



Universidade Federal de Goiás
Instituto de Física

Programa de Pós-Graduação em Física

EYBER DOMINGOS ALVES

**Estudo teórico sobre membranas
peptídicas e lipídicas: Uma análise
via dinâmica molecular**

Goiânia
2021



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

Eyber Domingos Alves

3. Título do trabalho

Estudo teórico sobre membranas peptídicas e lipídicas: uma análise 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 19/08/2021, às 20:04,



conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **EYBER DOMINGOS ALVES, Discente**, em 20/08/2021, às 04:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



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 **2292084** e o código CRC **AC8FD209**.

Referência: Processo nº 23070.029576/2021-63

SEI nº 2292084



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

Eyber Domingos Alves

3. Título do trabalho

Estudo teórico sobre membranas peptídicas e lipídicas: uma análise 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 13/06/2023, às 15:49, 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 **EYBER DOMINGOS ALVES, Discente**, em 14/06/2023, às 22:25, 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 **3817096** e o código CRC **B9DA1846**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA
FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA

EYBER DOMINGOS ALVES

Estudo teórico sobre membranas peptídicas e lipídicas: Uma análise 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 em Física: Física da matéria condensada

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira

Goiânia
2021

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

Alves, Eyber Domingos

Estudo teórico sobre membranas peptídicas e lipídicas [manuscrito] :
Uma análise via dinâmica molecular / Eyber Domingos Alves. - 2021.
146 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Física (IF), Programa de Pós-Graduação em Física, Goiânia, 2021.

Bibliografia.

Inclui siglas, mapas, símbolos, gráfico, tabelas, algoritmos, lista de
figuras, lista de tabelas.

1. Biossustentabilidade. 2. Fullerenos-C60. 3. Dinâmica Molecular.
4. Fármaco L-GL13K. I. Oliveira, Guilherme Colherinhas de, orient. II.
Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE FÍSICA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº 59 da sessão de Defesa de Tese de Eyber Domingos Alves que confere o título de Doutor em Física, na área de concentração em Física.

Aos 10 dias do mês de agosto de 2021, a partir das 14h00min, por meio de videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “Estudo teórico sobre membranas peptídicas e lipídicas: uma análise via dinâmica molecular”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor Guilherme Colherinhas de Oliveira (IF/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor Doutor Valdemir Eneias Ludwig (ICE/UFJF), membro titular externo; Professor Doutor Eudes Eterno Fileti (ICT/UNIFESP), membro titular externo; Professor Doutor Marcos Antônio de Castro (IF/UFG), membro titular interno; e Professor Doutor Norton Gomes de Almeida (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 10 dias do mês de agosto de 2021.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Norton Gomes De Almeida, Professor do Magistério Superior**, em 10/08/2021, às 16:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Valdemir Eneias Ludwig, Usuário Externo**, em 10/08/2021, às 16:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Antonio De Castro, Professor do Magistério Superior**, em 10/08/2021, às 16:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Colherinhas De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 10/08/2021, às 17:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



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 **2125807** e o código CRC **11E2F43A**.

Referência: Processo nº 23070.029576/2021-63

SEI nº 2125807

Dedico esta tese à minha amada avó, Maria Alves de Deus (*In Memoriam*), pelo amor que teve por mim, pelas valiosas lições que me ensinou, pelas lembranças que sempre ficarão e pela dor que jamais passará.

AGRADECIMENTOS

- A Deus pelas incontáveis bênçãos recebidas durante a minha trajetória acadêmica. De mesmo modo, agradeço-lhe pela dádiva da vida e da saúde concedidas a mim e à minha família.
- À Universidade Federal de Goiás (UFG) e ao Instituto de Física (IF-UFG) pelos diversos recursos materiais que me foram ofertados, bem como pelo excelente quadro funcional que sempre esteve à disposição de toda a comunidade universitária.
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo o aporte financeiro disponibilizado. Sem tal auxílio, o sonho do doutorado não passaria de um mero devaneio.
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira, a quem sou extremamente grato pela solicitude, comprometimento e dedicação que sempre estiveram presentes durante a realização deste trabalho.
- Aos professores, técnicos e demais servidores do instituto de Física da UFG que sempre se mostram empenhados e prestativos.
- Às amigadas que foram esculpidas durante o curso de doutorado. Nesse momento, caso eu cite alguns nomes, possivelmente, esquecerei-me de listar outros prezados colegas que sempre se mostraram presente. Portanto, direciono meus agradecimentos a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram com a minha formação acadêmica.
- À minha esposa, Nery Brandão Silva, por todo o apoio e compreensão que teve para comigo durante o desenvolvimento deste trabalho.
- Quanto aos meus pais, Antônio Carlos Domingos da Silva e Ivone Francisca Alves da Silva, agradeço-lhes por todo o cuidado, amor, empenho e dedicação que sempre tiveram por mim. Agradeço-lhes pelos ensinamentos e valores pessoais que moldaram o meu caráter. Ao meu irmão, Eyder Domingos Alves, agradeço-lhe pelo amor que tem por mim.

RESUMO

Neste trabalho, o formalismo da dinâmica molecular foi utilizado para estudar as propriedades físico-químicas de membranas peptídicas e lipídicas quando imersas em solução. Acerca das membranas peptídicas, as propriedades energéticas e estruturais foram avaliadas nas situações as quais estas membranas foram imersas no Líquido Iônico (LI) formado pelo par colina (COL) e glicina (GLY). Os resultados indicam a existência de estabilidade energética e estrutural dessas membranas quando no LI, com potencial aplicação em armazenamento de energia em supercapacitores biodegradáveis.

Quanto às membranas lipídicas, utilizamos a técnica de *umbrella sampling* para procedermos a uma série de 150 inserções da molécula de Fullerenó- C_{60} em quatro membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 00% (membrana pura), 10%, 20% e 30% de moléculas de colesterol, avaliando o comportamento médio das energias de inserção molecular. Os resultados mostraram que a presença das moléculas de colesterol torna o processo de inclusão do Fullerenó- C_{60} energeticamente desfavorável.

Sob a via computacional, avaliamos as características farmacológicas associadas aos monômeros construídos à base de peptídeo. Para tal feito, interagimos as membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 00% (membrana pura), 10% e 30% de moléculas de colesterol com o fármaco peptídico L-GL13K. Os resultados revelam que as ligações de hidrogênio entre o composto L-GL13K e as moléculas de DOPC promovem a desestabilização membranar, aumentando a taxa de infiltração de moléculas de água.

Palavras - chave: Biossustentabilidade, Fullerenó- C_{60} , Dinâmica Molecular, Fármaco L-GL13K.

ABSTRACT

In this work, the molecular dynamics formalism was used to study the physicochemical properties of peptide and lipid membranes when immersed in solution. Concerning peptide membranes, the energetic and structural properties were evaluated in the situations in which these membranes were immersed in the Ionic Liquid (IL) formed by the choline (COL) and glycine (GLY) pair. The results indicate the existence of energetic and structural stability of these membranes when in IL, with potential application in energy storage in biodegradable supercapacitors.

For lipid membranes, we used the umbrella sampling technique to proceed with a series of 150 insertions of the Fullerene- C_{60} molecule in four lipid membranes composed of DOPC (Dipalmitoylphosphatidylcholine) at a ratio of 00% (pure membrane), 10%, 20% and 30% of cholesterol molecules, evaluating the average behavior of molecular insertion energies. The results showed that the presence of cholesterol molecules makes the inclusion process of Fullerene- C_{60} energetically unfavorable.

Under the computational pathway, we evaluated the pharmacological characteristics associated with monomers constructed based on peptides. For this purpose, we interact the lipid membranes composed of DOPC (Dipalmitoylphosphatidylcholine) at a proportion of 00% (pure membrane), 10% and 30% of cholesterol molecules with the peptide drug L-GL13K. The results reveal that the hydrogen bonds between the compound L-GL13K and the DOPC molecules promote membrane destabilization and increasing the infiltration of water molecules.

Key - words: Biosustainability, Fullerene- C_{60} , Molecular Dynamics, Drug L-GL13K.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1:	O fullereno- C_{60} é representado por um icosaedro truncado formado por 12 pentágonos e 20 hexágonos.	31
Figura 2.1:	Energia potencial envolvida na determinação do campo de força para simulações DM. \mathcal{V}_{str} representa a energia de vibração molecular, \mathcal{V}_{bend} a energia de deformação angular, \mathcal{V}_{tors} o processo de torção, enquanto que o termo \mathcal{V}_{nlig} corresponde à energia dos termos não ligados.	39
Figura 2.2:	Representação do potencial de Morse em função da distancia internuclear. Conjuntamente expomos o potencial harmônico (vermelho e tracejado). Para maiores distâncias internucleares, a diferença é mais intensa. O conjunto massa-mola, apresentado no topo da figura, ilustra o caráter oscilatório da vibração molecular.	41
Figura 2.3:	Potencial relativo à deformação angular.	42
Figura 2.4:	Potencial do modelo de Urey-Bradley.	43
Figura 2.5:	Potencial de torção em torno dos átomos A e B	44
Figura 2.6:	Acoplamento de pressão nas simulações DM. Em A), temos o acoplamento isotrópico, resultando em uma mudança com o mesmo incremento nas três dimensões espaciais. Em B), o processo semi-isotrópico com a mesma flutuação nas direções \hat{i} e \hat{j} . Em C), o caso anisotrópico sem qualquer correlação entre os valores das pressões.	45
Figura 2.7:	Condição periódica de contorno aplicada à caixa central. Composto simulado: peptídeo A_6D . Em vermelho, temos a caixa central de simulação que será replicada nas três dimensões espaciais. Quando uma partícula deixa a caixa de simulação, ela entra no lado oposto mantendo o número de partículas na caixa central constante.	47
Figura 2.8:	Critérios geométricos utilizados na caracterização das LH. H representa o átomo de hidrogênio, D o átomo doador e R é o átomo receptor.	50

Figura 3.1:	Processo de montagem da membrana $(A_6D)_{90}$. CHO = Colina (Verde), GLY = Glicina (Amarelo), A = Alanina (Azul) e D = Ácido Aspártico (Vermelho).	52
Figura 3.2:	Estruturas das seis moléculas estudadas neste trabalho. (a) A_6D , (b) A_6K , (c) A_6R . (d) L_6D , (e) L_6K , (f) L_6R . Esfera azul = Átomo de nitrogênio; Esfera branca = Átomo de hidrogênio; Esfera vermelha = Átomo de oxigênio; Esfera verde = Átomo de carbono.	54
Figura 3.3:	Visão superficial e lateral das três membranas A_6X , juntamente com o par colina/glicina, [CHO][GLY], relativo ao líquido iônico. A = Alanina (azul), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).	54
Figura 3.4:	Visão superficial e lateral das três membranas L_6X , juntamente com o par colina/glicina, [CHO][GLY], relativo ao líquido iônico. L = Leucina (rosa), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).	55
Figura 3.5:	Visão superficial e lateral das três membranas equilibradas A_6X juntamente com o par [CHO][GLY] relativo ao LI. A = Alanina (azul), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).	58
Figura 3.6:	Visão superficial e lateral das três membranas equilibradas L_6X juntamente com o par [CHO][GLY] relativo ao LI. L = Leucina (rosa), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).	58
Figura 3.7:	Perfil de densidade de massa das seis nanomembranas. Linha preta [Poli-peptídeo]; Linha vermelha [CHO]; Linha azul [GLY].	59
Figura 3.8:	Espessuras médias para as membranas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$, $(A_6R)_{90}$, $(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$ em LI colina/glicina, [CHO][GLY].	60
Figura 3.9:	Perfil de densidade dos monômeros nas nanomembranas simuladas.	61
Figura 3.10:	Representação das Ligações de Hidrogênio (LH) para a) $(A_6D)_{90}$, b) $(A_6K)_{90}$, c) $(A_6R)_{90}$, d) $(L_6D)_{60}$, e) $(L_6K)_{60}$ e f) $(L_6R)_{60}$. As ligações de hidrogênio estão representadas em pontos vermelhos.	64
Figura 3.11:	Representação das LHs existentes entre os peptídeos que compõem a estrutura $(A_6D)_{90}$. Os átomos de nitrogênio, oxigênio, carbono e hidrogênio foram apresentados nas cores azul, vermelho, ciano e branco, respectivamente. O LI está retratado em verde-amarelo.	65

Figura 3.12:	Função autocorrelação, $C(t)$, para as LHs: (a)-(b) Peptídeo-Peptídeo, (c)-(d) Peptídeo-LI. Análise realizada para as estruturas membranares em LI.	67
Figura 3.13:	Função autocorrelação, $C(t)$, para as LHs: (a)-(b) Peptídeo-Peptídeo, (c)-(d) Peptídeo-LI. Análise realizada para os monômeros em LI.	67
Figura 3.14:	Extração da molécula A_6D a partir da estrutura membranar $(A_6D)_{90}$. A dinâmica de extração tem origem na Fig. (a), situação inicial, findando a remoção no quadro (d).	73
Figura 3.15:	Extração da molécula L_6D a partir da estrutura membranar $(L_6D)_{60}$. A dinâmica de extração tem origem na Fig. (a), situação inicial, findando a remoção no quadro (d).	73
Figura 3.16:	Forças médias requeridas para as extrações dos monômeros A_6X a partir das membranas (Linha vermelha) e os respectivos desvios-padrão (Linha azul).	74
Figura 3.17:	Forças médias requeridas para as extrações dos monômeros L_6X a partir das membranas (Linha vermelha) e os respectivos desvios-padrão (Linha azul).	75
Figura 4.1:	Caixas de simulação. Os lipídios DOPC's estão representados em verde, ao passo que as moléculas de colesterol estão destacadas em amarelo. As moléculas de água correspondem aos pontos vermelho/branco.	79
Figura 4.2:	Extração das moléculas de DOPC e de CHOL e inserção de uma molécula de fullereno- C_{60} . As moléculas de DOPC e colesterol são mostradas em verde e amarelo, respectivamente. As moléculas de água são retratadas na forma de uma superfície azul. Fullereno- C_{60} representado por intermédio de uma esfera azul. ξ corresponde à força harmônica utilizada na remoção/inserção das moléculas estudadas.	81
Figura 4.3:	Perfil de densidade de massa para as estruturas DOPC/CHOL. (a) DOPC pura; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%. Linha azul = água; Linha preta = DOPC; Linha vermelha = CHOL.	82
Figura 4.4:	Espessuras membranares para os compostos DOPC/CHOL. (a) DOPC pura; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%. Escala em <i>nm</i>	83
Figura 4.5:	Curvas MSD obtidas a partir das simulações de DM. (a) Colesterol, (b) DOPC e (c) Água.	86

