	0,2	0,2	0,2
K-K	0,0	0,3	0,1	0,5
NH_2 - NH_2	0,0	0,0	0,0	0,0
NH_2 - $COOH$	0,0	0,0	0,0	0,1
$COOH$ - $COOH$	0,0	0,0	0,0	0,0

membrana pode ter sido o principal responsável por manter a estrutura coesa e ordenada. Já para a membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, as maiores contribuições são atribuídas às interações V-A, I-G e V-G, correspondendo a cerca de 15 – 35% do total de LHs entre os peptídeos, igual a 7,4 LHs. Comparando com o monômero $K_3G_3A_3V_3I_3$, onde são formadas apenas 0,4 LHs entre os resíduos, o aumento das LHs entre a V-A mostra que estes resíduos têm papel importante na manutenção da estrutura desta membrana.

3.3.1.3 Interações Coulombianas

A Tabela (3.5) apresenta as energias médias de interação de Coulomb (E_c) estabelecidas entre os peptídeos, pelos resíduos entre si e pelos resíduos com as moléculas de água. Notamos que na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ a atração dos peptídeos com as moléculas de água é cerca de 24% maior que as encontradas nas nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$, -900,41 e -726,08 kJ.mol⁻¹/pep, respectivamente. No que diz respeito às interações entre os peptídeos, as duas nanomembranas apresentam (E_c) próximas, sendo a atração entre os peptídeos apenas 0,47% maior na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$, -4441,04 kJ.mol⁻¹/pep, que na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, -4420,03 kJ.mol⁻¹/pep. Apesar das interações coulombianas entre os peptídeos serem semelhantes, notamos que ocorre uma maior atração das moléculas de água na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$. Os resultados das LHs apresentados anteriormente, mostram que na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ ocorre maior quantidade de LHs entre os peptídeos, criando uma rede de LHs que mantêm os peptídeos ligados dificultando a entrada de moléculas de água. Dessa forma, ressaltamos que as LHs foram as interações que desempenharam papel fundamental na organização dos peptídeos formando nanomembranas, determinando esta diferente interação entre $I_3V_3A_3G_3K_3$ -água e $K_3G_3A_3V_3I_3$ -água.

Conforme esperado, os resíduos de lisina (K) carregados são os que mais contribuem para a interação coulombiana das nanomembranas com as moléculas de água: na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$] a interação da lisina (K) com a água representa 60,0% [64,8%] do total das interações coulombianas das nanomembranas com a água. Dessa forma, este resultado reforça que é a lisina (K) a responsável pela construção das interfaces de separação com as moléculas de água em ambos os modelos. Notamos que a lisina (K) ligada ao terminal C apresenta maior atração com as moléculas de água tanto na conformação de monômero (1,3% maior) quanto na conformação de nanomembranas (12,9% maior), quando comparada à lisina (K) ligada ao terminal N. Este resultado confirma resultados anteriores [126], que indicam maior solubilidade de peptídeos anfifílicos catiônicos formados por resíduo de lisina (K) ligados ao terminal C. Sendo assim, a maior tendência destes resíduos de lisina (K) em interagir com as moléculas de água, juntamente com as diferenças nos ângulos de torção e disposição das cadeias laterais dos resíduos formando os peptídeos, que dificultaram a formação da rede de LHs entre os peptídeos na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$, justificam a maior hidratação desta membrana.

Devido à maior infiltração de moléculas de água, os demais resíduos da membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ possuem uma maior interação com o solvente, quando comparados aos resíduos da membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$. Em ambas as nanomembranas, os resíduos de alanina (A) são os que possuem a menor atração coulombiana com as moléculas de água. Estes resíduos estão posicionados no meio das nanomembranas onde se mantêm escondidos do solvente, ressaltando a formação de núcleos hidrofóbicos em ambas as nanomembranas, o que é confirmado pela drástica redução na atração coulombiana entre a água e os peptídeos

na conformação de nanomembranas em comparação com os peptídeos na conformação de monômero.

Tabela 3.5: Energia média de interação coulombiana (E_c) [em kJ.mol⁻¹/pep] nos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores foram normalizadas pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 56. I = isoleucina, V = valina, A = alanina, G = glicina e K = lisina.

	$I_3V_3A_3G_3K_3$ Monômero	$I_3V_3A_3G_3K_3$ Membrana	$K_3G_3A_3V_3I_3$ Monômero	$K_3G_3A_3V_3I_3$ Membrana
Pep-água	-1582,41	-900,41	-1592,00	-726,08
Pep-pep	-4301,99	-4441,04	-4236,63	-4420,03
Pep- NH_2	-426,75	-443,02	-295,68	-311,50
Pep- $COOH$	-332,98	-341,11	-221,02	-225,25
Pep-Cl ¹⁻	-3,70	-341,64	-3,75	-421,1
K-água	-878,78	-539,63	-867,44	-470,02
A-água	-170,87	-67,03	-177,97	-44,04
I-água	-176,24	-105,29	-182,02	-93,10
G-água	-199,46	-102,22	-203,79	-74,02
V-água	-157,07	-86,24	-160,79	-44,92
NH_2 -água	-45,02	-24,61	-40,40	-23,64
$COOH$ -água	-63,78	-46,79	-63,78	-37,29
I-I	-752,47	-756,40	-653,28	-645,29
I-V	-196,62	-199,31	-198,10	-195,35
I-A	0,02	-0,28	0,00	-0,20
I-G	0,05	-7,35	0,00	-25,79
I-K	-0,15	-32,62	0,11	-24,58
V-V	-465,30	-465,46	-457,67	-467,25
V-A	-162,51	-163,84	-238,01	-270,37
V-G	-1,11	-32,80	-0,05	-33,25
V-K	-0,32	0,31	-0,05	-2,05
A-A	-650,97	-711,00	-654,45	-711,51
A-G	-268,04	-261,96	-125,84	-119,23
A-K	-9,02	-1,49	-2,36	0,02
G-G	-600,06	-625,20	-600,10	-635,11
G-K	-165,06	-155,89	-265,35	-251,36
K-K	-1030,44	-1027,76	-1041,48	-1038,68
NH_2-NH_2	-19,04	-19,1	-19,04	-19,06
NH_2-COOH	0,00	-0,16	0,00	-1,46
$COOH-COOH$	-1,47	-1,71	-1,47	-1,47
A-Cl ¹⁻	-0,02	-1,88	-0,15	-0,70
K-Cl ¹⁻	-3,73	-319,9	-3,49	-388,50
V-Cl ¹⁻	-0,01	-3,54	-0,04	-1,93
G-Cl ¹⁻	-0,14	-7,50	-0,04	-10,04
I-Cl ¹⁻	-0,02	-8,80	-0,02	-19,96

No que diz respeito às interações entre os peptídeos, na membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ a atração coulombiana é mais intensa entre K-K (23,1% do total) e entre os resíduos I-I (17,4%). Na conformação de monômero estas também são as atrações coulombianas mais intensas. Na estrutura $K_3G_3A_3V_3I_3$ membranar, notamos que as interações K-K e I-I cor-

respondem a 23,4% e 14,7%, respectivamente, do total de interações coulombianas. Nesta membrana, no entanto, a atração entre A-A é a segunda mais intensa, correspondendo a 16,2% do total. Comparando as duas estruturas, notamos que na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, além do aumento entre as interações A-A, também ocorre um aumento das interações coulombianas entre A-V. Similarmente, observamos que o número médio de LHs entre A-V foi o maior registrado. Estes resultados indicam que na membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ ocorreu um melhor encaixe lateral dos resíduos de alanina (A) com os resíduos de valina (V), de maneira que pudessem ficar mais próximos, aumentando tanto a atração coulombiana entre estes resíduos quanto a quantidade de LHs.

Observamos que, tanto na conformação de monômero quanto na conformação de nanomembranas, a repulsão entre os resíduos de lisina (K) é ligeiramente maior para a lisina (K) ligada ao terminal C. Logo, os peptídeos com as lisinas (K) ligadas ao terminal C têm menor atração coulombiana com os resíduos de lisina (K) de outros peptídeos vizinhos; em contrapartida, atraem mais fortemente as moléculas de água.

De maneira geral, notamos que as interações coulombianas ocorrem predominantemente entre resíduos iguais (K-K, I-I, A-A, ...) que estão posicionados lado a lado na direção da cadeia lateral dos peptídeos. As interações coulombianas com os íons de cloro ocorrem majoritariamente com os resíduos de lisina (K), conforme esperado, uma vez que os íons de cloro e os resíduos de lisina (K) possuem cargas opostas; e a lisina (K) molda a superfície de separação com o solvente, permitindo, dessa forma, bastante proximidade com os íons de cloro.

3.3.1.4 Interações de van der Waals

As interações de van der Waals (*vdW*) obtidas por meio do potencial de Lennard-Jones (LJ) se encontram apresentadas na Tabela (3.6). São descritas as energias de interação de *vdW* (E_{vdW}) entre os peptídeos, entre os resíduos, dos peptídeos com a água e dos resíduos com a água. Semelhante ao caso das interações coulombianas e LHs, notamos que as interações de *vdW* entre os peptídeos com as moléculas de água é 43,9% maior nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$. Por outro lado, as interações de *vdW* entre os peptídeos são 9,6% menos intensas nestas nanomembranas, em comparação com as nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$. Este resultado reforça que as nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$ são mais estáveis, uma vez que os peptídeos realizam mais LHs entre si e possuem atrações *vdW* mais intensas entre seus peptídeos.

No caso da membrana $I_3V_3A_3G_3K_3$, o resíduo com maior interação com a água é a isoleucina (I), sendo a interação I-água equivalente a 37,0% do total da (E_{vdW}) desta membrana. Já as menores contribuições vêm dos resíduos de glicina (G), sendo a interação G-água equivalente a 10,7% da (E_{vdW}) total entre os peptídeos e a água. No caso da membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ as interações mais [menos] intensas são realizadas pelos resíduos de isoleucina (I) [glicina (G)] com a água, equivalente a 30,6% [9,9%] do total

da (E_{vdW}) entre os peptídeos e a água. Em comparação com os monômeros $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$], nas nanomembranas, notamos uma drástica redução, 62,7% [74,4%], do valor médio da (E_{vdW}) entre os peptídeos e a água, reforçando a tendência de serem formados núcleos escondidos das moléculas do solvente.

Tabela 3.6: Energia média de interação de LJ [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] nos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores foram normalizados pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 56. I = isoleucina, V = valina, A = alanina, G = glicina e K = lisina.

	$I_3V_3A_3G_3K_3$ Monômero	$I_3V_3A_3G_3K_3$ Membrana	$K_3G_3A_3V_3I_3$ Monômero	$K_3G_3A_3V_3I_3$ Membrana
Pep-água	-348,20	-129,78	-352,72	-90,16
Pep-pep	-122,18	-320,98	-120,76	-351,80
Pep- NH_2	-1,81	-4,76	-2,85	-5,01
Pep- $COOH$	-5,40	-10,97	-4,41	-14,65
Pep- Cl^{1-}	0,09	14,26	0,11	19,45
K-água	-52,24	-17,15	-53,04	-21,49
A-água	-58,52	-19,84	-60,17	-12,00
I-água	-107,20	-47,86	-106,14	-27,63
G-água	-45,13	-13,84	-47,09	-9,04
V-água	-85,02	-31,10	-86,19	-19,91
NH_2 -água	-0,16	0,82	-0,42	0,55
$COOH$ -água	-2,94	0,05	-2,44	2,02
I-I	-14,78	-27,61	-18,14	-34,55
I-V	-16,51	-26,07	-16,89	-26,72
I-A	-0,15	-4,36	-0,05	-4,19
I-G	-0,25	-13,00	-0,03	-36,12
I-K	-1,17	-48,99	-0,32	-46,08
V-V	-14,36	-26,56	-14,77	-28,01
V-A	-14,57	-30,12	-11,91	-54,21
V-G	-1,50	-33,07	-1,16	-24,84
V-K	-1,37	-9,38	-1,19	-2,39
A-A	-8,86	-33,65	-9,36	-26,55
A-G	-7,50	-11,32	-7,74	-7,72
A-K	-1,64	-0,96	-1,52	-0,24
G-G	-2,71	-6,92	-2,75	-7,34
G-K	-11,59	-12,68	-8,61	-11,63
K-K	-25,20	-36,28	-26,29	-41,16
NH_2-NH_2	0,00	-0,01	0,00	-0,04
NH_2-COOH	0,00	-0,18	0,00	-0,01
$COOH-COOH$	0,00	-0,09	0,00	-0,15
A- Cl^{1-}	0,00	-0,33	-0,02	-0,17
K- Cl^{1-}	0,16	18,83	0,18	20,98
V- Cl^{1-}	0,00	-0,88	-0,02	-0,55
G- Cl^{1-}	-0,01	-0,50	-0,02	0,07
I- Cl^{1-}	-0,01	-2,86	-0,02	-0,88

As energias de interação (E_{vdW}) entre os peptídeos são mais atrativas entre os resíduos I-K [V-A] nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$], correspondendo a

15,3% [15,4%] do total de (E_{vdW}) entre os peptídeos.

Verificamos, como no caso das (E_c) e do número das LHs, que as interações entre os resíduos de alanina (A) e valina (V) foram essenciais na estabilidade da membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, que apresenta melhor organização estrutural e menor infiltração de moléculas de água. Em geral, a energia de interação de LJ, entre os peptídeos e os átomos de cloro é consideravelmente pequena, exceto para a interação com os resíduos de lisina (K), onde devido à grande atração coulombiana com estes resíduos, os íons de cloro ficam muito próximos a eles, ocasionando uma maior repulsão.

3.3.1.5 Momento de Dipolo

Notamos que a inversão das sequências peptídicas primárias altera a distribuição de cargas das moléculas, conforme ressaltado pelos valores dos momentos de dipolo total nos monômeros $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, Tabela (3.7). Comparando os dois monômeros, notamos que o peptídeo $K_3G_3A_3V_3I_3$, o qual possui a lisina (K) ligada ao terminal N, é mais polar. Observamos que as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ [$K_3G_3A_3V_3I_3$] possuem momento de dipolo total 24,3% [26,2%] maior que seus respectivos monômeros. Dessa forma, observa-se que o efeito coletivo da distribuição de cargas nos peptídeos organizados formando as nanomembranas leva ao aumento do momento de dipolo total.

Tabela 3.7: Momento de dipolo total [em Debye] dos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores apresentados foram obtidos classicamente utilizando as cargas do campo de forças CHARMM36.

MD	Monômero	Membrana
$I_3V_3A_3G_3K_3$	210,3	261,3
$K_3G_3A_3V_3I_3$	240,7	303,8

3.3.2 Nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ

Nesta seção, discutiremos os resultados obtidos para as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ . Por meio dos perfis de densidade de massa, dos mapas de superfícies das membranas e da distribuição radial de pares, $g(r)$, realizamos uma análise estrutural das nanomembranas. Em seguida, apresentamos e discutimos os valores médios das LHs e das energias de interações de Coulomb (E_c) e de van der Waals (E_{vdW}), com finalidade de realizar uma análise energética das nanoestruturas, que poderiam auxiliar no desenvolvimento de aplicações envolvendo estas propriedades.

3.3.2.1 Resultados estruturais e perfis de densidade

As Figuras (3.13) e (3.15) mostram as configurações finais das nanomembranas peptídicas A_6H_ϵ e A_6H_δ . Após um tempo total de simulação DM de 110 ns, as dimensões

das caixas de simulação das nanomembranas A_6H_ϵ [A_6H_δ] apresentaram apenas uma pequena variação em relação às configurações iniciais - uma diminuição de 0,19 nm [aumento de 0,02 nm] na direção x ; uma diminuição de 0,21 nm [aumento de 0,03 nm] na direção y . De maneira geral, notamos que as nanomembranas permanecem bem estruturadas após o processo de simulação, indicando que as configurações iniciais foram bastante adequadas.

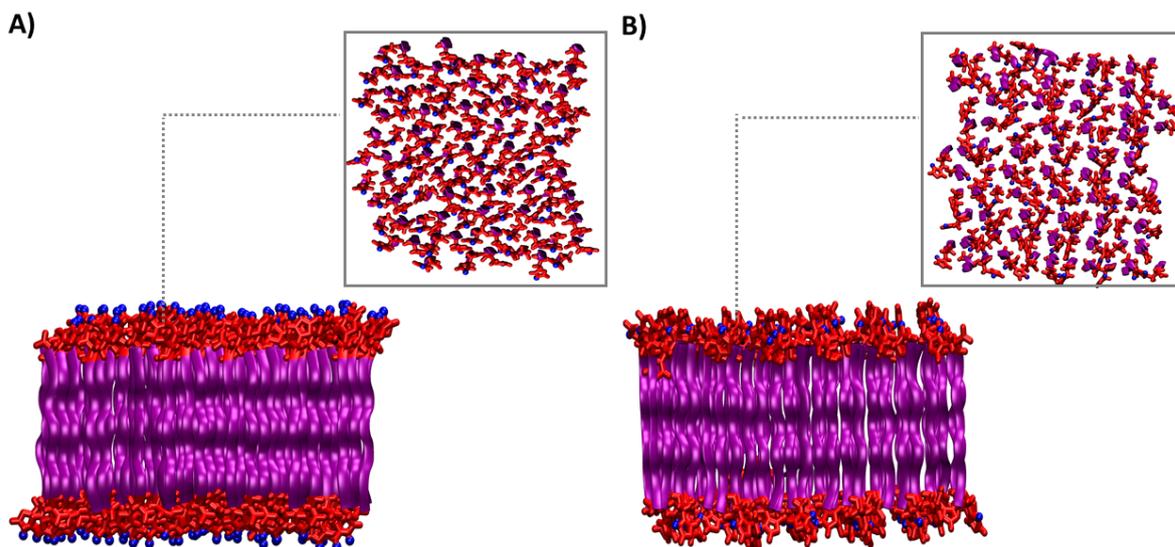


Figura 3.13: Vistas lateral (plano xz) e frontal (plano xy) das configurações finais (após 110 ns de simulações de DM) das nanomembranas A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ . Alanina (A) e histidina (H) estão representadas em roxo e vermelho, respectivamente. Os átomos de hidrogênio ligados ao anel aromático no nitrogênio épsilon (H_ϵ), ou no nitrogênio delta (H_δ) estão marcados em azul.

As interfaces de separação entre as nanomembranas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ e as moléculas de água foram analisadas utilizando os perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , Figura (3.14). Em ambos os sistemas, interfaces bem definidas de separação das nanomembranas com a água foram observadas, com superfícies formadas basicamente por resíduos de histidina (H). Apenas uma pequena quantidade de moléculas de água foi encontrada no interior das nanomembranas, indicando a formação de núcleos pouco hidratados. Este resultado é esperado, devido à hidrofobicidade do resíduo de alanina (A). É importante notar que nas nanomembranas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ ocorre menor infiltração de água que nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$. As nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ também possuem caudas formadas por resíduos hidrofóbicos¹², mas o encaixe das cadeias laterais das nanoestruturas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ é mais justo e isso propicia uma maior interação entre os peptídeos e reduz a interação com as moléculas de água, ressaltando,

¹²Inclusive os resíduos de valina (V) e isoleucina (I) são mais hidrofóbicos que os resíduos de alanina (A)

dessa forma, a importância dos efeitos estéricos na manutenção das estruturas do tipo nanomembranas.

Este resultado pode ser verificado observando o número de pep/nm², Tabela (3.2), onde notamos que esta propriedade é bastante superior nas nanomembranas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ (entre 3,45 e 3,47 pep/nm²) em comparação com as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ (entre 1,41 e 1,86 pep/nm²), Tabela (3.1). Sendo assim, as nanomembranas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ são boas candidatas a serem utilizadas como nanocarregadores de drogas hidrofóbicas, uma vez que em seus núcleos há pouca penetração de moléculas de água e o encaixe firme das cadeias laterais dos peptídeos pode possibilitar o aprisionamento de drogas com esta propriedade em seus interiores.

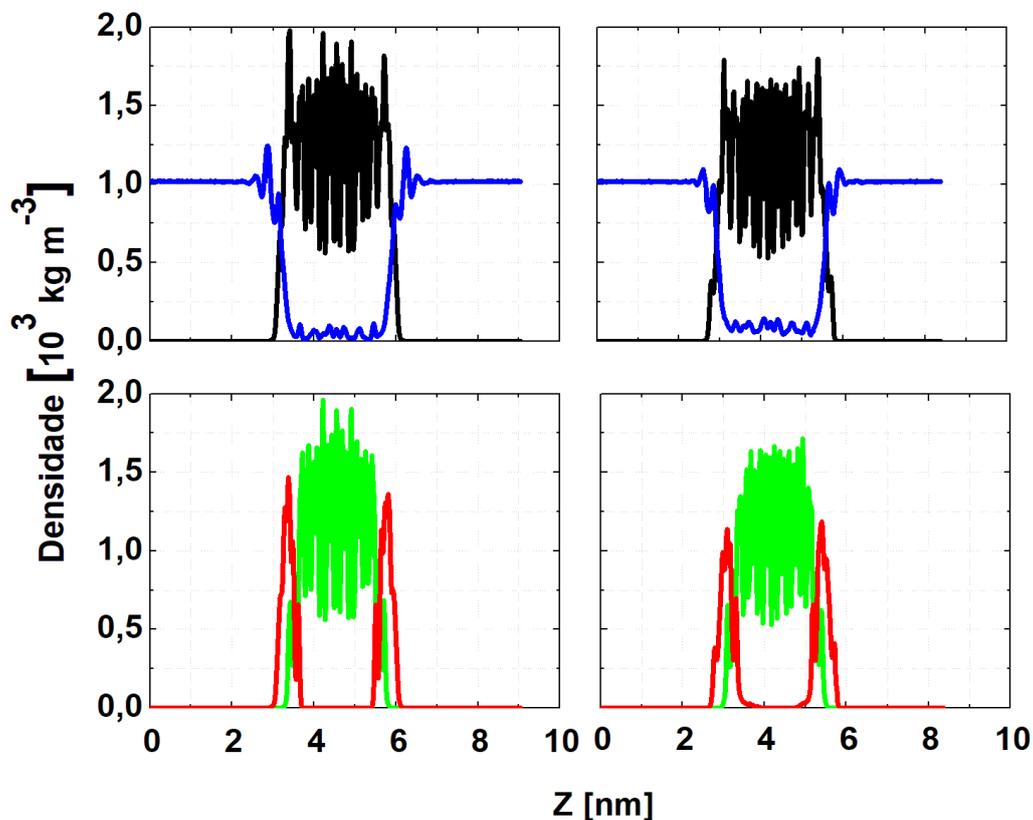


Figura 3.14: Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z (normal à superfície da membrana) em 10^3 kg.m^{-3} . Acima, nanomembranas A_6H_ϵ (à esquerda) e A_6H_δ (à direita) – peptídeos e água estão marcados em azul e preto, respectivamente. Abaixo cada resíduo composto o peptídeo – alanina (A) e histidina (H) estão representados em verde e vermelho, respectivamente.

Nas estruturas iniciais, as moléculas de água foram colocadas de forma aleatória, inclusive ocasionando posicionamento até no interior das nanomembranas. No entanto, observando as estruturas finais, notamos que canais preferenciais para a passagem da água foram formados, conforme Figura (3.15). Além disso, notamos que a passagem de água

pelas nanomembranas não levou à ruptura das suas estruturas. Os canais estabelecidos podem, inclusive, ter contribuído para a estabilidade das nanomembranas, mediando ligações do tipo LHs entre peptídeo-água-peptídeo.

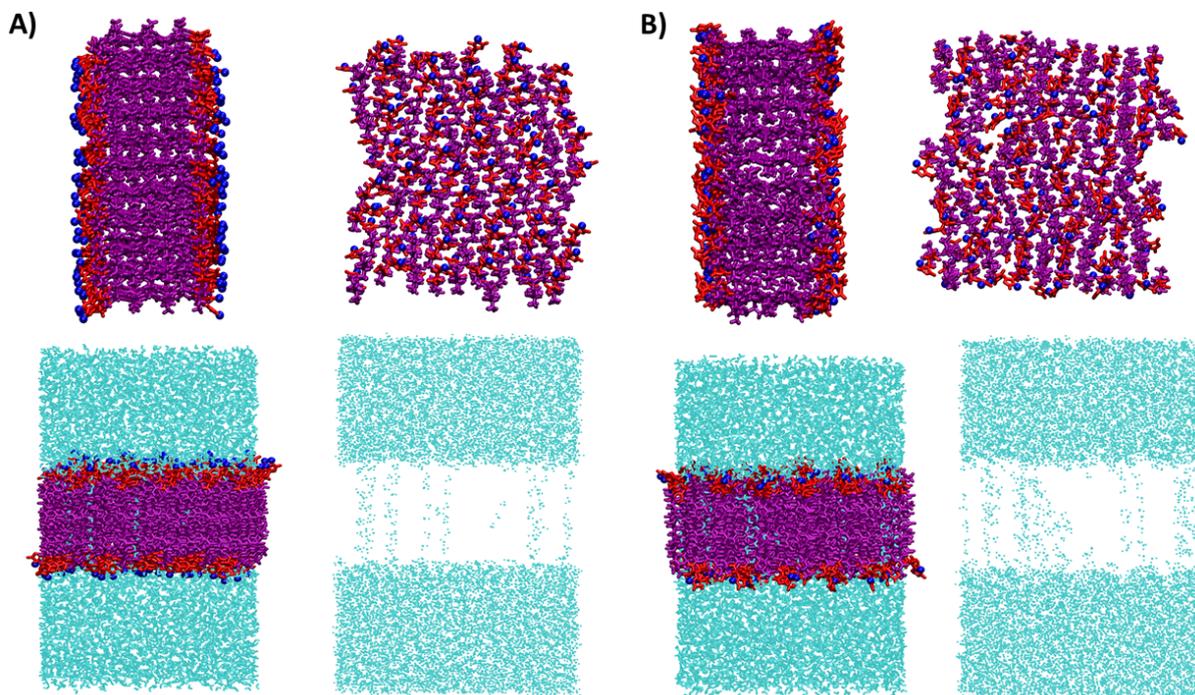


Figura 3.15: Estruturas termodinamicamente equilibradas das nanomembranas A_6H_ϵ e B) A_6H_δ após 110 ns de simulação de DM. A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ vistas frontal (plano xy), lateral (plano xz) e da região preenchida com água. Alanina (A) e histidina (H) estão representadas em roxo e vermelho, respectivamente.

A partir dos perfis de densidade de massa, Figura (3.14), extraímos as espessuras das nanomembranas, utilizando a diferença entre as duas interfaces de separação de cada membrana com as moléculas de água. Os valores obtidos foram de 2,7 nm e 2,6 nm para as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ , respectivamente. As espessuras das nanomembranas também foram obtidas por meio do mapeamento de suas superfícies, utilizando o programa *GridMat* [124]. Para cada membrana, a partir dos últimos 5 ns da trajetória termodinamicamente equilibrada, dez configurações foram selecionadas (uma, a cada 0,5 ns). Então, para cada configuração, a superfície das nanomembranas foi dividida em 380 (20×19) partes, e para cada uma delas a espessura foi calculada. O mapa da espessura média de cada membrana está apresentado na Figura (3.16). Os valores médios das espessuras foram de $2,30 \pm 0,04$ e $2,30 \pm 0,06$ nm para as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ , respectivamente. Os mapas indicam que as nanomembranas possuem espessuras bastante uniformes e têm superfícies muito regulares, principalmente a membrana A_6H_ϵ ; em ambas as nanomembranas a espessura varia menos que 0,6 nm ao longo da superfície. Notamos uma pequena diferença na espessura obtida por meio dos perfis de densidade e pelo programa *GridMat*, esta diferença é esperada uma vez que o mapeamento em vários

pontos (xy) fornece valores mais precisos.

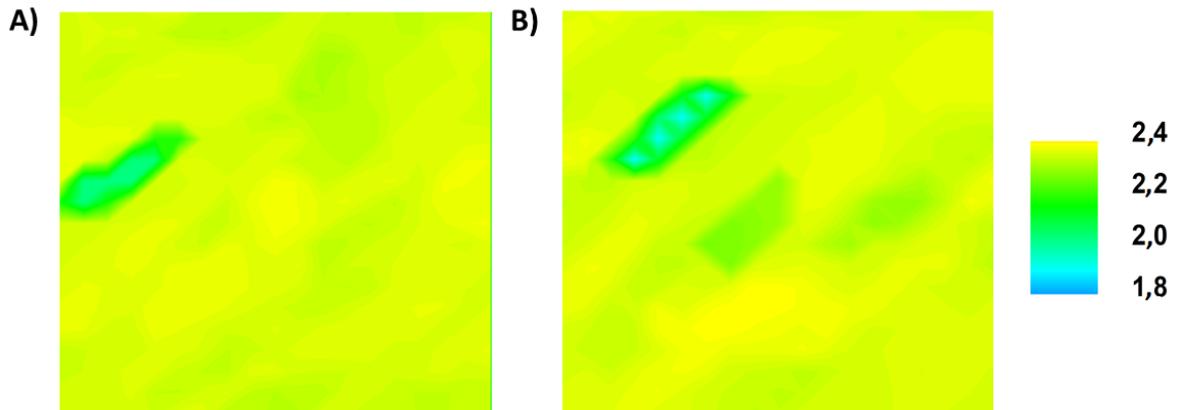


Figura 3.16: Mapas superficiais das nanomembranas com as espessuras calculadas em vários pontos do plano (xy). A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ . As cores representando as espessuras variam de 1,8 nm (azul) até 2,4 nm (amarelo).

Castelletto *et. al.* [105], demonstra que a espessura estimada de um peptídeo de A_6H , em uma conformação de folhas- β antiparalelas, é de 2,38 nm. Já uma bicamada (semelhante a uma bicamada lipídica) formada por moléculas A_6H teria uma espessura de 4,76 nm. No entanto, resultados experimentais [105], indicam espessuras de aproximadamente 3,3 nm para a membrana A_6H em solução aquosa (e de 1,97 nm em solução de $ZnCl^{2+}$). Este resultado sugere que as nanomembranas são formadas por bicamadas de A_6H , mas com os resíduos de alanina (A) entrelaçados formando núcleos hidrofóbicos e com os resíduos de histidina (H) expostos à água. As espessuras das nanomembranas obtidas por meio das simulações de DM foram inferiores às reportadas experimentalmente, de aproximadamente 3,3 nm [105]. Uma explicação para a diferença entre os resultados teóricos e experimentais pode ser discutida ressaltando que nas configurações iniciais utilizadas nas simulações de DM, os dímeros foram construídos com uma pequena separação vertical entre o último resíduo de alanina (A) de um monômero e o resíduo de histidina (H) do outro monômero, Figura (3.5). Um ligeiro aumento na separação vertical entre os monômeros na constituição dos dímeros não alteraria de forma significativa a estrutura das nanomembranas, como demonstrado em [66] e levaria aos valores de espessuras reportados experimentalmente. Assim, nossos resultados confirmam que ocorre a formação de bicamadas e que os resíduos de alanina (A) ficam entrelaçados formando núcleos hidrofóbicos.

As FDRP, $g(r)$, dos centros de massa dos peptídeos das nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ estão representadas na Figura (3.17). Os resultados de FDRP são usualmente determinados por meio do cálculo da distância entre todos os pares de partículas, agrupando-os em um histograma, ver Seção (2.6.3.1). Neste trabalho, a FDRP foi calculada para um peptídeo $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ em relação a outro peptídeo $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$.

A $g(r)$ revela detalhes da organização dos peptídeos $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ ao redor uns dos outros, formando as nanomembranas. A partir da Figura (3.17), notamos que a $g(r)$ tem valor nulo até aproximadamente 0,42 nm [0,43 nm] para as nanomembranas A_6H_ϵ [A_6H_δ], indicando que até esta distância a força de repulsão de *vdW* entre os peptídeos é muito alta e esta seria a distância máxima de aproximação dos peptídeos. Em seguida um rápido crescimento ocorre e a $g(r)$ atinge um valor máximo em aproximadamente 0,45 nm [0,48 nm] para as nanomembranas A_6H_ϵ [A_6H_δ], indicando que a probabilidade de encontrar uma molécula $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ neste raio seria maior. Em seguida, a $g(r)$ decresce rapidamente e atinge um valor mínimo local em aproximadamente 0,48 nm [0,52 nm]. Os picos intensos e estreitos indicam que camadas bastante organizadas foram formadas. O máximo do segundo pico para a membrana A_6H_ϵ [A_6H_δ] ocorre em 0,50 [0,56] nm. Na membrana A_6H_ϵ , o pico máximo é o terceiro e ocorre em aproximadamente 0,57 nm. As $g(r)$ para ambas as nanomembranas apresentam picos bem definidos até cerca de 2,5 nm indicando que estas nanomembranas são de fato bastante organizadas, apresentando características de estruturas laminares; onde os peptídeos são unidos entre as cadeias principais por meio de LHs formando folhas- β , as quais se encaixam lateralmente formando estruturas do tipo lâminas empilhadas.