Figura 4.6:	Correlação rotacional em função da temperatura. (a) DOPC pura (Cinza); (b) DOPC/CHOL-10% (Preto); (c) DOPC/CHOL-20% (Vermelho); (d) DOPC/CHOL-30% (Azul).	87
Figura 4.7:	Extração da molécula de DOPC. As Figs. (a), (b), (c) e (d), respectivamente, correspondem à evolução temporal no processo de extração da molécula. DOPC (verde), CHOL (amarelo) e água (azul).	90
Figura 4.8:	Extração da molécula de colesterol. As Figs. (a), (b), (c) e (d), respectivamente, correspondem à evolução temporal no processo de extração da molécula. DOPC (verde), CHOL (amarelo) e água (azul).	90
Figura 4.9:	À esquerda, representado em cinza, plotamos todas as 150 extrações das moléculas DOPC, enquanto que as linhas vermelhas correspondem aos valores médios de todas as medidas. À direita, encontram-se a média e o respectivo desvio-padrão. (a) DOPC-00%; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%.	91
Figura 4.10:	Força média para a extração dos monômeros de DOPC. (Azul) DOPC/CHOL-10%; (Verde) DOPC/CHOL-20%; (Preto) DOPC/CHOL-30% e (Vermelho) DOPC-00%. Faixa de energia cujo valor é $\Delta F = 20$ kJ/mol nm.	92
Figura 4.11:	(Esquerda) Em cinza representamos as forças de extração para as moléculas de colesterol, enquanto que a curva em vermelho representa a média obtida dos a partir dos processos das forças. (Direita) Correspondentes valores médios e desvios-padrão. (a) DOPC/CHOL-10%; (b) DOPC/CHOL-20%; (c) DOPC/CHOL-30%.	93
Figura 4.12:	Força média para a extração dos monômeros de colesterol. (Azul) DOPC/CHOL-10%; (Verde) DOPC/CHOL-20%; (Preto) DOPC/CHOL-30%. Faixa de energia cujo valor é $\Delta F = 30$ kJ/mol nm.	94
Figura 4.13:	Inserção da molécula de fullereno- C_{60} . A Fig. (a) representa a situação inicial, seguida pelas Figs. (b),(c) e (d). A Fig. (d) representa o momento em que a molécula de fullereno- C_{60} transpassa a membrana lipídica. Azul escuro: fullereno- C_{60} . Verde: DOPC. Amarelo: CHOL.	94

Figura 4.14:	(Esquerda) Em cinza, representamos as forças requeridas para a inserção da molécula de fullereno- C_{60} na camada lipídica para os 150 processos executados. O processo de inserção é seguido por um processo de extração no lado oposto da membrana. Linha vermelha representa o valor médio. (Direita) Em azul, temos o desvio padrão. (a) DOCP pura; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%.	95
Figura 4.15:	Sobreposição das médias requeridas para a inserção/extração da molécula de fullereno- C_{60} nas membranas DOPC/CHOL-XX. (Linha vermelha) DOCP pura; (Linha azul) DOPC/CHOL-10%; (Linha verde) DOPC/CHOL-20%; (Linha preta) DOPC/CHOL-30%. Faixas de energias iguais a $\Delta F1 = 20$ e $\Delta F3 = 50$ kJ/mol nm.	96
Figura 5.1:	Interação entre o fármaco L-GL13K e a membrana lipídica. O quadro (a) representa a situação inicial. Em (d), destacamos o momento em que a molécula L-GL13K transpassa a membrana lipídica. Vermelho: L-GL13K, verde: DOPC, amarelo: CHOL e azul: água.	101
Figura 5.2:	Comparação estabelecida entre as posições dos monômeros L-GL13K em diversas etapas das simulações. Verde: DOPC. Amarelo: colesterol. Azul, vermelho e marrom: Peptídeos relacionados às simulações de número 7º, 8º e 20º, respectivamente.	103
Figura 5.3:	Perfis da força de inserção para o polipeptídeo L-GL13K. Os resultados apresentados reproduzem as 7ª, 8ª, 9ª e 10ª simulação. As cores azul e vermelho referem-se, respectivamente, às simulações com concavidades voltadas para baixo e para cima.	104
Figura 5.4:	Representação das forças necessárias para a inserção do fármaco L-GL13K nas membranas lipídicas. Os quadros (a), (c) e (e) caracterizam a união das 150 inserções. Os quadros (b), (d) e (f) correspondem às médias e aos desvios-padrão das forças observadas.	105
Figura 5.5:	Comparação entre as forças necessárias para a inclusão do peptídeo L-GL13K e do fullereno- C_{60} . Os quadros (a), (b) e (c) retratam as membranas DOPC/CHOL-XX%, com $XX = 30, 10$ e 00% , respectivamente. Em (d), agrupamos as curvas médias obtidas nos quadros (a), (b) e (c).	106
Figura 5.6:	Perfil de densidade das membranas após a interação com o monômero L-GL13K. As Figs. (a), (c) e (e) representam a união das 150 inserções. As Figs. (b), (d) e (f) correspondem à média e ao desvio-padrão.	108

Figura 5.7:	Perfil de densidade de massa para as DOPCs. Os quadros (a), (b) e (c) correspondem à densidade para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10$ e 30% . Em (d), união dos quadros (a), (b) e (c). Sobre as cores, rosa, cinza e azul representam as membranas com 30% , 10% e 00% de moléculas de colesterol, respectivamente.	110
Figura 5.8:	Densidade das moléculas de água (SOL) antes e após a inserção do monômero L-GL13K. Em azul, temos a densidade antes da inserção. A curva retangular representa a densidade do meio aquoso após a inserção do fármaco. O quadro (d) representa todas as densidades para as moléculas de água nas membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00\%$ (verde), 10% (cinza) e 30% (rosa).	113
Figura 5.9:	Número médio de ligações de hidrogênio entre a molécula de DOPC e o peptídeo L-GL13K mantidas durante o processo de <i>pulling</i> . Os quadros (a), (b) e (c) referem-se às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Em (d), agrupamos os valores médios e os respectivos desvios-padrão para efeito de comparação.	115
Figura 5.10:	Número médio de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e o peptídeo L-GL13K mantidas durante o processo de <i>pulling</i> . Os quadros (a), (b) e (c) referem-se às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Em (d), agrupamos os valores médios e os respectivos desvios-padrão para efeito de comparação.	116
Figura 5.11:	Representação molecular para o instante inicial, (a) $T = 0$ ns, e instante final, quadro (t). Vermelho: L-GL13K. Verde: DOPC. Amarelo: colesterol.	119
Figura 5.12:	Mapa superficial relativo à membrana DOPC/CHOL- 00% obtido durante a técnica de <i>umbrella sampling</i> . A escala de cor representa a espessura da membrana em cada ponto de sua superfície. O quadro (a) retrata a situação inicial, enquanto que o quadro (t) corresponde ao momento que o monômero L-GL13K atravessa a membrana.	120
Figura 5.13:	Mapa superficial relativo à membrana DOPC/CHOL- 30% obtido durante a técnica de <i>umbrella sampling</i> . A escala de cor representa a espessura da membrana em cada ponto de sua superfície. O quadro (a) retrata a situação inicial, enquanto que o quadro (t) corresponde ao momento que o monômero L-GL13K atravessa a membrana.	121
Figura 5.14:	Histograma representando a proporção da espessura membranar. O eixo X corresponde ao intervalo da espessura, enquanto que o eixo Y esta associado à proporção da membrana. Roxo: DOPC/CHOL- 30% . Verde: DOPC/CHOL- 00%	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1:	Parâmetros usados para os monômeros na solução de LI colina/glicina, [CHO][GLY]. A = Alanina, L = Leucina, D = Ácido aspártico, K = Lisina, R = Arginina.	55
Tabela 3.2:	Parâmetros usados para os membranas na solução de LI colina/glicina, [CHO][GLY]. A = Alanina, L = Leucina, D = Ácido aspártico, K = Lisina, R = Arginina.	56
Tabela 3.3:	Distanciamento médio entre estruturas laminares adjacentes dos grupos A_6X e L_6X , em nm.	62
Tabela 3.4:	Número médio de ligações de hidrogênio (LH) para as moléculas A_6X nas configurações membranas [monômeros] quando estas estão envoltas por uma solução iônica de [CHO][GLY]. O valor foi calculado por número de peptídeo presente na membrana.	63
Tabela 3.5:	Número médio de ligações de hidrogênio (LH) para as moléculas L_6X nas configurações membranas [monômeros] quando estas estão envoltas por uma solução iônica de [CHO][GLY]. O valor foi calculado por número de peptídeo presente na membrana.	63
Tabela 3.6:	Energia de Coulomb média para as estruturas A_6X (em kJ/mol) obtidas para os monômeros e nanomembrana polipeptídeos quando estes estão na presença da solução iônica de colina/glicina, [CHO][GLY]. Os resultados para as membranas foram determinados por número de polipeptídeos que compõem cada estrutura. . .	68
Tabela 3.7:	Energia de Coulomb média para as estruturas L_6X (em kJ/mol) obtidas para os monômeros e nanomembrana polipeptídeos quando estes estão na presença da solução iônica de colina/glicina, [CHO][GLY]. Os resultados para as membranas foram determinados por número de polipeptídeos que compõem cada estrutura. . .	69
Tabela 3.8:	Médias dos valores referentes às energias de interação de Lennard-Jones (em kJ/mol) para os compostos A_6X nas disposições monoméricas e membranares quando estas estão na presença do LI colina/glicina. Resultados estão expressos por polipeptídeo.	71

Tabela 3.9:	Médias dos valores referentes às energias de interação de Lennard-Jones (em kJ/mol) para os compostos L_6X nas disposições monoméricas e membranares quando estas estão na presença do LI colina/glicina. Resultados estão expressos por polipeptídeo.	71
Tabela 4.1:	Composição dos sistemas DOPC/CHOL em água.	80
Tabela 4.2:	Número médio de ocupação de área por lipídio nas estruturas DOPC/CHOL.	84
Tabela 4.3:	Coefficiente de difusão para as moléculas DOPC, colesterol e água. .	86
Tabela 4.4:	Energia de interação de Coulomb e Lennard-Jones (LJ) para o sistema DOPC/CHOL [em kJ/mol]. Os valores das energias são mostrados por moléculas de DOPC.	88
Tabela 5.1:	Densidade das moléculas de DOPC. Antes [Após] o processo de inserção do monômero. Separamos a membrana em quatro regiões espaciais: [4, 6] nm, [6, 8] nm, [8, 10] nm e [10, 12] nm.	112

SUMÁRIO

Capítulo 1: Introdução	17
1.1 Computação científica	20
1.2 Sistemas auto-organizáveis e formação de membranas	22
1.3 Líquidos iônicos	26
1.4 Interação fármacos e membrana	27
1.5 Fullerenos- C_{60}	30
Capítulo 2: Fundamentos Teóricos: Dinâmica Molecular e Física Estatística	32
2.1 Microestados e teoria de <i>ensemble</i>	33
2.2 Passos de integração	36
2.3 Potencial intermolecular e simulações por DM	38
2.3.1 Vibração molecular	40
2.3.2 Deformação angular	42
2.3.3 Potencial de Urey-Bradley	43
2.3.4 Potencial de torção	43
2.4 Acoplamento de pressão	44
2.5 Condições periódicas de contorno	46
2.6 Métodos de constrição	47
2.7 Simulações <i>umbrella sampling</i>	48
2.8 Ligação de hidrogênio	50
Capítulo 3: Membranas peptídicas em líquido iônico	52
3.1 Dinâmica Molecular: Preparação inicial e resultados	53
3.1.1 Estruturas membranares	53
3.1.2 Perfil densidade de massa e distribuição de cargas	57
3.1.3 Espessuras das membranas	60
3.1.4 Ligações de Hidrogênio	62
3.1.5 Função Autocorrelação para as ligações de hidrogênio	66
3.1.6 Análise energética	68
3.1.7 Extração de monômeros	72
3.2 Considerações finais sobre o capítulo	76

Capítulo 4: Interações entre bicamadas de DOPC/Colesterol e fullereno-C_{60}	78
4.1 Detalhes computacionais	79
4.2 Resultados e análises	81
4.2.1 Perfil de densidade de massa das membranas DOPC/CHOL	81
4.2.2 Coeficiente de difusão	84
4.2.3 Energia de interação de Coulomb e Lennard-Jones	88
4.2.4 Extração das moléculas DOPC/Colesterol	90
4.2.5 Inserção do fullereno- C_{60} em membranas DOPC/CHOL	94
4.3 Considerações finais sobre o capítulo	97
Capítulo 5: Interação entre o fármaco L-GL13K e as membranas lipídicas	99
5.1 Detalhes computacionais	100
5.1.1 Detalhes computacionais sobre a técnica de <i>umbrella sampling</i>	101
5.2 Resultados obtidos	105
5.2.1 Força de inserção da molécula L-GL13K	105
5.2.2 Perfil densidade de massa	107
5.2.2.1 Comparação da densidade de massa: moléculas de DOPC	110
5.2.2.2 Comparação da densidade de massa: moléculas de água	113
5.2.3 Ligação de hidrogênio	115
5.2.4 Mapas Superficiais	119
5.3 Considerações finais	126
Capítulo 6: Conclusão	128

INTRODUÇÃO

O primeiro capítulo deste trabalho tem o objetivo de promover uma contextualização histórica das técnicas originalmente empregadas na área das simulações computacionais, bem como apresentar uma sistematização sobre os conceitos elementares que serão abordados no decurso desta tese. Logo, iniciaremos com a exposição dos pioneiros trabalhos no campo da física computacional, destacando sua imprescindibilidade para o desenvolvimento científico. Em seguida, passaremos à exposição dos assuntos que versam sobre a formação de sistemas auto-organizáveis e sua importância para o processo de formação membranar, em especial, para as membranas peptídicas. Ressaltaremos a importância das membranas construídas à base de peptídeo e de que forma essas estruturas fomentam o campo da biosustentabilidade e da biocompatibilidade.