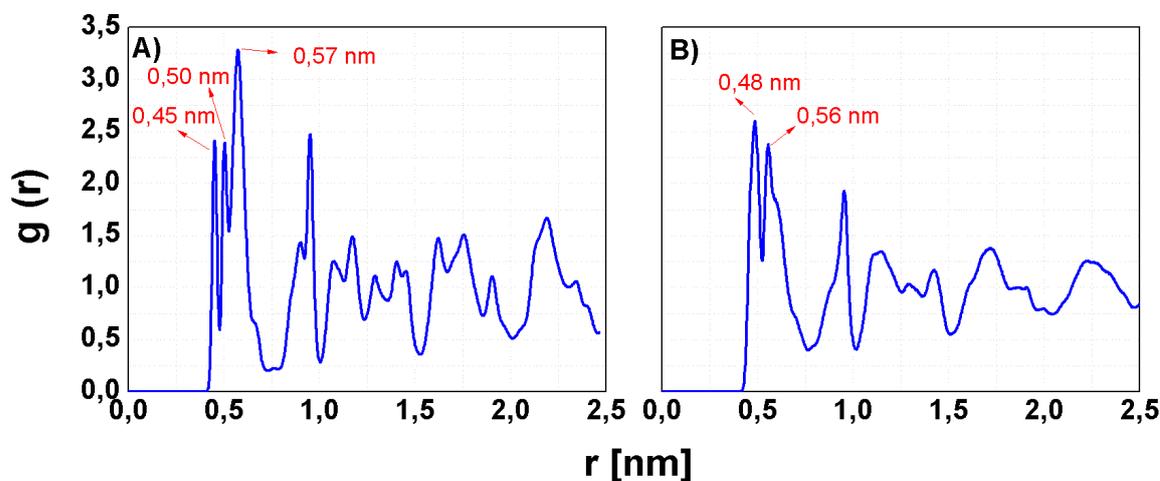


Figura 3.17: Funções de Distribuição Radial de Pares (FDRP) entre peptídeos (pep-pep) para as nanomembranas A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ ; e entre os peptídeos e a água para as nanomembranas C) A_6H_ϵ e D) A_6H_δ .

Experimentos de Difração de Raio-X (DRX) conduzidos por Castelletto *et. al.* [105], reportam que a distância entre duas folhas- β é de 0,54 nm enquanto a distância entre duas cadeias principais de peptídeos seria de 0,44 nm nas nanomembranas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$. Assim, a distância de 0,44 nm pode estar relacionada com as cadeias principais dos peptídeos que estão ligadas predominantemente por LHs. Este valor pode ser relacionado com o primeiro pico das $g(r)$ das nanomembranas estudadas no presente trabalho. Conforme mencionado, os picos de $g(r)$ ocorrem em aproximadamente 0,45 e 0,48 nm

para as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ , respectivamente. Assim, os resultados obtidos por meio das simulações de DM são consistentes com valores de DRX [105]. Além disso, outros trabalhos experimentais indicam que $\approx 0,48$ nm é a distância entre as cadeias principais de peptídeos ligados por LHs entre os grupos amina e carboxila em estruturas do tipo *cross- β* [127–130], confirmando que os resultados obtidos neste trabalho são consistentes com dados largamente encontrados na literatura. Já os picos em 0,57 nm e 0,56 nm encontrados nas nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ estão relacionados à distância entre as cadeias laterais dos peptídeos. De forma geral, os resultados de $g(r)$ indicam que os peptídeos estão organizados em camadas regulares formando as nanomembranas (estruturas de lâminas). Este comportamento também pode ser observado pelos perfis de densidade de massa ao longo dos eixos x e y , ver Figura (B.1), na Seção B.1, Apêndice (B).

3.3.2.2 Ligações de Hidrogênio

A Tabela (3.8) contém o número médio de LHs realizadas pelos peptídeos, bem como o número de LHs realizadas pelos resíduos entre si e pelos resíduos com a água, nas conformações de monômeros e nanomembranas.

Tabela 3.8: Número médio de LHs entre peptídeos (pep-pep), entre os resíduos (A) e (H) e pelos resíduos (A) e (H) com as moléculas de água. O número médio de LHs foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 100. As LHs foram calculadas considerando que existe uma LH quando a distância d_{OO} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio é $d_{OO} \leq 3,5\text{Å}$ e o ângulo α_{OHO} ($OH \cdots O$) é $\alpha_{OHO} \leq 30^\circ$.

	A_6H_ϵ Monômero	A_6H_ϵ Membrana	A_6H_δ Monômero	A_6H_δ Membrana
Pep-pep	0,1	7,1	0,1	7,0
Pep-água	25,5	7,6	25,4	8,7
A-água	15,1	2,4	14,9	3,3
H-água	10,4	5,2	10,5	5,4
A-A	0,1	4,3	0,0	4,0
A-H	0,0	2,7	0,1	2,3
H-H	0,0	0,0	0,0	0,7

A membrana composta por A_6H_ϵ realiza cerca de 7,6 LHs/pep com as moléculas de água, enquanto na membrana composta por A_6H_δ este valor é de 8,7 LHs/pep. Estes resultados indicam que a membrana composta por A_6H_δ é ligeiramente mais interagente com a água que a membrana composta por A_6H_ϵ . Tal comportamento também pode ser observado pela quantidade de moléculas de água no interior das nanomembranas, veja Figura (3.15). Por outro lado, a quantidade de LHs entre os peptídeos (pep-pep) nas duas nanomembranas possui praticamente o mesmo valor, 7,1 e 7,0, nas nanomembranas compostas por A_6H_ϵ e A_6H_δ , respectivamente.

Nossos resultados demonstram a clara preferência do resíduo de histidina em interagir com as moléculas de água e, além disso, indicam uma diferença em como os resíduos de histidina (H) estão expostos à água nas duas nanomembranas. Esta diferença de exposição da histidina (H) altera a quantidade de água no interior das nanomembranas. Resultados anteriores expostos por Bermúdez *et. al.* [119] mostram que, de acordo com o átomo de nitrogênio livre (sem a presença do átomo de hidrogênio) no anel aromático, diferentes conformações da histidina (H) são possíveis. Quando o átomo de nitrogênio na posição δ do anel aromático está livre (se trata da configuração H_ϵ apresentada no presente trabalho, na qual há um átomo de hidrogênio na posição ϵ) ele tende a estabelecer LHs com o átomo de hidrogênio do grupo amina do mesmo resíduo de histidina (H) [119]. Na configuração apresentada neste trabalho, quando o átomo de nitrogênio na posição δ está livre (ou seja, se trata da configuração A_6H_ϵ deste trabalho), ele não estabelece LHs com o grupo amina da mesma histidina (H), ou de uma histidina vizinha, mas sim com átomos de hidrogênio do grupo amina de alaninas (A) vizinhas e, por isso, a interação A-H é ligeiramente maior. Nesta conformação, a histidina (H) fica ligeiramente menos inclinada (mais normal à superfície) e possibilita um melhor encaixe das alaninas. Já na configuração A_6H_δ , o átomo de nitrogênio livre tende a interagir com átomos de histidinas (H) vizinhas e, assim, ocorre maior número médio de LHs entre os resíduos H-H nesta estrutura. Sendo assim, observamos que na membrana composta por A_6H_ϵ , a forma como a histidina (H) se expõe ao meio solvente e o melhor encaixe das alaninas, reduz a interação da nanomembrana A_6H_ϵ com as moléculas de água¹³. Esta característica estrutural implica em uma melhor organização dos peptídeos, maior número de LHs entre resíduos de alanina, A-A, e dos resíduos de alanina (A) com os resíduos de histidina (H), A-H, e, conseqüentemente, diminui a hidratação da membrana A_6H_ϵ .

A diferença na forma como os resíduos de histidina (H) se expõem às moléculas de água também é confirmada por meio de cálculos teóricos de GIAO-DFT-NMR [67] realizados por nós, que demonstram variações nas constantes de blindagem magnética dos átomos da histidina (H) nas nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ . Estes resultados são importantes porque indicam que pode haver diferença na eficiência de quelação de íons metálicos pelo anel aromático de acordo com a posição em que os átomos de hidrogênio se ligam nele, como de fato ocorre, com base nos dados experimentais, como reportado por Castelletto *et. al.* [105].

Comparando a quantidade de LHs realizada entre os resíduos pelos monômeros (0,1 LHs/pep para ambos os monômeros) e pelas nanomembranas (7,1 e 7,0 LHs/pep para

¹³A interação com a água é menor quando os átomos de hidrogênio estão expostos na superfície das membranas, em comparação com quando são os átomos de nitrogênio expostos a ela.

as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ , respectivamente), notamos que nas nanomembranas a quantidade é bastante superior. Por outro lado, a quantidade de LHs com a água nas nanomembranas é bastante inferior à observada para os monômeros. Estes resultados indicam que ocorre a formação de núcleos hidrofóbicos bem caracterizados, como é esperado, uma vez que o resíduo de alanina (A) é hidrofóbico e tende a ficar escondido da água. Ressaltamos que os resultados indicam que os resíduos se escondem da água em uma forma estrutural bem definida, do tipo nanomembranar, devido a um processo consistente de auto-organização das nanoestruturas, que estabelece um *design* e não somente aglomerados amorfos.

Conforme esperado, os resíduos de histidina (H) apresentam maior interação com as moléculas de água e formam uma superfície membranar bem definida. As LHs envolvendo os resíduos A-A e A-H são as mais elevadas nas membranas. Essa observação ressalta a importância dos resíduos de alanina (A) para a manutenção da estrutura da membrana. Para a membrana composta por A_6H_ϵ , o número de LHs entre A-A [A-H] é cerca de 7,5 % [17,4 %] maior que nas nanomembranas compostas por A_6H_δ , indicando, novamente, que esta membrana tende a possuir um núcleo ligeiramente menos hidratado.

De forma geral, nossos resultados indicam que ambas as nanomembranas são boas candidatas para encapsulamento e transporte de drogas hidrofóbicas, uma vez que nelas há baixa hidratação e um encaixe mais justo das cadeias laterais dos peptídeos.

Resultados anteriores [42], mostram que na formação de uma membrana, as LHs são as interações responsáveis por ligarem as cadeias principais dos peptídeos formando folhas- β e as interações hidrofóbicas são as responsáveis por estabelecer as interações laterais entre as folhas- β vizinhas, por meio de efeitos hidrofóbicos e estéricos. Então, as LHs são de essencial importância na manutenção da estrutura de uma membrana peptídica, especialmente devido ao caráter direcional que elas possuem [42, 65, 106, 131].

Para as nanomembranas A_6H_ϵ ou δ , também notamos que as LHs se estabelecem preferencialmente em uma mesma direção, direção y , conforme Figura (3.18). Em algumas configurações da trajetória, há pequenas regiões onde não ocorrem LHs entre as cadeias principais dos peptídeos, e mesmo assim a estrutura membranar permanece intacta; a dinâmica completa do movimento da estrutura pode mostrar que estas lacunas, ou “falhas” na rede de LHs, não ocorrem permanentemente, ou mesmo podem explicar a formação de canais preferenciais para passagem de moléculas de água, conforme descrito anteriormente.

Uma análise complementar é feita por meio de funções de autocorrelação das LHs, que fornece o tempo de vida das LHs. De forma simplificada, a função de autocorrelação indica a probabilidade de uma LH existir (permanecer intacta) em um tempo (t), sabendo que ela estava intacta no tempo t_0 [99]. A Figura (3.19) mostra a função de autocorrelação das LHs, $C(t)$, em função do tempo, entre os peptídeos (pep-pep) e dos peptídeos com a água (pep-água) para as nanomembranas $A_6H_{(\epsilon)}$ e $A_6H_{(\delta)}$.

Após 2,5 ns, cerca de 86% [79%] das LHs entre os peptídeos (pep-pep) ainda

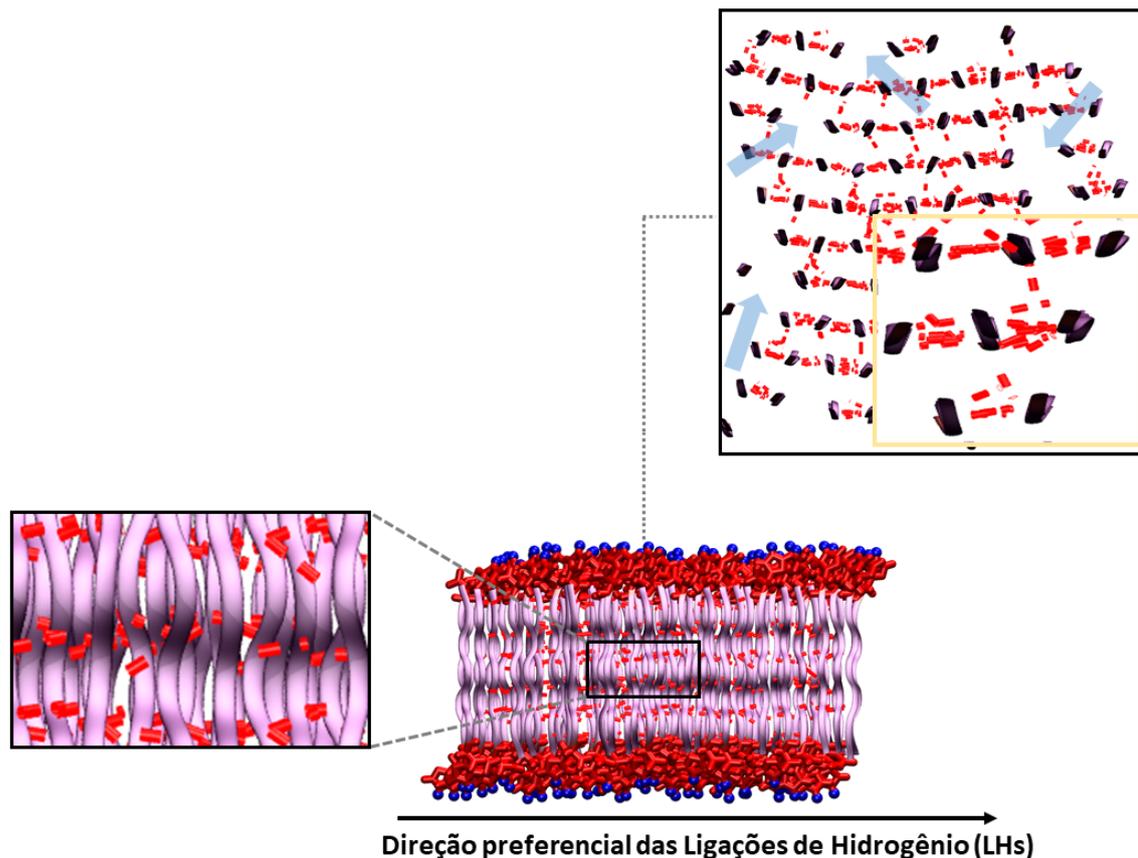


Figura 3.18: Representação das LHs na membrana A_6H_ϵ , simulada no *ensemble* NPT. Nota-se que há uma direção preferencial para o estabelecimento das LHs. As LHs entre os peptídeos e as moléculas de água não estão representadas. As setas em azul indicam regiões onde há lacunas, ou “falhas”, na rede de LHs para a configuração selecionada.

existem na membrana A_6H_ϵ [A_6H_δ]. Considerando as interações com a água, após aproximadamente 0,8 ns [0,4 ns], apenas 20% [20 %] do total de LHs com a água ainda existe para as nanoestruturas A_6H_ϵ [A_6H_δ]. Então, as funções de autocorrelação indicam que as LHs na membrana A_6H_δ permanecem ativas por menos tempo entre os resíduos e entre os resíduos e as moléculas de água. Isto indica que esta membrana é, de fato, ligeiramente mais porosa e que a forma de exposição dos resíduos de histidina (H) caracteriza a membrana, atribuindo à ela uma maior hidratação, o que indica uma maior possibilidade de uso para transporte de drogas hidrofóbicas.

Nos sistemas $A_6H_{(\epsilon \text{ ou } \delta)}$ foram realizados cálculos de Mecânica Quântica no nível GIAO-DFT-NMR e TD-DFT para obtenção teórica de propriedades espectroscópicas dos peptídeos em água e dos peptídeos no interior de nanomembranas solvatadas. No entanto, a discussão destes resultados foge ao escopo da presente tese. Mais detalhes podem ser encontrados no artigo publicado, ver referência [67].

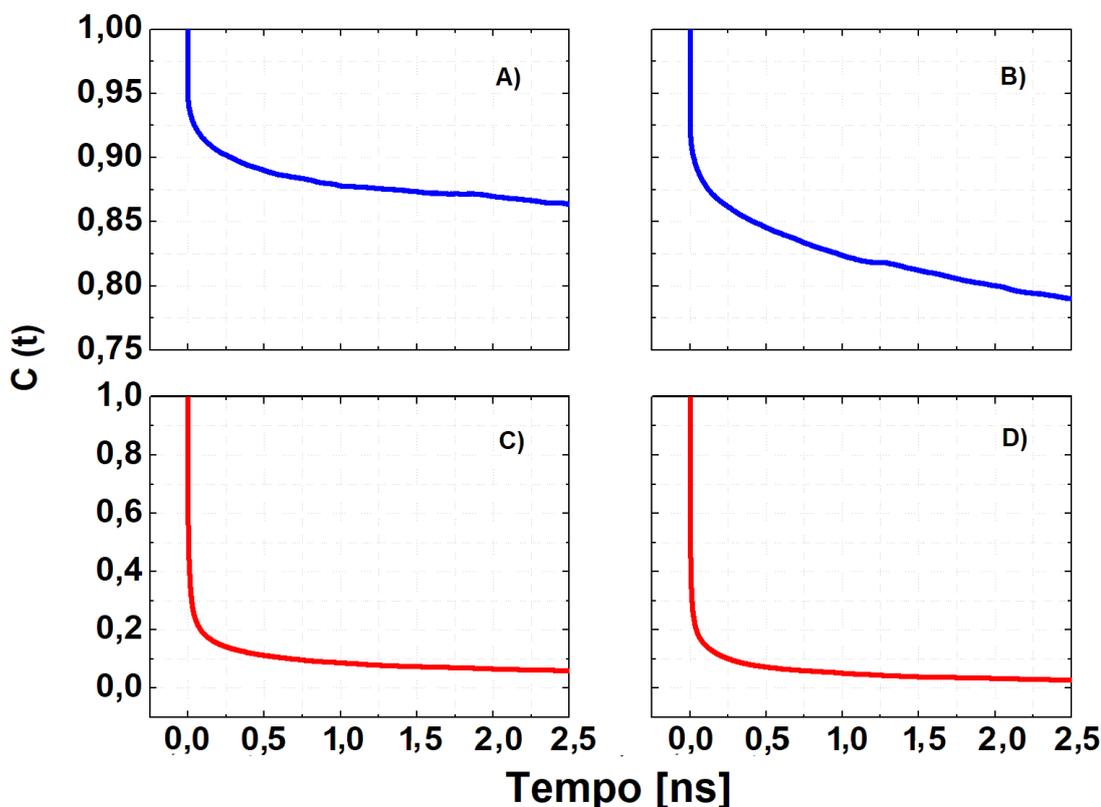


Figura 3.19: Funções de autocorrelação $C(t)$ das LHs entre A) A_6H_ϵ e B) A_6H_δ , e entre os peptídeos e a água para as nanomembranas C) A_6H_ϵ e D) A_6H_δ .

3.3.2.3 Interações Coulombianas

A energia de interação coulombiana entre os peptídeos, dos resíduos entre si e dos resíduos com as moléculas de água para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanomembranas estão apresentadas na Tabela (3.9). Os resultados refletem os valores médios convergidos extraídos de simulações de DM atomísticas: foram analisadas 25.000 configurações em equilíbrio termodinâmico.

Na membrana A_6H_δ , a atração coulombiana com o meio solvente é 14,9% maior que a encontrada na membrana A_6H_ϵ , $-358,8 \text{ kJ.mol}^{-1}/\text{pep}$ e $-312,2 \text{ kJ.mol}^{-1}/\text{pep}$, respectivamente. Esta diferença se deve principalmente à maior atração entre os resíduos de alanina (A) e as moléculas de água na membrana A_6H_δ , ressaltando que nela ocorreu maior infiltração de moléculas de solvente. Conforme esperado, em ambas as nanomembranas, os resíduos de histidina (H) são os que apresentam maior interação coulombiana com as moléculas de água (68,0% e 60,4% do total da interação coulombiana com o meio solvente é realizada pelos resíduos de histidina (H) nas nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ , respectivamente), indicando que superfícies membranares bem definidas e com elevada taxa de hidratação foram formadas.

Tabela 3.9: Energia média de interação coulombiana [em kJ.mol⁻¹/pep] para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 100. Pep = peptídeo; A = alanina e H = histidina.

	A_6H_ϵ Monômero	A_6H_ϵ Membrana	A_6H_δ Monômero	A_6H_δ Membrana
Pep-pep	-2325,8	-2707,8	-2339,1	-2688,3
Pep-água	-1079,2	-312,2	-1068,7	-358,8
A-água	-558,2	-90,3	-556,5	-142,0
H-água	-521,0	-222,3	-512,2	-216,7
A-A	-1748,8	-1878,3	-1747,9	-1869,4
A-H	-194,3	-419,9	-198,5	-382,2
H-H	-382,7	-409,6	-394,7	-436,7

A energia total devida às interações coulombianas entre os peptídeos nas duas nanomembranas possui valores semelhantes, sendo a atração entre os peptídeos na membrana A_6H_ϵ apenas 0,72% maior. As interações coulombianas entre os resíduos de alanina (A-A) são as mais intensas em ambas as nanomembranas. Essa observação ressalta a importância dos resíduos de alanina (A) para a manutenção da estrutura destas nanomembranas. Para a membrana composta por A_6H_ϵ , a atração coulombiana entre A-A [A-H] é cerca de 0,5% [9,0%] maior que na nanomembrana formada por A_6H_δ . Assim como no caso das LHs, observamos que na nanomembrana composta por A_6H_ϵ , a histidina (H) tende a interagir mais fortemente com os resíduos de alanina (A) dos peptídeos vizinhos. Ao interagirem com os resíduos de alanina vizinhos, os resíduos de histidina (H) ficam mais alinhados, o que possibilita uma maior interação entre os resíduos de alanina (A). Apesar da interação coulombiana entre os resíduos de alanina (A) ser semelhante nas duas nanomembranas, um número maior de LHs é estabelecido entre os resíduos de alanina (A) na nanomembrana composta por A_6H_ϵ , contribuindo para que ela possua uma melhor organização entre seus peptídeos e um núcleo menos hidratado.

Na conformação de monômeros, os peptídeos A_6H_ϵ e A_6H_δ possuem energia de interação coulombiana semelhante tanto para as interações entre os peptídeos (pep-pep) quanto para as interações com o solvente (pep-água). Notamos que ocorre um ligeiro [drástica] aumento [diminuição] das interações coulombianas entre os peptídeos [com as moléculas de água] quando passam da conformação de monômeros para nanomembranas. Este resultado é esperado, uma vez que os resíduos de alanina (A) são hidrofóbicos e tendem a esconder das moléculas de água formando aglomerados ordenados ou auto-organizáveis como é o caso de estruturas membranares.

3.3.2.4 Interações de vdW

A energia de interação de vdW , calculada utilizando o potencial de LJ, entre os peptídeos, pelos resíduos entre si e pelos resíduos com as moléculas de água para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanomembranas estão apresentadas na Tabela (3.10).

Na nanomembrana composta por A_6H_ϵ [A_6H_δ], a energia de interação vdW (E_{vdW}) entre os peptídeos e as moléculas de água é cerca de $0,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ [$-4,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$]. Logo, na membrana A_6H_ϵ , a E_{vdW} dos peptídeos com a água é ligeiramente repulsiva o que indica que as moléculas de água tendem a se aproximar dos resíduos de histidina (H) e alanina (A) dispostos próximos à superfície das nanomembranas, chegando a uma distância onde o potencial de LJ se torna, em média, repulsivo. O encaixe dos resíduos de alanina (A) é muito justo na membrana composta por A_6H_ϵ , de maneira que as moléculas de água que penetram na membrana ficam posicionadas muito próximas aos resíduos de alanina (A) no interior das nanomembranas.

As E_{vdW} entre os peptídeos são 8,9% mais intensas na nanomembrana composta por A_6H_ϵ . Entre os peptídeos, as E_{vdW} mais intensas são devidas às interações A-A e A-H. Na membrana A_6H_ϵ a atração entre os resíduos A-A é 7,2% mais intensa que na nanomembrana composta por A_6H_δ . Logo, na nanomembrana composta por A_6H_ϵ , tanto as interações coulombianas, quanto as interações de vdW e o número de LHs entre os peptídeos, é mais intensa, ressaltando que a forma como o resíduo de histidina (H_ϵ) se expõe às moléculas de água nesta nanomembrana, possibilita um melhor encaixe dos peptídeos levando a uma estrutura mais estável, no computo da energia total.

Tabela 3.10: Energia média de interação vdW [em $\text{kJ.mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 100. Pep = peptídeo; A = alanina e H = histidina.

	A_6H_ϵ Monômero	A_6H_ϵ Membrana	A_6H_δ Monômero	A_6H_δ Membrana
Pep-pep	-39,9	-172,6	-41,8	-158,5
Pep-água	-111,1	0,5	-108,3	-4,1
A-água	-104,2	0,3	-102,5	-2,5
H-água	-6,9	0,2	-5,7	-1,6
A-A	-25,9	-138,4	-26,1	-128,5
A-H	-9,3	-18,2	-11,7	-20,4
H-H	-4,7	-16,0	-3,9	-9,5

Notamos que na conformação de nanomembranas a interação vdW entre os peptídeos aumenta 332,6% [279,2%] em comparação com os peptídeos na conformação de monômero, principalmente devido ao aumento das interações vdW entre os resíduos A-A. Por outro lado, ocorre uma diminuição drástica na interação de vdW dos peptídeos com a água na conformação de membrana. Resultado semelhante também foi encontrado

para o caso das interações coulombianas e no número de LHs, cuja explicação se deve à hidrofobicidade dos resíduos de alanina (A).

3.3.2.5 Momento de Dipolo

A Tabela (3.11) apresenta o momento de dipolo total dos monômeros e das nanomembranas. Notamos que o monômero A_6H_ϵ é ligeiramente mais polar que o monômero A_6H_δ . Dessa forma, notamos que a alteração da posição de apenas um átomo da molécula, modifica a distribuição de cargas nos peptídeos e, conforme apresentado nas Seção (3.3.2.1), leva à estruturas com características distintas. Observamos que as nanomembranas A_6H_ϵ [A_6H_δ] possuem momento de dipolo total 19,1% [28,2%] maior que seus respectivos monômeros. Dessa forma, o efeito coletivo da distribuição de cargas nos peptídeos organizados formando as nanomembranas leva ao aumento do momento de dipolo total, de maneira semelhante ao verificado nos sistemas $I_3V_3A_3K_3G_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, Seção (3.3.1.5).

Tabela 3.11: Momento de dipolo total [em Debye] dos sistemas formados pelos peptídeos na conformação de monômeros e nanomembranas. Os valores apresentados foram obtidos classicamente utilizando as cargas do campo de forças CHARMM36.

MD	Monômero	Membrana
A_6H_ϵ	88,8	105,8
A_6H_δ	85,2	109,2

3.3.3 Nanomembranas I_3XGK

Nesta seção, discutiremos os resultados obtidos para as nanomembranas I_3XGK . Por meio dos perfis de densidade de massa, dos mapas de superfícies das membranas e da distribuição radial de pares, $g(r)$, realizamos uma análise estrutural das nanomembranas. Em seguida, apresentamos e discutimos os valores médios das LHs, as funções de correlação temporal das LHS, as energias de interações de Coulomb (E_c) e de van der Waals (E_{vdW}), com finalidade de realizar uma análise energética das nanoestruturas.

3.3.3.1 Resultados estruturais e perfis de densidade

As Figuras (3.20) e (B.3), no Apêndice (B), mostram as configurações finais das nanomembranas peptídicas do tipo I_3XGK . De maneira geral, foi observada uma clara distinção entre o ambiente aquoso e as nanomembranas, as quais permaneceram bem estruturadas após 110 ns de simulação de DM. Esta observação, indica que nossas estruturas iniciais foram bastante adequadas, com os peptídeos organizados de maneira meticulosa, propiciando a formação de LHs (e também interações Coulombianas e vdW), que são as principais responsáveis pela manutenção de uma estrutura auto-organizável.

Portanto, nossos resultados indicam configurações que podem, de fato, ocorrer em uma situação experimental.

Conforme abordado anteriormente, as nanomembranas foram modeladas de maneira que as cadeias laterais dos peptídeos (na direção x) tivessem a menor distância possível, para que a formação de LHs entre os resíduos polares fosse facilitada nas configurações iniciais. Esta forma de modelagem levou à formação de nanomembranas com superfícies onduladas, mas com as características para a observação dos zíperes polares. Este comportamento ondulado se manteve nas nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$ após 110 ns de simulação de DM. Houve, inclusive, um aumento da ondulação na nanomembrana $I_3\mathbf{Q}GK$. Nas demais nanomembranas, o caráter ondulado diminuiu, e praticamente desapareceu na nanomembrana $I_3\mathbf{N}GK$. Acreditamos que o aparecimento ou não do comportamento ondulado está relacionado à forma como os resíduos de lisina (K) se ajustam quando expostos à água e pela forma como as interações polares e hidrofóbicas acontecem no interior das nanomembranas.

As dimensões finais das caixas de simulação permaneceram praticamente inalteradas, em comparação com as dimensões iniciais. Houve uma variação, Δx e $\Delta y < 0,3$ nm, e uma diminuição na direção z ($\Delta z < 0,4$ nm) nos sistemas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$. Na direção z , as nanomembranas $I_3\mathbf{S}GK$ e $I_3\mathbf{G}GK$ apresentaram um decréscimo ligeiramente maior, ($\Delta z \approx 0,7$ nm). Estes resultados, juntamente com a energia potencial dos sistemas, Seções (3.3.3.3) e (3.3.3.4), reforçam a existência de sistemas termodinamicamente equilibrados.

Notamos que a área ocupada por cada peptídeo nas nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ varia entre 0,47 e 0,55 nm²/pep, dependendo de qual aminoácido está na posição \mathbf{X} , veja a Tabela (3.3). A nanomembrana $I_3\mathbf{L}GK$ tem a maior área por peptídeo. Esta característica estrutural juntamente com a FDRP permite compreender por que houve maior hidratação nesta nanomembrana, conforme será apresentado a seguir.