Discorreremos, ainda, sobre a área de pesquisa intitulada "química verde" e qual a sua importância para a promoção de ideias mais sustentáveis. Veremos que essa área de pesquisa surge através de uma preocupação com o meio ambiente e com os nocivos impactos que alguns compostos químicos podem causar à saúde humana. Em adição, voltaremos nossas análises para as metodologias computacionais empregadas no estudo dos agentes farmacológico. Nesse quadro, constataremos que as simulações computacionais exercem um papel central, pois fornecem uma compressão, ao nível molecular, dos processos envolvidos durante a produção de fármacos.

Quanto ao segundo capítulo desta tese, reservamos esse momento do trabalho para abordarmos os aspectos metodológicos que nortearam as pesquisas científicas que foram realizadas. Desse modo, a metodologia científica utilizada para a realização das simulações computacionais foi a abordagem intitulada de Dinâmica Molecular (DM), a qual tem seus fundamentos conceituais na Mecânica Estatística (ME). À vista disso, iniciamos o referido capítulo discorrendo sobre alguns conceitos fundamentais que estão no cerne da ME. Portanto, abordamos as seguintes noções introdutórias: microestados e teoria de *ensemble*, passos de integração das equações de movimento, acoplamento de pressão, condições periódicas de contorno, métodos de constrição e ligações de hidrogênio.

De mesmo modo, estudaremos sobre a modelagem computacional denominada "campo de força". A referida técnica computacional consiste no estabelecimento de um conjunto de funções e parametrizações que serão empregadas para a definição dos potenciais de interação existentes entre os constituintes moleculares dos sistemas simulados. Nesse âmbito, diversas aproximações são realizadas, a exemplo dos princípios da aditividade e da transferibilidade. Segundo o princípio da aditividade, a energia potencial de qualquer sistema físico pode ser escrita como a soma das diferentes energias potenciais envolvidas na conformação espacial do sistema, enquanto que o princípio da transferibilidade indica que a descrição energética desenvolvida para uma pequena região pode ser estendida para um aglomerado maior.

A questão central do terceiro capítulo consiste na utilização da metodologia computacional da DM para promover o estudo energético e estrutural de membranas peptídicas quando estas estão envoltas pelo Líquido Iônico (LI). Como veremos no primeiro capítulo desta tese, há um notório interesse pelo desenvolvimento de compostos biocompatíveis e biodegradáveis que possam servir de substituição àqueles que apresentam caráter nocivo à saúde humana e ao meio ambiente. Nesse sentido, tanto as membranas peptídicas, quanto o líquido iônico mostram-se promissores, pois apresentaram potencialidades atreladas à sustentabilidade e à biocompatibilidade. Para o LI, utilizamos o par colina e glicina que apresenta as propriedades de biodegradabilidade e não-toxicidade [1, 2], ao passo que para as membranas peptídicas, utilizamos os seguintes aminoácidos: alanina (ALA), leucina (LEU), ácido aspártico (ASP), lisina (LYS) e arginina (ARG).

Sendo assim, empregamos um conjunto de técnicas computacionais para estudarmos qual a dinâmica de interação entre a membrana peptídica e o par iônico que compõe o LI. Por conseguinte, efetuamos as análises dos perfis de densidade que apontaram ser a membrana peptídica hábil a promover a separação entre o ambiente interno e externo à membrana. Tal característica é indispensável para futuras aplicações na construção de biocapacitores orgânicos. Além do mais, utilizamos a técnica de *umbrella sampling* para procedermos à extração dos monômeros peptídicos. De posse dessa técnica de extração, fomos capazes de avaliar quais são os impactos que os LI geram sobre as disposições topológicas da membrana peptídica e de que forma a área de ocupação dos peptídeos é alterada.

Acerca do capítulo quatro, intitulado de "Interações entre bicamadas de DOPC/- Colesterol e fullereno- C_{60} ", reportamos um estudo investigativo que tem por intuito estabelecer uma análise comparativa entre a energia necessária para realizar a inserção de uma molécula de fullereno- C_{60} e extração de um monômero de colesterol ou lipídio. Assim agimos, pois detínhamos o interesse em estabelecer qual a influência que as moléculas de colesterol têm sobre o processo de inserção/extração. Para tal feito, utilizamos a técnica de *pulling* em quatro membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 00%, 10%, 20% e 30% de moléculas de colesterol.

Em adição ao estudo computacional desenvolvido no capítulo quatro, efetuou-se a colaboração com o Prof. Dr. Sebastião Antônio Mendanha Neto do Instituto de Física da UFG (IF-UFG). Nessa atividade colaborativa, avaliamos a influência que as moléculas de colesterol possuem sobre a mobilidade dos constituintes membranares, bem como as alterações que estas moléculas produzem sobre a área de ocupação dos monômeros lipídicos. Com tal propósito, a técnica experimental, denominada de ressonância de spin eletrônico, foi utilizada e serviu como um fundamento conceitual para o estabelecimento de um parâmetro hábil a quantificar a mobilidade dos monômeros membranares. O parâmetro em questão é intitulado de tempo de correlação rotacional, τ_c , e apontou que, à medida que as moléculas de colesterol aumentam na membrana, a mobilidade é sensivelmente reduzida e, em média, há uma redução na área ocupada pelas moléculas de DOPC.

Em relação ao capítulo cinco, efetuamos uma avaliação energética e estrutural sobre a interação existente entre o peptídeo L-GL13K e as membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 00%, 10% e 30% de moléculas de colesterol. Essa interação foi objeto de estudo computacional, pois, de um ponto de vista experimental, o monômero L-GL13K apresentou notáveis características farmacológicas, sendo eficaz contra diversas ameaças patogênicas nocivas à saúde humana, a exemplo das *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Streptococcus gordonii*. Dessa forma, os fundamentos da Dinâmica Molecular seriam um forma propícia de avaliar e quantificar a influência que o agente farmacológico L-GL13K desempenha sobre a estrutura das bicamadas lipídicas.

As análises do quinto capítulo foram realizadas sobre os seguintes aspectos estruturais: perfil de densidade de massa, ligações de hidrogênio, mapas de superfície e força de inserção molecular. Em ambas as avaliações efetuadas, buscava-se comparar a estrutura membranares antes e após a técnica de *umbrella sampling*. De maneira geral, os resultados alcançados demonstram que, após a inserção do composto L-GL13K, a estrutura física da bicamada lipídica é desfeita, evidenciando a potencialidade na utilização da molécula L-GL13K com agente farmacológico. Nesse âmbito, identificamos que a interação entre o peptídeo L-GL13K e a membrana lipídica tem a habilidade de alterar a espessura membranares e, conseqüentemente, alterar a taxa de infiltração de água.

Por fim, quanto ao sexto capítulo, este tem o objetivo de revisitar os resultados teóricos e experimentais que foram alcançados durante as variadas etapas deste trabalho. Logo, sintetizaremos os resultados relacionados às membranas peptídicas envoltas por LI, apontando sua importância para a biosustentabilidade e biocompatibilidade. Em seguida, passaremos à avaliação das membranas lipídicas em água e suas interações com a molécula de fullereno- C_{60} . Finalmente, sumaremos os resultados relacionados à potencialidade do agente farmacológico L-GL13K. No mais, também abordaremos, nesse mesmo capítulo, as perspectivas para trabalhos vindouros.

Computação científica

Em épocas anteriores à origem da informática, as habituais maneiras de se proceder à caracterização das estruturas biológicas consistiam em duas vias: a primeira delas diz respeito ao estudo investigativo conduzido em animais vivos (chamado *in vivo*), ao passo que a segunda refere-se às análises efetuadas em ambientes artificiais controlados (chamados *in vitro*). Por uma mera extrapolação das terminologias em latim supracitadas, a área de pesquisa relacionada às simulações biológicas envolvendo a computação científica é intitulada de *in silico*, fazendo uma clara alusão às origens dos microprocessadores à base de silício e aos fundamentos da era da informática.

Feita essa breve introdução, temos que o nascimento da computação científica, como uma ferramenta hábil a descrever as propriedades físicas e químicas da matéria, remonta à década de 1950 com o uso das técnicas de Monte Carlo (MC) e Dinâmica Molecular (DM) nas simulações envolvendo a estruturação de líquidos por Metropolis *et al* [3] e Alder e Wainwright [4], respectivamente.

No contexto das simulações biológicas, cita-se o trabalho vanguardista de James Watson e Francis Crick, na revista *Nature*, em meados de 1953, sobre a estrutura em dupla hélice da molécula de DNA [5]. O referido trabalho teve o papel central de fomentar o caminho para o entendimento da estruturação e replicação do material genético. Desde então, técnicas computacionais têm sido extensivamente usadas no entendimento e caracterização das propriedades moleculares, assim como disposto em [6], apresentado por Cyrus Levinthal *et al*, em 1966. Nesse trabalho, a modelagem computacional foi utilizada para fornecer a primeira visualização tridimensional de proteínas e ácidos nucleicos.

Em meados de 1964, Rahman [7] fez a primeira tentativa bem sucedida de simular um sistema molecular descrito pelo potencial de Lennard-Jones via os fundamentos da DM. Desde esse momento, as propriedades moleculares do potencial de Lennard-Jones foram exaustivamente descritas [8]. Posteriormente, em 1967, nos moldes da DM, o comportamento do argônio líquido [7] e da água [9] foram obtidos. Por último, Harp e Berne [10, 11] descreveram o comportamento molecular de compostos diatômicos usando a sistemática da DM.

A capacidade de visualização das estruturas moleculares em três dimensões é de suma importância em diversas áreas da ciência como química, bioquímica, biologia molecular e farmacologia [12]. Nesse sentido, durante o século XX, uma grande variedade de programas e modelos computacionais foram desenvolvidos com esse propósito [13]. Além disso, outro expoente representativo que impulsionou o desenvolvimento da área de pesquisa conhecida hoje como bioinformática é o trabalho pioneiro de Margaret Dayhoff. Esse trabalho foi precursor na primeira sistematização das estruturas proteicas em três dimensões, sendo que tal abordagem ficou conhecida como *Atlas of Protein Sequence and Structure* [14].

A datar de suas origens, as simulações computacionais constituem uma poderosa ferramenta no estudo e na caracterização da estrutura e dinâmica de macromoléculas biológicas, bem como na determinação de propriedades físicas e químicas da matéria. De maneira idêntica, os avanços na construção de *hardware* e *software* mais eficientes e o baixo custo financeiro relativo ao processo de construção dos computadores têm possibilitado um expressivo aumento e difusão no uso de técnicas computacionais, permitindo, desse modo, a implementação de programas mais complexos com maior eficiência e precisão [15].

À vista desses fatos, o desenvolvimento de computadores mais eficientes e precisos, bem como a sistematização de modelos teóricos mais próximos à realidade experimental foram decisivos no estudo da dinâmica das proteínas. Nesse âmbito, as simulações computacionais propostas por Michael Levitt e Arieh Warshel [16], nos anos de 1970, tornaram possíveis o entendimento, ao nível molecular, acerca da dinâmica de enovelamento das proteínas. O tamanho prestígio alcançado por esse trabalho levou seus autores a serem laureados pelo prêmio Nobel de Química em 2013.

No que diz respeito à descrição dos fenômenos biológicos, *a priori*, o completo entendimento sobre o comportamento de um sistema molecular poderia ser alcançado através da solução exata da equação de Schrödinger dependente do tempo, a qual governa a dinâmica de todas as partículas do sistema sob análise. Para tal feito, poder-se-ia recorrer à aproximação de Born-Oppenheimer [17] que permite a separação das estruturas eletrônicas de seus respectivos núcleos e, dessa maneira, seria possível tratar cada caso separadamente. Entretanto, tratando-se de sistemas moleculares mais extensos e complexos, a descrição completamente quântica torna-se impraticável, do ponto de vista computacional, sendo necessário recorrer a outras técnicas computacionais, as quais têm um enfoque pautado nas descrições clássicas da matéria.

Desse modo, desde a primeira ocorrência de simulações computacionais baseadas em DM, esse modelo tem sido extensivamente usado para estudar uma variedade de sistemas biomoleculares, entre os quais citamos: proteínas, nucleotídeos, bicamadas lipídicas e carboidratos [18, 19, 20]. Muito embora constitua uma aproximação à dinâmica real, a DM fornece descrições precisas em muitos casos, além de ser usada em combinação com vários métodos experimentais para fornecer uma descrição fidedigna da dinâmica e das funções dos compostos biomoleculares sob análise.

Em síntese, a DM é um método computacional, que, através de um processo iterativo, integra as equações clássicas do movimento (Equação de Newton) para um conjunto de partículas [21]. Nesse cenário, ao final dos passos de integração, o resultado alcançado é a trajetória de um sistema molecular em um certo intervalo de tempo, que, geralmente, será da ordem de nanossegundos. Por conseguinte, a partir das trajetórias moleculares, várias propriedades físicas e químicas do sistema podem ser calculadas e, estatisticamente, comparadas com os resultados experimentais.

Sistemas auto-organizáveis e formação de membranas

O entendimento, ao nível biológico, do que constitui a vida, passa, indubitavelmente, pela descrição do comportamento celular. Sobre uma ótica mais sintética, define-se a estrutura celular como sendo um sistema de moléculas autorreplicantes mantidas no interior de um envoltório [22], cuja função deste é promover uma proteção contra ameaças externas. Conclui-se, portanto, que a vida, na forma como é a nós apresentada, está intimamente relacionada à capacidade celular de promover uma nítida separação entre o ambiente interno e externo à célula. Essa capacidade de separação torna-se imprescindível às funções celulares elementares, entre as quais cita-se a dinâmica de replicação do material genético, que ficaria inviabilizada sem a presença da aludida camada de separação.

Disposto esse cenário sobre as inquestionáveis funcionalidades associadas à membrana plasmática e sua inegável importância para a manutenção da vida, torna-se imperioso uma ligeira exposição pertinente à composição e à descrição dos processos físicos e químicos referentes à membrana celular, tarefa essa que nos propomos a executar nos parágrafos que se seguem.