Em nosso trabalho anterior [65], observamos que as nanomembranas do tipo $K_3G_3A_3V_3I_3$ [$I_3V_3A_3G_3K_3$] apresentam uma área média de ocupação de cerca de 0,54 [0,71] nm²/pep. Os valores da área média de ocupação foram obtidos realizando a divisão entre a área superficial das membranas pelo número de peptídeos presentes nela. Sendo assim, a nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ apresenta uma área de ocupação similar à encontradas nas nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$. Já a nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ apresenta uma área média de ocupação maior (até 51 %) que a encontrada nas nanomembranas do tipo $I_3\mathbf{X}GK$. Por outro lado, nas nanomembranas A_6H a área média de ocupação é de cerca de 0,29 nm²/pep, o que representa um percentual até 47 % menor, em comparação com as nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$. Outros trabalhos na literatura reportam que

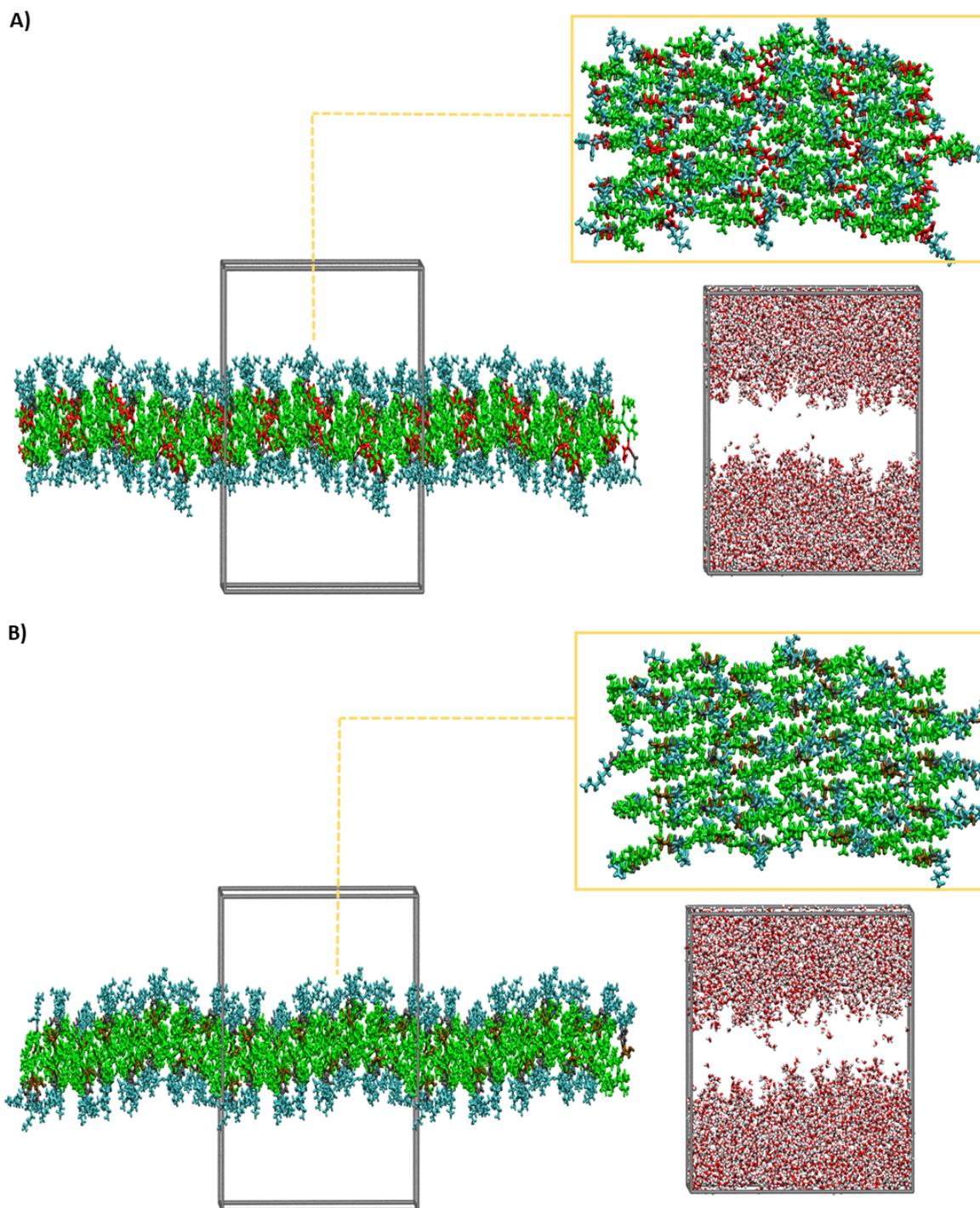


Figura 3.20: Vistas lateral e superficial das configurações equilibradas das nanomembranas A) I_3NGK e B) I_3SGK , bem como suas respectivas caixas de simulação com as moléculas de água em destaque. Nota-se que a forma membranar é mantida após um longo processo de simulações MD. Isoleucina (I), glicina (G), lisina (K), asparagina (N) e serina (S) estão mostrados em verde, cinza, azul-claro, vermelho e ferrugem, respectivamente. As estruturas finais das demais nanomembranas estão apresentadas na Figura (B.3), no Apêndice (B).

as nanomembranas A_3K_c ¹⁴ e A_3K_t ¹⁵ [42] possuem áreas por peptídeo iguais a 0,22 e 0,34 nm²/pep, respectivamente; Já nas nanomembranas A_6R ¹⁶ [66] a área por peptídeo varia entre 0,30-0,25 nm²/pep; A área por peptídeo das nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ é menor que as encontradas em algumas membranas lipídicas – resultados experimentais reportam valores entre 0,718 e 0,820 nm²/DOPC [132, 133], para membranas lipídicas à temperaturas de 298 K. Estes resultados indicam que nas nanomembranas peptídicas, as partículas estão mais próximas entre si, possivelmente, devido às LHs. Assim, mesmo que os lipídios e os SLPs se assemelhem por possuírem regiões hidrofóbicas e hidrofílicas bem definidas, as membranas resultantes possuem características estruturais distintas.

As interfaces formadas entre as nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ e as moléculas de água foram analisadas utilizando os perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , Figura (B.4), no Apêndice (B). O perfil de densidade de massa para cada resíduo das nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ está representado na Figura (B.5), no Apêndice (B). A superfície de todas as nanomembranas consiste em resíduos de lisinas (K) carregadas expostas à água. Uma pequena quantidade de moléculas de água foi encontrada no interior das nanomembranas, indicando a formação de núcleos pouco hidratados. A quantidade de água encontrada nestas nanoestruturas foi menor que nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$.

Uma maior hidratação foi encontrada no interior das nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$ e $I_3\mathbf{LGK}$, especialmente para esta última há maior hidratação mesmo a leucina (L) sendo um resíduo hidrofóbico. Conforme apresentado na Tabela (3.3), a nanomembrana $I_3\mathbf{LGK}$ tem a maior área por peptídeo, portanto, neste sistema, os peptídeos estão menos empacotados. Uma forma de observar a distribuição dos peptídeos nas nanomembranas é por meio da FDRP, $g(r)$, a qual indica que existe uma organização menos regular dos peptídeos na nanomembrana $I_3\mathbf{LGK}$, veja Figura (3.23). Ainda, os perfis de densidade de massa ao longo dos eixos x e y , Figuras (B.7) e (B.6), mostram que o espaçamento entre os peptídeos nesta nanomembrana é maior que nas outras, o que poderia explicar a ocorrência de maior hidratação, ou mesmo uma maior probabilidade de criação de canais de hidratação. Resultados experimentais indicam que peptídeos curtos (*short-peptides*) com presença de leucina (L) tendem a formar hélices- α ou conformações aleatórias [134]. Para que nanoestruturas membranares sejam estabilizadas, folhas- β devem ser formadas. Portanto, a baixa tendência do resíduo de leucina (L) em formar folhas- β pode ter

¹⁴ A_3K_c → nanomembranas constituídas por peptídeos inclinados, compostos por 6 alaninas (A_6) e uma lisina (K).

¹⁵ A_3K_t → nanomembranas constituídas por peptídeos intercalados paralelamente, compostos por 6 alaninas (A_6) e uma lisina (K).

¹⁶ A_6R → A = alanina e R = arginina.

dificultado a manutenção da forma membranar, permitindo esta maior hidratação, que por sua vez pode desconfigurar a estrutura membranar.

A partir dos perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , Figura (B.4), no Apêndice (B), notamos que os resíduos de lisina (K) e isoleucina (I) têm picos menos definidos (se espalham por uma região maior) nas nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$. Os perfis de densidade também indicam que a maior hidratação ocorreu nestas duas nanomembranas. Além disso, pelos perfis de densidade ao longo z , podemos analisar a distribuição dos íons Cl^{1-} ao longo da caixa de simulação. Vemos que os íons Cl^{1-} estão preferencialmente próximos das superfícies das nanomembranas (onde há resíduos de lisina (K) carregados). Nas nanomembranas $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$ e $I_3\mathbf{G}GK$, os íons Cl^{1-} ficam restritos às superfícies das nanomembranas, penetrando apenas cerca de 0,5 nm adentro da estrutura. Já nas nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$, os íons penetram em toda a estrutura, sendo possível encontrar íons Cl^{1-} até próximo do centro delas.

Também pelos perfis de densidade de massas ao longo do eixo z , nós determinamos as espessuras das nanomembranas, por meio da diferença das duas interfaces, entre o meio aquoso e as nanomembranas. Os valores obtidos foram de 2,2 nm, 2,0 nm, 2,1 nm, 2,1 nm, e 2,0 nm, para as nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$, respectivamente. Para obter resultados mais precisos, as espessuras das nanomembranas também foram determinadas mapeando as suas superfícies, Figura (3.21).

Para isto, as nanomembranas foram divididas em 200 (10×20) partes, e para cada uma delas as espessuras foram calculadas utilizando o programa *GridMAT* [124]. Os valores médios das espessuras das nanomembranas foram $1,9 \pm 0,3$ nm, $1,9 \pm 0,2$ nm, $1,9 \pm 0,1$ nm, $1,8 \pm 0,1$ nm, e $1,8 \pm 0,4$ nm, para as nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$, respectivamente. Nota-se que as superfícies de todas as nanomembranas são razoavelmente homogêneas, especialmente as das nanomembranas $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$ e $I_3\mathbf{G}GK$. Esta observação também é relatada por dados experimentais [106]. Resultados experimentais [106] indicam espessuras próximas de 3,8 nm para a nanomembrana $I_3\mathbf{Q}GK$, esta nanomembrana também teria espessuras de 7,6 nm e 11,5 nm, o que sugere haver nanomembranas sobrepostas em camadas. Para as nanomembranas $I_3\mathbf{S}GK$ [$I_3\mathbf{N}GK$] há relatos de espessuras próximas de 3,8 [3,2] nm, mas sem relatos de observações de empilhamentos de nanomembranas [106]. Para as nanomembranas $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$ os dados experimentais [106] demonstram foco em formações do tipo nanofibras, no entanto, a formação do tipo nanomembrana não pode ser descartada e, por este motivo, foi estudada. Além disso, nanofibras podem ser formadas a partir de nanomembranas [135].

Notamos que as espessuras obtidas pelas simulações de DM possuem valores distantes dos reportados experimentalmente. Sabemos que um monômero $I_3\mathbf{Q}GK$ tem um comprimento aproximado de 2,5 nm. Neste trabalho, o dímero construído pelo encaixe de um monômero no outro utilizando o deslocamento de um resíduo, tem comprimento aproximado de 2,8 nm, Figura (3.3). Esta estrutura, como vimos, possibilita interações

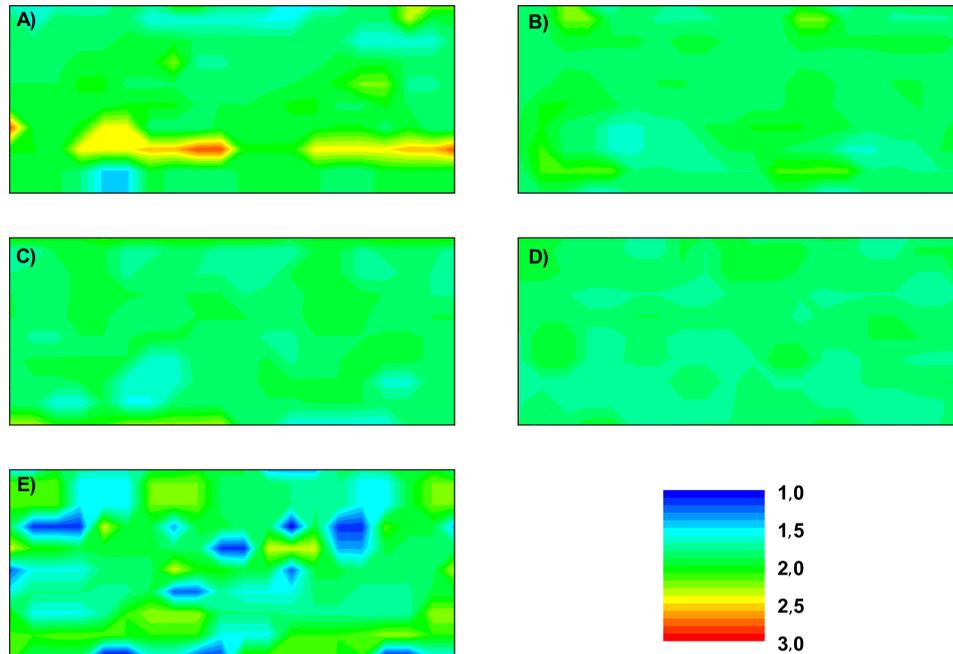


Figura 3.21: Espessuras em vários pontos xy das nanomembranas A) $I_3\mathbf{QGK}$, B) $I_3\mathbf{SGK}$, C) $I_3\mathbf{NGK}$, D) $I_3\mathbf{GGK}$ e E) $I_3\mathbf{LGK}$. As espessuras variam de 1,0 nm (azul) até 3,0 nm (vermelho). As bicamadas são formadas por dímeros invertidos, conforme apresentado na Seção (3.2.1.3). Por meio do programa GridMat [124], a espessura foi calculada considerando a distância entre um átomo de carbono na extremidade de um resíduo de lisina com outro átomo de carbono na extremidade do resíduo invertido de lisina. As regiões com espessuras abaixo de 1,0 nm surgem porque o programa calcula a distância entre átomos de carbono em resíduos de lisina adjacentes. Programas mais recentes, como o SuAVE, são capazes de contornar este problema fornecendo resultados de espessuras mais precisos [136].

entre as cadeias laterais, mas, as espessuras iniciais das nanomembranas compostas por estes dímeros já são menores que as reportadas experimentalmente. Logo, podemos pensar em duas hipóteses:

- (a) o encaixe dos monômeros construindo os dímeros deve ser feito com um deslocamento maior que o de apenas um resíduo. No entanto esta hipótese é diferente da apresentada por Wang *et. al.* [106] e ainda tornaria difícil que fossem estabelecidas LHs entre as cadeias laterais dos peptídeos. Além disso, haveria resíduos polares próximos à resíduos carregados, o que aumentaria a interação com as moléculas de água nestas regiões, diminuindo a estabilidade das nanomembranas devido a rede de LHs;
- (b) as nanomembranas estariam sobrepostas na direção z , formando camadas. A espessura da nanomembrana $I_3\mathbf{QGK}$ obtida pelas simulações DM foi de aproxima-

damente 1,9 nm. Então, se duas dessas nanomembranas estivessem sobrepostas, a espessura seria $\approx 3,8$ nm.

Para examinar a hipótese (b) nós realizamos o seguinte procedimento: as configurações iniciais das nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$, foram submetidas a um processo de equilíbrio de 10 ns sequencialmente alternando os *ensembles* NVT e NPT. Então, as configurações resultantes deste processo foram submetidas a um novo processo de equilíbrio de 50 ns de simulações MD no *ensemble* NVT. Em seguida, nós sobreposemos duas nanomembranas, Figura (3.22), e realizamos uma nova etapa de simulação. As caixas de simulação foram preenchidas com água cerca de 3 nm acima e abaixo das nanomembranas. Íons de cloro Cl^{1-} foram adicionados de forma aleatória em regiões acima e abaixo das nanomembranas (regiões onde haviam moléculas de água) para neutralizar o sistema. Para cada sistema foi realizado um tempo de simulação de 40 ns alternando os *ensembles* NVT e NPT. Notamos que após 40 ns de simulação, as nanomembranas se encaixaram formando configurações bem estruturadas, confirmando a hipótese de sobreposição de membranas, Figura 3.22.

Dessa forma, confirmamos que sobreposições das nanomembranas, de fato, podem ocorrer e as espessuras obtidas foram de 3,8, 4,0, 4,2, 3,9 e 4,1 nm para as nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{SGK}$, $I_3\mathbf{NGK}$, $I_3\mathbf{GGK}$ e $I_3\mathbf{LGK}$, respectivamente. Portanto, se levando em consideração sobreposições das nanomembranas, nossos resultados indicam bom acordo com observações experimentais, estando as espessuras das nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$ e $I_3\mathbf{SGK}$ [$I_3\mathbf{NGK}$] até 5,3 % [31,2 %] acima do observado experimentalmente.

Por meio dos perfis de densidade de massa ao longo dos eixos y e x , Figuras (B.6) e (B.7), no Apêndice (B), notamos que há uma forma periódica de organização dos peptídeos nestas direções, indicando que as camadas internas se mantiveram ao longo das simulações. A nanomembrana $I_3\mathbf{NGK}$ apresenta melhor organização laminar dos peptídeos ao longo das direções x e y , enquanto a nanomembrana $I_3\mathbf{LGK}$ possui a pior organização laminar, conforme observado pelos perfis de densidade ao longo dos eixos y e x . A forma como os peptídeos estão organizados pode ser observada pela FDRP. A Figura (3.23) mostra a FDRP para um peptídeo $I_3\mathbf{XGK}$ em relação a outro peptídeo $I_3\mathbf{XGK}$ na nanomembrana (excluindo átomos de hidrogênio). A FDRP possui valor nulo até aproximadamente 0,33, 0,40, 0,45, 0,32, e 0,29 nm, para as nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{SGK}$, $I_3\mathbf{NGK}$, $I_3\mathbf{GGK}$ e $I_3\mathbf{LGK}$ respectivamente. Estes valores indicam a distância até onde a repulsão de vdW é consideravelmente elevada. Um rápido crescimento ocorre para as nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{NGK}$ e $I_3\mathbf{GGK}$ e a $g(r)$ atinge um máximo em $\approx 0,5$ nm indicando que a probabilidade de encontrar uma molécula próxima à outra neste raio é máxima. Por meio da FDRP é possível distinguir a primeira camada estrutural para as nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$, $I_3\mathbf{SGK}$, $I_3\mathbf{NGK}$ e $I_3\mathbf{GGK}$. Ainda, encontramos picos em ≈ 1 nm para as 5 nanomembranas. Os picos em $\approx 0,5$ nm e ≈ 1 nm podem ser relacionados à distância entre as cadeias principais dos peptídeos formando folhas- β e à

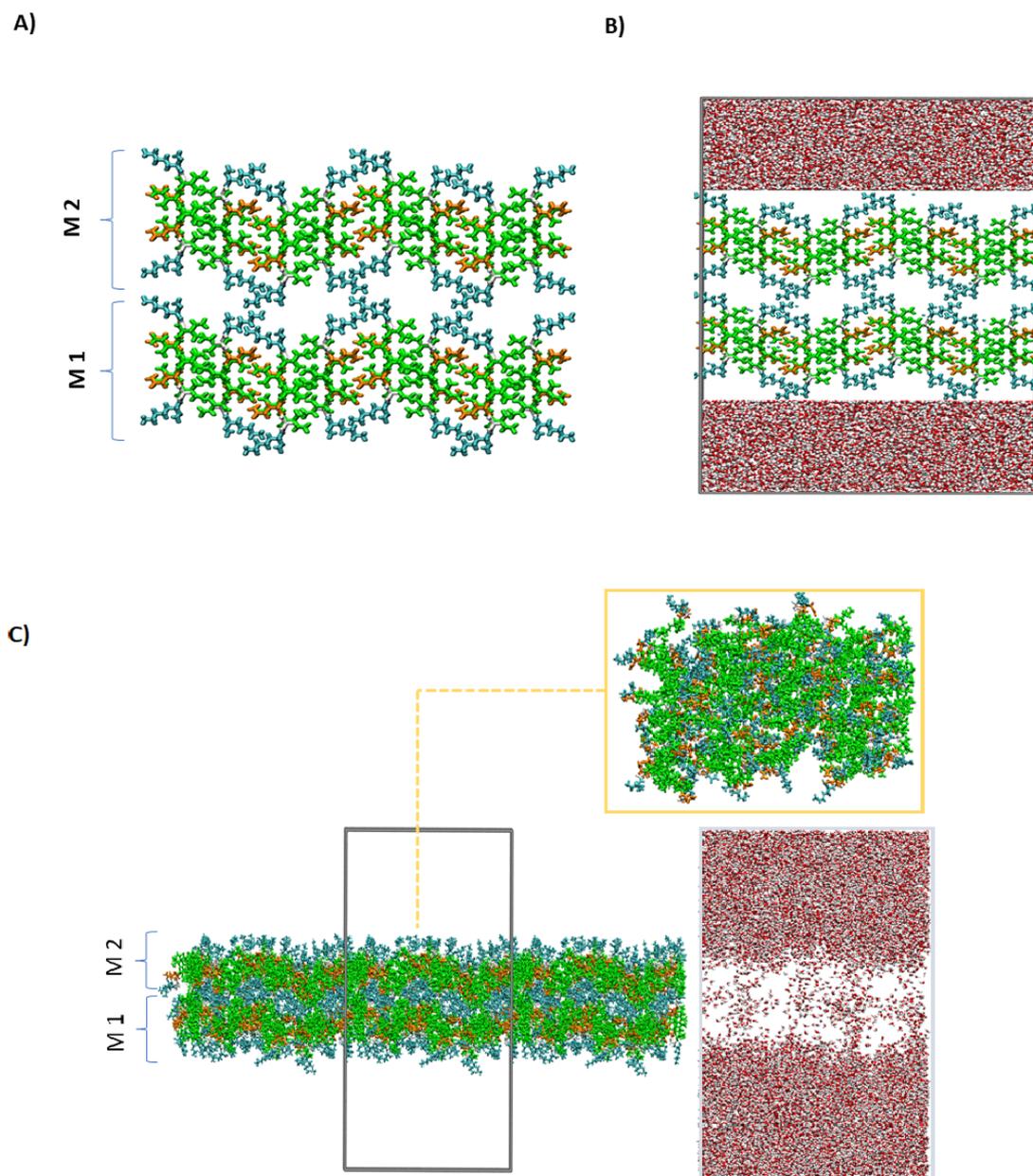


Figura 3.22: Configuração inicial A) duas nanomembranas I_3QGK (M_1 e M_2) sobrepostas na direção z , B) caixa inicial de simulação; moléculas de água foram colocadas em cerca de 3 nm acima e abaixo das nanomembranas utilizando o programa Packmol. Íons de cloro Cl^- foram adicionados ao sistema, C) vista lateral e superficial das configurações finais das nanomembranas I_3QGK sobrepostas e seu respectivo perfil de água. Lisina (K), isoleucina (I), glicina (G) e glutamina (Q) estão representados em azul-claro, verde, cinza e laranja, respectivamente. As outras nanomembranas exibiram características semelhantes às apresentadas nesta figura.

distância entre folhas- β vizinhas ligadas lateralmente, respectivamente. Estes resultados estão em excelente acordo com resultados de difração de raio-X (DRX), de 0,47 nm (distância de separação entre as cadeias principais dos peptídeos) e 1,05 nm (distância de

separação entre folhas- β vizinhas ligadas lateralmente), reportados por Wang *et. al.*, [106]. De maneira geral, a RDF sugere que os peptídeos estão organizados em camadas e que a melhor organização laminar ocorre na nanomembrana $I_3\text{NGK}$.

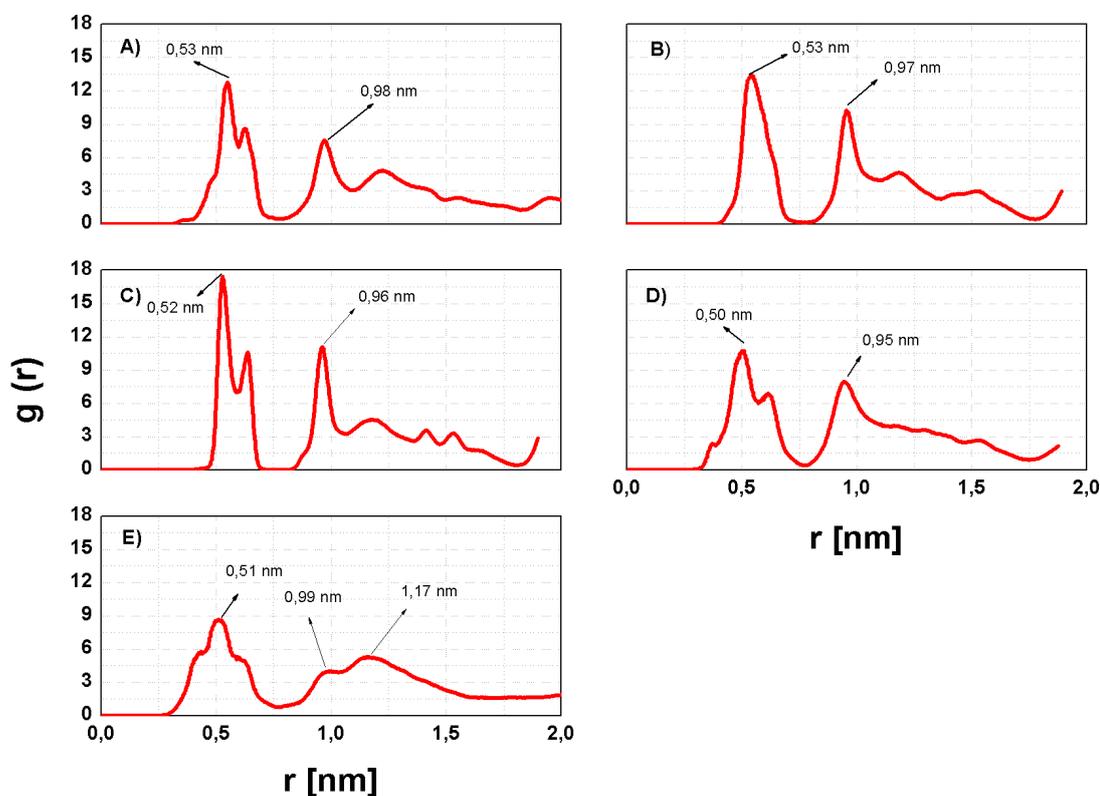


Figura 3.23: Funções de distribuição radial, $g(r)$, entre peptídeos, excluindo os átomos de hidrogênio, para as nanomembranas A) $I_3\text{QGK}$, B) $I_3\text{SGK}$, C) $I_3\text{NGK}$, D) $I_3\text{GGK}$ e E) $I_3\text{LGK}$

3.3.3.2 Ligações de Hidrogênio

A Tabela (3.12) apresenta o número médio de LHs realizadas por cada resíduo com a água (pep-água) e pelos resíduos entre si (pep-pep).

Na nanomembrana polar $I_3\text{NGK}$ há a maior quantidade de LHs entre os peptídeos, 5,6 LHs/pep, seguidas pelas nanomembranas $I_3\text{QGK}$ (4,7 LHs/pep), $I_3\text{SGK}$ (4,6 LHs/pep), $I_3\text{GGK}$ (3,9 LHs/pep) e $I_3\text{LGK}$ (3,2 LHs/pep). Na nanomembrana $I_3\text{NGK}$, as LHs são principalmente atribuídas às interações I-N, I-G, I-I e N-N, iguais a 2,3, 1,0, 1,0 e 0,5 LHs/pep, respectivamente. Para a nanomembrana $I_3\text{QGK}$, as maiores contribuições são causadas pelas interações I-Q, I-I e I-G, com 2,1, 0,7, e 0,7 LHs/pep, respectivamente. Já para a nanomembrana $I_3\text{SGK}$, as LHs são principalmente entre I-S, I-I e I-G (2,1, 1,1 e 0,9 LHs/pep, respectivamente). Nas nanomembranas apolares $I_3\text{GGK}$

Tabela 3.12: Número médio de LHs entre os peptídeos, entre os resíduos e pelos resíduos com a água. O número total de LHs foi normalizado pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 64. As LHs foram calculadas considerando que existe uma LH quando a distância d_{OO} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio é $d_{OO} \leq 3,5\text{Å}$ e o ângulo $\alpha_{OH...O} \leq 30^\circ$. Pep (peptídeo); I = isoleucina; G e **G** = glicina; K = lisina; **Q** = glutamina; **S** = serina; **N** = asparagina.

Pares	$I_3\mathbf{Q}GK$	$I_3\mathbf{S}GK$	$I_3\mathbf{N}GK$	$I_3\mathbf{G}GK$	$I_3\mathbf{L}GK$
Pep-pep	4,7	4,6	5,6	3,9	3,2
Pep-água	10,7	9,5	9,1	9,5	10,6
I-água	2,6	1,9	1,8	2,6	3,3
G-água	1,2	1,0	1,0	1,3	1,3
K-água	5,5	5,5	5,4	5,2	5,6
X -água	1,4	1,1	0,9	0,4	0,4
G-G	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G-K	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
K-K	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1
I-I	0,7	1,0	1,0	0,9	0,4
I-G	0,7	0,9	1,0	0,4	0,6
I-K	0,2	0,2	0,2	0,5	0,3
I- X	2,1	2,1	2,3	1,8	1,7
X - X	0,3	0,0	0,5	0,0	0,0
X -G	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0
X -K	0,2	0,1	0,3	0,0	0,0

[$I_3\mathbf{L}GK$], os resíduos com maiores contribuições para o estabelecimento de LHs são I-**G**, I-I, e I-K [I-**L** e I-G], 1,8, 0,9 e 0,5 [1,7 e 0,6] LHs/pep, respectivamente.

De maneira geral, notamos que as nanomembranas com resíduos polares realizam mais LHs entre seus resíduos quando comparadas às nanomembranas com resíduos apolares na cauda neutra. Comparando as nanomembranas $I_3\mathbf{N}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$, esta diferença chega a 2,4 LHs/pep. Esta diferença é considerável e principalmente causada pelo aumento das ligações **X**-I (**X**= **N**, **Q** ou **S** – resíduo polar). Ou seja, a quantidade de LHs da isoleucina (I) com resíduo polar (**Q**, **S** ou **N**) é maior que da isoleucina (I) com resíduo apolar (**G** ou **L**). Estas observações indicam que a inserção de resíduos polares na cauda apolar neutra de SLPs¹⁷ pode aumentar a quantidade de LHs entre os resíduos, em comparação com peptídeos em que as caudas são formadas apenas de resíduos apolares.

Estudos anteriores [26], mostraram que as LHs se estabelecem entre as cadeias principais dos peptídeos (formando folhas- β). No entanto, notamos que a inserção de resíduos polares permite que ocorram LHs entre as cadeias laterais das folhas- β , unido-as, com a formação de zíperes polares, Figura (3.24). Podemos confirmar esta observação,

¹⁷Traduzido do inglês *Surfactant-like peptides (SLPs)*. Os SLPs são anfífilicos, ou seja, formados por uma cauda apolar (hidrofóbica) e uma cabeça polar (hidrofílica).

porque ocorrem LHs entre **N-N** e **Q-Q** e, devido à forma como estes resíduos estão posicionados nas nanomembranas, estas ligações devem acontecer pelas cadeias laterais. Assim, a inserção de resíduos polares em posições específicas dos peptídeos permite controlar onde acontecerão as LHs nas cadeias laterais, especialmente devido ao caráter direcional das LHs, o que proporciona uma espécie de engenharia molecular para moldar propriedades de nanonestruturas.

Controlar as regiões onde ocorrem as LHs é importantíssimo, uma vez que o conjunto de LHs pode propiciar uma interação bastante intensa. Assim, conseguir que ocorram LHs entre resíduos laterais permite que folhas- β sejam unidas, formando estruturas largas, Figura (3.24). O menor número de LHs entre os peptídeos das nanomembranas apolares tornaria difícil que estruturas largas e com formas definidas fossem auto-organizadas e isto levaria ao surgimento das estruturas do tipo amorfas, como já foi observado experimentalmente [106].

Os aminoácidos glutamina (**Q**) e asparagina (**N**) têm um grupo $-NH_2$ na sua cadeia lateral, diferentemente do resíduo serina (**S**), assim, é de se esperar que os resíduos glutamina (**Q**) e asparagina (**N**) façam mais LHs (e tenham uma maior interação energética) que o resíduo serina (**S**). De fato, nossas simulações de DM refletem este comportamento. O resíduo asparagina (**N**) tem o mesmo grupo amida que o aminoácido glutamina (**Q**), mas a cadeia lateral do resíduo asparagina (**N**) é mais curta que a da glutamina (**Q**). Assim, esperava-se que no peptídeo $I_3\mathbf{Q}GK$ houvesse uma maior quantidade de LHs entre cadeias laterais. No entanto, nossos resultados não demonstraram ou confirmaram este comportamento.

As nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$ possuem a maior quantidade de LHs com as moléculas de água (10,7 e 10,6, respectivamente). Por outro lado, a menor quantidade de LHs com a água é feita pela nanomembrana $I_3\mathbf{N}GK$ (9,1 LHs/pep). Já as nanomembranas $I_3\mathbf{S}GK$ e $I_3\mathbf{G}GK$ fazem 9,5 LHs/pep com as moléculas de águas. Na nanomembrana $I_3\mathbf{Q}GK$, as LHs com a água são realizadas principalmente pelos resíduos K, I e **Q** com 5,5, 2,6 e 1,4 LHs/pep, respectivamente. Na nanomembrana $I_3\mathbf{L}GK$ as LHs com a água são estabelecidas principalmente pelos resíduos K, I e G com 5,6, 3,3 e 1,3 LHs/pep, respectivamente. Na nanomembrana $I_3\mathbf{S}GK$ [$I_3\mathbf{G}GK$], os resíduos que mais contribuem com as LHs são K, I e **S** [K, I e G], 5,5, 1,9, e 1,1 [5,2, 2,6 e 1,3] LHs/pep, respectivamente. Por fim, na nanomembrana $I_3\mathbf{N}GK$ as principais contribuições são devido aos resíduos de K, I, e G com 5,4, 1,8, e 1,0 LHs/pep, respectivamente.