Em um primeiro plano, no tocante à composição da membrana plasmática, esta é uma mistura de glicolipídios [23] e colesterol dispostos em dois folhetos assimétricos [24]. Em adição, entre os diferentes compostos pertencentes às membranas biológicas, o colesterol é considerado a molécula mais abundante na membrana plasmática dos mamíferos. Um alto teor de colesterol pode ser encontrado no cérebro, que contém cerca de 25 % de todo o colesterol do corpo humano [25]. Outras atribuições do colesterol dizem respeito à razão entre as quantidades de colesterol e lipídios, possibilitando o diagnóstico de doenças como Alzheimer [26, 27], HIV [28], depressão [29] e muitas outras. Por sua vez, o colesterol presente nas membranas celulares demonstrou ser importante para sinalização celular [30] e manutenção de um corpo saudável, como por exemplo, na regulação da neurotransmissão [31].

Entre as principais funções da membrana plasmática, ressalta-se a regulação de transporte de nutrientes para o interior da célula, além de conferir uma barreira protetiva contra eventuais ameaças patogênicas [32]. A representação visual mais difundida da membrana celular foi introduzida em 1972 por Singer e Nicolson [24], conhecida como modelo do mosaico fluido, que tem esse nome em virtude de ser formada majoritariamente por uma bicamada lipídica com proteínas atreladas a estrutura principal, conferindo, assim, uma espécie de mosaico.

Os diversos processos que estão associados à interação entre os monômeros que constituem a membrana plasmática são regidos pela sistemática intitulada de automontagem, em inglês, *self-assembly*. Essas abordagens são pressupostos fundamentais na modelagem computacional e são utilizadas para o desenvolvimento e estruturação de uma grande variedade de materiais na escala nanométrica [33].

Em processos automontáveis, temos que os átomos, moléculas ou outras estruturas menores se auto-organizam e possibilitam a construção de estruturas biológicas mais complexas e com ligeiro ordenamento espacial [34]. Nesse panorama, apontamos que a classe de moléculas auto-organizáveis tem atraído a atenção da comunidade científica pela potencialidade de gerar nanoestruturas com propriedades químicas e físicas únicas [35].

No âmbito das macroestruturas biológicas, estas, em sua maioria, são oriundas dos processos de automontagem. Nesse quadro, citamos, por exemplo, os processos de conformação das bicamadas fosfolipídicas, a disposição helicoidal da estrutura do DNA e o dobramento das cadeias polipeptídicas [35]. Ainda no contexto de construção dos compostos biológico, as estruturas anfífilas como lipídios, proteínas e copolímeros estão na base de uma grande variedade de processos de automontagem [34]. Nos seres vivos, podemos citar, como exemplo de estruturas autoajustáveis, a membrana celular, ou membrana plasmática, que é a estrutura básica necessária para encapsular os constituintes celulares, conferindo uma divisão entre o interior da célula e o meio ambiente [22].

A elucidação dos processos envolvidos durante as etapas de automontagem permite o desenvolvimento de uma grande variedade de dispositivos que auxiliam em diversas aplicações. Entre as variadas funcionalidades decorrentes do processo de automontagem, podemos citar, a título exemplificativo, a ampla utilização desses processos em diagnósticos de doenças [36], bem como nos processos de *drug delivery* (em português, entrega de drogas) [37]. Seguindo com as análises, a dinâmica de interação das estruturas autoajustáveis é regida por forças intermoleculares como ligações não covalentes, interação eletrostática, ligações de van der Waals, ligações de hidrogênio entre outras formas de interação [38, 35]. A ligação estabelecida entre cada monômero é relativamente fraca, quando analisada individualmente, contudo, no contexto dos copolímeros, as forças de interação são demasiadamente intensas permitindo a formação de estruturas estáveis e perduráveis [38].

Ainda sobre a sistemática do processo de automontagem, as moléculas anfífilas são compostos biológicos que combinam duas propriedades descorrelacionadas em uma única estrutura molecular. Desse modo, cada molécula anfífila é formada por uma "cabeça" hidrofílica, região polar, e uma "cauda" hidrofóbica, região apolar [22]. Devido ao comportamento dual encontrado para as cargas elétricas presentes nas moléculas anfífilas, quando solvatadas em água, estas estruturas ficam sujeitas a duas forças de natureza oposta: uma força de origem atrativa com a "cabeça" hidrofílica da estrutura, e uma força repulsiva devido à natureza hidrofóbica da "cauda" [22]. Nesse cenário, em decorrência da coexistência dessas duas forças de naturezas diversas, as estruturas anfífilas podem assumir várias disposições espaciais, entre as quais, podemos citar a formação de nanotubos [39], nanofibras [40], nanoesferas [41] e nanotoroides [41] entre outros.

Adentrando um pouco mais na descrição da membrana plasmática, o ambiente aquoso existente dentro e fora da célula inibe que os lipídeos da membrana escapem além da bicamada, todavia em nada impede que essas moléculas se movam e troquem de lugar umas com as outras no plano da bicamada. A esta propriedade membranar dar-se o nome de difusão lateral e, bem como exposto por [22], a existência de mobilidade confere à membrana plasmática as características de um líquido bidimensional. Ao longo do capítulo quatro, sobre um enfoque computacional e experimental, discutiremos, em mais detalhes, sobre as características da mobilidade dos constituintes membranares e os impactos que as moléculas de colesterol geram sobre essa propriedade.

Abordaremos, a partir de agora, um assunto que será extensivamente estudado no decurso do capítulo três. Ao avaliarmos esse capítulo, usaremos do formalismo associado à DM para efetuarmos uma análise energética e estrutural de membranas biológicas construídas à base de peptídeos quando estas membranas estão envoltas pelos líquidos iônicos. Sendo assim, findaremos essa seção apresentando as funcionalidades atreladas aos monômeros peptídicos, enquanto que na próxima seção discutiremos sobre as potencialidades associadas aos líquidos iônicos.

Inicialmente, no contexto das membranas biológicas, constatamos que a capacidade para a construção de nanomembranas voltadas para funções específicas está intimamente relacionada à habilidade de controlar a morfologia dessas estruturas [42]. Logo, o referido controle está baseado no entendimento de como o ambiente externo afeta a auto-organização dos monômeros das membranas [43]. Nesse sentido, atenção central é ofertada aos aminoácidos e aos peptídeos em virtude de que parâmetros externos como temperatura, pH e mudanças nos solventes exercerem grande influência sobre a sua disposição espacial [44].

No âmbito da medicina, a biocompatibilidade pode ser delineada como a possibilidade de um dado material ser compatível com tecidos vivos. Nesse âmbito, interesse especial é concebido à compatibilidade com o tecido humano [45]. A utilização de estruturas biocompatíveis pressupõe que tal material não cause reações adversas, tóxicas ou de caráter cancerígenas ao receptor [46]. Em vista disso, as estruturas autoajustáveis formadas a partir de peptídeo estão sendo extensivamente utilizadas em virtude de possibilitarem tanto o reparo em estruturas cartilaginosas, quanto estimular o crescimento de células nervosas com um maior benefício de minimização dos riscos por contaminação biológica [47].

As membranas nanométricas formadas a partir de monômeros peptídeos auto-organizáveis apresentam relevantes características relacionadas à biocompatibilidade e à biodegradabilidade [48]. Em virtude dessas propriedades, as membranas polipeptídicas são amplamente empregadas no âmbito da medicina regenerativa, bem como no contexto do tratamento de doenças cardíacas [49]. Ademais, outras aplicações estão associadas à construção de biossensores [50], à dessalinização da água [51] e ao serviço de *drug*

delivery [52] demonstrando, desse modo, a vanguarda dessa área de pesquisa e sua imprescindibilidade para as ciências biológicas, químicas e físicas.

Em junção, outro fator que remete a importância na caracterização das nanomembranas formadas a partir de monômeros peptídeos é o fato de que processos relacionados à estabilidade conformacional e à organização espacial serem bem relatada na literatura, assim como expresso em [53], no qual, a estabilidade das membranas peptídicas é estudada quando estas estão imersas em água.

No processo de formação das membranas peptídicas, moléculas menores se organizam formando conformações maiores que apresentam ordenamento estrutural, apesar de seus compostos elementares não exibirem um caráter cristalino [54]. Em acréscimo, segundo relato apresentado em [55], simulações computacionais realizadas com aminoácidos formados a partir de uma sequência de 6 alaninas (A) e um aspartato (D), resultando no peptídeo A_6D , atestam que esses monômeros se autoajustam em redes formadas a partir de nanofibras. Quanto aos resultados inerentes ao peptídeo A_6R , o arranjo espacial depende da concentração dos monômeros no solvente, com formações estruturais variando entre membranas finas, novelos na forma de nanotubos ou em formato de hélices [56]. Disposto em [57], verificamos o estudo experimental sobre os peptídeos autoajustáveis A_6D , relatando que, quando solvatados em água, esses monômeros autoajustáveis formam complexas estruturas na forma de nanotubos e nanovesículas.

No cenário das aplicações inerentes à indústria farmacêutica, destaca-se que as cadeias peptídicas formadas por arginina possuem notória atividade antimicrobiana [58]. Outrossim, atividades antimicrobianas também foram relatadas experimentalmente para o peptídeo A_6R em virtude de possuírem notável interação com membranas lipídicas [59]. Outra aplicação em nanotecnologia (no contexto farmacêutico) é a formação de macromoléculas autoajustáveis a partir de peptídeos. Essas novas estruturas estão sendo recentemente empregadas na construção de materiais que desempenharão o papel de receptores para drogas terapêuticas, permitindo o transporte para regiões específicas do organismo [60].

Em complemento, segundo o trabalho exposto em [61], os peptídeos constituem uma opção sustentável à construção de semicondutores tradicionais, por motivos de que suas características estão associadas à biocompatibilidade e à baixa toxicidade. Outros estudos indicam que agregados de proteínas possuem propriedades ópticas semicondutoras intrínsecas [62]. Por fim, o relato apontado em [63] indica que as propriedades dos semicondutores apresentam elevada dependência com a estrutura topológica do material usado. Por conseguinte, em virtude das diversas disposições geométricas atreladas aos peptídeos, estes se apresentam como um composto factível para a propositura de semicondutores biossutentáveis [64].

Líquidos iônicos

A área de pesquisa conhecida como "química verde" está associada ao conjunto de processos e técnicas que visam promover a eliminação ou a substituição de substâncias químicas tóxicas, por métodos e compostos que sejam mais benéficos para o meio ambiente e para saúde humana [65]. Nesse âmbito, há, nas últimas décadas, um aumento de pesquisas científicas, tanto experimental quanto empreendidas pela via computacional, direcionadas a promover a descrição das propriedades físicas e químicas de compostos que sejam menos nocivos [66].

Os esforços científicos empregados para a construção de processos e compostos biosustentáveis envolvem especialistas em áreas diversas como química, física e biologia molecular relacionando campos de pesquisa como ciência de materiais, engenharia ambiental, medicina e farmacologia [67]. Portanto, a "química verde", enquanto uma nova área de pesquisa científica, traz à tona essa nova preocupação com o ambiente e a necessidade de instauração de processos alternativos que sejam capazes de criar novos compostos biocompatíveis e biodegradáveis [68].

Além disso, decerto é que as atividades industriais, feitas sem qualquer forma de fiscalização ou controle estatal, são nocivas ao meio ambiente e à saúde humana. Nesse contexto, podemos destacar os impactos gerados pelos resíduos de solventes orgânicos voláteis conhecidos pelo acrônimo em inglês VOC (em inglês, *Volatily Organic Compunds*). VOCs são um dos mais conhecidos poluentes do ar podendo causar sintomas agudos de irritação respiratória, dores de cabeça, reações alérgicas na pele, danificar órgãos como fígado e rins além de possuir caráter cancerígeno [69]. Desse modo, pesquisas têm sido realizadas em diversos segmentos científicos a fim de desenvolver solventes alternativos em substituição aos tradicionais com o intuito de reduzir drasticamente a quantidade de resíduos de solventes orgânicos voláteis, diminuindo, portanto, o impacto ambiental e o risco à saúde humana [70].

No que tange às novas classes dos chamados "solventes verdes", especial interesse é dedicado aos líquidos iônicos [LI] à temperatura ambiente. Sucintamente, podemos enfatizar as propriedades dos líquidos iônicos como constituídos por sais que geralmente são líquidos abaixo de 100 °C [71]. No mais, são compostos não inflamáveis e com baixa pressão de vapor, facilmente reciclados, solubiliza tanto compostos orgânicos quanto inorgânicos e têm a possibilidade de poder ser construído ao nível molecular, gerando as propriedades químicas e físicas pretendidas [72]. Nesse âmbito, o grande potencial para a aplicação direta em diversos contextos que envolvam reações químicas está no fato de que as suas propriedades físicas e químicas podem ser ajustadas com a variação dos ânions e cátions apropriados para cada situação específica [73]. Entre essas propriedades ajustáveis, podemos destacar o ponto de fusão, viscosidade, densidade e hidrofobicidade [74].

Com base no crescente interesse pelos LI, devido ao seu apelo sustentável, a busca por novos líquidos iônicos biocompatíveis e biodegradáveis ampliou-se significativamente. Por exemplo, em [75], Petkovic *et al* apresentam a construção de LI constituídos a partir do cátion colina, que é uma molécula naturalmente encontrada nos seres vivos e com alto caráter biocompatível. Entre as mais diversas utilizações dos LI no âmbito industrial, destacamos a sua utilização como solventes alternativos em bioprocessamento de separação de fase [76], são amplamente usados como solventes verdes em processos de síntese química de novas estruturas moleculares [77, 78], atuantes como solventes em reações química [79, 80], desempenham o papel de *drug delivery* na indústria farmacêutica [81], são usados como lubrificantes em dispositivos eletromecânicos [82, 83] e participam ativamente como eletrólitos em capacitores elétricos biodegradáveis [84].

O baixo ponto de fusão associado aos líquidos iônicos pode ser entendido com base na análise de sua organização molecular. Estruturas cristalinas, como o cloreto de sódio, possuem elevado ponto de fusão (cerca de 800 °C) em virtude de apresentarem cátions e ânions muito pequenos e com caráter simétricos possibilitando a formação de redes cristalinas com rigidez estrutural, conferindo elevado valor para o ponto de fusão [85]. Em geral, os LI são compostos de monômeros assimétricos resultando em estruturas com baixa interação entre os constituintes moleculares conferindo assim baixo ponto de fusão [86]. Outro fator que elucida o baixo ponto de fusão do LI é a organização espacial entre seus elementos que é menos periódica comparada às estruturas cristalinas em virtude das maiores dimensões de seus íons [87].

Interação fármacos e membrana

Nesta seção, faremos uma breve abordagem sobre o desenvolvimento de agentes farmacológicos à luz das técnicas computacionais. De mesmos modo, avaliaremos de que forma os experimentos *in silico* auxiliaram o progresso científico e contribuíram para o aperfeiçoamento de fármacos mais eficazes. Em linhas gerais, apresentaremos os inquestionáveis avanços alcançados pela área de pesquisa denominada de bioinformática e os benefícios científicos concebidos quando há a interlocução com as técnicas experimentais.

Antes de expor as contribuições alcançadas pelas simulações computacionais no âmbito da farmacologia, destaca-se que a descoberta e o uso clínico dos antibióticos mostram-se como uma das maiores descobertas na história moderna da medicina [88]. Todavia, entre outros fatores, a prescrição médica inapropriada, a escassez de testes para orientar a prescrição adequada de antibióticos e o uso excessivo destes têm promovido um fenômeno global de resistência aos antibióticos[89], dando origem às bactérias mais resistentes, fenômeno esse intitulado de AR (Acrônimo para a expressão inglesa *Antibiotic Resistance*).

Figurando dentre os primórdios dos agentes medicinais com expressivo caráter antimicrobiano, a penicilina, sintetizada por Alexander Fleming, em meados de 1928 [90], já no decurso da década de 1940, apresentava o fenômeno de AR [91]. Desde então, diversos trabalhos científicos estão direcionados à produção de fármacos que possam servir de alternativa aos compostos com elevada taxa de resistência, aumentando, desse modo, a eficácia no enfrentamento de culturas patogênicas, a exemplo das bactérias, fungos e vírus [92, 93].

Entre a nova classe de agentes com características antimicrobianas e que têm atraído a atenção da comunidade científica, destaca-se a caracterização de estruturas construídas à base de peptídeos. Estes compostos moleculares são intitulados de AMP (Acrônimo da expressão inglesa *Antimicrobial Peptides*) e apresentam, dentre outros aspectos, as seguintes características: são constituídos por quantidades inferiores a 100 aminoácidos [94], exibem cargas elétricas líquidas positiva, apresentam uma natureza anfifílica [95, 96], possuem propriedades imunomoduladoras [97], são entendidos com uma linha de defesa contra eventuais ameaças patogênicas [98, 99], possuem características responsáveis por desestabilizar a estrutura membranar das bactérias [100] e exercem o papel de inibidores na proliferação de células cancerígenas [101].

Ressaltamos, dentre o abrangente rol dos AMPs, aquele composto peptídico intitulado de GL13K, cuja abreviação refere-se à seguinte sequência de aminoácido: GKIIKCLKASLKLL-NH₂. Em recente publicação [102], Abdolhosseini *et al* apresentaram que a molécula GL13K é um bactericida com comprovada eficácia contra diversas bactérias, a exemplo das *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*; e *Streptococcus gordonii*, que podem causar pneumonia, infecção intestinal e insuficiência cardíaca, respectivamente. De mesmo modo, em [103], o peptídeo GL13K foi obtido a partir da proteína salivar humana BPIFA2 e apresentou notável ação farmacológica contra a bactéria *Enterococcus faecalis*. Ademais, em [104], sobre a via experimental, Zhou Ye *et al* associaram o comportamento antimicrobiano dos enantiômeros do GL13K ao fenômeno do *self-assembly*, evidenciando a potencial aplicação desse composto para a produção de fármacos.

Seguindo com as análises dos AMPs, os compostos micro-orgânicos, quanto ao modo de crescimento e replicação, podem ser sumariamente categorizados em duas espécies: há aqueles de natureza unicelular formados por bactérias de movimentação livre, ao passo que existem outros grupos que se organizam em estruturas multicelular, estabelecendo ligações entre si, processo intitulado de coesão, e ligações com o substrato, processo chamado de adesão [105]. No que concerne ao segundo grupo de micro-organismos, tem-se que às matrizes biológicas, formadas a partir da junção de bactérias espacialmente organizadas e dispostas sobre uma superfície biótica ou abiótica, concebendo comunidades sésseis, funcionais e resistentes às ações de agentes antimicrobianos, atribui-se o nome de biofilmes [106].

Há inúmeros benefícios a que uma comunidade formada pela conglomeração de bactérias está submetida quando dispostas em biofilmes. Nesse âmbito, podemos citar o aumento da resistência à desidratação [107], radiação UV [108], extremos valores da temperatura e PH [109], alta salinidade [108], deficiência de nutrientes [110] e antibióticos [111]. Por conseguinte, devido ao aumento de resistência que os biofilmes possuem, concluímos que há uma notória preocupação com os impactos que eles possam ocasionar em diversos setores, tais quais, processamento de alimentos, medicina e odontologia [112].

Sobre as diversas enfermidades provenientes dos biofilmes, há uma proeminente contaminação nos implantes médicos em decorrência da afixação de biofilmes em estruturas abióticas, tais como, válvulas protéticas, cateteres e lentes de contato [113, 114]. Além disso, os biofilmes bacterianos fixados sobre as válvulas protéticas são a principal causa de endocardite em pacientes submetidos à cirurgia de troca de válvulas cardíacas [115, 116]. Por último, outros resultados apontam que biofilmes em cateter urinário são responsáveis por infecção no trato urinário [117] e, quando ocorrem em lentes de contatos, podem ocasionar ceratite (inflamação da córnea) [118]. Em decorrência desses fatos, as infecções humanas relacionadas aos biofilmes são extremamente difíceis de serem tratadas, resultando em sérias doenças crônicas [119].

Acerca dos trabalhos que versam sobre a utilização dos AMPs no combate aos biofilmes, em [120], o AMP intitulado de K11, sigla para KWKSFIKKLTKKFLHSAKKF-NH₂, apresentou notória atividade farmacológica contra as bactérias *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis* e *Klebsiella pneumoniae*, que são responsáveis por causar bronquiolite, sepse e infecção no trato urinário, respectivamente. Em uma abordagem computacional, Ramos-Martín *et al* simularam a interação entre o peptídeo K11 com membranas fosfolipídicas. Os resultados reportados indicam que o monômero K11 pode desestabilizar a membrana da bactéria, bem como torcer as superfícies de suas bicamadas [121]. Quanto ao peptídeo GL13K, em [122], foi realizado um estudo acerca dos efeitos gerados por este peptídeo sobre o biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*, cujo resultado atesta o potencial farmacológico do referido monômero.

Tendo em vista as potencialidades associadas aos estudos dos AMPs e sua importância no âmbito da ciência farmacologia, efetuamos uma análise computacional com o intuito de quantificar a dinâmica de interação estabelecida entre o peptídeo GL13K, mais especificamente seu enantiômero L-GL13K, e as membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 00%, 10% e 30% de moléculas de colesterol. Para assim procedermos, avaliamos as alterações topológicas a que a membrana lipídica estava submetida durante a interação com o agente farmacológico, bem como analisamos os valores energéticas entre os constituintes da bicamada lipídica. As referidas análises, tanto energéticas quanto estruturais, relacionadas ao processo de interação serão estudadas, em mais detalhes, no decorrer do capítulo cinco.

Fullerenos- C_{60}

O desenvolvimento do terceiro alotrópico do carbono, conhecido pelo nome de fullereno, remonta à década 1985, quando Kroto *et al* foram laureados com a recente conquista [123]. Procedendo à contextualização histórica que ensejou a descoberta científica, o grupo de cientistas buscava simular as condições às quais os átomos de carbono eram submetidos quando estes compostos estavam presentes no interior das estrelas conhecidas pelo nome de "gigantes vermelhas". Para tanto, a equipe de Kroto depositou uma fina camada de grafite sobre uma límpida superfície que, logo em seguida, foi vaporizada por irradiação gerada por laser de alta intensidade.

Sendo assim, o feixe de radiação emitido pelo laser estimulou as vibrações entre as moléculas constituintes do grafite e, sucessivamente, os átomos de carbono passaram a se colidir entre si, cuja consequência foi a formação de aglomerados de moléculas de carbono. Os *clusters*, nome em inglês dado aos aglomerados de partículas menores, foram examinados em um espectrômetro de massa e constatado a existência de compostos formados a partir da junção de 60 e 70 átomos de carbono, sendo que, em sua maioria, os aglomerados eram formados por 60 átomos espacialmente dispostos.

Quanto aos motivos que ensejaram a escolha da nomenclatura, os cientistas envolvidos na recente descoberta estabeleceram o nome como forma de prestar uma homenagem ao consagrado arquiteto estadunidense Richard Buckminster Fuller. O referido arquiteto, que também era inventor, professor, filósofo e cientista, foi o responsável pela criação dos domos geodésicos, cujas estrutura espacial assemelha-se àquelas encontradas para os *clusters* de carbono. Seguindo com a contextualização histórica, muito se questionou, à época da descoberta, se o fullereno era naturalmente encontrado na natureza. Todavia, tal questão somente foi solucionada em meados de 1992, quando Buseck *et al* verificaram que as moléculas de fullereno existem naturalmente na poeira interestelar, bem como podem ser achadas nas formações geológicas da terra em concentrações da ordem de *ppm* [124].

Conquanto existam diversas moléculas de fullereno que são obtidas a partir da combinação de 30 a 980 átomos de carbono, resultando em compostos químicos com diversas aplicações científicas e medicinais, o fato é que a molécula mais abundante entre os fullerenos é o composto fullereno- C_{60} , no qual 60 átomos de carbono são arranjados em uma estrutura assemelhada a uma esfera. Acerca da disposição espacial dos átomos de carbono no fullereno- C_{60} , a sua forma geométrica corresponde a um icosaedro truncado formado por 12 pentágonos e 20 hexágonos [125], conforme exposto na Fig. (1.1).

Devido às diversas aplicações associadas aos fullerenos, esses compostos têm atraído um crescente interesse de áreas como bioquímica e nanomedicina em virtude de suas propriedades químicas e físicas únicas [126, 127]. São algumas aplicabilidades associadas ao fullereno- C_{60} : o uso em *drug delivery* [128], terapia fotodinâmica [129], nova classe de compostos anticâncer [130], inibição da protease do HIV-1 [131] e várias outras.

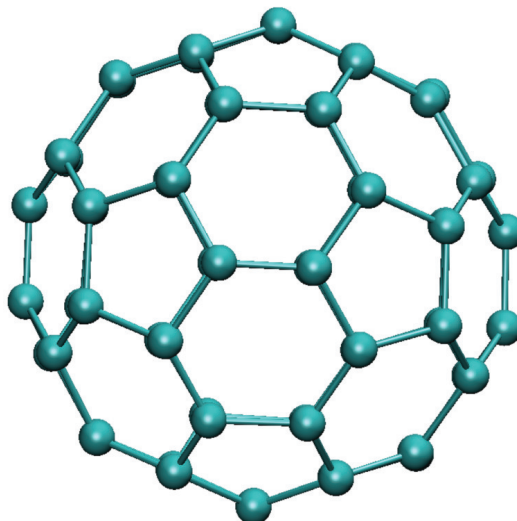


Figura 1.1: O fullereno- C_{60} é representado por um icosaedro truncado formado por 12 pentágonos e 20 hexágonos.

Com o intuito de promover um maior esclarecimento sobre os efeitos que os compostos fullereno- C_{60} possuem sobre os seres vivos, foram relatados na literatura vários outros estudos no que tange à interação desse composto com estruturas biológicas [132, 133]. Entre os diversos estudos relacionados, podemos citar [134], o qual indica um resultado experimental apontando que, apesar de seu grande tamanho, os agregados de fullereno podem penetrar nas células e atravessar a barreira das hemácias.

Em [135], foram realizadas simulações atomísticas com o fullereno e seu derivado, $C_{60}(OH)_{20}$, através de uma membrana celular, no modelo (Dipalmitoilfosfatidilcolina ou bicamada DPPC), resultados esses que apontam a influências do fullereno na estrutura das membranas internas. Os estudos realizados em [136] descrevem que o acúmulo de fullereno- C_{60} em uma bicamada DPPC pode causar degradação e uma supressão das transições de fase das referidas membranas. Por fim, também foi reportado que os fullerenos podem transportar elétrons através das membranas lipídicas do hospedeiro, fato esse que tem potencial aplicação na eletrônica molecular [137].

Dessarte, findamos a presente seção discorrendo sobre as funcionalidades atreladas ao composto do fullereno- C_{60} . Tal temática será novamente examinada quando procedermos às análises energéticas e estruturas dispostas no capítulo quatro, no qual a interação estabelecida ente o fullereno- C_{60} e quatro membranas lipídicas compostas por DOPC a uma proporção de 00%, 10%, 20% e 30% de moléculas de colesterol será apreciada à luz da técnica de *umbrella sampling*. A referida técnica, via a aplicação de um potencial harmônico, estabelece sucessivas etapas de extrações ou inserções de estruturas moleculares pré-escolhidas e tem o objetivo de aprimorar o espaço de configurações para o cálculo das médias estatísticas. Quanto aos princípios físicos que regem a técnica de *umbrella sampling*, reservamos o próximo capítulo para revisitá-los, bem como, nesse mesmo capítulo, discorreremos sobre outras técnicas computacionais essenciais à DM.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS: DINÂMICA MOLECULAR E FÍSICA ESTATÍSTICA

No capítulo anterior, fizemos um prelúdio acerca da contextualização histórica das simulações computacionais, bem como apresentamos alguns assuntos centrais relacionados a "química verde", dispendo sobre sua importância para as áreas da física, química, farmacologia entre outras. Isso posto, intentamos, no decurso deste capítulo, dissertar sobre alguns conceitos e fundamentos que estão no cerne da DM. A referida técnica, conforme anteriormente pontuamos, é uma das mais utilizadas no âmbito das simulações moleculares e tem auxiliado na obtenção de informações estruturais e dinâmicas sobre nanocompostos orgânicos, aplicações farmacológicas e implicações tecnológicas. Ademais, a ideia básica por trás da DM é um tanto quanto simples e consiste em determinar a força exercida sobre os átomos do sistema e resolver as equações de movimento para o sistema molecular produzindo o espaço de configurações de DM.