Estas observações sugerem que a nanomembrana $I_3\mathbf{N}GK$ possui o núcleo menos hidratado, com menor infiltração de moléculas de água. No entanto, há resíduos polares nesta nanomembrana. Como vimos, estes resíduos auxiliam no estabelecimento de LHs entre as cadeias laterais. Assim, estas nanomembranas possuem LHs entre as cadeias principais (direção y), mas também entre as cadeias laterais (direção x). Dessa forma, acreditamos que a menor hidratação nesta nanomembrana está relacionada com o elevado

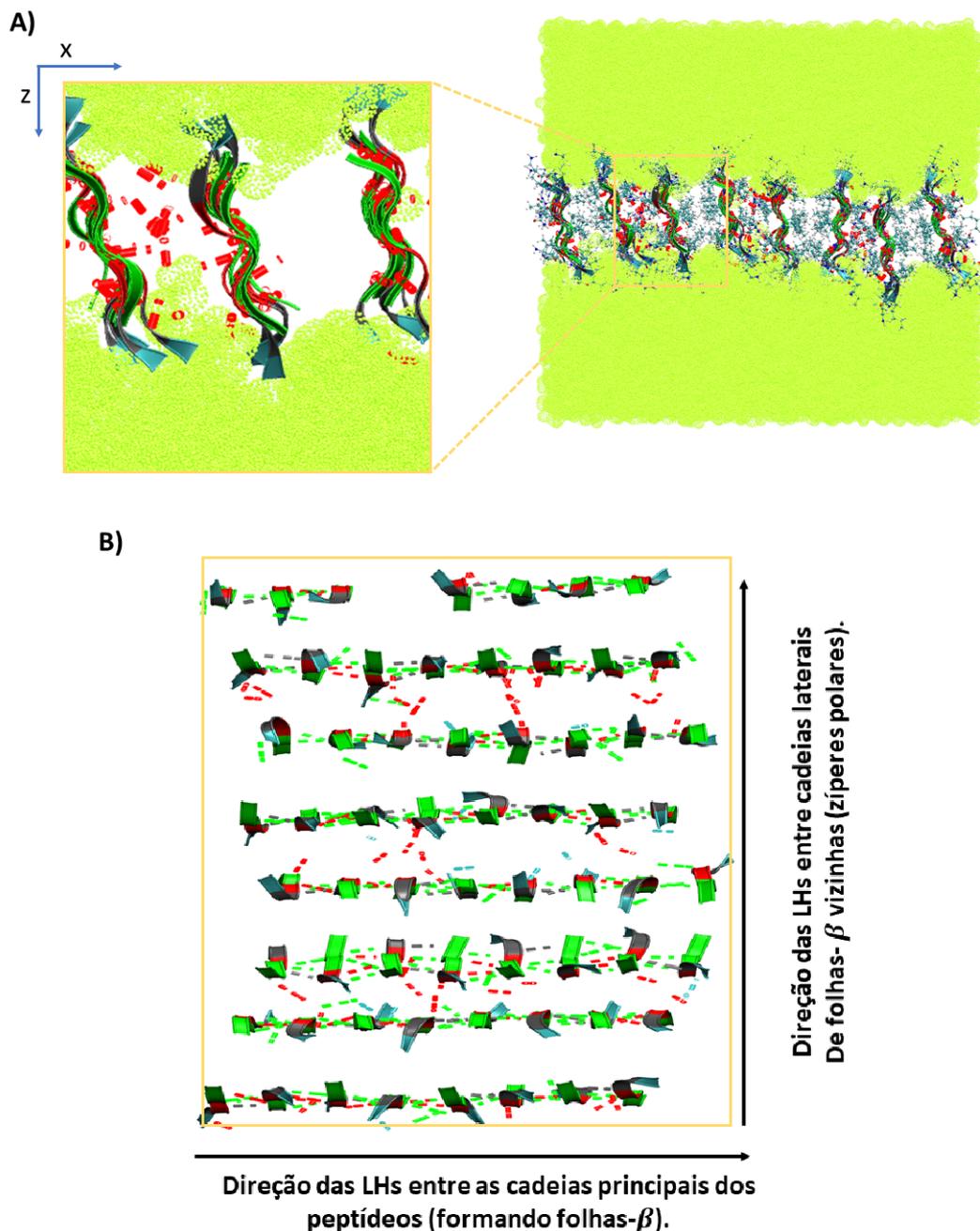


Figura 3.24: Representação das LHs na nanomembrana I_3NGK . A) Vista lateral (plano xy); nota-se claramente que nas regiões onde um lado polar está voltado para outro lado polar formam-se LHs (representadas em vermelho) entre as cadeias laterais dos monômeros (entre folhas- β) – zíperes polares; Em regiões onde não há resíduos polares, as folhas- β se mantêm ligadas por interações hidrofóbicas, coulombianas e de vdW ; B) Vista frontal (plano xy) da nanomembrana I_3NGK . As LHs são preferencialmente estabelecidas entre as cadeias principais dos peptídeos, como esperado, mas ocorrem LHs também entre folhas- β vizinhas. Moléculas de água estão representadas em verde. Enfatiza-se que as ligações entre os peptídeos e água não estão representadas na figura.

número de LHs estabelecidas entre os resíduos, as quais uniram mais firmemente os peptídeos, dificultando a hidratação da estrutura. Em todas as nanomembranas, os resíduos de lisina (K) aparecem na interface de interação com a água caracterizando nanoestruturas com superfícies bem definidas. Percebemos também que as menores contribuições no estabelecimento das LHs com a água correspondem às interações G-água e X-água ($X = Q, S, N, G$ ou L), indicando estruturas consistentes/estáveis, e a formação de núcleos escondidos das moléculas de água.

Nas nanomembranas com resíduos polares, as LHs da isoleucina (I) com a água (I-água) foram menores que as nanomembranas não-polares, comparando as nanomembranas I_3NGK e I_3LGK esta diferença chega a 1,5 LHs/pep. A exceção ocorre na nanomembrana I_3QGK , que mesmo sendo polar, a quantidade de LHs da isoleucina (I) com a água foram comparáveis às encontradas nas nanomembranas não polares. Nós sugerimos que o formato ondulado da nanomembrana I_3QGK , mantido durante a simulação MD, possa ter permitido maior quantidade de LHs com a água. O caráter ondulado pode ter ocorrido devido a diferenças de intensidade das interações entre as regiões polares e apolares na nanomembrana.

Para uma análise mais específica do comportamento das LHs, nós estudamos o tempo de vida destas interações utilizando funções de autocorrelação, conforme proposto por Luzar e Chandler [99]. A Figura (3.25) mostra a autocorrelação das LHs entre os peptídeos das nanomembranas I_3XGK .

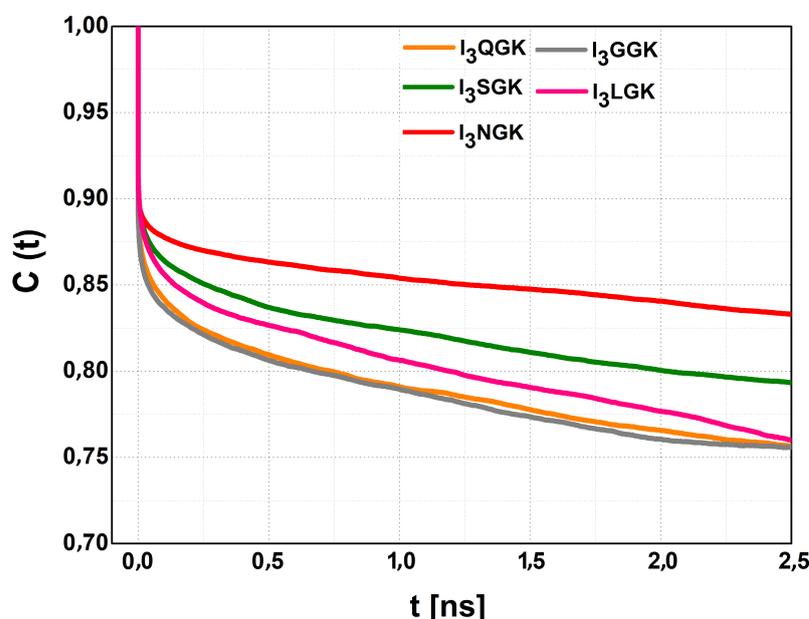


Figura 3.25: Funções de autocorrelação $C(t)$ das LHs entre os peptídeos nas nanomembranas I_3XGK .

O tempo de vida das LHs permite que compreendamos como ocorre a interação soluto-solvente assim, ajuda no desenvolvimento de possíveis aplicações baseadas na

hidratação relativa das nanomembranas. Após 2,5 ns, notamos que cerca de 76% das LHs ainda existem entre pep-pep nas nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{S}GK$, $I_3\mathbf{N}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$. Neste contexto, as nanomembranas $I_3\mathbf{Q}GK$, $I_3\mathbf{G}GK$, e $I_3\mathbf{L}GK$ têm funções de autocorrelação com comportamentos semelhantes. Já as nanomembranas $I_3\mathbf{S}GK$ e $I_3\mathbf{N}GK$, possuem autocorrelação mais longas indicando que os tempos de vida das LHs nestas nanomembranas seriam maiores.

3.3.3.3 Interações Coulombianas

A energia de interação coulombiana das nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ em solução aquosa está apresentada na Tabela (3.13). Para possibilitar uma análise mais detalhada, as interações entre os resíduos e dos resíduos com as moléculas de água são descritas. Os valores apresentados na Tabela (3.13) estão normalizados pelo número de peptídeos presente em cada nanomembrana. Em todas as nanomembranas, a atração coulombiana entre os peptídeos (pep-pep) é muito mais intensa que a interação dos peptídeos com as moléculas de água (pep-água).

A nanomembrana polar $I_3\mathbf{Q}GK$ possui a maior atração coulombiana entre os peptídeos, seguida pela nanomembrana polar $I_3\mathbf{N}GK$, -1803,5 e -1746,5 kJ.mol⁻¹/pep, respectivamente. Diferentemente do caso das LHs, não notamos um comportamento relacionado às interações coulombianas que classifique as nanomembranas polares e as apolares. Notamos que a atração coulombiana entre os peptídeos da nanomembrana polar $I_3\mathbf{N}GK$ é apenas 0,8% mais intensa que entre os peptídeos na nanomembrana apolar $I_3\mathbf{G}GK$. No entanto, a nanomembrana polar $I_3\mathbf{N}GK$ realiza 30,4% mais LHs entre seus peptídeos, ressaltando que a importância dos resíduos polares reside em propiciar um aumento da quantidade de LHs, que se configura com um papel essencial na formação de estruturas do tipo nanomembranas.

De maneira geral, observamos que a atração coulombiana mais intensa ocorre entre os resíduos de lisina, K-K, isoleucina, I-I, e entre G- \mathbf{X} ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}). Entre os resíduos \mathbf{X} , a maior atração coulombiana ocorre entre os resíduos de glutamina, $\mathbf{Q-Q}$, enquanto a menos intensa ocorre entre os resíduos de leucina, $\mathbf{L-L}$. Observando a atração coulombiana por resíduo, notamos a importância do resíduo de glicina (G) na interação com os resíduos \mathbf{X} . A mesma importância do resíduo de glicina (G) não foi percebida no caso do estabelecimento de LHs.

Analisando a interação coulombiana dos peptídeos com as moléculas de água, notamos que a nanomembrana polar $I_3\mathbf{N}GK$ possui a menor interação com a água, sendo 11,2% menor que a encontrada na nanomembrana apolar $I_3\mathbf{L}GK$, que mais interage com a água. Os resíduos que possuem maior atração coulombiana com as moléculas de água são as lisinas (K). Este resultado é esperado, uma vez que os resíduos de lisina (K) estão eletricamente carregados. Além disso, nossos resultados indicam que as lisinas (K) formam uma superfície, interface de separação com as moléculas de água, bem caracterizada

Tabela 3.13: Energia média de interação coulombiana [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ na conformação de nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 64. Pep = peptídeo; I = isoleucina; G e **G** = glicina; K = lisina; **Q** = glutamina; **S** = serina; **N** = asparagina.

Pares	$I_3\mathbf{QGK}$	$I_3\mathbf{SGK}$	$I_3\mathbf{NGK}$	$I_3\mathbf{GK}$	$I_3\mathbf{LGK}$
Pep-pep	-1803,5	-1698,2	-1746,5	-1732,8	-1635,8
Pep-água	-395,7	-367,2	-360,0	-365,7	-402,4
I-água	-65,5	-49,9	-47,8	-64,3	-83,9
G-água	-38,7	-37,6	-38,6	-41,3	-41,4
K-água	-256,7	-251,3	-250,0	-244,9	-262,7
X -água	-34,7	-28,4	-23,6	-15,2	-14,3
G-G	-73,5	-74,1	-69,4	-74,64	-74,2
G-K	-153,0	-154,4	-159,7	-153,3	-153,1
K-K	-293,3	-292,0	-291,7	-295,7	-294,8
I-I	-559,4	-566,9	-558,1	-566,4	-556,5
I-G	-16,2	-19,5	-19,7	-9,8	-14,2
I-K	-5,4	-5,8	-6,4	-8,9	-8,5
I- X	-215,6	-261,0	-217,9	-259,6	-207,1
X - X	-155,1	-44,5	-92,3	-85,5	-4,3
X -G	-249,5	-202,9	-247,1	-197,4	-247,4
X -K	-7,0	-3,1	-7,3	-0,9	-0,4
I-íons	-1,8	-1,9	-2,8	-1,5	-1,3
X -íons	-0,2	0,0	0,0	0,0	-0,1
G-íons	-1,0	-0,7	-0,8	-0,6	-1,0
K-íons	-53,5	-61,8	-60,1	-62,7	-46,3

de maneira que a cauda dos SLPs não fiquem livremente expostos ao solvente. Na nanomembrana apolar $I_3\mathbf{LGK}$ a isoleucina possui uma maior atração coulombiana com a água, indicando que nela ocorreu maior hidratação. Conforme esperado, comparando a interação dos resíduos **X** com a água, notamos que a atração dos resíduos polares é maior que dos resíduos apolares: a interação entre **Q**-água é 58,8% maior que a interação entre **L**-água. Sendo assim, notamos a importância de se posicionar os resíduos polares “protegidos” por resíduos apolares. Dessa forma, os resíduos polares possibilitam a formação de zíperes polares, sem que a sua hidroflicidade leve a uma grande infiltração de solvente e a um possível rompimento da estrutura membranar, por excesso de hidratação.

3.3.3.4 Interações de vdW

Assim como observado para as interações coulombianas, no que diz respeito às interações vdW , Tabela (3.14), não notamos um comportamento que permita a distinção entre nanomembranas polares e apolares. De maneira semelhante ao observado para as interações coulombianas, notamos que as interações vdW entre os peptídeos são mais intensas que as dos peptídeos com a água. Os peptídeos das nanomembranas $I_3\mathbf{QGK}$ e $I_3\mathbf{NGK}$ [$I_3\mathbf{GK}$] são os que possuem as maiores [menores] interações vdW entre si. Em

ambas as nanomembranas as maiores atrações de vdW são devidas às interações I-I, e I-**X**, reforçando o papel da isoleucina (I) na estabilidade da forma membrana, principalmente para que sejam estabelecidas interações entre as cadeias laterais dos peptídeos. Nos sistemas modelados neste trabalho a longa cadeia lateral da isoleucina (I) de um peptídeo se encaixa bem às cadeias laterais de resíduos de isoleucinas (I) vizinhos. Notamos que a interação vdW dos resíduos de isoleucina (I) com os resíduos polares de glutamina (**Q**) e asparagina (**N**) e do resíduo polar de leucina (**L**) são mais intensas que dos demais resíduos **X**. Os resíduos de glutamina **Q** e asparagina **N** possuem uma cadeia lateral longa que se encaixa lateralmente aos resíduos de isoleucina (I). A cadeia lateral da leucina (**L**) possui a mesma fórmula molecular da isoleucina (I), mas com um arranjo estrutural diferente. Lateralmente, ocorre um bom encaixe dos resíduos de leucina (**L**) com os resíduos de isoleucina (I), no caso modelado neste trabalho. Este resultado era esperado, uma vez que os resíduos de leucina (**L**) são importantes na estabilização de nanoestruturas por meio de efeitos estéricos, conhecidos como zíperes de leucina [137].

Tabela 3.14: Energia média de interação vdW [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] para os peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ na conformação de nanomembranas solvatadas em água. Para as nanomembranas, a energia de interação coulombiana foi normalizada pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 64. Pep = peptídeo; I = isoleucina; G e **G** = glicina; K = lisina; **Q** = glutamina; **S** = serina; **N** = asparagina.

Pares	$I_3\mathbf{QGK}$	$I_3\mathbf{SGK}$	$I_3\mathbf{NGK}$	$I_3\mathbf{GGK}$	$I_3\mathbf{LGK}$
Pep-pep	-178,2	-170,2	-177,0	-161,5	-171,0
Pep-água	-44,4	-34,6	-36,1	-43,9	-55,2
I-água	-26,9	-23,6	-22,5	-29,3	-32,5
G-água	-3,3	-2,9	-2,8	-2,5	-4,3
K-água	-9,0	-8,7	-8,6	-9,8	-9,0
X -água	-5,2	0,7	-2,1	-3,2	-9,3
G-G	-0,2	-0,2	-0,1	-0,6	-0,3
G-K	-5,0	-5,2	-4,9	-5,4	-5,1
K-K	-6,4	-6,8	-6,5	-7,2	-6,3
I-I	-56,8	-62,4	-60,0	-64,5	-54,4
I-G	-19,0	-21,3	-20,1	-18,3	-17,2
I-K	-19,9	-21,8	-21,6	-21,7	-19,3
I- X	-46,4	-36,4	-45,0	-25,3	-40,8
X - X	-6,2	-2,2	-2,7	-0,6	-7,6
X -G	-4,6	-2,7	-3,6	-1,7	-5,1
X -K	-5,2	-3,3	-4,9	-2,5	-4,7
I-íons	-0,6	-0,6	-0,6	-0,5	-0,6
X -íons	-0,1	0,0	0,0	0,0	-0,1
G-íons	-0,1	-0,1	-0,2	-0,1	-0,1
K-íons	2,6	3,0	3,0	3,2	2,2

Por fim, as interações vdW com as moléculas de água são maiores [menores] nas nanomembranas $I_3\mathbf{LGK}$ e $I_3\mathbf{QGK}$ [$I_3\mathbf{NGK}$]. Em ambas as nanomembranas, os resíduos de lisina (K) e isoleucina (I) possuem as maiores atrações vdW com as moléculas de

água. As interações *vdW* dos peptídeos com os íons de cloro (Cl^{1-}) possuem intensidades praticamente irrelevantes. No entanto, notamos que as interações *vdW* dos resíduos de lisina (K) com os íons de cloro são repulsivas, como esperado.

3.3.3.5 Momento de Dipolo

Os valores dos momentos de dipolo total das nanomembranas formadas pelos peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}) estão apresentadas na Tabela (3.15).

Tabela 3.15: Momento de dipolo total [em Debye] das nanomembranas formadas pelos peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}, \mathbf{L}$). Os valores apresentados foram obtidos classicamente utilizando as cargas do campo de forças CHARMM36.

MD	Membranas
$I_3\mathbf{QGK}$	63,0
$I_3\mathbf{SGK}$	63,6
$I_3\mathbf{NGK}$	61,2
$I_3\mathbf{GGK}$	64,2
$I_3\mathbf{LGK}$	60,7

Notamos que, apesar dos peptídeos $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}$ ou \mathbf{N}) possuírem resíduos polares na posição \mathbf{X} , o momento de dipolo total das nanomembranas formadas por estes peptídeos não se diferencia de maneira considerável das nanomembranas $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}). Dessa forma, observamos que os aminoácidos polares possuíram influência na polaridade em regiões específicas das nanomembranas, mas o efeito coletivo da distribuição não foi afetado por eles.

3.4 Considerações Finais

Neste trabalho, realizamos uma caracterização estrutural e energética de nove membranas peptídicas: $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, A_6H_ϵ e A_6H_δ e $I_3\mathbf{XGK}$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$ ou \mathbf{L}), por meio de simulações de DM. Foram apresentados e discutidos os perfis de densidade de massa e a hidratação das estruturas, bem como as LHs e as interações coulombianas e van der Waals, principais interações responsáveis pela manutenção da forma das nanoestruturas. A caracterização destas estruturas, de um ponto de vista atômico (e molecular), permitiu compreender detalhes de organização das estruturas e das interações moleculares presentes nos sistemas que não seriam possíveis por meio de abordagens puramente experimentais. No Capítulo 5, apresentaremos as conclusões finais acerca das nanomembranas peptídicas, discutidas no presente capítulo, e algumas comparações com resultados de nanofibras peptídicas, assunto a ser abordado no Capítulo 4.

NANOFIBRAS PEPTÍDICAS

4.1 Introdução

Nos Capítulos **1** e **3**, apresentamos diversas nanoestruturas formadas por SLPs. Além das nanomembranas, objeto de estudo do Cap. **3**, as nanofibras merecem destaque. As propriedades únicas das estruturas do tipo fibras compostas por SLPs são de particular interesse na área de nanotecnologia e ciência de materiais: podem ser utilizadas para encapsular e transportar drogas, com especial eficiência na liberação lenta de fármacos à medida que as estruturas se desorganizam; na engenharia de tecidos; na produção de nanofios funcionalizados [138]; para mimetizar compostos encontrados nos ossos [35].

Stupp *et. al.* [139, 140], reportaram fibras peptídicas compostas por peptídeos anfifílicos que podem promover o crescimento de vasos sanguíneos ajudando tanto em terapias pós-infarto quanto a curar feridas graves, além de cooperarem na regeneração de ossos e cartilagem; G. Colherinhas *et. al.* [42], estudaram nanotubos e nanobastões que apresentam atividades antibacterianas, formados respectivamente por A_6K e A_9K , com finalidade de compreender como a cadeia hidrofóbica formada por alaninas modula a dinâmica de auto-organização das estruturas; Cao *et. al.* [8], realizaram estudos experimentais de estruturas com SLPs, compostas pelos aminoácidos glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) e mostraram que de acordo com a sequência primária dos aminoácidos diferentes nanoestruturas são formadas [8], principalmente devido às hidrofobicidades e encaixes complementares das cadeias laterais dos peptídeos: as sequências $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ formam nanomembranas (as quais foram nosso objeto de estudo no Cap. **3**); já as sequências $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ formam nanofibras [8] que poderiam ser utilizadas como nanocarregadores de drogas hidrofóbicas devido ao núcleo hidrofóbico formado nelas. As nanofibras apresentadas por Cao *et. al.* [8] serão objeto de estudo deste capítulo. Utilizando DM, faremos uma caracterização estrutural e energética destas nanofibras peptídicas.

Cao *et. al.* [141], também realizaram estudos de DM das nanofibras citadas, mas,

apenas, com o objetivo de avaliar qual seria a melhor combinação das cadeias laterais de duas folhas- β para se ligarem devido a efeitos estéricos. Neste trabalho, nós reportamos um extenso estudo de DM [9, 26, 42, 44, 142, 143], com resolução atomística, para descrever propriedades estruturais e energéticas de duas nanofibras peptídicas compostas pelos SLPs, $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$. São apresentadas as interações que modulam a auto-organização dos peptídeos formando nanofibras, a saber: LHs e as interações coulombianas e van der Waals entre cada resíduo, que compõe o peptídeo, com a água e entre si. Assim, este estudo fornece detalhes que resultados puramente experimentais não são capazes de observar. Nossos resultados apresentam bom acordo com resultados experimentais, no que diz respeito aos diâmetros das nanoestruturas, e detalham estruturas de nanofibras que de fato possam ocorrer em uma situação experimental. Estes resultados são importantes tanto do ponto de vista teórico, ao validar o campo de forças CHARMM36 [79] para o estudo de nanofibras compostas por SLPs, quanto do ponto de vista experimental, ao fornecer detalhes em nível atômico (e molecular) que podem auxiliar na interpretação dos resultados. Pensando ainda na parte teórica do estudo, os resultados foram extraídos de simulações em dois *ensembles* diferentes, isobárico-isotérmico (NPT) e canônico (NVT) com finalidade de comparação.

As nanofibras avaliadas neste capítulo são formadas por peptídeos com os mesmos aminoácidos presentes nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, apresentadas no Cap. 3, mas ligados em sequências primárias diferentes. De forma semelhante ao realizado para as nanomembranas, estudamos nanofibras formadas por peptídeos com as sequências primárias invertidas. Conforme explicado no Cap. 3, a inversão da sequência primária altera a torção dos peptídeos, a disposição das cadeias laterais e o terminal ligado à lisina (K) eletricamente carregada. No peptídeo $G_3A_3V_3I_3K_3$ a lisina (K), resíduo carregado com carga $+1e$, está ligada ao terminal C e no peptídeo $K_3I_3V_3A_3G_3$ ela está ligada ao terminal N. Verificamos anteriormente, Cap. 3, que na conformação de nanomembranas, as alterações causadas pela inversão das sequências primárias altera tanto as dimensões das nanomembranas, quanto suas hidrofobicidades, de maneira que a nanomembrana com a lisina (K) ligada ao terminal C apresenta um núcleo menos hidrofóbico, sendo, menos eficiente no encapsulamento e transporte de drogas hidrofóbicas. Neste capítulo, apresentaremos uma possível forma de organização dos peptídeos formando nanofibras, e após discussão de resultados estruturais e energéticos, faremos uma breve comparação entre a hidrofobicidade das duas nanofibras e também das diferenças estruturais e energéticas apresentadas pelas nanomembranas e nanofibras.

Os resultados apresentados neste capítulo se encontram publicados no artigo científico intitulado *Design and analysis of polypeptide nanofiber using full atomistic Molecular Dynamic*, que pode ser consultado na referência [69].

4.2 Metodologia

4.2.1 Sistemas Simulados

As nanofibras estudadas neste trabalho, possuem uma cabeça polar (formada por 3 lisinas – K_3) e uma cauda hidrofóbica consistindo em doze resíduos apolares (3 glicinas – G_3 , 3 alaninas – A_3 , 3 valinas – V_3 , e 3 isoleucinas – I_3). As cadeias laterais dos aminoácidos apolares, I, V, A e G são compostas somente por carbonos e hidrogênios e, por este motivo são conhecidos como aminoácidos com cadeias hidrofóbicas [24]. A glicina (G), o aminoácido mais simples, com apenas um átomo de hidrogênio na cadeia lateral, não tem uma hidrofobicidade bem definida, às vezes, reportada como nula [2, 24, 25].

Os peptídeos estudados neste capítulo estão representados na Figura (4.1). Nota-se que eles possuem diferenças nas torções e nas disposições dos aminoácidos nas cadeias laterais. Notamos, por exemplo, que no peptídeo $K_3I_3V_3A_3G_3$ a cadeia lateral da lisina (K) fica mais próxima das cadeias laterais da isoleucina, resultando em um diferente encaixe lateral dos peptídeos e, conseqüentemente, influenciando na quantidade de moléculas de água em cada fibra. Com finalidade de comparação, realizamos as simulações dos peptídeos em conformação de monômeros solvatados em água, Figura (4.1), e em conformação de nanofibras, também solvatadas em água, Figura (4.2).

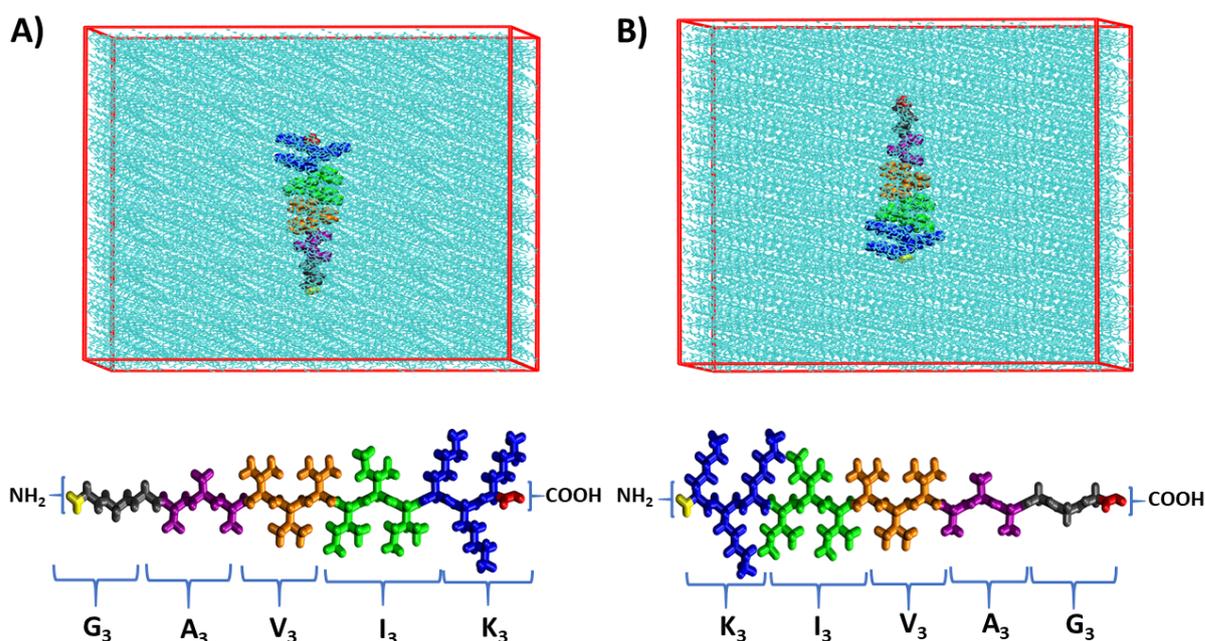


Figura 4.1: Monômeros A) $NH_2 - G_3A_3V_3I_3K_3 - COOH$ e B) $NH_2 - K_3I_3V_3A_3G_3 - COOH$. Os monômeros são constituídos por uma cabeça hidrofílica (lisina (K) em azul) e uma cauda hidrofóbica (glicina (G), alanina (A), valina (V) e isoleucina (I) em cinza, roxo, laranja e verde, respectivamente). Os terminais N e C estão representados em vermelho e amarelo, respectivamente

A modelagem das nanofibras apresentadas aqui seguiu o procedimento: inicialmente, alinhamos um peptídeo na direção z e, a partir dele, rotacionamos e transladamos outros peptídeos de maneira a formar um disco (camada) composto por 24 monômeros, cada um rotacionado em 15° no plano xy , em relação ao peptídeo anterior, de maneira a cobrir 360° do disco. Esta camada foi replicada 5 vezes, para obter uma fibra cilíndrica composta por 5 camadas, totalizando 120 monômeros, Figura (4.2). Para a modelagem, foram pensadas as melhores formas de encaixar as estruturas, considerando os efeitos estéricos (no encaixe das cadeias laterais) e as ligações de hidrogênio (entre as cadeias principais), sem que contatos indesejados ocorressem na estrutura inicial. É importante ressaltar que nos resíduos de lisina as cargas não estão concentradas em um ponto, que geraria uma intensa repulsão entre Lis-Lis, mas sim distribuídas ao longo de todo o resíduo.

Em seguida, as caixas de simulação foram preenchidas com água. Esta estrutura apresenta a superfície de interação direta com a água formada por lisinas (K) enquanto as cadeias laterais ficam escondidas das moléculas de água, formando um núcleo hidrofóbico. Esta estrutura inicial apresentou estabilidade durante o processo de simulação e foi utilizada para produção da trajetória e extração dos resultados apresentados aqui. Estas configurações mostraram resultados comparáveis aos experimentais, indicando estruturas de nanofibras que podem de fato ocorrer em situações experimentais.

Ressaltamos que, na etapa de modelagem computacional, diferentes estruturas são testadas. No Apêndice (A), apresentamos modelagens de outras formas estruturais testadas por nós e alguns resultados obtidos após 110 ns de simulação de DM. Ressaltamos que, após a publicação de nosso estudo [69], outros pesquisadores se basearam nas estruturas propostas por nós para realizar estudos de nanofibras formadas por SLPs [144].

4.2.2 Protocolo de Simulação

O campo de força CHARMM36 [83] foi utilizado para modelar as nanofibras, enquanto para as moléculas de água, foi utilizado o modelo TIP3P [121]. Cada resíduo de lisina (K) possui uma carga $+1e$; ao todo foram 120 peptídeos compondo a fibra, e em cada peptídeo há 3 resíduos de lisina (K), portanto, a carga total de cada fibra é de $+360e$. Dessa forma, foram adicionados 360 íons cloreto (Cl^{1-}) para neutralizar o sistema. As caixas de simulação foram preenchidas com água utilizando o programa *gmx solvate* do pacote GROMACS [123] de maneira que fossem inseridas moléculas de água inclusive no interior das nanofibras, de forma aleatória.

As estruturas iniciais, Figura (4.2), foram submetidas a um processo de equilibração de cerca de 30 ns alternando os *ensembles* NVT e NPT. Em seguida, as configurações resultantes dessa etapa foram submetidas a um novo processo de equilibração de 40 ns no *ensemble* NVT e 40 ns no *ensemble* NPT: totalizando, portanto, 110 ns de equilibração.