Todavia, antes de passarmos ao estudo das técnicas computacionais relacionadas à DM, torna-se primordial revisitar alguns conceitos fundamentais atrelados à mecânica estatística, posto que tal área científica fornece as bases conceituais para que seja possível estabelecer a relação entre as propriedades microscópicas e macroscópicas dos sistemas moleculares. Por conseguinte, com o intuito de promover um maior entendimento sobre a modelagem computacional citada, apresentaremos, de maneira sucinta, conceitos elementares relativos à mecânica estatística e, logo em sequência, discorreremos sobre o arcabouço teórico associado à DM.

Microestados e teoria de *ensemble*

Segundo aquilo que relatamos, à luz dos fundamentos da mecânica estatística, as propriedades macroscópicas dos sistema físico sob análise podem ser determinadas a partir das diversas configurações acessíveis dos seus constituintes microscópicos. Nesse sentido, há diversos formalismos matemáticos que têm por intuito a sistematização e descrição dessas propriedades mensuráveis. Assim, em uma sistematização mais simples, intitulada de *ensemble* microcanônico, o sistema em análise permanece isolado do ambiente e, desse modo, não existem trocas de energia e partículas, além do fato que o volume permanece constante no desenvolver do experimento. Com tais características, as simulações desenvolvidas no *ensemble* microcanônico correspondem às propriedades de um sistema adiabático e recebem a nomenclatura de *ensemble* NVE, sendo que, neste *ensemble*, o número de partículas (N), o volume (V) e a energia (E) não se alteram.

Nas simulações conduzidas no *ensemble* NVE, a energia potencial e cinética dos constituintes variam, a despeito da energia total do sistema molecular permanecer constante. Para a descrição matemática do sistema físico em análise, consideremos um conjunto de N partículas, as quais possuem as coordenadas espaciais representadas por $\mathbf{r} = \{\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N\}$ e momento $\mathbf{p} = \{\mathbf{p}_1, \dots, \mathbf{p}_N\}$. Logo, os microestados de um sistema molecular são especificados pela posição e momento de todas as partículas do sistema [138]. Assim, podemos escrever a hamiltoniana do sistema como função do momento \mathbf{p}_i e coordenada \mathbf{r}_i referente à partícula i , bem como segue exposto na Eq. (2.1)

$$\mathcal{H}(\mathbf{p}_i, \mathbf{r}_i) = \sum_{i=1}^N \frac{\mathbf{p}_i^2}{2m_i} + \mathcal{V}(\mathbf{r}_i), \quad (2.1)$$

em que m_i corresponde à massa da partícula i e \mathcal{V} refere-se à energia potencial do sistema. Em conformidade com a Eq. (2.1), tem-se que a hamiltoniana do sistema molecular é função de $6N$ variáveis independente, entre as quais $3N$ são relativas ao momento e $3N$ às posições das referidas partículas.

À vista desses fatos, uma vez obtida a hamiltoniana do sistema físico sob análise, é possível determinar, via os fundamentos da mecânica estatística, as equações matemáticas que serão responsáveis por delimitar o movimento das partículas moleculares. Dessa forma, a dinâmica do sistema será regida pelo conjunto de termos expressos pelas Eqs. (2.2) e (2.3):

$$\dot{\mathbf{p}}_i = -\frac{\partial \mathcal{H}}{\partial \mathbf{r}_i} = -\frac{\partial \mathcal{V}}{\partial \mathbf{r}_i} = \mathbf{f}_i, \quad (2.2)$$

$$\dot{\mathbf{r}}_i = \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial \mathbf{p}_i} = \frac{\mathbf{p}_i}{m_i}. \quad (2.3)$$

Objetivando-se o estudo da dinâmica de um sistema molecular, as equações de movimento devem ser resolvidas para todas as partículas constituintes do sistema. Nesse quadro, a evolução temporal do sistema será representada por uma trajetória no espaço de fase, além de que cada ponto deste espaço multidimensional corresponderá a um microestado do sistema em um dado tempo. Em complemento, ao conjunto dos pontos do espaço de fase, acessíveis a um determinado sistema físico, dá-se o nome de *ensemble* estatístico [138]. Assim, dadas as condições iniciais, as soluções da Eqs. (2.2) e (2.3) são unívocas e, desse modo, as trajetórias no espaço de fase não se cruzam [138].

Há, em adição, outra modelagem matemática, na qual os sistemas físicos analisados estão submetidos à temperatura (T), volume (V) e número de átomos (N) constantes. A este contexto, atribui-se o nome de *ensemble* canônico, ora chamado de *ensemble* NVT. Desse modo, no domínio do *ensemble* canônico, a energia do sistema é trocada com o ambiente externo através de um reservatório intitulado de termostato, o qual é responsável por manter a temperatura do sistema fixa no valor desejável.

Tratando-se das simulações por DM, existe uma variedade de métodos empregados na modelagem dos termostatos, sendo que os mais recorrentes são termostato de Nosé-Hoover [139, 140], Nosé-Poincaré [141] e Berendsen [142]. A título exemplificativo, segundo a metodologia proposta por Berendsen, para que ocorra o controle da temperatura do sistema, cada partícula, em um determinado tempo de integração, deve ter a velocidade reescalada de maneira a ajustar a energia cinética do sistema até atingir a temperatura desejada.

Seguindo com as análises estatísticas acerca das simulações envolvendo DM, as quantidades físicas e químicas da matéria são determinadas a partir do estabelecimento de médias temporais tomadas ao longo de uma determinada trajetória. Nesse processo de especificação dos valores médios, habitualmente, toma-se a média de vários valores de uma grandeza física, f , em um tempo, τ , muito longo. Sendo assim, o valor referente à média estatística é representado pela Eq. (2.4):

$$\bar{f} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{\tau} \int_0^{\tau} f(t) dt. \quad (2.4)$$

Nas simulações de DM, a ideia de equilíbrio de um processo se refere à estabilização de suas propriedades físico-químicas, ou seja, está relacionada ao contexto no qual as propriedades não se alteram significativamente e têm seus valores flutuando em torno de uma média. Em situações nas quais o equilíbrio não tenha sido alcançado, as propriedades termodinâmicas apresentam comportamentos e variações não condizentes com as situações desejadas, por conseguinte, não podendo ser comparadas aos resultados experimentais. Dessa maneira, uma condição essencial nas simulações DM é que o tempo de simulação seja suficientemente longo para que as propriedades requeridas alcancem situações de equilíbrio [143].

Ao assumirmos que a evolução temporal dos sistemas simulados é regida por um conjunto discretizado de passos de integração, os quais são da ordem de fentossegundos (fs), passamos a estabelecer que a dinâmica do sistema não produz informações temporalmente contínuas. Por conseguinte, ao efetuarmos o encadeamento dos sucessivos passos de integração, com o intuito de estabelecer o espaço de fase estatístico, teremos uma trajetória discretizada. Nesse sentido, para as situações nas quais o tempo seja tomado como parâmetro discreto e constituído por N passos, a média temporal de uma grandeza física passa a ser representada pela Eq. (2.5):

$$\bar{f} = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} f(t_0 + n\Delta t), \quad (2.5)$$

no qual t_0 corresponde ao tempo inicial de simulação e a expressão Δt representa o intervalo temporal estabelecido para cada passo de integração. Conforme apresentamos, uma quantidade física é caracterizada por um correspondente tempo de relaxação, τ_a , que representa o tempo necessário de espera até que o valor da propriedade física observada alcance a situação de equilíbrio. Nesses casos, os valores das propriedades passam a ter pequenas flutuações em torno das médias estatísticas e dizemos que o equilíbrio termodinâmico foi alcançado. No mais, em situações nas quais o interesse esteja nas propriedades estatísticas tomadas sobre o equilíbrio, uma condição indispensável é considerar $t_0 > \tau_a$ [143].

Voltando à descrição estatística das propriedades físicas e químicas da matéria, temos que o número de pontos no espaço de fase, em um determinado tempo t , será descrito pela função densidade de estados $\rho = \rho(\mathbf{p}, \mathbf{r}, t)$. Portanto, a equação $\rho = \rho(\mathbf{p}, \mathbf{r}, t)d\mathbf{p} d\mathbf{r}$ representa o número de pontos com coordenadas compreendidas entre $\mathbf{p} : \mathbf{p}+d\mathbf{p}$ e $\mathbf{r} : \mathbf{r}+d\mathbf{r}$. Fundamentado no conceito de densidade de estados, a média de um observável físico será calculada sobre o espaço de fase sendo expressa pela Eq. (2.6):

$$\bar{f} = \frac{\int f(\mathbf{p}, \mathbf{r})\rho(\mathbf{p}, \mathbf{r}, t)d\mathbf{p} d\mathbf{r}}{\int \rho(\mathbf{p}, \mathbf{r}, t)d\mathbf{p} d\mathbf{r}}. \quad (2.6)$$

A equivalência entre as Eqs. (2.6) e (2.4) é chamada de hipótese ergódica [138], a qual garante que, para grandes sistemas de partículas interagindo em equilíbrio termodinâmico, as médias tomadas sobre o parâmetro temporal estão próximas àquelas obtidas a partir das médias espaciais [138]. Por isso, a hipótese ergódica possibilitou relacionar, de forma simples, uma abordagem teórica de determinada quantidade às médias experimentais definidas no sistema, isto é, valores médios de quantidade física observados no laboratório. Em vista disso, a hipótese ergódica proporciona uma abordagem direta e imediata de justificar e dar significado físico ao método de *ensemble* estatístico.

Passos de integração

A forma padrão adotada para a resolução numérica das Eqs. (2.2) e (2.3) é resolvê-las em um contexto no qual o tempo seja tomado como um parâmetro discreto. Geralmente, faz-se a aproximação adicional de que as propriedades do sistema em $t + \Delta t$ podem ser determinadas a partir das condições do sistema no tempo t . Ou seja, uma implicação decorrente das simulações por DM é o fato de que a posição e velocidade relativas ao tempo $t + \Delta t$ são determinadas a partir das forças sobre os átomos que foram especificadas em um instante anterior t [144].

Entre as varias abordagens numéricas propostas para a integração das Eqs. (2.2) e (2.3), uma amplamente usada nas simulações DM é a concebida por *Verlet* [145]. Com o intuito de apresentar o algoritmo de *Verlet*, consideremos a expansão, até a quarta ordem, das posições $\mathbf{r}_i(t + \Delta t)$ e $\mathbf{r}_i(t - \Delta t)$ cujo resultado será:

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \mathbf{v}_i(t)\Delta t + \frac{\mathbf{a}_i(t)}{2}\Delta t^2 + \frac{\mathbf{g}_i(t)}{6}\Delta t^3 + \mathcal{O}(\Delta t^4), \quad (2.7)$$

$$\mathbf{r}_i(t - \Delta t) = \mathbf{r}_i(t) - \mathbf{v}_i(t)\Delta t + \frac{\mathbf{a}_i(t)}{2}\Delta t^2 - \frac{\mathbf{g}_i(t)}{6}\Delta t^3 + \mathcal{O}(\Delta t^4), \quad (2.8)$$

sendo que: $\mathbf{v}_i = d\mathbf{r}_i/dt$ (velocidade), $\mathbf{a}_i = d^2\mathbf{r}_i/dt^2$ (aceleração) e $\mathbf{g}_i = d^3\mathbf{r}_i/dt^3$. Somando as Eqs. (2.7) e (2.8) tem-se como resultado o algoritmo de *Verlet* para a posição:

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t) + \mathbf{a}_i(t)\Delta t^2 + \mathcal{O}(\Delta t^4), \quad (2.9)$$

em que o valor da posição em $\mathbf{r}_i(t + \Delta t)$ foi calculada com uma precisão da ordem de Δt^4 . Subtraindo a Eq. (2.7) em (2.8) tem-se o algoritmo de *Verlet* para a velocidade o qual será expresso por:

$$\mathbf{v}_i(t) = \frac{\mathbf{r}_i(t + \Delta t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t)}{2\Delta t} + \mathcal{O}(\Delta t^2), \quad (2.10)$$

nesse caso, o valor da velocidade foi determinado com uma precisão de segunda ordem. Conforme apresentado na Eq. (2.9), a posição da partícula em um tempo $t + \Delta t$ depende do conhecimento da posição $\mathbf{r}_i(t)$ bem como $\mathbf{r}_i(t - \Delta t)$. Para o primeiro passo de integração, ou seja, $t = 0 \rightarrow \Delta t$, faz-se necessário o conhecimento da posição das partículas em $t = -\Delta t$, o que poderá conduzir a problemas na inicialização da DM.

Prosseguindo com as análises computacionais, ao promovermos adequações nas Eqs. (2.9) e (2.10), dá-se origem ao algoritmo numérico intitulado de *velocity Verlet* [146], que tem a potencialidade de alterar o problema de inicialização apresentado no modelo de *Verlet* padrão. Nesse abordagem ressignificada, considera-se o valor da força f_i sobre o átomo i constante durante o intervalo de tempo estabelecido entre $t \rightarrow t + \Delta t$.

Em síntese, retratamos nas Eqs. (2.11) e (2.12) o algoritmo de *velocity Verlet* usado para integração das equações de movimento na modelagem DM:

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) + \mathbf{v}_i(t) \Delta t + \frac{\mathbf{a}_i(t)}{2} \Delta t^2 + \mathcal{O}(\Delta t^4), \quad (2.11)$$

$$\mathbf{v}_i(t + \Delta t) = \mathbf{v}_i(t) + \frac{\mathbf{a}_i(t + \Delta t) + \mathbf{a}_i(t)}{2} \Delta t + \mathcal{O}(\Delta t^2). \quad (2.12)$$

Uma vez delimitados os algoritmos utilizados nas integrações das equações de movimento, resta-nos apresentar, de maneira resumida, um esquema que aborda os estágios relativos ao processo de Dinâmica Molecular, o qual será:

1. Definição da composição do sistema, incluindo o número e tipo de átomos, sua massa, carga elétrica e seu potencial de interação entre os constituintes;
2. Atribuir valores iniciais ($t = 0$) às posições das partículas e às velocidades;
3. Definir o passo temporal para a integração e o número de etapas de integração (ou seja, a duração da simulação);
4. Realizar a simulação. Inicialmente, as posições e as velocidades das partículas são conhecidas, mas as forças em ($t = 0$) devem ser especificadas. Nas etapas de integração temos a seguinte sequência:
 - (a) Calcular as posições referentes ao passo $t + \Delta t$ usando a Eq. (2.11);
 - (b) Calcular as forças em $t + \Delta t$;
 - (c) Calcular as velocidades em $t + \Delta t$ usando a Eq. (2.12);
 - (d) Fazer as análises estatísticas com as posições e velocidades no passo $t + \Delta t$. Nessa etapa, calculam-se os valores das grandezas físicas relativas ao passo atual e armazenam-se os dados de posição e velocidade em um arquivo externo para criar uma trajetória de DM;
 - (e) Passar para o próximo passo de integração;
5. Análise dos resultados.

As etapas nas simulações por DM são fixas, independente do sistema em estudo [144]. Em um primeiro momento, haverá um tempo inicial no qual o sistema ainda não atingiu o equilíbrio. Nessa situação, haverá desvios consideráveis nos valores médios observados. Quando o sistema molecular atingir o equilíbrio, as médias podem ser obtidas através do formalismo da mecânica estatística.

Potencial intermolecular e simulações por DM

Seguindo com as análises dos conceitos fundamentais associados à DM, passemos ao estudo da modelagem computacional conhecida como campo de força, em inglês *Force Field*. Nessa modelagem, um conjunto de funções e parametrizações serão usadas para determinar a energia do sistema durante as diversas etapas da evolução temporal do sistema físico [143]. Qualquer campo de força estabelece um agrupamento de equações matemáticas que reproduzem os vários aspectos da DM. Aspectos esses como estiramento de ligações químicas, deformações angulares, torções moleculares entre outros.

A consideração fundamental acerca da determinação do campo de força, no contexto da simulações envolvendo a DM, é a aproximação de Born-Oppenheimer [17] que permite separar o movimento dos elétrons do movimento do núcleo, maneira pela qual é possível escrever a energia do sistema apenas como função das coordenadas nucleares e os elétrons não participam ativamente como estruturas individuais na descrição energética do composto molecular em questão [147].

Outra consideração de fundamental importância na construção e validação do campo de força é o chamado princípio da aditividade e transferibilidade [147]. O Princípio da aditividade significa dizer que a energia potencial de qualquer sistema físico pode ser escrita como a soma das diferentes energias potenciais envolvidas na estruturação da conformação espacial de um composto molecular. Por outro lado, o princípio da transferibilidade significa afirmar que a descrição da energia potencial, desenvolvida para um pequeno grupo de moléculas, pode ser estendida para um aglomerado maior de estruturas com propriedades físicas e químicas similares [147].

Além desses princípios fundamentais, há de se observar que, sendo o caso de simulações computacionais nas quais as grandezas físicas não tenham dependência com o parâmetro temporal, o problema na modelagem do campo de força se reduz ao cálculo da energia em uma dada configuração espacial. Nesse cenário, usando o princípio da aditividade, a energia total do sistema será descrita como a soma das diversas contribuições energéticas necessárias a fim de levar o sistema molecular de uma disposição geométrica inicial a uma configuração final. O resultado da energia total obtido a partir do princípio da aditividade pode ser acompanhado na Eq. (2.13):

$$\mathcal{V}_{FF} = \mathcal{V}_{str} + \mathcal{V}_{bend} + \mathcal{V}_{tors} + \mathcal{V}_{nlig}. \quad (2.13)$$

nos quais \mathcal{V}_{FF} corresponde à energia total do sistema, \mathcal{V}_{str} à energia de vibração molecular, \mathcal{V}_{bend} à energia relativa ao processo de deformação angular, \mathcal{V}_{tors} ao processo de torção, enquanto que o termo \mathcal{V}_{nlig} corresponde à energia dos termos não ligados. No mais, expressamos, na Fig. (2.1), uma representação das diversas contribuições energéticas envolvidas na modelagem do campo de força.

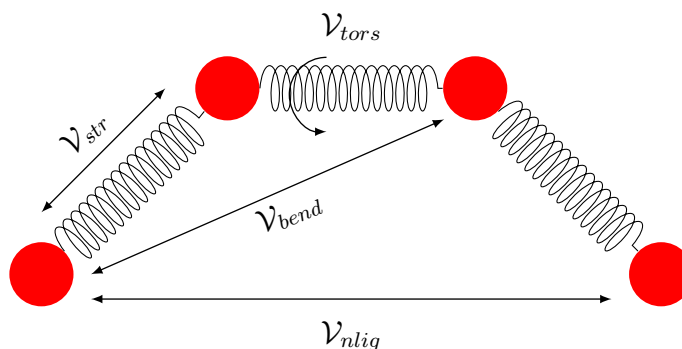


Figura 2.1: Energia potencial envolvida na determinação do campo de força para simulações DM. \mathcal{V}_{str} representa a energia de vibração molecular, \mathcal{V}_{bend} a energia de deformação angular, \mathcal{V}_{tors} o processo de torção, enquanto que o termo \mathcal{V}_{nlig} corresponde à energia dos termos não ligados.

Sobre as interações mantidas entre os constituintes moleculares, podemos dividi-las em dois grupos distintos. O primeiro deles está associado às interações intermediadas por ligações químicas (em inglês, *bonded*). A exemplo dessas interações, citamos as energias relativas à vibração molecular, à deformação angular e aos potenciais de torção, ao passo que as interações pertencentes ao segundo grupo são constituídas pelas chamadas interações não ligadas (*non bonded*). Como exemplo das interações pertencentes ao segundo grupo, ressaltamos as interações de Coulomb e van der Waals (*vdW*).

A metodologia associada ao campo de força substitui o potencial de interação real por um modelo simplificado com a viabilidade de permitir simulações computacionais em ambientes impraticáveis empiricamente [15]. Todavia, para que um modelo de campo de força seja adotado com eficiência e reproduza os resultados experimentais, duas propriedades sobre a modelagem matemática do potencial de interação devem ser levadas em conta no momento da formulação do campo de força. Em um primeiro momento, o modelo matemático proposto deve ser simples o suficiente para que possa ser implementado computacionalmente e, em segundo momento, o modelo proposto deve reproduzir os resultados experimentais de interesse.

Isso posto, há, na literatura científica, uma série de campos de força voltados a descrever compostos moleculares específicos. Nesse cenário, um campo de força de relevado destaque é o intitulado de UFF (em inglês, *Universal Force Field*) [148] que contém parâmetros sobre todos os átomos da tabela periódica. Outros campos de força, tais quais, CHARMM36 [149], AMBER [150] e GROMOS [151] são amplamente empregados nas simulações envolvendo compostos biomoleculares. Ademais, podemos citar ainda os campos de força OPLS [152] e COMPASS [153] que são comumente empregados nas simulações envolvendo física da matéria condensada. Ainda nesse contexto, destacamos o trabalho apresentado em [154] que versa sobre a construção de campo de força específico para a descrição e caracterização das simulações computacionais envolvendo os líquidos iônicos.

Vibração molecular

Na seção anterior, apresentamos os conceitos gerais relacionados ao campo de força e dispomos sobre sua importância para as simulações computacionais. Agora, faremos uma célere descrição sobre os modelos matemáticos que descrevem as interações moleculares do campo de força. Em linhas gerais, tratando-se das expressões matemáticas relacionadas à vibração, à compressão e ao estiramento das ligações molecular entre dois átomos, estas serão obtidas a partir da expansão em série de Taylor do potencial de interação em torno da posição de equilíbrio. Portanto, temos que a expansão do potencial associado à vibração será representado por [147]:

$$\mathcal{V}(d) = \mathcal{V}(d_0) + \mathcal{V}^{(1)}(d_0)(d - d_0) + \frac{1}{2}\mathcal{V}^{(2)}(d_0)(d - d_0)^2. \quad (2.14)$$

O primeiro termo da expansão será o valor da função calculada em torno da posição de equilíbrio e poderá ser escolhido como sendo zero em virtude de não interferir na determinação da força sobre o átomo. O segundo termo também será zero em virtude da expansão ser realizada em torno do valor mínimo da energia potencial. Desse modo, o potencial referente à vibração molecular sobre todos os átomos do sistema físico em questão será expresso por:

$$\mathcal{V}(d) = \sum_{\text{pares}} \frac{k_d}{2}(d - d_0)^2. \quad (2.15)$$

Segundo a Eq. (2.15), temos que o potencial de vibração de uma molécula é representada por um oscilador harmônico. O termo d_0 corresponde ao valor de equilíbrio da ligação e poderá ser determinado empiricamente através de experimentos como difração por Raio-X [15]. O termo k_d corresponde à constante de mola referente às oscilações dos átomos na ligação e seu valor pode ser estimado através de técnicas experimentais como espectro por infravermelho ou Raman [15].

Dois questões relevantes sobre a modelagem das ligações químicas usando o potencial harmônico devem ser ressaltadas. O primeiro aspecto diz respeito à descrição da interação através do potencial harmônico apresenta erros consideráveis quando estamos tratando deslocamentos que correspondem a cerca de 10% do tamanho do valor da ligação em equilíbrio [15]. Segunda questão a ser considerada é o fato de que, via potencial harmônico, não existem rupturas nas ligações interatômicas. Tal resultados é decorrente do algoritmo intitulado de LINCS (Acrônimo inglês para *LINear Constraint Solve*) [155] que, a cada passo de integração, redefine os vínculos existentes entre as partículas do sistema como distâncias e ângulos.

A descrição harmônica para a interação internuclear é eficaz e suficientemente útil no tratamento de várias estruturas em equilíbrio termodinâmico [156]. Contudo, para a efetivação de descrições mais precisas e próximas à realidade empírica, existem outras abordagens comumente usadas na literatura científica, a exemplo da inclusão de ordens

superiores na expansão em série de Taylor da energia potencial. Tal abordagem, porém, tem em contrapartida a extensão do custo computacional inviabilizando a descrição para sistemas com um maior número de elementos constitutivos [157].

Outro modelo computacional amplamente utilizado para descrever as interações entre moléculas diatômicas é o denominado de potencial de Morse [158]. Este modelo teórico, quando comparado com as descrições tradicionais, apresentou uma maior eficácia para a descrição da vibração molecular, além de permitir a modelagem para a quebra de ligações químicas [147]. O potencial de Morse é expresso por intermédio da seguinte expressão:

$$\mathcal{V}(d) = D(1 - e^{-\beta(d-d_0)})^2 - D, \quad (2.16)$$

em que D e β são parâmetros relacionados à profundidade e à largura do poço de potencial, respectivamente, ao passo que o valor d_0 corresponde ao ponto no eixo x onde o potencial atinge seu menor valor.

Com o intuito de apresentar a diferença entre o potencial de Morse e o potencial harmônico, mostramos, na Fig. (2.2), a interação de Morse, em função da distância internuclear, juntamente com a interação harmônica. Sendo assim, vemos que a descrição harmônica vale para um limite muito estreito de vibração em torno da posição de equilíbrio, enquanto que para situações mais realistas o potencial de Morse descreve com mais detalhe a interação diatômica.

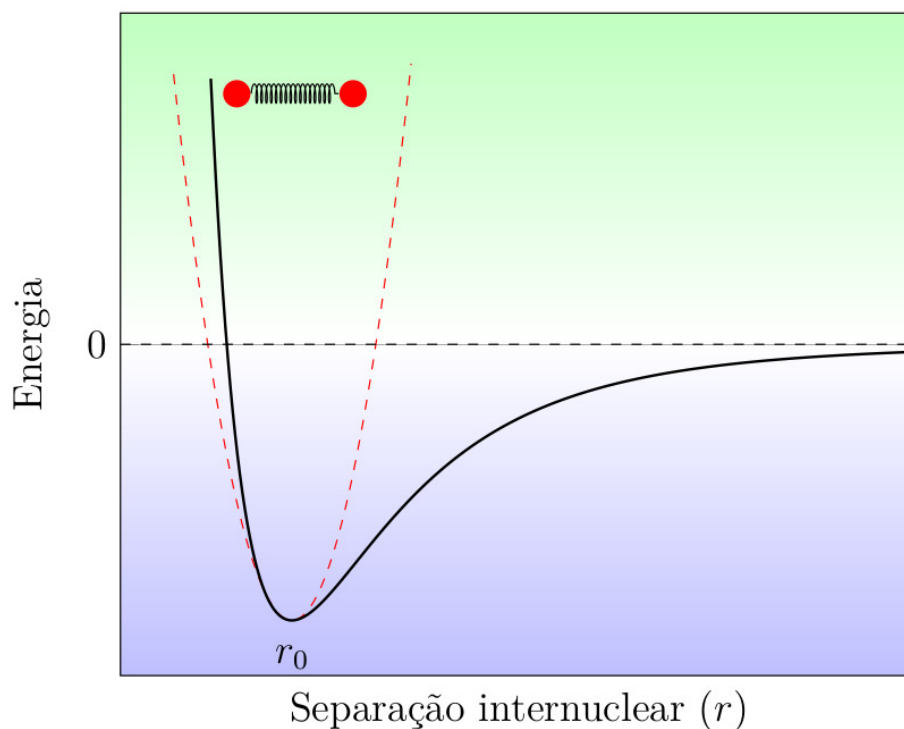


Figura 2.2: Representação do potencial de Morse em função da distancia internuclear. Conjuntamente expomos o potencial harmônico (vermelho e tracejado). Para maiores distâncias internucleares, a diferença é mais intensa. O conjunto massa-mola, apresentado no topo da figura, ilustra o caráter oscilatório da vibração molecular.