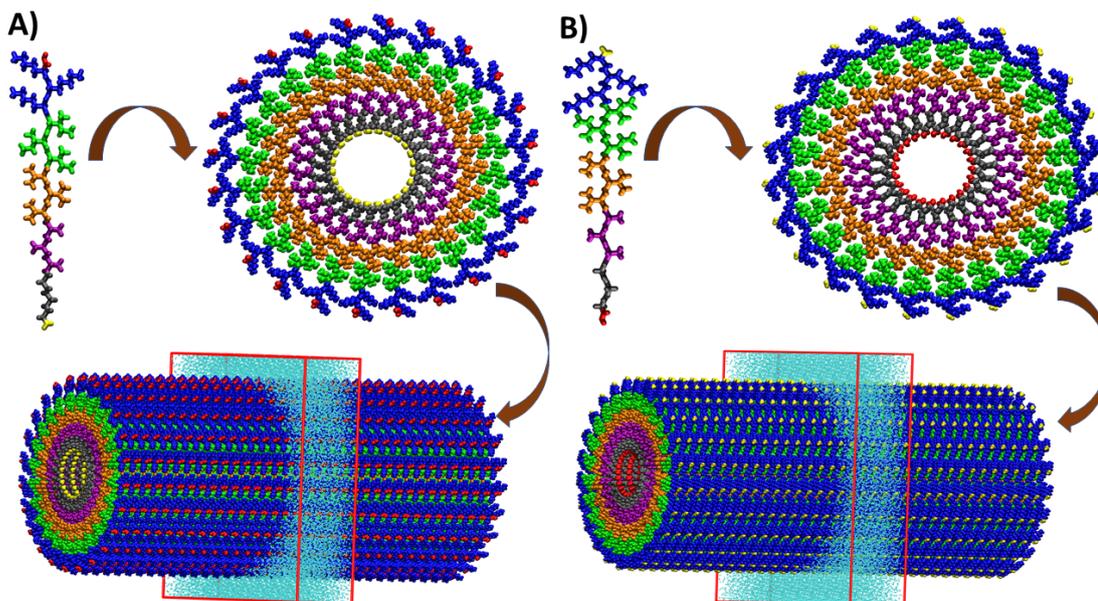


Figura 4.2: Representação dos planos xy e xz e das caixas de simulação para as nanofibras A) $G_3A_3V_3I_3K_3$ e B) $K_3I_3V_3A_3G_3$. As caixas de simulação foram replicadas duas vezes na direção z , representando as condições periódicas de contorno utilizadas. Glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) estão representados em cinza, roxo, laranja, verde e azul, respectivamente. Os terminais N e C estão representados em amarelo e vermelho, respectivamente.

Após 110 ns de equilíbrio, antes de produzir a trajetória, da qual seriam extraídos os resultados, buscamos garantir que o sistema havia atingido o equilíbrio termodinâmico: verificamos a variação da energia potencial do sistema, para avaliar se sua oscilação ocorria em torno de um valor de equilíbrio; calculamos o desvio padrão dos comprimentos das caixas de simulação e verificamos que apresentaram variações menores que 0,5 nm para ambas as nanofibras. Após isso, produzimos duas trajetórias (uma no *ensemble* NVT e outra no *ensemble* NPT) com um tempo de simulação de 50 ns cada uma. Dois *ensembles* foram utilizados apenas para confirmar que, em um sistema termodinamicamente equilibrado, os resultados independem de em qual *ensemble* a trajetória foi produzida.

Além disso, nós realizamos simulações DM dos peptídeos na conformação de monômero, Figura (4.1), seguindo o mesmo protocolo utilizado para as nanofibras. Sendo assim, foram analisados 6 sistemas (monômeros $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ no *ensemble* NPT e fibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ nos *ensembles* NVT e NPT e fibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ também nos *ensembles* NPT e NVT). O tempo total de simulação foi então de 160 ns, sendo apenas os 50 ns finais utilizados para produção das trajetórias. As propriedades de interesse foram calculadas considerando um passo temporal de 2,0 fs com as coordenadas sendo coletadas a cada 2,0 ps, totalizando 25.000 *frames* para análise estatística.

Para o *ensemble* NVT a temperatura foi mantida em 300 K usando o termostato *velocity rescaling* [92], com constante de acoplamento de 0,1 ps, e sem acoplamento de

pressão. Já para o *ensemble* NPT a temperatura foi mantida em 300 K utilizando o termostato *velocity rescaling* [92], e a pressão foi mantida em 1,013 bar utilizando o acoplamento semi-isotrópico (nas direções x e y) de Parrinello-Rahman [96], com constante de acoplamento de 2,0 ps. Todos os comprimentos das ligações foram restringidos utilizando o algoritmo LINCS [122]. Um raio de corte de 1,0 nm foi utilizado para as interações de Lennard-Jones (LJ) e as interações coulombianas foram tratadas por meio do algoritmo de PME [103]. As simulações de DM foram realizadas utilizando o programa GROMACS [123] e a análise visual, bem como obtenção das imagens foi feita utilizando o programa VMD [125].

A Tabela (4.1) mostra a composição dos monômeros e das nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$, bem como seus respectivos comprimentos (dimensão z da caixa em nm) e diâmetros iniciais e finais.

Tabela 4.1: Número de átomos nos monômeros e nanofibras formados pelos peptídeos $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$, comprimentos iniciais (L_0) e finais (L) na direção z [nm] e os diâmetros iniciais (D_0) e finais (D) de cada configuração.

MD	# Peptídeos	# Íons	# Água	# Átomos	L_0	L	D_0	D
$G_3A_3V_3I_3K_3 - NPT$	1	3	23730	71418	7,7	7,6	–	–
$G_3A_3V_3I_3K_3 - NPT$	120	360	22346	94398	3,5	6,8	16,6	8,9
$G_3A_3V_3I_3K_3 - NVT$	120	360	22346	94398	3,5	5,0	16,6	9,3
$K_3I_3V_3A_3G_3 - NPT$	1	3	23514	70770	7,6	7,5	–	–
$K_3I_3V_3A_3G_3 - NPT$	120	360	21751	92613	3,2	5,6	17,1	9,5
$K_3I_3V_3A_3G_3 - NVT$	120	360	51751	92613	3,2	4,6	17,1	10,3

4.3 Resultados

4.3.1 Resultados estruturais e perfis de densidade

A Figura (4.3) mostra as estruturas finais obtidas após 160 ns de simulação. Notamos que a periodicidade ao longo do eixo das nanofibras foi mantida durante a produção da trajetória. Ao comparar as estruturas finais e iniciais, notamos que a dimensão z das caixas de simulação (comprimento das nanofibras) aumentou, enquanto as dimensões x e y reduziram significativamente, como pode ser observado por meio dos diâmetros iniciais (D_0) e finais (D), Tabela (4.1). Esta redução do diâmetro das nanofibras era esperada porque os resíduos hidrofóbicos se organizam de forma a diminuir o contato com a água, preenchendo o centro da estrutura que inicialmente era ocupado por moléculas do solvente.

Além disso, as configurações iniciais sofrem uma relaxação durante as simulações no *ensemble* NPT e os átomos se ajustam de maneira a reduzir a energia potencial do sistema. Notamos que apesar de haver hidratação das nanofibras elas ainda mantêm a forma,

favorecendo o estabelecimento das interações entre os peptídeos que os mantêm conectados. Desta forma, apesar do diâmetro das nanofibras iniciais serem bastantes superiores aos observados experimentalmente, o processo de equilibração levou à nanoestruturas com diâmetros finais semelhantes aos observados experimentalmente [8] – iguais a $8,5 \pm 1,0$ nm e $8,5 \pm 1,5$ nm para as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$, respectivamente – indicando que estas estruturas podem, de fato, representar a estrutura auto-organizável dos peptídeos na formação das nanofibras.

A interface formada pelas nanofibras e a água foi analisada utilizando perfis de densidade de massa, Figuras (D.1, D.2), no Apêndice (D.1). Em todos os sistemas, um comportamento difuso no perfil de densidade de massa foi observado, o que dificulta a distinção clara entre superfície de contato da água com as nanofibras. Os perfis de densidade também mostram que uma grande quantidade de água esteve presente no interior das nanofibras, no entanto, elas preservaram a forma durante um longo período de simulação. Esta característica é importante, porque mostra que estas nanofibras se comportam como hidrogéis. Os hidrogéis podem armazenar uma grande quantidade de água em seu interior e têm sido utilizados em diversas aplicações biotecnológicas.

Os perfis de densidade de massa indicam que ocorreu uma hidratação ligeiramente superior nas nanofibras compostas pelos peptídeos $G_3A_3V_3I_3K_3$, onde o resíduo de lisina (K) está ligado ao terminal C, em acordo com o previamente encontrado nas nanomembranas formadas pelos peptídeos $I_3V_3A_3G_3K_3$, Capítulo 3.

A partir dos perfis de densidade, extraímos o diâmetro das nanofibras: os diâmetros foram determinados a partir da distância entre os resíduos de lisina (K) mais distantes, distância entre os picos máximos nos perfis de densidade de massa da lisina (K), Figuras (D.1, D.2), no Apêndice (D.1). Os valores obtidos foram $9,3 \pm 0,6$ nm [$8,9 \pm 0,6$ nm] e $10,3 \pm 0,4$ nm [$9,5 \pm 0,5$ nm] para as nanomembranas $G_3A_3V_3I_3K_3$ [$K_3I_3V_3A_3G_3$], nos ensembles NVT e NPT, respectivamente. Os valores obtidos estão em excelente acordo com os valores reportados experimentalmente por Cao *et. al.* [8], de $8,5 \pm 1,0$ nm e $8,5 \pm 1,5$ nm para as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$, respectivamente.

Obviamente percebemos uma relaxação maior dos sistemas ao utilizarmos o *ensemble* NPT na etapa de produção da trajetória. Comparando os dois *ensembles* notamos que o comprimento das nanofibras é ligeiramente menor para o *ensemble* NVT. Apesar de haver um alongamento das nanofibras na direção z , notamos que as LHs, a serem apresentadas na seção (4.3.2), que se estabelecem entre as cadeias principais, na direção paralela ao eixo das nanofibras, desempenham um papel fundamental na manutenção da estrutura do sistema e impede que as fibra se rompam e se alonguem indefinidamente.

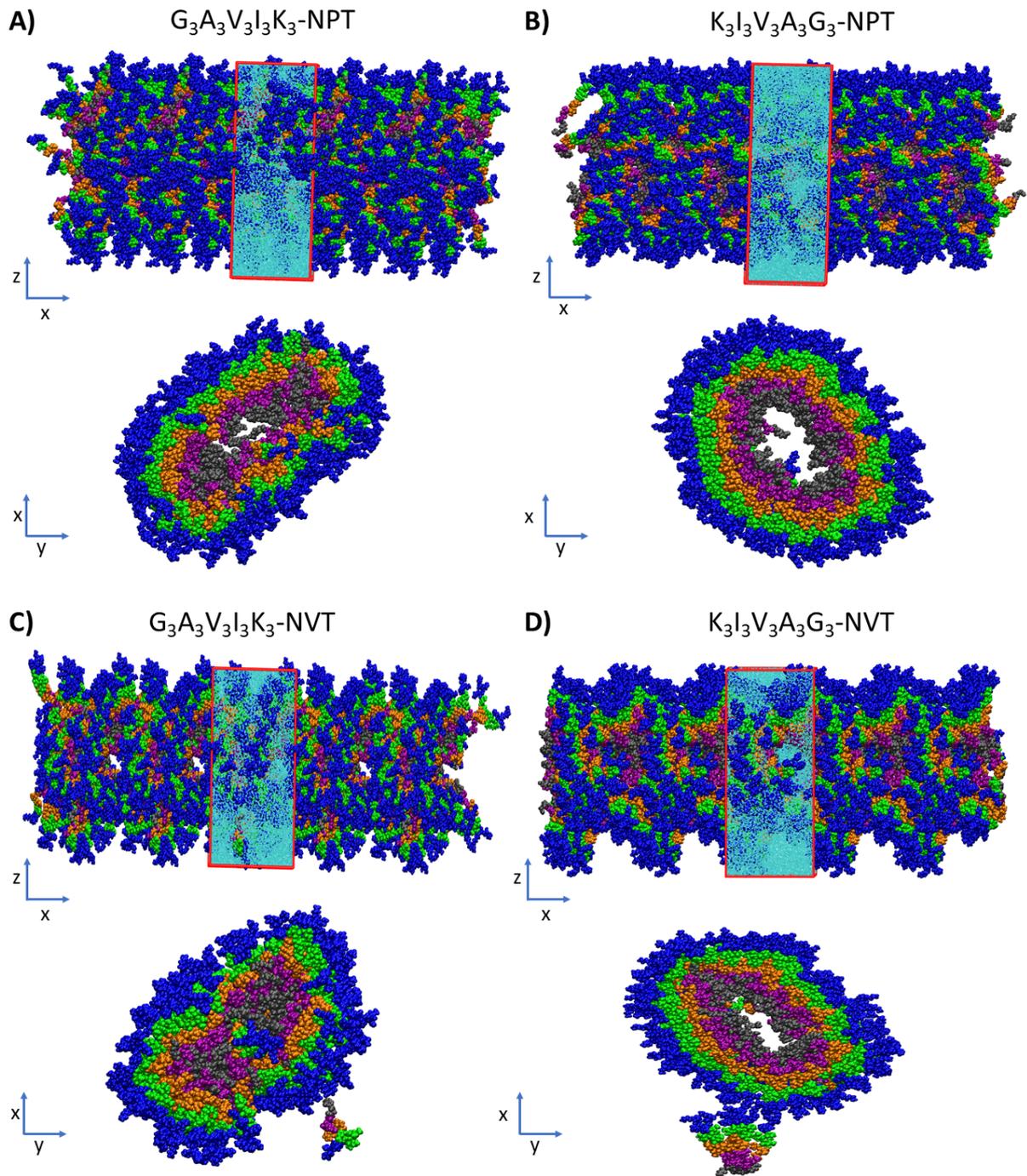


Figura 4.3: Representação dos planos xz e yx e das caixas finais de simulação para as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ [$K_3I_3V_3A_3G_3$] simuladas nos *ensembles* A) [B)] NPT e C) [D)] NVT. As caixas de simulação foram replicadas duas vezes na direção z , representando as condições periódicas de contorno utilizadas. Glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) estão representados em cinza, vermelho, laranja, verde e azul, respectivamente

4.3.2 Ligações de Hidrogênio

A Tabela (4.2) apresenta o número médio de LHs realizada entre os peptídeos e entre cada resíduos com a água (pep-água). As análises foram feitas utilizando dois *ensembles* para as nanofibras, NVT e NPT, e o *ensemble* NPT para os monômeros. De maneira geral não se observa grandes alterações nos resultados obtidos nos dois *ensembles* diferentes. O padrão do programa GROMACS identifica uma LH quando a distância d_{OO} entre os átomos de Oxigênio do Doador (OD) e do Aceitador (OA) de hidrogênio é $d_{OO} \leq 3,5\text{Å}$ e o ângulo $\alpha_{OH-O} \leq 30^\circ$. Estes parâmetros foram utilizados para obtenção dos valores apresentados nesta seção.

Nossos resultados mostram que a nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ realiza um total de 30,3 (*ensemble* NVT) e 30,1 (*ensemble* NPT) LHs/pep com a água enquanto na nanofibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ estes valores são 27,9 LHs/pep para ambos os *ensembles*. No geral, notamos que a nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ realiza maior quantidade de LHs com a água que a nanofibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ – principalmente porque os resíduos de isoleucina (I) e valina (V) realizaram mais LHs com a água na nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$. Por outro lado, a nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ possui menor quantidade de LHs entre seus peptídeos: entre os peptídeos da nanofibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ [$G_3A_3V_3I_3K_3$], a quantidade de LHs é de 5,4 e 5,8 [4,4 e 4,8] LHs/pep para os *ensembles* NVT e NPT, respectivamente.

Assim, notamos, novamente, a tendência dos peptídeos com o terminal C ligado à lisina(K) eletricamente carregada apresentar maior hidratação. De maneira semelhante à apresentada anteriormente, Cap. 3, notamos que diferenças nas torções e na disposição das cadeias laterais, além da tendência da lisina (K) ligada ao terminal C à atrair mais moléculas água – e possuir menor atração entre si (K-K) – que a lisina ligada ao terminal N, altera a quantidade de água no interior das estruturas levando a nanofibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ a possuir um núcleo ligeiramente menos hidratado e a apresentar uma organização mais regular dos peptídeos.

As LHs dos peptídeos com a água, para ambas as nanofibras, são preferencialmente estabelecidas pelos resíduos de lisina (K), sugerindo que ocorre a formação de uma superfície de interação das nanofibras com a água, apesar de ser difusa. Para ambas as nanofibras, a lisina (K) contribui com cerca de 12,0 LHs/pep com a água. As contribuições dos demais resíduos podem ser visualizadas na Tabela (4.2). As menores contribuições no número médio de LHs com a água são oriundas das interações I-água, V-água e A-água. Estes resíduos estão no centro da nanofibra, e esse resultado indica que o processo de auto-organização levaria à formação de núcleos hidrofóbicos. Este resultado é confirmado ao observarmos que o número médio de LHs dos monômeros com a água chega a ser 50% maior que o encontrado no caso das nanofibras. Conforme esperado, a interação com água diminui porque as cadeias hidrofóbicas dos peptídeos se escondem formando um núcleo hidrofóbico e assim, não ficam acessíveis às moléculas de água. Notamos, inclusive,

Tabela 4.2: 2 Número médio de LHs estabelecidas entre os peptídeos, entre os resíduos e pelos resíduos com a água. As LHs foram normalizadas pelo número de peptídeos na caixa de simulação, isto é, dividido por 120. Pep (peptídeo), A (alanina), V (valina), G (glicina), K (lisina) e I (isoleucina).

	$G_3A_3V_3I_3K_3$			$K_3I_3V_3A_3G_3$		
	Monômero	NVT	NPT	Monômero	NVT	NPT
Pep-pep	0,3	4,4	4,8	0,2	5,4	5,8
Pep-água	42,4	30,3	30,1	42,5	27,9	27,9
K-água	15,8	12,3	12,8	15,5	12,1	12,1
A-água	6,6	4,6	4,4	6,6	4,3	4,1
I-água	5,8	3,9	3,8	6,1	3,0	2,8
G-água	7,9	5,7	5,4	7,8	5,3	5,4
V-água	6,3	3,8	3,7	6,4	3,1	2,7
I-I	0,0	0,6	0,7	0,0	0,9	1,0
I-V	0,1	0,4	0,4	0,0	0,6	0,6
I-A	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
I-G	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
I-K	0,1	0,4	0,4	0,0	0,4	0,5
V-V	0,0	0,6	0,6	0,0	0,9	1,0
V-A	0,0	0,3	0,4	0,0	0,4	0,5
V-G	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1
V-K	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
A-A	0,0	0,4	0,4	0,0	0,3	0,3
A-G	0,1	0,5	0,6	0,1	0,5	0,5
A-K	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G-G	0,0	0,6	0,6	0,0	0,7	0,6
G-K	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
K-K	0,0	0,4	0,4	0,0	0,5	0,6

que o número de moléculas de água no interior das fibras, após a simulação de DM, é menor que as inseridas nas estruturas iniciais. Estes resultados indicam que a estrutura modelada favoreceu o estabelecimento de LHs entre os peptídeos levando a uma estrutura final estável. Para a nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ os resíduos internos de isoleucina (I) e valina (V) estabelecem mais LHs com a água, indicando que uma maior quantidade de moléculas de solvente infiltrou nesta nanofibra. Em contrapartida, estes mesmos resíduos fazem mais LHs entre si na nanofibra $K_3I_3V_3A_3G_3$, portanto, estes resíduos devem estar mais próximos, dificultando a infiltração de moléculas de água.

Para caracterizar os núcleos de cada nanofibra, fizemos uma análise das interações entre os resíduos (pep-pep). Na nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$, a maior quantidade de LHs foi realizada pelos resíduos I-I, V-V, A-G e G-G. As interações entre estes resíduos aumentaram em comparação com as encontradas entre eles na conformação de monômero, o que indica que estas interações apresentaram papel significativo na manutenção da estrutura desta nanofibra. Já para a fibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ além das interações entre I-I, V-V, A-G e G-G, também ocorrem interações envolvendo I-V, V-A e K-K. De maneira geral, as LHs ocorrem preferencialmente entre resíduos iguais (I-I, G-G, V-V, ...) ou com os

resíduos mais próximos (I-K, V-A, A-G, ...), que estão posicionados lado a lado em discos vizinhos.

Além do número de LHs, é importante compreender a direção preferencial em que elas são estabelecidas, o que ajuda na compreensão da direção de maior crescimento da estrutura. Na Figura (4.4), apresentamos a direção preferencial de estabelecimento das LHs para a fibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ simulada no *ensemble* NVT. Nota-se, que as LHs se estabelecem preferencialmente paralelas ao eixo da fibra, eixo z , mas há também LHs que parecem circular no plano xy . Essas ligações que aparecem em uma disposição circular no plano xy , indicam que as cadeias principais dos peptídeos adquirem posições heterogêneas, confirmando uma alta mobilidade dos peptídeos nestas nanoestruturas.

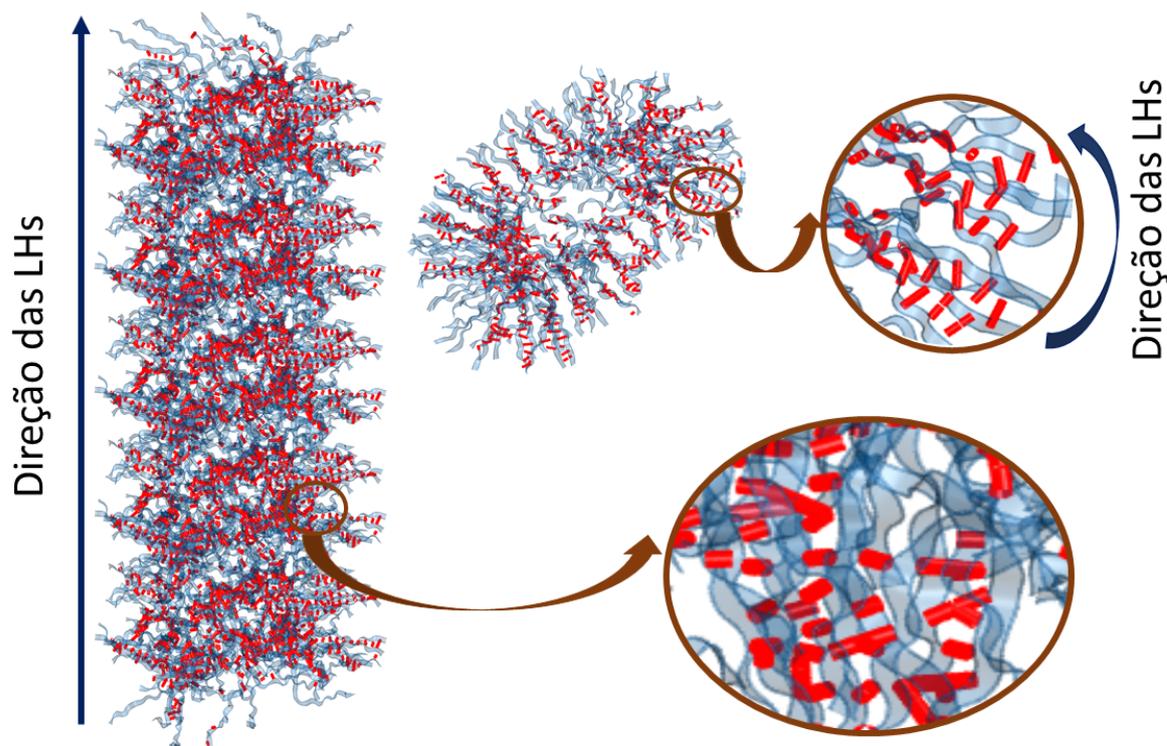


Figura 4.4: Representação das LHs na fibra peptídica $G_3A_3V_3I_3K_3$ simulada no *ensemble* NVT. Os peptídeos estão representados em azul-claro e as LHs em vermelho. As LHs entre os peptídeos e as moléculas de água não estão representadas.

De maneira geral, nossos resultados ressaltam que entre as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ a primeira é mais hidratada. De maneira semelhante entre as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, a primeira é mais hidratada. Uma comparação entre as duas estruturas, nanofibras e nanomembranas, indica que as nanomembranas são menos hidratadas e estabelecem maior quantidade de LHs entre seus peptídeos, e, portanto, devem apresentar melhor eficiência no encapsulamento e transporte de drogas hidrofóbicas, que as nanofibras. De fato, experimentalmente esta característica foi reportada [8]. Sendo assim, nossos resultados, em excelente acordo com resultados experimentais, garantem que é possível prever o formato favorável da macroestrutura

de peptídeos com sequências de aminoácidos distintas, bem como sua hidrofobicidade, utilizando DM, contribuindo para o desenvolvimento de novos nanomateriais. Mostramos inclusive que a DM, utilizando o campo de forças CHARMM36, é sensível à inversão da sequência primária utilizada e das terminações (C e N) dos peptídeos.

4.3.2.1 Interações Coulombianas

A Tabela (4.3) mostra a energia de interação coulombiana dos peptídeos $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ nas conformações de monômeros e nanofibras. Os resultados apresentados foram obtidos em dois *ensembles* diferentes, NVT e NPT. Os valores de energia não apresentaram diferenças significativas quando obtidos nos *ensembles* NVT ou NPT, conforme esperado, uma vez que buscamos garantir a existência de sistemas termodinamicamente equilibrados, antes de realizar a produção da trajetória para extração dos resultados. Ao longo desta seção, discutiremos apenas os resultados obtidos nos *ensembles* NPT.

Notamos que a atração dos peptídeos com as moléculas de água é cerca de 8,2% mais intensa nas nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$. Por outro lado, a atração entre os peptídeos é cerca de 1,9% menor na fibra $G_3A_3V_3I_3K_3$. Sendo assim, a fibra formada por peptídeos cujo resíduo de lisina (K) está ligado ao terminal C, possui maior atração com a água e menor atração entre seus peptídeos, levando a formação de nanofibras mais hidratadas e com organização mais flexível. Estes resultados estão de acordo com o observado para o caso das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ discutidas no Cap. 3 e com resultados experimentais reportados na literatura [126].

Conforme esperado, os resíduos de lisina (K) são os que mais interagem com a água: 60,2% [60,0%] do total das interações coulombianas com a água das nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ [$K_3I_3V_3A_3G_3$] são devidas aos resíduos de lisina (K). Na nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ a atração coulombiana da lisina (K) com a água é cerca de 8,5% mais intensa que na nanofibra $K_3I_3V_3A_3G_3$. Depois dos resíduos de lisina (K), em ambas as nanofibras, os resíduos de glicina (G) são os que possuem maiores atrações coulombianas com as moléculas de água. Os resíduos de glicina (G) estão posicionados bem no centro das nanofibras, região onde inicialmente foram inseridas moléculas de água. Apesar de na configuração final o número de moléculas de água no interior das nanofibras ser menor, ainda há a presença de água nesta região, o que justifica a interação da glicina (G) com a água¹.

¹ A quantidade de água presente na parte central das estruturas, após a realização da DM, pode caracterizá-las como fibras tubulares

No que diz respeito às interações entre os peptídeos, na nanofibra $G_3A_3V_3I_3K_3$ a atração coulombiana é mais intensa entre K-K (24,0% do total), entre os resíduos G-G (18,4% do total) e A-A (15,6% do total). Na conformação de monômero estas também são as atrações coulombianas mais intensas. Para os peptídeos $K_3I_3V_3A_3G_3$ formando nanofibras, notamos que as interações K-K, G-G e A-A correspondem a 24,0% e I-I a 15,3%, respectivamente, do total de interações coulombiana.

Comparando as duas nanofibras, notamos que na fibra $K_3I_3V_3A_3G_3$ ocorre um aumento das interações entre os resíduos A-G, o qual possibilitou a formação de núcleos mais estáveis e com menores hidratações. No que diz respeito às LHs, as interações A-G possuem valores semelhantes nas duas nanofibras. Dessa forma, notamos que as interações coulombianas A-G foram importantes na união das cadeias laterais dos peptídeos. Foi observado que, tanto na conformação de monômero quanto na conformação de nanofibras, a atração entre os resíduos de lisina (K) é ligeiramente menor no caso em eles estão ligados ao terminal C. Logo, os peptídeos com as lisinas (K) ligadas ao terminal C possuem menor atração coulombiana com os resíduos de lisina (K) de outros peptídeos vizinhos; em contrapartida, atraem mais fortemente as moléculas de água, contribuindo com a hidratação.

De maneira semelhante ao encontrado para o caso das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, nas nanofibras as interações coulombianas com os íons de cloro ocorrem majoritariamente com os resíduos de lisina (K), conforme esperado, uma vez que os íons de cloro e os resíduos de lisina (K) possuem cargas opostas; e a lisina (K) forma a superfície de separação com o solvente, permitindo, dessa forma, bastante proximidade com os íons de cloro.

4.3.2.2 Interações de van der Waals

As interações de vdW obtidas por meio do potencial de LJ se encontram apresentadas na Tabela (4.4). São descritas as interações de vdW entre os peptídeos, entre os resíduos, dos peptídeos com a água e dos resíduos com a água. Semelhante ao caso das interações coulombianas e LHs, notamos que as interações de vdW entre os peptídeos com as moléculas de água é maior (17,8%) nas nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$. Por outro lado, as interações de vdW entre os peptídeos são 6,0% menos intensas nesta fibra, reforçando que as nanofibras $K_3I_3V_3A_3G_3$ são mais estáveis, uma vez que nela os peptídeos realizam mais LHs entre si e possuem atrações coulombianas e vdW mais intensas entre seus peptídeos.

Nas nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ [$K_3I_3V_3A_3G_3$], o resíduo com maior interação com a água é a isoleucina (I) [isoleucina (I)], sendo a interação I-água equivalente a 29,4% [27,3%] do total de interação de vdW desta nanofibra. Já as menores contribuições vêm dos resíduos de glicina (G) [alanina (A)], sendo a interação G-água [A-água] equivalente a 15,8% [15,3%] da interação de vdW total entre os peptídeos e a água. Nas nanofibras,

Tabela 4.3: Energia de interação de Coulomb [em kJ.mol⁻¹/pep] para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanofibras solvatadas em água. Os valores de energia de interação de Coulomb foram normalizados pelo número de peptídeos nas caixas de simulação, isto é, dividido por 120. Pep (peptídeo), A (alanina), V (valina), G (glicina), K (lisina) e I (isoleucina).

	$G_3A_3V_3I_3K_3$			$K_3I_3V_3A_3G_3$		
	Monômero	NVT	NPT	Monômero	NVT	NPT
Pep-pep	-4181,7	-4294,1	-4312,6	-4232,2	-4387,1	-4395,7
Pep-água	-1611,5	-1081,1	-1115,4	-1634,7	-1023,6	-1024,1
K-água	-898,6	-618,8	-671,2	-898,0	-602,4	-614,0
A-água	-181,6	-120,3	-115,2	-183,8	-115,1	-110,4
I-água	-148,4	-95,7	-92,7	-156,9	-75,3	-74,7
G-água	-221,8	-152,2	-143,7	-235,4	-153,4	-157,6
V-água	-161,2	-94,1	-92,5	-160,5	-77,5	-67,4
I-I	-526,1	-558,0	-558,7	-539,3	-566,0	-567,7
I-V	-194,8	-202,7	-203,4	-197,7	-204,2	-206,4
I-A	0,0	0,0	-0,8	0,0	-0,1	-0,1
I-G	-0,1	-0,2	-0,5	0,0	-0,3	-0,7
I-K	-189,6	-186,6	-186,0	-220,5	-218,2	-218,7
V-V	-455,0	-474,9	-476,1	-456,1	-489,1	-491,9
V-A	-235,2	-239,8	-241,3	-156,9	-164,6	-167,0
V-G	0,0	-2,1	-1,7	-0,2	-1,4	-2,0
V-K	0,2	-0,6	-0,8	0,6	0,0	0,1
A-A	-655,1	-668,9	-670,9	-655,1	-674,5	-673,4
A-G	-128,4	-139,7	-141,9	-264,8	-279,8	-280,7
A-K	-0,1	-0,2	-0,6	0,0	-0,7	-0,5
G-G	-770,0	-791,3	-791,9	-707,1	-734,3	-730,7
G-K	0,0	-0,6	-2,9	-0,2	-1,5	-1,9
K-K	-1027,4	-1028,4	-1034,9	-1034,9	-1052,2	-1054,1
A-Cl	0,0	-0,3	-0,5	0,0	-0,2	-0,3
K-Cl	-1,7	-273,2	-210,1	-2,8	-259,8	-241,2
V-Cl	-0,1	-0,4	-0,4	0,0	-0,5	-0,4
G-Cl	-0,1	-1,3	-1,6	-0,5	-1,8	-2,1
I-Cl	0,0	-2,5	-1,5	0,0	-2,4	-2,2

notamos uma drástica redução, 54,3% [61,6%], da intensidade das interações de vdW entre os peptídeos e a água, em comparação com a interação dos peptídeos com a água na configuração de monômeros.

As interações de vdW entre os peptídeos são mais atrativas entre os resíduos K-K [I-I] nas nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ [$K_3I_3V_3A_3G_3$], correspondendo a 14,2% [15,5%] do total das interações de vdW entre os peptídeos. Logo, ocorreu um melhor encaixe lateral das isoleucinas (I), nas nanofibras $K_3I_3V_3A_3G_3$, em decorrência das diferenças nos ângulos de torção dos peptídeos nas sequências primárias direta e reversa. Em geral, a energia de interação de LJ, entre os peptídeos e os átomos de cloro é consideravelmente pequena, exceto para a interação com os resíduos de lisina (K), onde ocorre repulsão, devido à proximidade destes resíduos com os íons de cloro.

Tabela 4.4: Energia de interação de vdW [em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}/\text{pep}$] obtida por meio do potencial de LJ, para os peptídeos nas conformações de monômeros e nanofibras solvatadas em água. Os valores de energia de interação vdW foram normalizados pelo número de peptídeos nas caixas de simulação, isto é, dividido por 120. Pep (peptídeo), A (alanina), V (valina), G (glicina), K (lisina) e I (isoleucina).

	$G_3A_3V_3I_3K_3$			$K_3I_3V_3A_3G_3$		
	Monômero	NVT	NPT	Monômero	NVT	NPT
Pep-pep	-130,3	-294,2	-292,4	-126,0	-310,3	-311,1
Pep-água	-338,9	-151,8	-154,8	-342,4	-132,0	-131,4
K-água	-48,4	-28,2	-28,6	-44,4	-28,8	-28,2
A-água	-60,6	-25,8	-25,7	-60,2	-20,6	-20,1
I-água	-95,9	-42,8	-45,6	-101,2	-36,5	-35,9
G-água	-49,6	-24,4	-21,6	-50,0	-21,8	-23,3
V-água	-84,4	-30,7	-33,2	-86,5	-24,2	-23,9
I-I	-15,9	-39,8	-39,1	-15,2	-48,0	-48,1
I-V	-20,2	-36,7	-35,8	-15,3	-34,2	-34,5
I-A	-0,4	-1,4	-2,5	0,0	-1,2	-1,4
I-G	-0,4	-1,0	-1,7	-0,1	-0,5	-0,9
I-L	-19,2	-32,4	-30,3	-20,5	-31,6	-32,1
V-V	-14,6	-38,7	-37,5	-14,6	-44,6	-44,6
V-A	-12,6	-25,0	-25,4	-11,4	-25,2	-26,0
V-G	-0,7	-5,1	-5,8	-0,8	-2,5	-3,4
V-K	-1,1	-1,7	-2,0	-1,0	-1,7	-1,5
A-A	-9,1	-25,5	-23,9	-9,3	-28,5	-28,7
A-G	-8,3	-25,1	-26,1	-7,7	-24,2	-24,3
A-K	-0,1	-0,2	-0,7	0,0	-0,6	-0,5
G-G	-3,1	-18,0	-19,1	-4,1	-23,4	-20,5
G-K	-0,1	-0,2	-1,1	-0,1	-0,7	-1,0
K-K	-24,3	-43,4	-41,3	-26,0	-43,5	-43,6
A-Cl	0,0	-0,1	-0,1	0,0	-0,1	-0,1
K-Cl	0,0	14,4	10,8	0,1	12,5	11,6
V-Cl	0,0	-0,3	-0,3	0,0	-0,2	-0,2
G-Cl	0,0	-0,1	-0,1	0,0	0,0	-0,1
I-Cl	0,0	-1,7	-1,3	0,0	-1,1	-1,0

4.4 Considerações Finais

Neste trabalho, realizamos uma caracterização estrutural e energética de duas fibras peptídicas, compostas pelos peptídeos $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$, por meio de simulações de DM atomística. Foram apresentados e discutidos os perfis de densidade de massa e a hidratação das estruturas, bem como as LHs e as interações coulombianas e vdW , principais interações responsáveis pela manutenção da forma das nanofibras. Assim como no caso das nanomembranas, apresentadas no Capítulo 3, a caracterização destas estruturas, de um ponto de vista atômico (e molecular), permitiu compreender detalhes que não seriam possíveis por meio de abordagens puramente experimentais. As conclusões acerca das nanofibras peptídicas serão apresentadas no Capítulo 5.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, caracterizamos, via simulações de DM, nove nanomembranas e duas nanofibras compostas por SLPs. Nossos resultados mostraram como alterações nas caudas hidrofóbicas e nas cabeças hidrofílicas de SLPs levam à formação de nanoestruturas com diferentes organizações e hidratações, ressaltando a versatilidade estrutural de aminoácidos agregados.

Ao estudar nanomembranas [nanofibras] formadas por peptídeos com os mesmos aminoácidos ligados em sequências primárias invertidas, $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ [$G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$], foi possível analisar as alterações causadas pelos ângulos de torção, pelas cadeias laterais e os terminais, C e N, dos peptídeos, nas características estruturais dos sistemas. Tanto as nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ quanto as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ apresentaram características de hidrogéis, *i. e.*, mantiveram as formas estruturais mesmo com a ocorrência de uma grande hidratação das estruturas. As nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ possuem superfícies com espessuras irregulares, bastante heterogêneas. A nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ é ligeiramente menos hidratada que a nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$. A nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ realiza mais LHs por peptídeo com a água que a nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, 23,8 e 20,6 LHs/pep, respectivamente. Em contrapartida, os resíduos na nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ realizam mais LHs entre si que na nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$, 7,4 e 5,7 LHs/pep, respectivamente. A nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ possui a lisina (K) carregada ligada ao terminal C, enquanto na nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ a lisina (K) carregada está ligada ao terminal N, dessa forma, a distribuição de cargas elétricas nas moléculas é modificada e, portanto, a interação entre os peptídeos (pep-pep) e pelos peptídeos com a água (Pep-água) é alterada. Notamos que os resíduos de lisina (K) carregados ligados ao terminal C apresentam maior atração coulombiana com as moléculas de água tanto na conformação de monômero (1,3% maior) quanto na conformação de nanomembranas (12,9% maior) que os resíduos de lisina (K) ligados ao terminal N. Estes resultados confirmam observações anteriores reportadas por Maltzahn *et. al.* [126], que indicam maior solubilidade de peptídeos anfifílicos catiônicos formados por resíduos de lisina (K)

ligados ao terminal C. Além disso, as lisinas (K) ligadas ao terminal C possuem menor atração coulombiana entre si. As alterações nos ângulos de torção possibilitaram melhor encaixe lateral entre os resíduos das nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$, principalmente entre os resíduos de alanina (A) e valina (V). Sendo assim, a maior tendência dos resíduos de lisina (K) em interagirem com as moléculas de água (e se atraírem menos entre si), juntamente com as alterações nos ângulos de torção e a disposição das cadeias laterais dos peptídeos, que dificultaram o encaixe lateral dos peptídeos, prejudicaram a formação de uma rede de LHs entre os peptídeos nas nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$, permitindo maior infiltração de moléculas de água em seu interior hidratando a estrutura. Assim, a nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ poderia apresentar melhor capacidade em transportar drogas hidrofóbicas, conforme reportado experimentalmente [8]. Dessa forma, indicamos que o campo de forças CHARMM36 pode reproduzir resultados experimentais quando as sequências primárias, e as terminações dos peptídeos, são invertidas, em especial devido ao bom tratamento dos ângulos de torção das cadeias principais e laterais dos aminoácidos [83].

Os resultados referentes às nanofibras, também demonstram que as nanoestruturas formadas por peptídeos com a lisina (K) ligada ao terminal C possuem maior hidratação e menor interação entre os peptídeos: as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ realizam 7,3% mais LHs/pep com a água e 17,2% menos LHs entre os peptídeos que as nanofibras $K_3I_3V_3A_3G_3$; a atração coulombiana dos peptídeos com água é cerca de 8,2% mais intensa nas nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ enquanto a atração coulombiana entre os peptídeos é cerca de 1,9% menos intensa. De maneira semelhante ao encontrado para as membranas, notamos que a atração coulombiana das lisinas (K) ligadas ao terminal N com as moléculas de água é menos intensa, cerca de 8,5%, que as lisinas (K) ligadas ao terminal C. Logo, observamos que tanto nas nanomembranas quanto nas nanofibras, os peptídeos com a lisina (K) carregada ligada ao terminal N levam à formação de estruturas menos hidratadas, com o estabelecimento de uma maior [menor] quantidade de LHs e uma maior [menor] atração coulombianas entre os peptídeos [dos peptídeos com a água].

Uma comparação entre as nanomembranas e as nanofibras, indica que as primeiras são nanoestruturas que possibilitam a formação de maior quantidade de LHs entre os peptídeos e menor quantidade de LHs dos peptídeos com as moléculas de água. O mesmo comportamento é encontrado no caso das interações coulombianas; notamos que os peptídeos nas nanomembranas possuem maior [menor] interação coulombiana entre si [com a água] do que os peptídeos nas nanofibras. Observamos que as nanomembranas peptídicas possuem maior energia de atração coulombiana aos íons negativos de cloro que as nanofibras; resultado relacionado a uma maior densidade superficial de cargas positivas nas nanomembranas do que nas nanofibras. Experimentalmente observou-se que para pequenas concentrações, as nanomembranas peptídicas possuem maior capacidade de penetrar em membranas celulares [8], o que pode estar relacionado à maior atração coulombiana entre as nanomembranas peptídicas e as membranas celulares. No entanto,

para grandes concentrações de peptídeos, as nanofibras apresentam maior citotoxicidade¹ [8], isso porque as nanofibras formam estruturas do tipo amiloides, nos quais os peptídeos vão se empilhando em uma direção somente (direção das cadeias principais) e, assim, formam estruturas robustas. Já as nanomembranas peptídicas, para serem formadas, precisam crescer em duas direções (cadeias laterais e principais). Sendo assim, elas formam estruturas menores e, conseqüentemente, apresentam menos toxicidade nas células.

Já as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ apresentaram estruturas bastante organizadas, em bicamadas, formando lâminas, semelhantes às encontradas em sólidos cristalinos, permitindo pouca hidratação. Além disso, as nanomembranas A_6H apresentam superfícies bastante regulares, com alta concentração de resíduos de histidina (H). Nossos resultados para a distância de separação entre os peptídeos formando as nanomembranas, estão em bom acordo com resultados encontrados em experimentos de Difração de Raio-X (DRX) [105]. Foi observada uma direção preferencial para o estabelecimento das LHs, levando à formação de nanoestruturas bastante organizadas, a partir de um processo consistente de auto-organização onde é estabelecido um *design* e não somente aglomerados amorfos. Notamos que a alteração na posição do átomo de hidrogênio no anel aromático da histidina (H_ϵ ou H_δ) modifica a forma como este resíduo se dispõe na superfície das nanomembranas e, conseqüentemente, a sua interação com o meio solvente. Dessa forma, nossos resultados confirmam resultados anteriores [119] de que os tautômeros da histidina (H) apresentam diferentes conformações, corroborando a hipótese de que átomos de hidrogênio ligados às diferentes posições do anel aromático, ϵ ou δ , podem levar à formação de nanomembranas com diferentes eficiências na quelação de íons metálicos. Foi observado que na membrana A_6H_ϵ o átomo de hidrogênio do anel aromático da histidina (H) fica mais exposto à água e o átomo de nitrogênio livre tende a estabelecer maior número de LHs com átomos de hidrogênio do grupo amina de alaninas (A) vizinhas. Comportamento semelhante é observado para o caso das interações coulombianas, onde os resíduos de histidina (H_ϵ) tendem a atrair mais fortemente os resíduos de alanina (A) dos peptídeos vizinhos. Nesta conformação, a histidina (H_ϵ) fica ligeiramente mais normal à superfície e possibilita uma melhor organização dos resíduos levando à formação de uma rede de LHs com maior número de LHs entre os resíduos H-A e A-A, além de um melhor encaixe lateral destes mesmos resíduos, levando a membrana A_6H_ϵ a possuir um núcleo menos hidratado. Apesar de ambas as nanomembranas realizarem quantidade semelhante de LHs entre os peptídeos, ≈ 7 LHs/pep, a organização dos peptídeos é diferente, alterando a quantidade de água no interior das estruturas (a membrana A_6H_δ apresenta cerca de 14,7% mais

¹ Termo relacionado à capacidade intrínseca de um material em promover o rompimento das membranas celulares podendo culminar na morte celular.

LHs/pep com a água que a membrana A_6H_ϵ).

No estudo das nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$, obtivemos as espessuras das nanomembranas e as distâncias de separação entre seus peptídeos em bom acordo com resultados experimentais. Nossos resultados indicam que as nanomembranas adquirem forma de bicamadas, as quais podem se sobrepor formando estruturas mais espessas. As nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{S}, \mathbf{N}, \mathbf{G}$) apresentam superfícies bastante regulares, com alta concentração de resíduos de lisina (K), enquanto as nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ ($\mathbf{X} = \mathbf{Q}, \mathbf{L}$) apresentam superfícies onduladas. As nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ realizam entre 3,2 e 5,6 LHs/pep entre os peptídeos (pep-pep) de acordo com o resíduo que ocupa a posição \mathbf{X} . Notamos que quando resíduos polares estão formando a cauda dos SLPs, o número de LHs entre os peptídeos é maior, com uma diferença de até a 2,4 LHs/pep quando comparadas as nanomembranas $I_3\mathbf{N}GK$ e $I_3\mathbf{L}GK$, representando uma diferença de $\approx 75\%$. Diferentemente do caso das LHs, não é observado um comportamento relacionado às interações coulombianas que distinga as nanomembranas polares das apolares. A atração coulombiana entre os peptídeos da membrana polar $I_3\mathbf{N}GK$ é apenas $I_3\mathbf{N}GK$ 0,8% mais intensa que na membrana apolar $I_3\mathbf{G}GK$, mas a membrana polar $I_3\mathbf{N}GK$ realiza 30,4% mais LHs entre seus peptídeos. Assim, nossos resultados indicam que a importância dos resíduos polares reside em propiciar o aumento da quantidade de LHs entre os peptídeos ao estabelecer LHs entre suas cadeias laterais, unindo folhas- β vizinhas, formando o que se conhece como zíperes polares, que fornecem uma maior estabilidade às nanomembranas polares [106]. A formação dos zíperes polares é importante porque pode propiciar que estruturas sejam conectadas por meio deles, levando à formação de estruturas maiores e mais complexas. Assim, a utilização de resíduos polares pode aumentar a quantidade de LHs estabelecidas entre os peptídeos. Além disso, fornecer uma rota interessante para a formação de estruturas com características controláveis, devido à intensidade e ao caráter direcional deste tipo de interação. No entanto, ressaltamos a importância de posicionar os resíduos polares “protegidos” por resíduos hidrofóbicos, de maneira que possam formar zíperes polares, sem que a maior tendência em interagir com a água leve ao rompimento da estrutura membranar.

A área por peptídeo das nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ varia entre 0,47 nm²/pep e 0,55 nm²/pep, dependendo de qual aminoácido está na posição \mathbf{X} . Entre elas, a membrana $I_3\mathbf{L}GK$ tem a maior área por peptídeo. Já as nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$, têm área por peptídeo igual a 0,54 nm²/pep, sendo, portanto, similar às encontradas nas nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$. As nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ possuem área por peptídeo de 0,71 nm²/pep, maior que as apresentadas nas nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$. Já nas nanomembranas A_6H_ϵ ou δ o número médio de ocupação é de 0,29 nm²/pep, indicando que os peptídeos estão mais próximos entre si, e cada peptídeo ocupa uma área menor. O fato de as nanomembranas $I_3\mathbf{X}GK$ apresentarem área por peptídeos semelhantes às encontradas nas nanomembranas $K_3G_3A_3V_3I_3$, as quais apresentaram eficiência no

transporte e encapsulamento de drogas hidrofóbicas, juntamente com a menor ocorrência de moléculas de água nestas nanomembranas, indica que elas também podem possuir eficiência como nanocarregadores de fármacos. As nanomembranas A_6H_ϵ ou δ apresentam a menor infiltração de moléculas de água entre as nove nanomembranas.

Comparando as nove nanomembranas, notamos que as compostas por A_6H_ϵ ou δ apresentam a maior quantidade de LHs entre os peptídeos e a organização mais compacta. Assim, nota-se que quando resíduos iguais de alanina (A) são utilizados para construção da parte apolar dos SLPs o encaixe das estruturas e a formação das LHs é favorecido, permitindo o estabelecimento de uma maior quantidade de LHs, ressaltando a importância dos efeitos estéricos na manutenção de estruturas membranares. Quantidade semelhante de LHs entre os peptídeos foi observada para a membrana $K_3G_3A_3V_3I_3$, no entanto, nesta membrana ocorreu maior infiltração de água que nas nanomembranas A_6H_ϵ ou δ , ressaltando que a variação dos resíduos na cauda apolar dos SLP pode levar a estruturas com quantidade semelhante de LHs entre os peptídeos, mas que possuem comportamentos diferentes no que concerne ao potencial de hidratação.

5.0.1 Perspectivas Futuras

Nesta tese, apresentamos os resultados dos trabalhos desenvolvidos ao longo de quatro anos de Doutorado, que culminaram na publicação de quatro artigos científicos, os quais podem ser acessados nas referências [65, 67–69]. Além disso, outros três trabalhos foram desenvolvidos em colaboração com o grupo de pesquisa coordenado pelo professor Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira, onde estudamos a formação de estruturas peptídicas do tipo lâminas [145] e o efeito de temperaturas na estabilidade e na formação de LHs em nanomembranas peptídicas [112, 146]. Todos estes 7 trabalhos buscaram caracterizar estruturas peptídicas e algumas de suas possíveis aplicações. Em cada trabalho, diferentes abordagens e análises foram realizadas. Sendo assim, enquanto aluno de doutorado, pude desenvolver uma série de habilidades que serão extremamente importantes para meu desenvolvimento profissional, enquanto professor do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG). O Campus do IFG em que atuo possui pouquíssimos recursos de laboratório, principal motivo pelo qual escolhi uma linha de pesquisa na área de simulações computacionais. Nesta área, poderei continuar desenvolvendo pesquisas em parceria com o instituto de Física da Universidade Federal de Goiás, de maneira a me consolidar enquanto pesquisador no IFG. Além dos trabalhos já apresentados, temos em andamento um novo estudo que busca complementar os resultados referentes às nanomembranas peptídicas I_3XGK , no qual realizamos cálculos de potencial de força média (PMF) para avaliar a energia necessária para separar o zíper polar nas nanomembranas I_3XGK ($X = Q, S$ ou N). Em cada uma das nanomembranas I_3XGK ($X = Q, S$ ou N), selecionamos uma região onde se formam zíperes polares e, para cada região, realizamos

150 cálculos utilizando o *umbrella pull code* implementado no GROMACS, de maneira a obter a força em função do tempo (e da distância) entre uma parte da membrana que foi puxada e outra de referência. Nestas simulações, cada configuração foi separada da anterior por um intervalo de 0,05 ns. Em seguida, para cada sistema, foi selecionada a curva que melhor caracterizaria o comportamento médio das 150 configurações e, para ela, foram realizados cálculos de PMF utilizando o método de amostragem ampliada *Umbrella Sampling*, com os pontos da coordenada de reação separados por cerca de 0,05 nm e com um tempo de simulação de cerca de 30 ns em cada um deles na construção dos histogramas. Os cálculos foram finalizados e alguns resultados já foram extraídos. Na próxima etapa, definiremos a estrutura do artigo e escreveremos o manuscrito para submissão em revista científica especializada.

APÊNDICES

ESTRUTURAS INICIAIS QUE NÃO OBTIVERAM SUCESSO

Durante o processo de modelagem molecular, diversas configurações iniciais são testadas. Nas configurações não favoráveis energeticamente podem ocorrer rasgos ou a ruptura das nanomembranas e, conseqüentemente, levar à resultados diferentes dos observados experimentalmente. Para exemplificar, nesta seção estão apresentadas algumas configurações iniciais e finais das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ (este peptídeo está apresentado no Capítulo 3, Seção 3.2.1.1), e das nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ (estes peptídeos estão apresentados no Capítulo 4, Seção 4.2.1) testadas durante o processo de equilíbrio, que não levaram a resultados comparáveis aos resultados experimentais.

A.1 Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$

Na Figura (A.1), algumas configurações iniciais e finais de nanomembranas formadas por monômeros e por dímeros replicados, simuladas segundo o protocolo de simulação C_2 discutido na Seção C.1 (no Apêndice C).

A.2 Nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$

Para as nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$ testamos outros quatro tipos de configurações iniciais, a saber:

- (i) de forma semelhante à apresentada na Figura (4.2), construímos uma camada composta por 24 monômeros, com cada monômero rotacionado em 15° em relação ao vizinho. Então, 5 camadas foram utilizadas, no entanto, cada camada foi então rotacionada em cerca de 4° em relação à outra na hora da replicação;

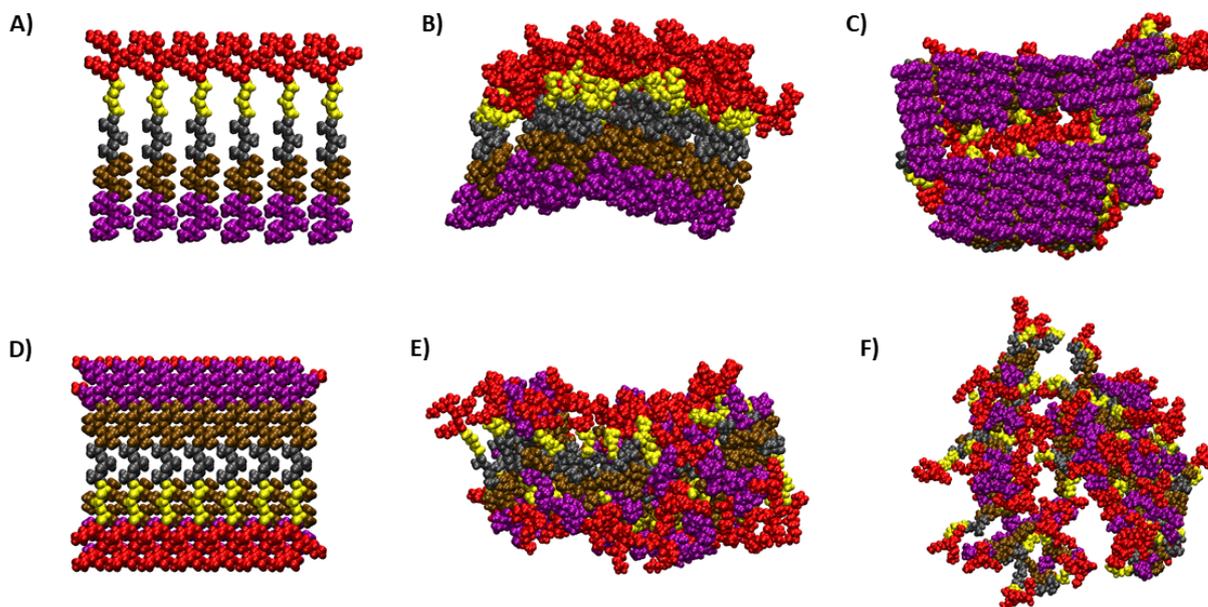


Figura A.1: Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ formadas por monômeros replicados em sua configuração inicial: A) vista no plano xz ; B) configuração final vista plano xz ; C) configuração final vista no plano xy . Representação da configuração inicial da nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$ formada por dímeros, simulada segundo o protocolo C_2 (Seção C.1): D) vista do plano xy ; E) configuração final vista no plano xz ; e F) configuração final vista no plano xy . A nanomembrana formada por monômeros, apesar de possuir características de membranas, possui uma espessura diferente da reportada experimentalmente por Cao *et. al.* [8]. No caso da nanomembrana formada por dímeros, notamos que uma forma final com características de aglomerado amorfo foi estabelecida.

- (ii) 24 peptídeos, cada um rotacionado em 15° , foram utilizados para formar uma camada em formato de cone. Cada cone foi então replicado 5 vezes formando uma espécie de cone cilíndrico;
- (iii) 8 peptídeos, cada um rotacionado em 45° em relação ao anterior, foram utilizados para formar uma camada plana. 3 destas camadas foram intercaladas, rotacionadas uma em relação à outra. Esta nova camada, composta por 3 camadas rotacionadas, foi replicada 5 vezes, formando uma fibra cilíndrica porosa, com 120 peptídeos;
- (iv) mesmo procedimento descrito no item 3, mas em vez de uma camada plana, foi utilizada uma camada cônica, formando uma fibra cônica porosa. Algumas configurações iniciais destas configurações tentativas estão apresentadas na Figura (A.2).

As configurações finais, após 110 ns de simulações de DM estão representadas na Figura (A.3).

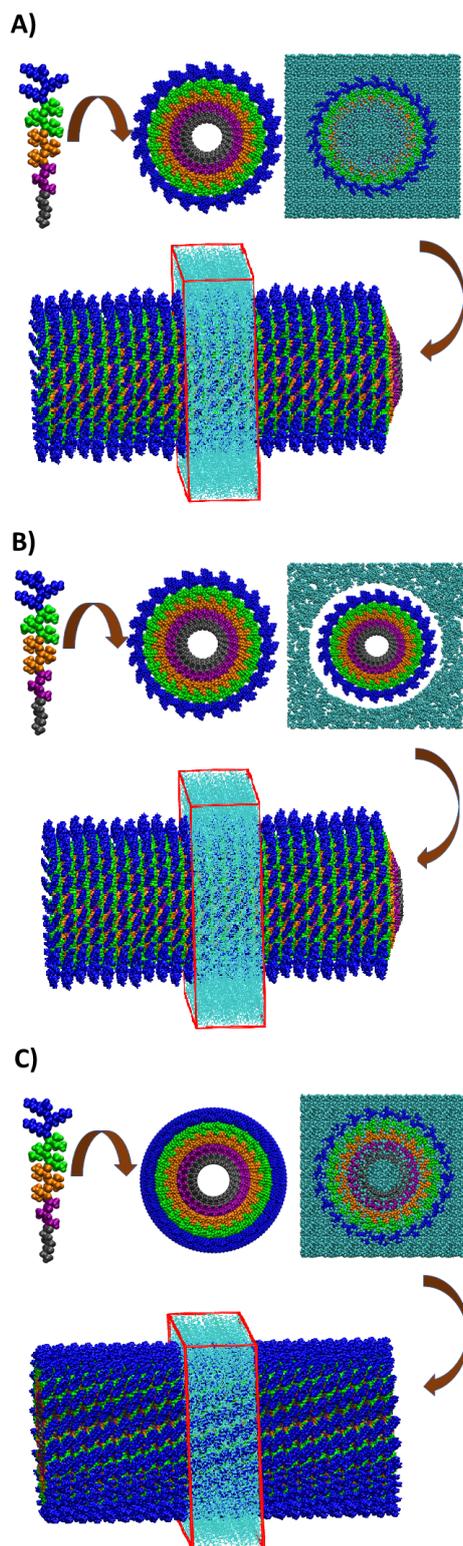


Figura A.2: Diferentes configurações iniciais utilizadas no processo de simulação de DM: A) Nanofibras em formato de cones com a caixa de simulação completamente preenchida com água; B) nanofibras em formato de cone em que as caixas de simulação foram preenchidas com água de maneira que não houvesse moléculas de água no interior das nanofibras; C) nanofibra planar, com camadas rotacionadas de 4° umas em relação às outras e caixa de simulação completamente preenchida com água.

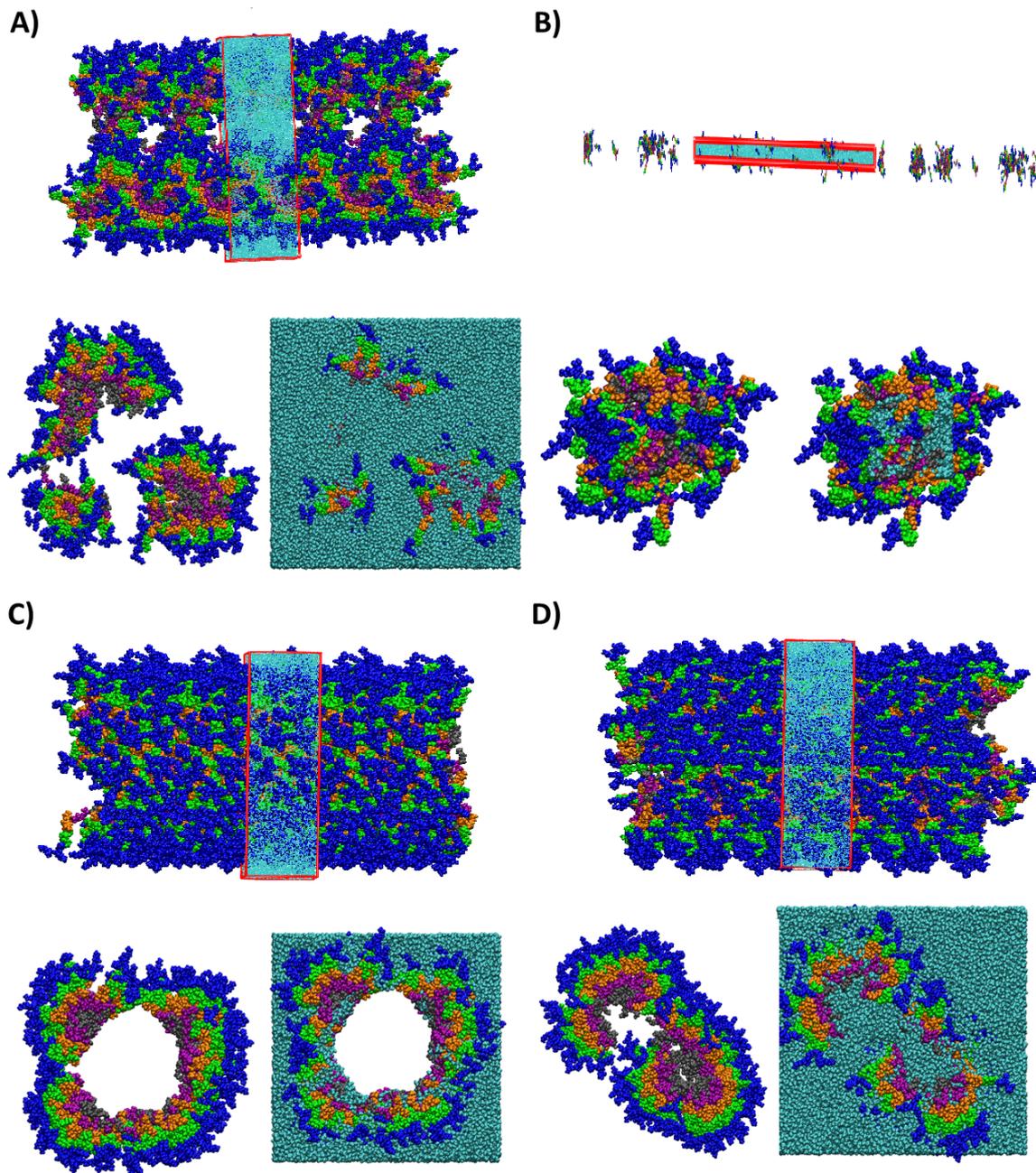


Figura A.3: Diferentes configurações finais obtidas após 110 ns de simulações de DM: A) Nanofibras em formato de cones com a caixa de simulação completamente preenchida com água, simuladas com o acoplamento de pressão isotrópico; B) nanofibras em formato de cones com a caixa de simulação completamente preenchida com água, simuladas com o acoplamento de pressão semi-isotrópico; C) nanofibras em formato de cone em que as caixas de simulação foram preenchidas com água de maneira que não houvesse moléculas de água no interior das nanofibras, simuladas com o acoplamento de pressão isotrópico; D) nanofibras planas, com camadas rotacionadas de 4° umas em relação às outras e com as caixas de simulação completamente preenchidas com água, simuladas com o acoplamento de pressão isotrópico. Em todas estas nanoestruturas podemos notar que a característica de fibra foi perdida durante as etapas de simulações de DM, demonstrando um alongamento da fibra de forma não homogênea ou um orifício central hidratado, característico de nanotubos.

MATERIAL SUPORTE MEMBRANAS

B.1 Membranas A_6H_ϵ e A_6H_δ

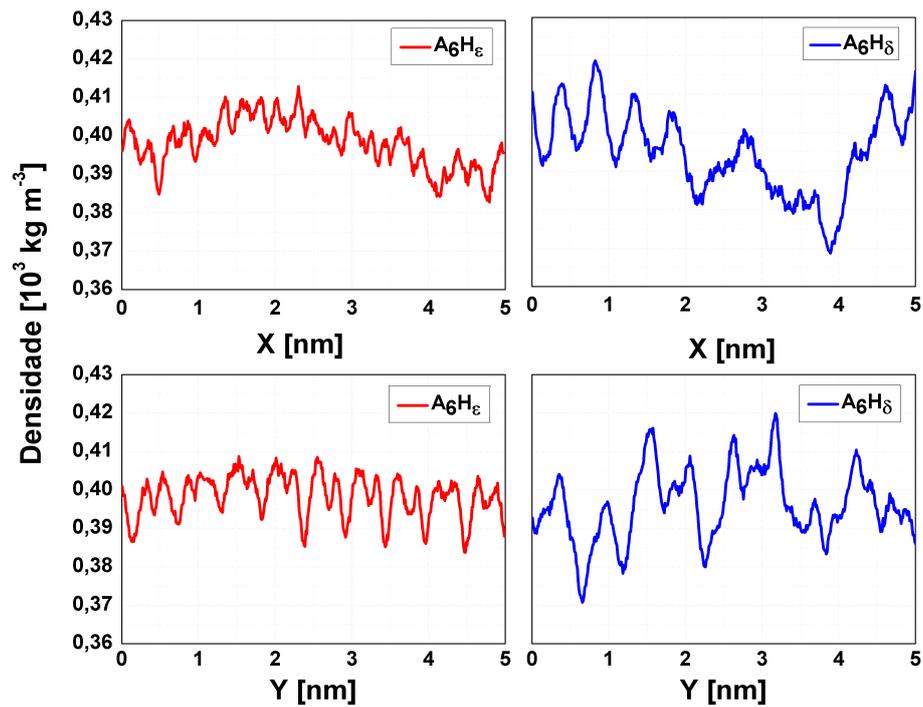


Figura B.1: Perfis de densidade de massa ao longo dos eixos x (acima) e y (abaixo) em 10^3 kg.m^{-3} para as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ .

B.2 Membranas I_3XGK

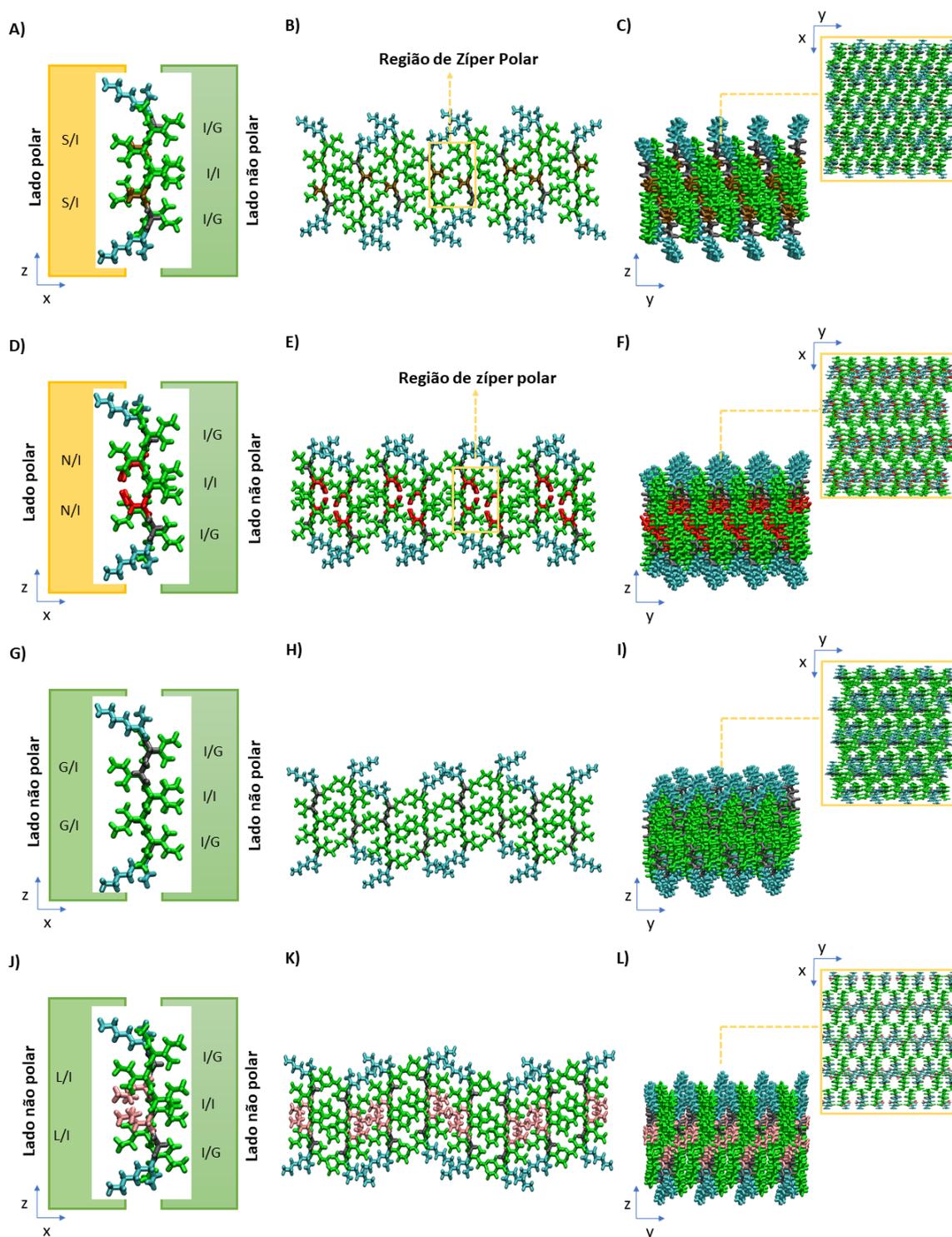


Figura B.2: Configurações iniciais das nanomembranas simuladas: A), B) e C) I_3SGK ; D), E) e F) I_3NGK . Nestas nanomembranas há resíduos polares e, portanto, espera-se que sejam formados zíperes polares; G), H) e I) I_3GGK ; J), K) e L) I_3LKG . Nestas nanoestruturas há apenas resíduos não polares na cauda neutra, portanto, espera-se que as folhas- β se mantenham unidas por efeitos hidrofóbicos. Lisina (K), isoleucina (I), glicina (G e G), serina (S), asparagina (N) e leucina (L) estão representadas em azul-claro, verde, cinza, ferrugem, vermelho e rosa, respectivamente.

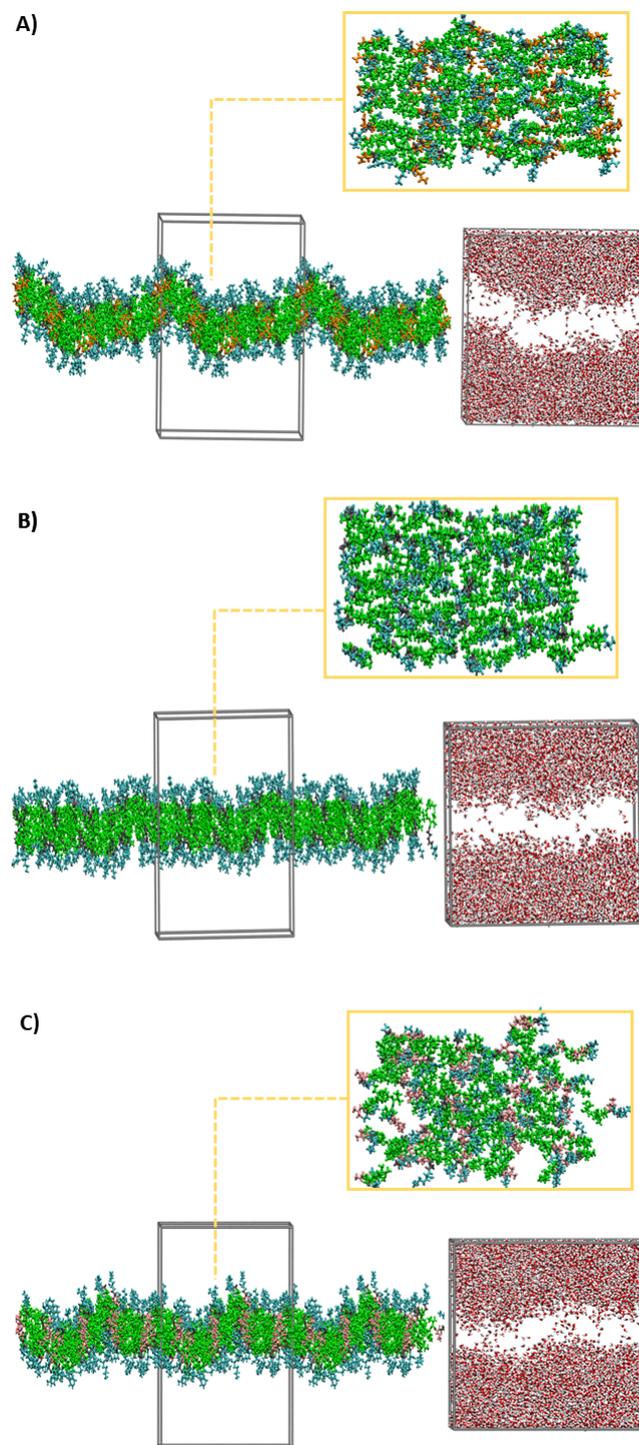


Figura B.3: Configurações finais das nanomembranas A) I_3QGK , B) I_3GGK e C) I_3LGK com respectivos perfis de água. As nanoestruturas membranares foram mantidas para todas as configurações após 110 ns de simulação MD. Isoleucina (I), glicina (G e G), glutamina (Q) e leucina (L) estão mostradas em verde, cinza, azul-claro, laranja e rosa, respectivamente.

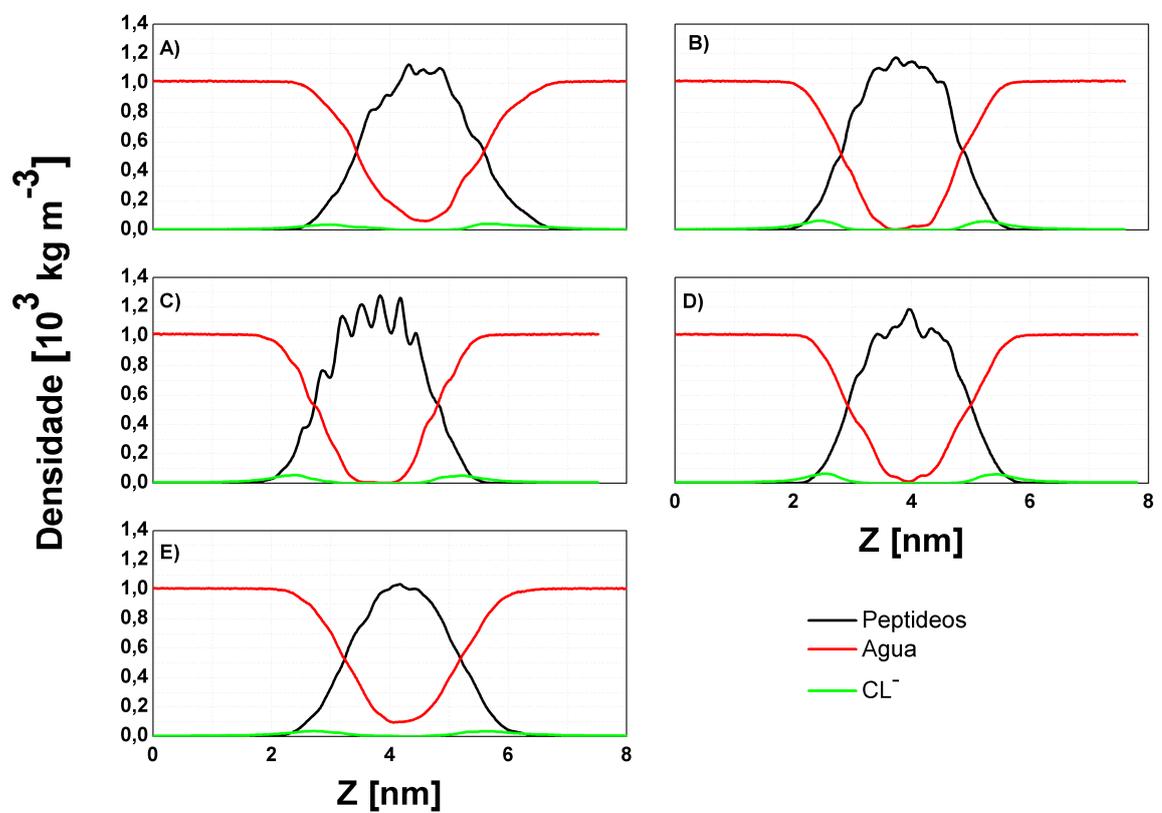


Figura B.4: Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , em 10^3 kg.m^{-3} , para as nanomembranas: A) I_3QGK , B) I_3SGK , C) I_3NGK , D) I_3GGK e E) I_3LGK .

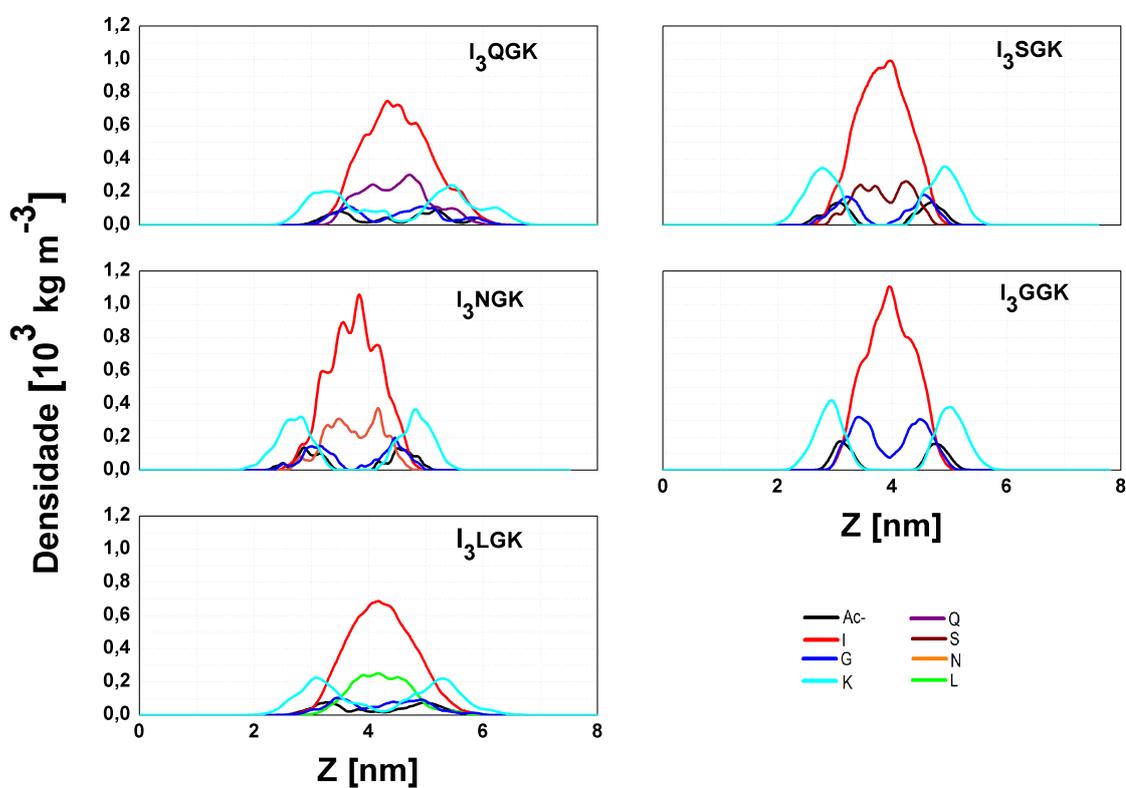


Figura B.5: Perfis de densidade de massa ao longo do eixo z , em 10^3 kg.m^{-3} , para cada resíduo que compõe as nanomembranas: I_3QGK , I_3SGK , I_3NGK , I_3GGK e I_3LGK .

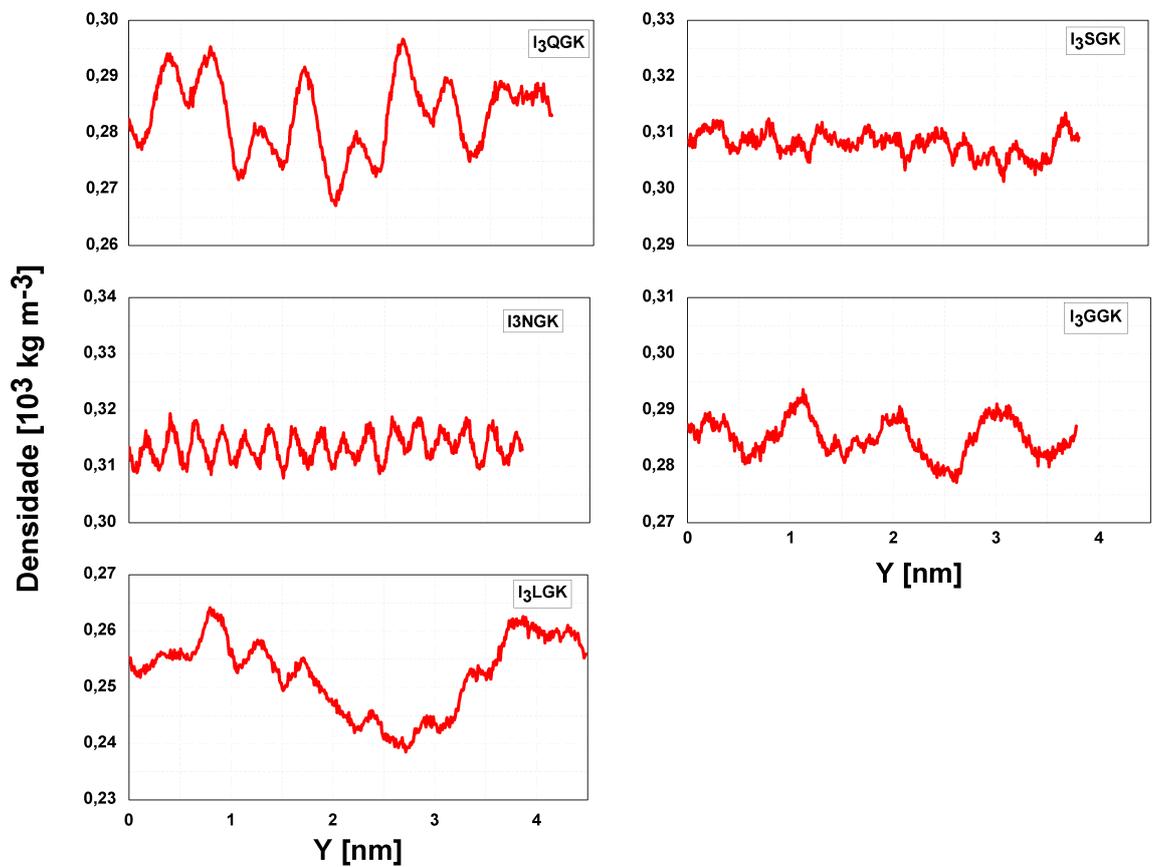


Figura B.6: Perfis de densidade de massa ao longo do eixo y , em 10^3 kg.m^{-3} , para as nanomembranas I_3QGK , I_3SGK , I_3NGK , I_3GK e I_3LGK .

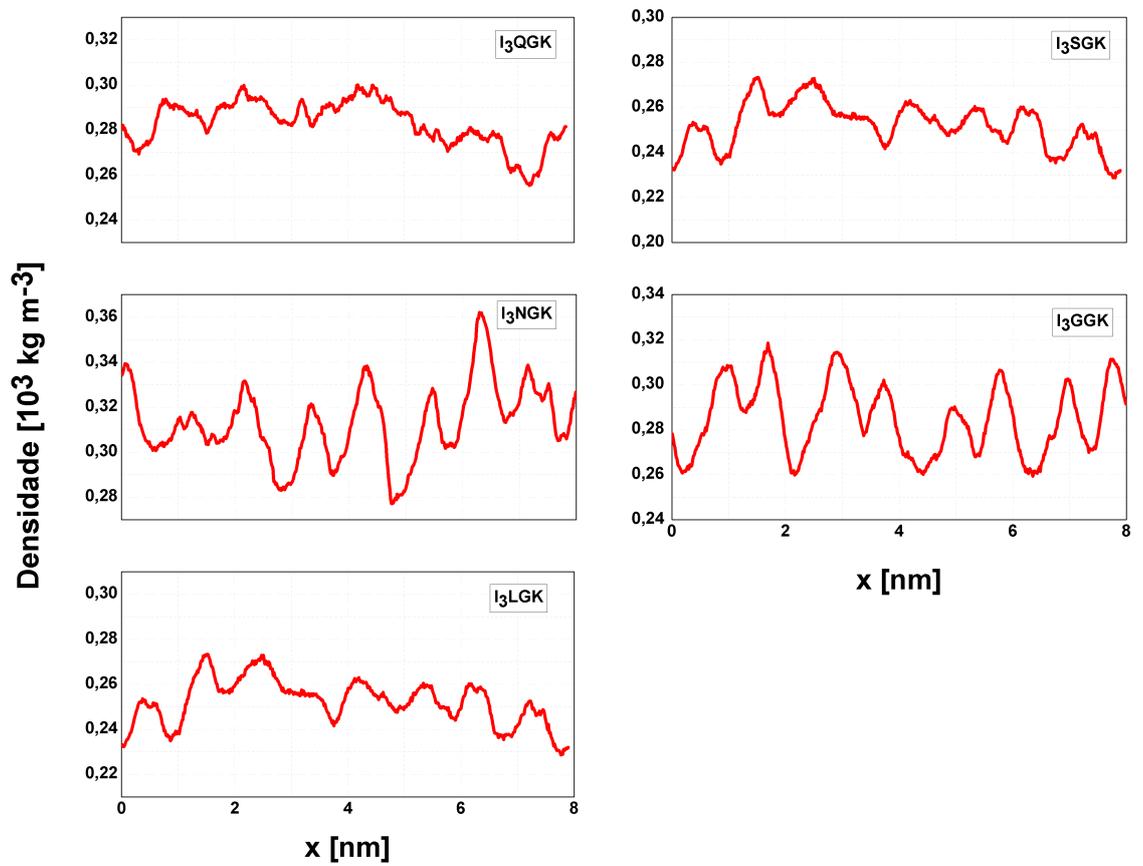


Figura B.7: Perfis de densidade de massa ao longo do eixo x , em 10^3 kg.m^{-3} , para as nanomembranas I_3QGK , I_3SGK , I_3NGK , I_3GGK e I_3LGK .

DETALHES DA ETAPA DE EQUILIBRAÇÃO

C.1 Nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$

Para estas nanomembranas, na etapa de equilibração foram testados diferentes protocolos de simulação, hora permitindo que todas as partículas, tanto das nanomembranas quanto da água ficassem livres para se mover em todas as direções e hora restringindo a movimentação de algumas partículas na direção z .

Para a nanomembrana $I_3V_3A_3G_3K_3$, quatro simulações diferentes foram realizadas. Inicialmente testamos uma nanomembrana formada por monômeros, Figura (A.1), e não por dímeros replicados. Estas nanoestruturas não apresentaram estabilidade durante o processo de equilibração, então foram descartadas. Em seguida, uma nanomembrana formada por dímeros foi testada em 3 diferentes etapas de equilibração. As configurações C_1 [C_2] iniciaram a etapa de equilibração consistindo em uma sequência de simulações curtas alternando os *ensembles* NVT (canônico) e NPT (isobárico-isotérmico) com os peptídeos e a água com [sem] restrições de movimento na direção z . Esta etapa durou cerca de 1 ns. Já na equilibração C_3 , inicialmente tanto os peptídeos quanto as moléculas de água foram congeladas na direção z . Em seguida, foram realizadas simulações curtas, por aproximadamente 1 ns, alternando *ensembles* NVT e NPT com apenas as moléculas de água congeladas na direção z .

Já para a nanomembrana $K_3G_3A_3V_3I_3$ foram realizados dois testes, C_1 [C_2], com os peptídeos e a água com [com] restrição de movimento na direção z , por cerca de 500 ps alternando os *ensembles* NVT e NPT e em seguida mais cerca de 500 ps com as moléculas de água congeladas na direção z , mas com [sem] restrição de movimento dos peptídeos na direção z . Após isso, foram realizados cerca de 10 ns alternando os *ensembles* NVT e NPT e mais 50 ns de simulação no *ensemble* NVT com todas as moléculas sem restrições de movimento. Esta foi a etapa de equilibração do sistema.

Após esta etapa de equilibração as configurações C_3 e C_2 das nanomembranas $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$, respectivamente, apresentaram uma estrutura equilibrada

mais similar à de uma estrutura nanomembranar e com espessuras mais próximas das reportadas experimentalmente e, portanto, foram as utilizadas para a produção da trajetória de DM e extração dos resultados desejados. As demais estruturas apresentaram características de nanomembranas porosas.

C.2 Nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ

O processo de equilibração para monômeros e as nanomembranas A_6H_ϵ e A_6H_δ consistiu em uma sequência alternada de simulações nos *ensembles* NVT e NPT durante 10 ns. Em seguida, as configurações resultantes foram submetidas a um novo processo de equilibração de 50 ns no *ensemble* NVT. O tempo total de equilibração foi de 60 ns.

MATERIAL SUPORTE FIBRAS

D.1 Nanofibras $G_3A_3V_3I_3K_3$ e $K_3I_3V_3A_3G_3$

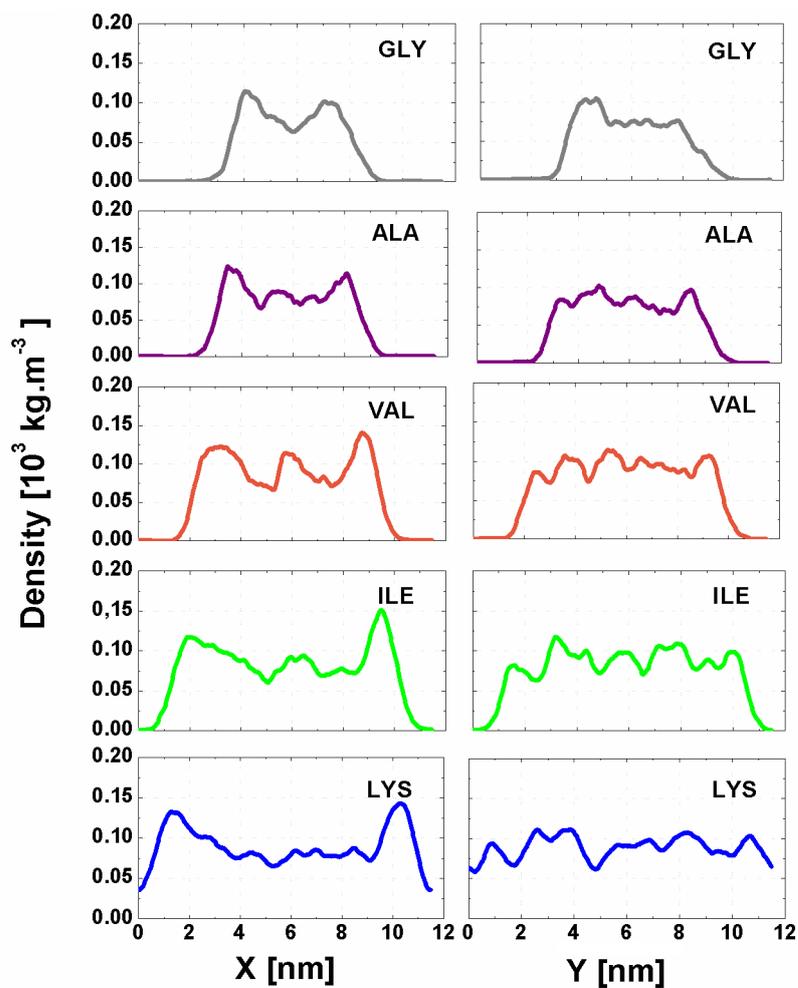


Figura D.1: Perfis de densidade de massa ao longo dos eixos X e Y , em 10^3 kg.m^{-3} , para as nanofibras compostas por $G_3A_3V_3I_3K_3$, simuladas no *ensemble* NPT ensemble. Os perfis de densidade de massa são mostrados para cada resíduo que compõe a fibra.

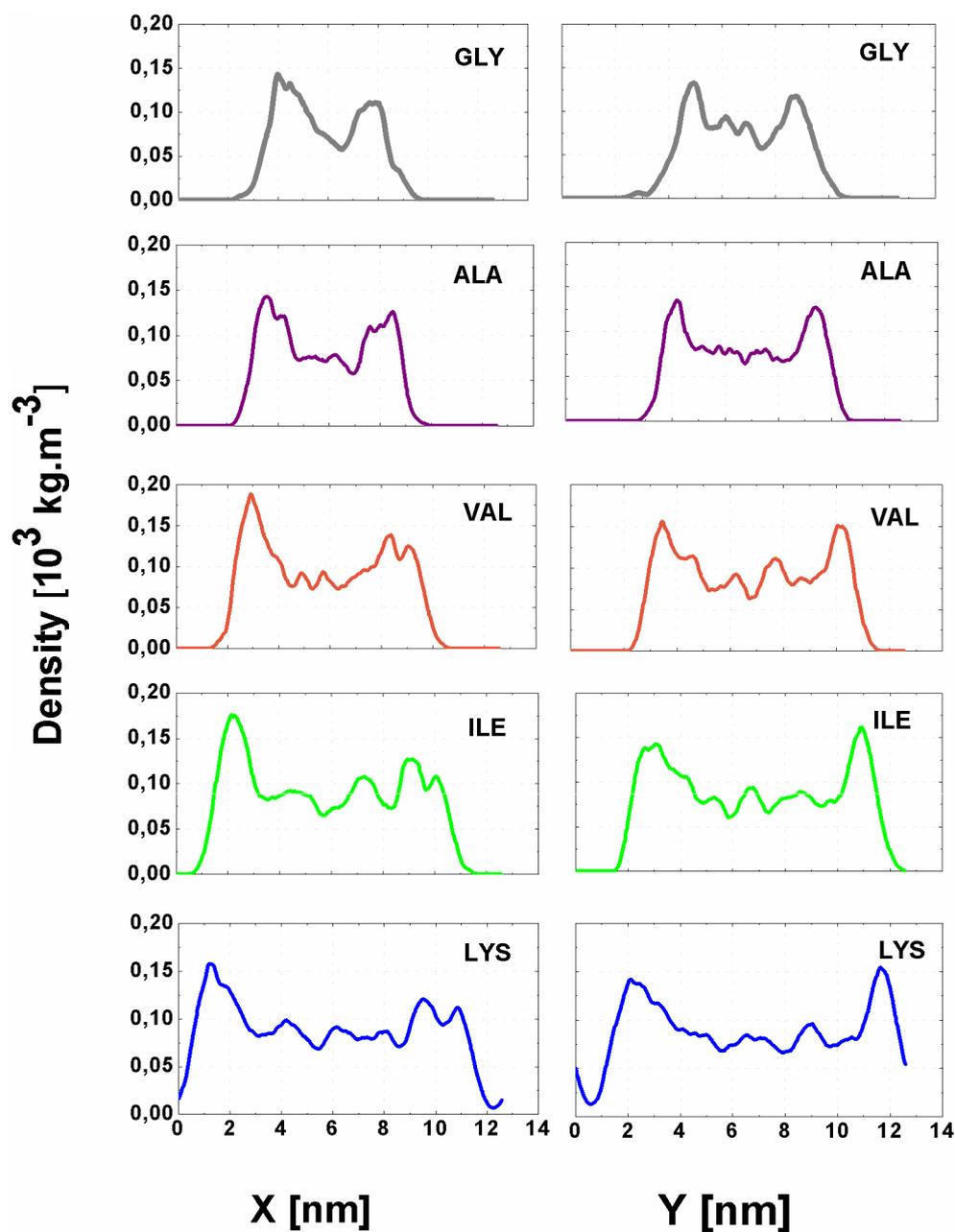


Figura D.2: Perfis de densidade de massa ao longo dos eixos X e Y , em 10^3 kg.m^{-3} , para as nanofibras compostas por $K_3I_3V_3A_3G_3$, simuladas no *ensemble* NPT ensemble. Os perfis de densidade de massa são mostrados para cada resíduo que compõe a fibra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. third. São Paulo, Brazil: Artmed Editora S.A., 2007. ISBN 85-363-0590-8. Citado 2 vezes nas páginas 32 e 33.
- [2] LI, J. *et al.* Surfactant-like peptides: From molecular design to controllable self-assembly with applications. **Coordination Chemistry Reviews**, Elsevier B.V., v. 421, p. 213418, 2020. ISSN 00108545. Citado 5 vezes nas páginas 15, 33, 34, 75 e 133.
- [3] DOBSON, C. M. Protein folding and misfolding. **Nature**, v. 426, n. 6968, p. 884–890, 2003. ISSN 00280836. Citado na página 33.
- [4] KNOWLES, T. P.; VENDRUSCOLO, M.; DOBSON, C. M. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Nature Publishing Group, v. 15, n. 6, p. 384–396, 2014. ISSN 14710080. Citado na página 33.
- [5] KE, P. C. *et al.* Implications of peptide assemblies in amyloid diseases. **Chemical Society Reviews**, Royal Society of Chemistry, v. 46, n. 21, p. 6492–6531, 2017. ISSN 14604744. Citado na página 33.
- [6] NAKAMURA, T.; LIPTON, S. A. Cell death: Protein misfolding and neurodegenerative diseases. **Apoptosis**, v. 14, n. 4, p. 455–468, 2009. ISSN 13608185. Citado na página 33.
- [7] CHAUDHURI, T. K.; PAUL, S. Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. **FEBS Journal**, v. 273, n. 7, p. 1331–1349, 2006. ISSN 1742464X. Citado na página 33.
- [8] CAO, M. *et al.* Peptide Self-Assembled Nanostructures with Distinct Morphologies and Properties Fabricated by Molecular Design. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, n. 45, p. 39174–39184, 2017. ISSN 19448252. Citado 17 vezes nas páginas 21, 33, 35, 75, 76, 77, 78, 81, 90, 93, 95, 131, 137, 141, 147, 148 e 154.
- [9] MALASPINA, T.; FILETI, E. E.; COLHERINHAS, G. Elucidating the stability of bolaamphiphilic polypeptide nanosheets using atomistic molecular dynamics. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 47, p. 31921–31928, 2017. ISSN 14639076. Citado 5 vezes nas páginas 33, 35, 39, 91 e 132.
- [10] ZHOU, T. *et al.* Self-assembled chiral nanostructures of amphiphilic peptide: from single molecule to aggregate. **Journal of Peptide Science**, v. 23, n. 11, p. 803–809, 2017. ISSN 10991387. Citado 2 vezes nas páginas 33 e 35.

- [11] HAMLEY, I. W.; DEHSORKHI, A.; CASTELLETTO, V. Self-assembled arginine-coated peptide nanosheets in water. **Chemical Communications**, v. 49, n. 18, p. 1850–1852, 2013. ISSN 1359-7345. Citado 5 vezes nas páginas 16, 33, 35, 36 e 75.
- [12] FATOUROS, D. G. *et al.* Lipid-like self-assembling peptide nanovesicles for drug delivery. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 6, n. 11, p. 8184–8189, 2014. ISSN 19448252. Citado 2 vezes nas páginas 33 e 35.
- [13] CHEN, C. *et al.* Hydrogelation of the Short Self-Assembling Peptide I3QGK Regulated by Transglutaminase and Use for Rapid Hemostasis. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 8, n. 28, p. 17833–17841, 2016. ISSN 19448252. Citado 4 vezes nas páginas 33, 35, 75 e 77.
- [14] QIU, F. *et al.* A simple method for cell sheet fabrication using mica surfaces grafted with peptide detergent A_6K . **Macromolecular Bioscience**, v. 10, n. 8, p. 881–886, 2010. ISSN 16165187. Citado 2 vezes nas páginas 33 e 35.
- [15] CHEN, C. *et al.* Antibacterial activities of short designer peptides: A link between propensity for nanostructuring and capacity for membrane destabilization. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 2, p. 402–411, 2010. ISSN 15257797. Citado 2 vezes nas páginas 33 e 35.
- [16] GRAVELAND-BIKKER, J. F. *et al.* Structural and mechanical study of a self-assembling protein nanotube. **Nano Letters**, v. 6, n. 4, p. 616–621, 2006. ISSN 15306984. Citado na página 33.
- [17] NEEDLEMAN, D. J. *et al.* Higher-order assembly of microtubules by counterions: From hexagonal bundles to living necklaces. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 46, p. 16099–16103, 2004. ISSN 00278424. Citado na página 33.
- [18] BALLISTER, E. R. *et al.* In vitro self-assembly of tailorable nanotubes from a simple protein building block. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 10, p. 3733–3738, 2008. ISSN 00278424. Citado na página 33.
- [19] KNOWLES, T. P.; MEZZENGA, R. Amyloid fibrils as building blocks for natural and artificial functional materials. **Advanced Materials**, v. 28, n. 31, p. 6546–6561, 2016. ISSN 15214095. Citado na página 33.
- [20] LIU, F.; TANG, C. H. Soy protein nanoparticle aggregates as pickering stabilizers for oil-in-water emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 37, p. 8888–8898, 2013. ISSN 00218561. Citado na página 33.
- [21] LAZAROVITS, J. *et al.* Synthesis of Patient-Specific Nanomaterials. **Nano Letters**, v. 19, n. 1, p. 116–123, 2019. ISSN 15306992. Citado na página 33.
- [22] GERRARD, J. A.; DOMIGAN, L. J. Protein Nanotechnology. In: GERRARD, J. A.; DOMIGAN, L. J. (Ed.). **Protein Nanotechnology**. Third. [S.l.: s.n.], 2020. p. 1–13. ISBN 9781493998685. Citado 2 vezes nas páginas 33 e 34.

- [23] ZHANG, J. *et al.* Self-Assembly of Protein Crystals with Different Crystal Structures Using Tobacco Mosaic Virus Coat Protein as a Building Block. **ACS Nano**, v. 12, n. 2, p. 1673–1679, 2018. ISSN 1936086X. Citado na página 33.
- [24] PLISKA, V. Hydrophobic parameters π of amino acid side-chains from the partitioning of N-acetyl-amino acid amides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 18, p. 369–375, 1983. Citado 3 vezes nas páginas 15, 34 e 133.
- [25] WILCE, M. C.; AGUILAR, M. I.; HEARN, M. T. Physicochemical Basis of Amino Acid Hydrophobicity Scales: Evaluation of Four New Scales of Amino Acid Hydrophobicity Coefficients Derived from RP-HPLC of Peptides. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1210–1219, 1995. ISSN 15206882. Citado 3 vezes nas páginas 15, 34 e 133.
- [26] COLHERINHAS, G.; FILETI, E. Molecular description of surfactant-like peptide based membranes. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 118, n. 18, p. 9598–9603, 2014. ISSN 19327455. Citado 7 vezes nas páginas 34, 35, 39, 91, 93, 123 e 132.
- [27] HOSSEINKHANI, H.; HONG, P. D.; YU, D. S. Self-assembled proteins and peptides for regenerative medicine. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 7, p. 4837–4861, 2013. ISSN 00092665. Citado 2 vezes nas páginas 34 e 35.
- [28] GERBELLI, B. B. *et al.* Hierarchical Self-Assembly of Peptides and its Applications in Bionanotechnology. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 1900085, p. 1900085 (1–22), 2019. ISSN 1022-1352. Citado na página 34.
- [29] FU, I. W. *et al.* The role of electrostatics and temperature on morphological transitions of hydrogel nanostructures self-assembled by peptide amphiphiles via molecular dynamics simulations. **Advanced Healthcare Materials**, v. 2, n. 10, p. 1388–1400, 2013. ISSN 21922659. Citado na página 34.
- [30] FU, I. W. *et al.* Role of hydrophobicity on self-assembly by peptide amphiphiles via molecular dynamics simulations. **Langmuir**, v. 30, n. 26, p. 7745–7754, 2014. ISSN 15205827. Citado na página 34.
- [31] NELSON, R.; EISENBERG, D. Recent atomic models of amyloid fibril structure. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 16, n. 2, p. 260–265, 2006. ISSN 0959440X. Citado na página 34.
- [32] NELSON, R. *et al.* Structure of the cross- β spine of amyloid-like fibrils. **Nature**, v. 435, n. 7043, p. 773–778, 2005. ISSN 00280836. Citado 2 vezes nas páginas 34 e 80.
- [33] SAWAYA, M. R. *et al.* Atomic structures of amyloid cross- β spines reveal varied steric zippers. **Nature**, v. 447, n. 7143, p. 453–457, 2007. ISSN 14764687. Citado na página 34.
- [34] VERLI, H. **Bioinformática da Biologia à Flexibilidade Molecular**. [S.l.: s.n.], 2014. v. 53. 1689–1699 p. ISSN 1098-6596. ISBN 9788578110796. Citado na página 34.
- [35] LEVIN, A. *et al.* Biomimetic peptide self-assembly for functional materials. **Nature Reviews Chemistry**, v. 4, n. 11, p. 615–634, 2020. ISSN 23973358. Citado 2 vezes nas páginas 35 e 131.

- [36] QI, R. *et al.* Assembly and Evolution of Gemini-Type Peptide Amphiphile with a Di-Lysine Spacer. **Langmuir**, v. 35, n. 18, p. 6154–6160, 2019. ISSN 15205827. Citado 2 vezes nas páginas 35 e 36.
- [37] MIKHALEVICH, V. *et al.* Amphiphilic Peptide Self-Assembly: Expansion to Hybrid Materials. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 11, p. 3471–3480, 2017. ISSN 15264602. Citado 4 vezes nas páginas 16, 35, 36 e 75.
- [38] MIDDLETON, D. A. *et al.* Insights into the molecular architecture of a peptide nanotube using FTIR and solid-state NMR spectroscopic measurements on an aligned sample. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 40, p. 10537–10540, 2013. ISSN 14337851. Citado 4 vezes nas páginas 16, 35, 36 e 75.
- [39] CHOI, S. *et al.* Lamellar microdomain orientation and phase transition of polystyrene-b-poly(methyl methacrylate) films by controlled interfacial interactions. **Soft Matter**, v. 8, n. 12, p. 3463–3469, 2012. ISSN 1744683X. Citado 4 vezes nas páginas 16, 35, 36 e 75.
- [40] HAMLEY, I. W. *et al.* Self-assembly of a model amphiphilic oligopeptide incorporating an arginine headgroup. **Soft Matter**, v. 9, n. 19, p. 4794–4801, 2013. ISSN 1744683X. Citado 4 vezes nas páginas 16, 35, 36 e 75.
- [41] TANG, C.; QIU, F.; ZHAO, X. Molecular design and applications of self-assembling surfactant-like peptides. **Journal of Nanomaterials**, v. 2013, p. 1–9, 2013. ISSN 16874110. Citado 6 vezes nas páginas 16, 35, 36, 75, 76 e 77.
- [42] COLHERINHAS, G.; FILETI, E. Molecular dynamics study of surfactant-like peptide based nanostructures. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 42, p. 12215–12222, 2014. ISSN 15205207. Citado 9 vezes nas páginas 16, 35, 36, 39, 75, 109, 117, 131 e 132.
- [43] CARUSO, M. *et al.* Fibrils or globules? Tuning the morphology of peptide aggregates from helical building blocks. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 117, n. 18, p. 5448–5459, 2013. ISSN 15205207. Citado na página 35.
- [44] MALASPINA, T. *et al.* Assessing the interaction between surfactant-like peptides and lipid membranes. **RSC Advances**, Royal Society of Chemistry, v. 7, n. 57, p. 35973–35981, 2017. ISSN 20462069. Citado 3 vezes nas páginas 35, 39 e 132.
- [45] DEHSORKHI, A.; CASTELLETTO, V.; HAMLEY, I. W. Self-assembling amphiphilic peptides. **Journal of Peptide Science**, v. 20, n. 7, p. 453–467, 2014. ISSN 10991387. Citado na página 35.
- [46] CAO, Y. *et al.* Influence of Conventional Surfactants on the Self-Assembly of a Bola Type Amphiphilic Peptide. **Langmuir**, v. 33, n. 22, p. 5446–5455, 2017. ISSN 15205827. Citado na página 35.
- [47] PENG, F. *et al.* Facile design of gemini surfactant-like peptide for hydrophobic drug delivery and antimicrobial activity. **Journal of Colloid and Interface Science**, Elsevier Inc., v. 591, p. 314–325, 2021. ISSN 10957103. Citado na página 35.

- [48] DEHSORKHI, A. *et al.* Interaction between a cationic surfactant-like peptide and lipid vesicles and its relationship to antimicrobial activity. **Langmuir**, v. 29, n. 46, p. 14246–14253, 2013. ISSN 07437463. Citado na página 35.
- [49] XU, H. *et al.* Hydrophobic-region-induced transitions in self-assembled peptide nanostructures. **Langmuir**, v. 25, n. 7, p. 4115–4123, 2009. ISSN 07437463. Citado 3 vezes nas páginas 35, 75 e 77.
- [50] ZOU, P. *et al.* Recent advances: Peptides and self-assembled peptide-nanosystems for antimicrobial therapy and diagnosis. **Biomaterials Science**, v. 8, n. 18, p. 4975–4996, 2020. ISSN 20474849. Citado na página 35.
- [51] PÉREZ-PEDROZA, R. *et al.* Supramolecular Biopolymers for Tissue Engineering. **Advances in Polymer Technology**, v. 2021, 2021. ISSN 10982329. Citado na página 35.
- [52] ZHAO, X. *et al.* Designer short peptide surfactants stabilize G protein-coupled receptor bovine rhodopsin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 47, p. 17707–17712, 2006. ISSN 00278424. Citado 3 vezes nas páginas 35, 75 e 77.
- [53] HAMLEY, I. W. *et al.* Nanosheet Formation by an Anionic Surfactant-like Peptide and Modulation of Self-Assembly through Ionic Complexation. **Langmuir**, v. 32, n. 40, p. 10387–10393, 2016. ISSN 15205827. Citado 3 vezes nas páginas 35, 75 e 77.
- [54] ABUDULA, T. *et al.* Supramolecular Self-Assembled Peptide-Based Vaccines: Current State and Future Perspectives. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, n. October, p. 1–11, 2020. ISSN 22962646. Citado na página 35.
- [55] SKWARCZYNSKI, M.; TOTH, I. Peptide-based synthetic vaccines. **Chemical Science**, v. 7, n. 2, p. 842–854, 2016. ISSN 20416539. Citado na página 35.
- [56] ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. **Computer Simulation of Liquids**. 2nd. ed. United Kingdom: Oxford University Press, 2017. v. 2. 1-626 p. ISSN 00255718. ISBN 978-0-19-880319-5. Citado 24 vezes nas páginas 16, 37, 38, 39, 42, 43, 45, 46, 47, 50, 51, 52, 56, 57, 58, 63, 64, 65, 68, 69, 70, 71, 72 e 73.
- [57] BAROJAS, J.; LEVESQUE, D.; QUENTREC, B. Simulation of diatomic homo-nuclear liquids. **Phys. Rev. A**, v. 7, p. 1092–1105, 1973. Citado na página 38.
- [58] RYCKAERT, J. P.; BELLEMANS, A. Molecular dynamics of liquid n-butane near its boiling point. **Chem. Phys. Lett.**, v. 30, p. 123–125, 1975. Citado na página 38.
- [59] MONTICELLI, L.; SALONEN, E. **Biomolecular simulations, methods and protocols**. 1st. ed. New York: Hamana press, 2013. Citado 2 vezes nas páginas 38 e 39.
- [60] FILETI, E. E.; COLHERINHAS, G. Investigating the asymmetry in the EDL response of C_{60} /graphene supercapacitors. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Royal Society of Chemistry, v. 21, n. 28, p. 15362–15371, 2019. ISSN 14639076. Citado 2 vezes nas páginas 38 e 39.
- [61] ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Phase transition for a hard sphere system. **J. Chem. Phys.**, v. 27, p. 1208–1209, 1957. Citado na página 39.

- [62] ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Studies in molecular dynamics. I. General method. **J. Chem. Phys.**, v. 31, p. 459–466., 1959. Citado na página 39.
- [63] RAHMAN, A. Correlations in the motion of atoms in liquid argon. **Phys. Rev. A**, v. 136, p. 405–411, 1964. Citado na página 39.
- [64] RAHMAN, A.; STILLINGER, F. H. Molecular dynamics study of liquid water. **J. Chem. Phys.**, v. 55, n. 3336–3359, 1971. Citado na página 39.
- [65] ANDRADE, D.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Elucidating $NH_2-I_3V_3A_3G_3K_3$ -COOH and $NH_2-K_3G_3A_3V_3I_3$ -COOH polypeptide membranes: A classical molecular dynamics study. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 279, p. 740–749, 2019. ISSN 01677322. Citado 6 vezes nas páginas 39, 76, 79, 109, 115 e 150.
- [66] PROENÇA, B.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Stability and Structural Analysis of A_6R Polypeptide Nanosheets: A Theoretical Study Using the Classical Molecular Dynamics Simulation. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 42, p. 24445–24453, 2018. ISSN 19327455. Citado 3 vezes nas páginas 39, 105 e 117.
- [67] ANDRADE, D.; COLHERINHAS, G. A_6H polypeptide membranes: Molecular dynamics simulation, GIAO-DFT-NMR and TD-DFT spectroscopy analysis. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 316, p. 113850, 2020. ISSN 01677322. Citado 5 vezes nas páginas 39, 79, 108, 110 e 150.
- [68] ANDRADE, D.; COLHERINHAS, G. The influence of polar and non-polar interactions on the self-assembly of peptide nanomembranes and their applications: An atomistic study using classical molecular dynamics. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 318, p. 114263, 2020. ISSN 01677322. Citado 3 vezes nas páginas 39, 79 e 150.
- [69] ANDRADE, D.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Design and analysis of polypeptide nanofiber using full atomistic Molecular Dynamic. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 302, n. 112610, p. 1–9, 2020. ISSN 01677322. Citado 4 vezes nas páginas 39, 132, 134 e 150.
- [70] MARION, S. T. T. e. j. B. **Dinâmica Clássica de Partículas e Sistemas**. 5. ed. São Paulo, Brazil: Cengage Learning, 2011. Citado 3 vezes nas páginas 39, 40 e 41.
- [71] VESELY, F. J. **Computational Physics An Introduction**. [S.l.: s.n.], 2001. 1–259 p. ISBN 978-1-4613-5500-7. Citado 3 vezes nas páginas 42, 43 e 74.
- [72] VERLET, L. Computer “Experiments” on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. **Physical Review**, v. 159, n. 1, p. 98–103, feb 1967. ISSN 0022-3727. Citado na página 42.
- [73] Hockney, R. W. and Eastwood, J. W. **Computer simulation using particles**. [S.l.]: Bristol: Adam Hilger., 1988. Citado 2 vezes nas páginas 42 e 44.
- [74] SWOPE, W. C. *et al.* A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters. **The Journal of Chemical Physics**, v. 76, n. 1, p. 637–649, 1982. ISSN 00219606. Citado 2 vezes nas páginas 42 e 45.

- [75] MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. 1st. ed. São Paulo, Brazil: Livraria da Física, 2007. 1-533 p. Citado 7 vezes nas páginas 16, 43, 44, 45, 46, 70 e 71.
- [76] JENSEN, F. **Introduction to Computational Chemistry**. 2nd. ed. England: Wiley, 2007. 1-583 p. ISBN 13: 978-0-470-01186-7. Citado 10 vezes nas páginas 15, 44, 45, 47, 48, 52, 53, 54, 55 e 63.
- [77] LEACH, A. R. **Molecular modelling principles and applications**. 2nd. ed. England: Pearson Education Limited, 2001. 1-744 p. ISBN 0-582-38210-6. Citado 10 vezes nas páginas 15, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 57 e 63.
- [78] ATKINS, P.; FRIEDMAN, R. **Molecular Quantum Mechanics**. Fifth. USA: Oxford University Press, 2010. 537 p. Citado na página 51.
- [79] VANOMMESLAEGHE, K.; MACKERELL, A. D. CHARMM additive and polarizable force fields for biophysics and computer-aided drug design. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, Elsevier B.V., v. 1850, n. 5, p. 861–871, 2015. ISSN 18728006. Citado 2 vezes nas páginas 51 e 132.
- [80] ZHU, X.; LOPES, P. E.; MACKERELL, A. D. Recent developments and applications of the CHARMM force fields. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 2, n. 1, p. 167–185, 2012. ISSN 17590876. Citado 3 vezes nas páginas 51, 54 e 55.
- [81] CIEPLAK, P. *et al.* Polarization effects in molecular mechanical force fields. **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 21, n. 33, 2009. ISSN 09538984. Citado na página 51.
- [82] MACKERELL, A. D. *et al.* All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 102, n. 18, p. 3586–3616, 1998. ISSN 15206106. Citado na página 54.
- [83] BEST, R. B. *et al.* Optimization of the Additive CHARMM All-Atom Protein Force Field Targeting Improved Sampling of the Backbone ϕ , ψ and Side-Chain χ_1 and χ_1 Dihedral Angles. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 9, p. 3257–3273, sep 2012. ISSN 1549-9618. Citado 5 vezes nas páginas 54, 55, 88, 134 e 147.
- [84] ALLINGER, N. L. **Molecular Structure: Understanding Steric and Electronic Effects from Molecular Mechanics**. [S.l.]: Wiley, 2010. ISBN 9780470195574. Citado na página 54.
- [85] COLHERINHAS, G. Updating atomic charge parameters of aliphatic amino acids: a quest to improve the performance of molecular modeling via sequential molecular dynamics and DFT-GIAO-NMR calculations. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 23, n. 14, p. 8413–8425, 2021. ISSN 1463-9076. Citado 2 vezes nas páginas 54 e 55.
- [86] OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Can CHARMM36 atomic charges described correctly the interaction between amino acid and water molecules by molecular dynamics simulations? **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 317, p. 113919, 2020. ISSN 01677322. Citado 2 vezes nas páginas 54 e 55.

- [87] COLHERINHAS, G. Update of CHARMM36's atomic charges for aromatic amino acids in water solution simulations and spectroscopy analysis via sequential molecular dynamics and DFT calculations. **Journal of Molecular Liquids**, v. 321, p. 114739, jan 2021. ISSN 01677322. Citado 2 vezes nas páginas 54 e 55.
- [88] TUCKERMAN, M. E. **Statistical Mechanics: Theory and Molecular Simulation**. [S.l.: s.n.], 2010. 1–687 p. Citado 3 vezes nas páginas 56, 58 e 63.
- [89] SALINAS, S. **Introdução à Física Estatística**. São Paulo, Brazil: edUSP, 2008. 1-461 p. ISBN 9788531403866. Citado 4 vezes nas páginas 56, 58, 60 e 63.
- [90] MCQUARRIE, D. A. **Statistical Mechanics**. New York: Halliday Lithograph Corporation, 1976. 641 p. ISBN 06-044366-9. Citado 2 vezes nas páginas 56 e 63.
- [91] COUTINHO, K. R. **Modelo discreto de solvente. Solvatocromismo no espectro de absorção molecular**. 1997. Citado 2 vezes nas páginas 58 e 59.
- [92] BUSSI, G.; DONADIO, D.; PARRINELLO, M. Canonical sampling through velocity rescaling. **The Journal of Chemical Physics**, v. 126, n. 1, p. 014101, jan 2007. ISSN 0021-9606. Citado 5 vezes nas páginas 60, 61, 88, 135 e 136.
- [93] BERENDSEN, H. J. *et al.* Molecular dynamics with coupling to an external bath. **The Journal of Chemical Physics**, v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984. ISSN 00219606. Citado 2 vezes nas páginas 61 e 62.
- [94] PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Crystal Structure and Pair Potentials: A Molecular-Dynamics Study. **Phys. Rev. Lett**, v. 45, n. 14, p. 1996, 1980. Citado 2 vezes nas páginas 62 e 63.
- [95] ANDERSEN, H. C. Molecular dynamics simulations at constant pressure and/or temperature. **J. Chern. Phys.**, v. 72(4), p. 2385–2393, 1980. Citado na página 62.
- [96] PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics**, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, dec 1981. ISSN 0021-8979. Citado 4 vezes nas páginas 62, 63, 88 e 136.
- [97] ABRAHAM BERK HESS, D. v. d. S. M. GROMACS Reference Manual. 2015. Disponível em: <<http://manual.gromacs.org/documentation/5.1/manual-5.1.pdf>>. Citado 2 vezes nas páginas 63 e 66.
- [98] HANSEN, J.; MCDONALD, I. **Theory of simple liquids with applications to soft matter**. 4th. ed. Amsterdam: Academic Press, 2013. Citado na página 65.
- [99] CHANDLER, A.; LUZAR, D. Hydrogen-bond kinetics in liquid water. **Letters to Nature**, v. 379, n. 4, p. 55–56, 1996. ISSN 00219606. Citado 3 vezes nas páginas 66, 109 e 126.
- [100] HEYES, D.; CLARKE, J. Computer simulation of molten-salt interphases. Effect of a rigid boundary and an applied electric field. **J. Chem. Soc. Faraday Trans. II**, v. 77, p. 1089–1100, 1981. Citado 2 vezes nas páginas 70 e 72.
- [101] EWALD, P. P. The calculation of optical and electrostatic grid potential. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Ann. Phys., v. 64, p. 253, 1921. Citado na página 70.

- [102] FRENKEL, D.; SMIT, B. **Molecular modelling principles and applications**. [S.l.: s.n.], 2002. 291-316 p. Citado na página 72.
- [103] DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An $N\log(N)$ method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993. ISSN 00219606. Citado 4 vezes nas páginas 73, 74, 89 e 136.
- [104] HUB, J. S. *et al.* Quantifying artifacts in Ewald simulations of inhomogeneous systems with a net charge. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 10, n. 1, p. 381–390, 2014. ISSN 15499618. Citado na página 74.
- [105] CASTELLETTO, V. *et al.* Tuning chelation by the surfactant-like peptide A_6H using predetermined pH values. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 2, p. 591–598, 2014. ISSN 15257797. Citado 9 vezes nas páginas 75, 77, 78, 83, 105, 106, 107, 108 e 148.
- [106] WANG, M. *et al.* Nanoribbons self-assembled from short peptides demonstrate the formation of polar zippers between β -sheets. **Nature Communications**, Springer US, v. 9, n. 1, 2018. ISSN 20411723. Citado 12 vezes nas páginas 75, 78, 79, 85, 86, 88, 109, 118, 119, 122, 124 e 149.
- [107] DAI, B. *et al.* Tunable assembly of amyloid-forming peptides into nanosheets as a retrovirus carrier. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 10, p. 2996–3001, 2015. ISSN 10916490. Citado na página 75.
- [108] TANG, C.; QIU, F.; ZHAO, X. Molecular design and applications of self-assembling surfactant-like peptides. **Journal of Nanomaterials**, v. 2013, 2013. ISSN 16874110. Citado na página 75.
- [109] CASTELLETTO, V. *et al.* Structure of single-wall peptide nanotubes: In situ flow aligning X-ray diffraction. **Chemical Communications**, v. 46, n. 34, p. 6270–6272, 2010. ISSN 13597345. Citado na página 76.
- [110] SIMONSON, A. W.; ARONSON, M. R.; MEDINA, S. H. Supramolecular Peptide Assemblies as Antimicrobial Scaffolds. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2751, 2020. Citado na página 76.
- [111] CHILDERS, W. S. *et al.* Peptides Organized as Bilayer Membranes. **Angewandte Chemie**, v. 122, n. 24, p. 4198–4201, 2010. ISSN 1521-3757. Citado na página 76.
- [112] ALVES, E. D. *et al.* Atomistic molecular dynamics study on the influence of high temperatures on the structure of peptide nanomembranes candidates for organic supercapacitor electrode. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 334, p. 116126, 2021. ISSN 0167-7322. Citado 2 vezes nas páginas 76 e 150.
- [113] DAI, B. *et al.* Tunable assembly of amyloid-forming peptides into nanosheets as a retrovirus carrier. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 10, p. 2996–3001, 2015. ISSN 0027-8424. Citado na página 77.
- [114] MOUDRAKOVSKI, I. *et al.* Xe NMR lineshapes in channels of peptide molecular crystals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 52, p. 17924–17929, 2004. ISSN 00278424. Citado na página 77.

- [115] LACROIX, E.; VIGUERA, A. R.; SERRANO, L. Reading protein sequences backwards. **Folding and Design**, v. 3, n. 2, p. 79–85, 1998. ISSN 13590278. Citado na página 77.
- [116] AMBROGGIO, E. E. *et al.* Reversing the peptide sequence impacts on molecular surface behaviour. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Elsevier B.V., v. 139, p. 25–32, 2016. ISSN 18734367. Citado na página 77.
- [117] ERDOGAN, H. *et al.* Morphological Versatility in the Self-Assembly of Val-Ala and Ala-Val Dipeptides. **Langmuir**, v. 31, n. 26, p. 7337–7345, 2015. ISSN 15205827. Citado 2 vezes nas páginas 77 e 78.
- [118] MARTÍNEZ, L. *et al.* PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 13, p. 2157–2164, oct 2009. ISSN 01928651. Citado na página 82.
- [119] BERMÚDEZ, C. *et al.* Tautomerism in Neutral Histidine. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 41, p. 11015–11018, 2014. ISSN 15213773. Citado 3 vezes nas páginas 83, 108 e 148.
- [120] LAI, C. T.; ROSI, N. L.; SCHATZ, G. C. All-Atom Molecular Dynamics Simulations of Peptide Amphiphile Assemblies That Spontaneously Form Twisted and Helical Ribbon Structures. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 8, n. 10, p. 2170–2174, 2017. ISSN 19487185. Citado na página 86.
- [121] JORGENSEN, W. L. *et al.* Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983. ISSN 00219606. Citado 2 vezes nas páginas 88 e 134.
- [122] HESS, B. *et al.* LINCX: A linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 1463–1472, sep 1997. ISSN 0192-8651. Citado 2 vezes nas páginas 89 e 136.
- [123] ABRAHAM, M. J. *et al.* GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1-2, p. 19–25, sep 2015. ISSN 23527110. Citado 3 vezes nas páginas 89, 134 e 136.
- [124] ALLEN, W. J.; LEMKUL, J. A.; BEVAN, D. R. GridMAT-MD: A grid-based membrane analysis tool for use with molecular dynamics. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 12, p. 1952–1958, sep 2009. ISSN 01928651. Citado 6 vezes nas páginas 20, 89, 90, 104, 118 e 119.
- [125] HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. ISSN 02637855. Citado 2 vezes nas páginas 89 e 136.
- [126] MALTZAHN, V. *et al.* Positively charged surfactant-like peptides self-assemble into nanostructures. **Langmuir**, v. 19, n. 10, p. 4332–4337, 2003. ISSN 07437463. Citado 4 vezes nas páginas 94, 97, 142 e 146.
- [127] SERPELL, L. C.; FRASER, P. E.; SUNDE, M. X-ray fiber diffraction of amyloid fibrils. **Methods in Enzymology**, v. 309, n. 1986, p. 526–536, 1999. ISSN 00766879. Citado na página 107.

- [128] MAKIN, O. S.; SERPELL, L. C. Structures for amyloid fibrils. **FEBS Journal**, v. 272, n. 23, p. 5950–5961, 2005. ISSN 1742464X. Citado na página 107.
- [129] JAHN, T. R. *et al.* The Common Architecture of Cross- β Amyloid. **Journal of Molecular Biology**, Elsevier Ltd, v. 395, n. 4, p. 717–727, 2010. ISSN 00222836. Citado na página 107.
- [130] SERPELL, L. C. *et al.* Fiber diffraction of synthetic α -synuclein filaments shows amyloid-like cross- β conformation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 9, p. 4897–4902, 2000. ISSN 00278424. Citado na página 107.
- [131] PERUTZ, M. F. *et al.* Polar zippers. **Current Biology**, v. 3, n. 5, p. 249–253, 1993. ISSN 09609822. Citado na página 109.
- [132] MILLS, T. T. *et al.* Order parameters and areas in fluid-phase oriented lipid membranes using wide angle x-ray scattering. **Biophysical Journal**, v. 95, n. 2, p. 669–681, 2008. ISSN 15420086. Citado na página 117.
- [133] LIS, L. J. *et al.* Interactions between neutral phospholipid bilayer membranes. **Biophysical Journal**, v. 37, n. 3, p. 657–665, 1982. ISSN 00063495. Citado na página 117.
- [134] HAN, S. *et al.* Self-assembly of short peptide amphiphiles: The cooperative effect of hydrophobic interaction and hydrogen bonding. **Chemistry - A European Journal**, v. 17, n. 46, p. 13095–13102, 2011. ISSN 09476539. Citado na página 117.
- [135] SHAHAM-NIV, S. *et al.* Formation of Apoptosis-Inducing Amyloid Fibrils by Tryptophan. **Israel Journal of Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 729–737, 2017. ISSN 18695868. Citado na página 118.
- [136] SANTOS, D. E. *et al.* SuAVE: A Tool for Analyzing Curvature-Dependent Properties in Chemical Interfaces. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 2, p. 473–484, 2020. ISSN 15205142. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 119.
- [137] HAKOSHIMA, T. Leucine Zippers. **Encyclopedia of Life Sciences**, p. 1–5, 2005. Citado na página 129.
- [138] SAKAI, H. *et al.* Formation of functionalized nanowires by control of self-assembly using multiple modified amyloid peptides. **Advanced Functional Materials**, v. 23, n. 39, p. 4881–4887, 2013. ISSN 1616301X. Citado na página 131.
- [139] MITCHISON, T. *et al.* Self-Assembly and Mineralization of Peptide-Amphiphile Nanofibers. **Science**, v. 294, n. 5547, p. 1684–1688, nov 2001. ISSN 00368075. Citado na página 131.
- [140] LEE, O. S.; STUPP, S. I.; SCHATZ, G. C. Atomistic molecular dynamics simulations of peptide amphiphile self-assembly into cylindrical nanofibers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 10, p. 3677–3683, 2011. ISSN 00027863. Citado na página 131.

- [141] CAO, M. *et al.* Peptide-Induced DNA Condensation into Virus-Mimicking Nanostructures. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 10, n. 29, p. 24349–24360, 2018. ISSN 19448252. Citado na página 131.
- [142] SRINIVAS, G.; DISCHER, D. E.; KLEIN, M. L. Self-assembly and properties of diblock copolymers by coarse-grain molecular dynamics. **Nature Materials**, v. 3, n. 9, p. 638–644, 2004. ISSN 14761122. Citado na página 132.
- [143] TEKIN, E. D. Molecular dynamics simulations of self-assembled peptide amphiphile based cylindrical nanofibers. **RSC Advances**, Royal Society of Chemistry, v. 5, n. 82, p. 66582–66590, 2015. ISSN 20462069. Citado na página 132.
- [144] DILIP, H. N.; CHAKRABORTY, D. Structural and dynamical properties of water in surfactant-like peptide-based nanotubes: Effect of pore size, tube length and charge. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 323, p. 115033, 2021. ISSN 01677322. Citado na página 134.
- [145] ANDRADE, D. X. de *et al.* Laminar peptide structure: Energetic and structural evaluation using molecular dynamics. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., v. 341, p. 117261, 2021. ISSN 01677322. Citado na página 150.
- [146] DOMINGOS, E. *et al.* Molecular dynamics study of hydrogen bond in peptide membrane at 150 – 300 K. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier B.V., p. 118165, 2021. ISSN 0167-7322. Citado na página 150.