Deformação angular

Prosseguindo com a descrição dos modelos matemáticos relacionados ao campo de força, passemos ao estudo das interações associadas à deformação angular. À vista disso, estas interações estão associadas à energia necessária para distorcer, em uma determinada configuração espacial, uma ligação química estabelecida entre três átomos, assim como pode ser acompanhado na Fig. (2.3). De modo análogo ao desenvolvido para o caso do potencial associado à vibração molecular, a deformação angular também pode ser expandida em série de Taylor em torno do ângulo de equilíbrio. Usando os mesmos argumentos conceituais desenvolvidos na vibração molecular, constatamos que o potencial associado à deformação angular é expresso por [147]:

$$\mathcal{V}(\theta) = \sum_{Angular} \frac{k_{\theta}}{2} (\theta - \theta_0)^2, \quad (2.17)$$

sendo que k_{θ} é a constante de força relacionada à deformação angular, θ_0 corresponde ao ângulo de equilíbrio e a soma é realizada sobre toda as interações estabelecidas entre três átomos.

A descrição harmônica utilizada para efetuar a modelagem matemática da deformação angular é muito adequada em diversas simulações computacionais envolvendo o campo de força [156]. Entretanto, para descrições mais realistas e com a necessidade de maior precisão, utiliza-se a inclusão de termos de ordem superior na expansão do potencial de interação. Assim, para efeito de ilustração da afirmação anterior, apresentamos o resultado descrito na referência [156] sobre o estudo comparativo entre a energia referente à deformação angular para o composto CH_4 obtida a partir de três métodos: cálculo de estrutura eletrônica, expansão em segunda ordem e expansão em terceira ordem do potencial de interação.

Nesse aspecto, segundo os resultados apresentados em [156], a eficácia do modelo harmônico está em torno de $\pm 30^\circ$, enquanto que a eficácia associada à expansão de terceira ordem está compreendida em $\pm 70^\circ$. Dessa forma, as análises dos resultados indicam que a expansão em terceira ordem está em maior consonância com os dados experimentais, contudo, observa-se que o aumento de eficácia está associada ao aumento do custo computacional.

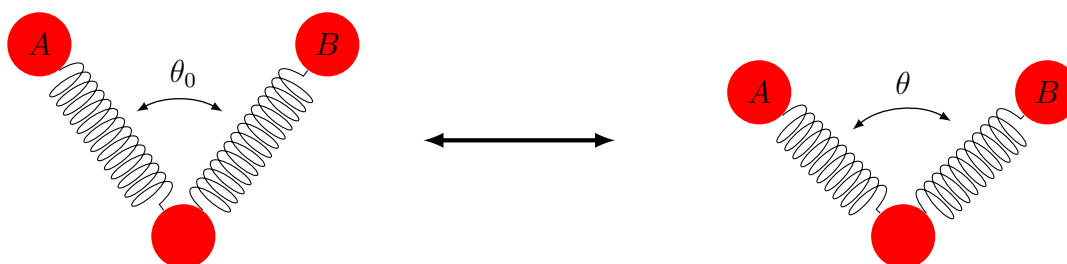


Figura 2.3: Potencial relativo à deformação angular.

Potencial de Urey-Bradley

O potencial de Urey-Bradley está relacionado à deformação angular, à vibração molecular e às forças atrativas existentes entre as estruturas moleculares em compostos constituídos por três átomos [159]. Nesse aspecto, apresentamos, na Fig. (2.4), a representação esquemática da dinâmica de interação entre três átomos de um composto químico, regido pelo potencial de Urey-Bradley.

Inicialmente, as ligações estabelecidas entre os átomos A e B formavam um ângulo inicial θ_0 e estavam separados por uma distância S_0 . Durante os processos de deformação angular e vibração molecular, os átomos A e B estão sujeitos aos potenciais harmônicos resultando na oscilação em torno do ângulo e posição de equilíbrio. Em seguida, a distância entre os átomos A e B passam a ser S e o ângulo de interação passa a ser θ . Para efetivação de cálculos mais detalhadas sobre o potencial do sistema em estudo, a interação entre os átomos não ligados A e B é modelada na forma de oscilações harmônicas compreendidas como potencial de Urey-Bradley que leva em consideração as forças de deformação e alongamento bem como forças repulsivas entre os átomos A e B . Matematicamente, temos que o potencial é expresso por [147]:

$$\mathcal{V}(S) = \sum_{U-B} \frac{k_{UB}}{2} (S - S_0)^2, \quad (2.18)$$

em que k_{UB} é a constante de mola referente às ligações dos átomos A e B .

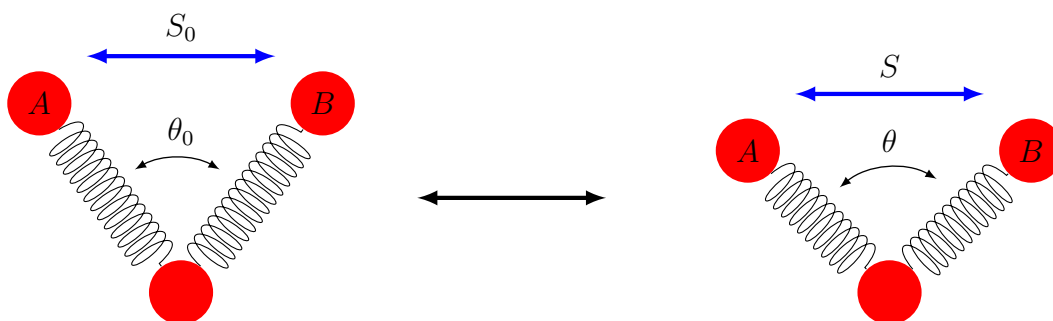


Figura 2.4: Potencial do modelo de Urey-Bradley.

Potencial de torção

Na descrição do potencial total envolvido no sistema em análise, o termo intitulado potencial de torção descreve a energia requerida para efetuar uma rotação em torno de uma ligação química covalente em uma estrutura molecular contendo quatro átomos [147]. Posto isso, podemos acompanhar, na Fig. (2.5), a mudança geométrica ocorrida em torno da ligação entre os átomos A e B . Inicialmente, o ângulo estabelecido entre as ligações $A - D$ e $B - C$ era ω_0 . Com o início do processo relativo à Dinâmica Molecular, o ângulo de torção passou a ser ω com possíveis valores entre $[0, 2\pi]$.

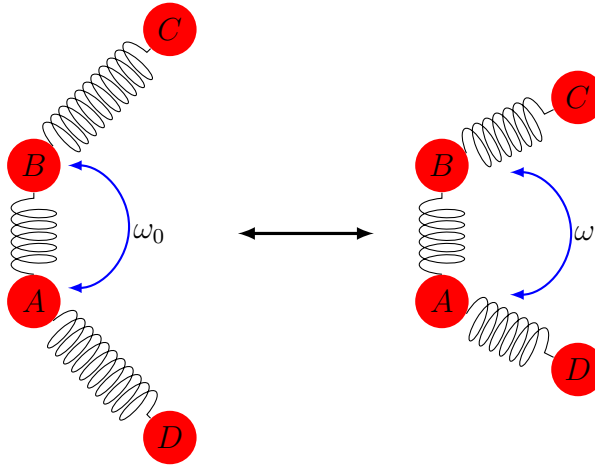


Figura 2.5: Potencial de torção em torno dos átomos A e B .

Pode-se mostrar, em decorrência da decomposição em séries de Fourier, que a energia relativa ao potencial de torção é determinada por [147]:

$$\mathcal{V}(\omega) = \sum_{n=1} V_n \cos(n\omega), \quad (2.19)$$

cujo termo $n = 1$ descreve uma rotação com periodicidade de 360° , $n = 2$ uma rotação de 180° , $n = 3$ uma rotação de 120° e assim por diante, enquanto que o termo V_n corresponde à constante associada à rotação em torno das ligações $A - B$.

Acoplamento de pressão

No processo de simulação computacional realizado por DM, o acoplamento de pressão sobre o sistema pode ser ajustado em três estruturas básicas, que estão dispostas na Fig. (2.6). Nesse aspecto, temos os seguintes acoplamentos:

1. *Isotrópico*: Neste protocolo, as pressões nas três direções espaciais estão acopladas, ou seja, a variação no volume da célula de simulação é acompanhada das variações nas três dimensões espaciais da caixa de simulação a partir do mesmo incremento. Fig. (2.6.A).
2. *Semi-isotrópico*: Neste caso, apenas as pressões nas direções \hat{i} e \hat{j} estão acopladas. Esse protocolo resulta que as variações ao longo das direções \hat{i} e \hat{j} ocorrem com o mesmo incremento. Fig. (2.6.B).
3. *Anisotrópico*: Neste processo, não existe correlação entre as pressões ao longo dos três eixos cartesianos. As variações das dimensões da caixa acontecem de forma independentes. Fig. (2.6.C).

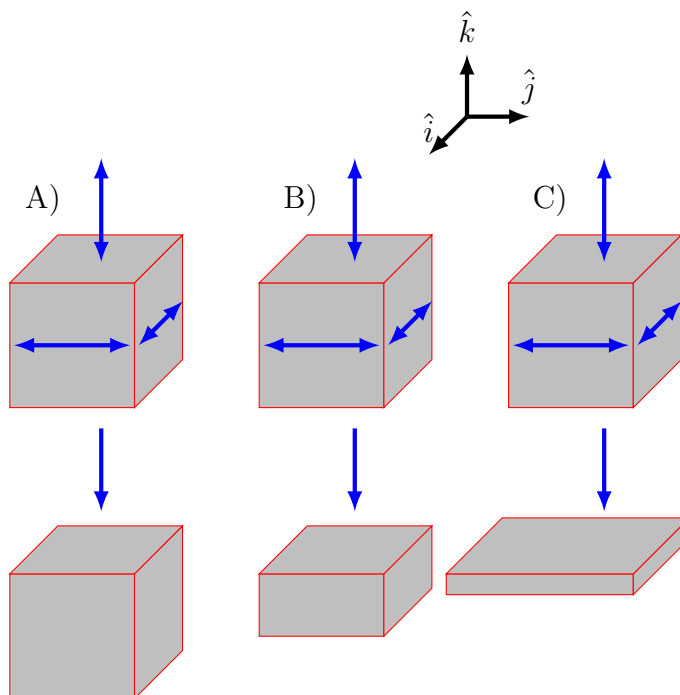


Figura 2.6: Acoplamento de pressão nas simulações DM. Em A), temos o acoplamento isotrópico, resultando em uma mudança com o mesmo incremento nas três dimensões espaciais. Em B), o processo semi-isotrópico com a mesma flutuação nas direções \hat{i} e \hat{j} . Em C), o caso anisotrópico sem qualquer correlação entre os valores das pressões.

Nas simulações computacionais envolvendo DM, as propriedades físico-químicas de compostos moleculares obtidas a partir de cálculos numéricos sofrem consideráveis influências devido às alterações sobre os parâmetros metodológicos escolhidos no início da simulação [160]. Mudanças nos parâmetros externos como: alteração no alcance da soma de Ewald, modificação sobre truncamento nas interações de Coulomb e tamanho dos passos de integração nas simulações envolvendo bicamadas lipídicas são relatadas por Anézo *et al*, em [160], o qual apresenta as implicações imediatas que essas mudanças têm nas propriedades estatísticas.

Em [161], também é relatada por Tieleman *et al*, a influência das variações dos parâmetros externos sobre as propriedades medidas. Parâmetros como: condições de contorno, alteração do modelo que descreve as moléculas de água e mudança nos parâmetros associado ao potencial de Lennard-Jones entre os átomos de carbono e molécula de água afetam, consideravelmente, as propriedades físicas medidas.

No que tange ao acoplamento de pressão nas simulações computacionais, em [162], são apresentados os efeitos que diferentes acoplamentos de pressão têm sobre a organização espacial de moléculas de lipídios autoajustáveis quando essas estão solvatadas em água. Finalmente, o ajuste inadequado de parâmetros externos sobre a amostra molecular resultará em propriedades físicas e químicas diferentes daquelas pretendidas e observadas empiricamente.

Condições periódicas de contorno

Na modelagem computacional denominada condição periódica de contorno ou PBC (acrônimo da expressão inglesa *Periodic Boundary Conditions*), uma única célula de simulação pode ser replicada, indefinidamente, nas três dimensões do espaço euclidiano [143]. A replicação da caixa de simulação, nas dimensões espaciais, é praticada em virtude da impossibilidade computacional de realizar simulações com um número muito grande de elementos.

Sendo assim, PBC tem o intuito de eliminar efeitos indesejáveis decorrentes da limitação no número de constituintes da amostra simulada. Em outros casos, são realizadas simulações computacionais onde se deseja obter as propriedades físicas e químicas da amostra sem levar em consideração o efeito de borda. Nessas circunstâncias, o emprego de PBC se mostra muito recorrente, bem como relatado por Dokholyan, em [143].

A disposição espacial mais comum utilizada para a estruturação da célula central, nas simulações de DM, é o formato cúbico. Entretanto, a depender do contexto analisado, como em simulações envolvendo cristais, são requeridos formatos como caixas ortorrômicas, sistema cristalino triclinico, formatos hexagonais, octaedro e dodecaedro [157]. As caixas centrais na forma de dodecaedro e octaedro são mais próximas às estruturas esféricas e, por isso, são mais apropriadas no estudo e descrição de macromoléculas com formatos esféricos [163].

Outra propriedade relevante na modelagem PBC é a simetria translacional associada à cada constituinte do sistema, ou seja, durante a simulação, alguns elementos podem deixar a caixa central e serão substituídos automaticamente por suas replicas na faceta oposta da caixa central. Esse procedimento garante que, durante todos os passos da simulação, as quantidades dos elementos analisados sejam as mesmas que inicialmente haviam sido propostas.

Em um primeiro momento, as partículas da caixa central de simulação interagem entre si e com toda as partículas imagens das caixas replicadas, impossibilitando a determinação da energia de interação do sistema e a determinação das propriedades estatísticas. Desse modo, simplificações serão realizadas a fim de tornar prático o cálculo da energia potencial entre os constituintes do sistema.

Na prática, o que acontece é o estabelecimento de uma abordagem intitulada de "convenção da mínima imagem". Nesse caso, os cálculos das interações serão limitados para um dado valor específico, intitulado de raio de corte. Por convenção, o raio de corte assume valores menores que a metade da dimensão da caixa de simulação. Essa convenção sobre o raio de corte é particularmente útil por permitir a interação de cada partícula do sistema apenas com as imagens replicadas evitando termos de autointeração [164]. Para efeitos ilustrativos, expomos, na Fig. (2.7), a representação da PBC em um sistema biológico formado pelo composto A_6D .

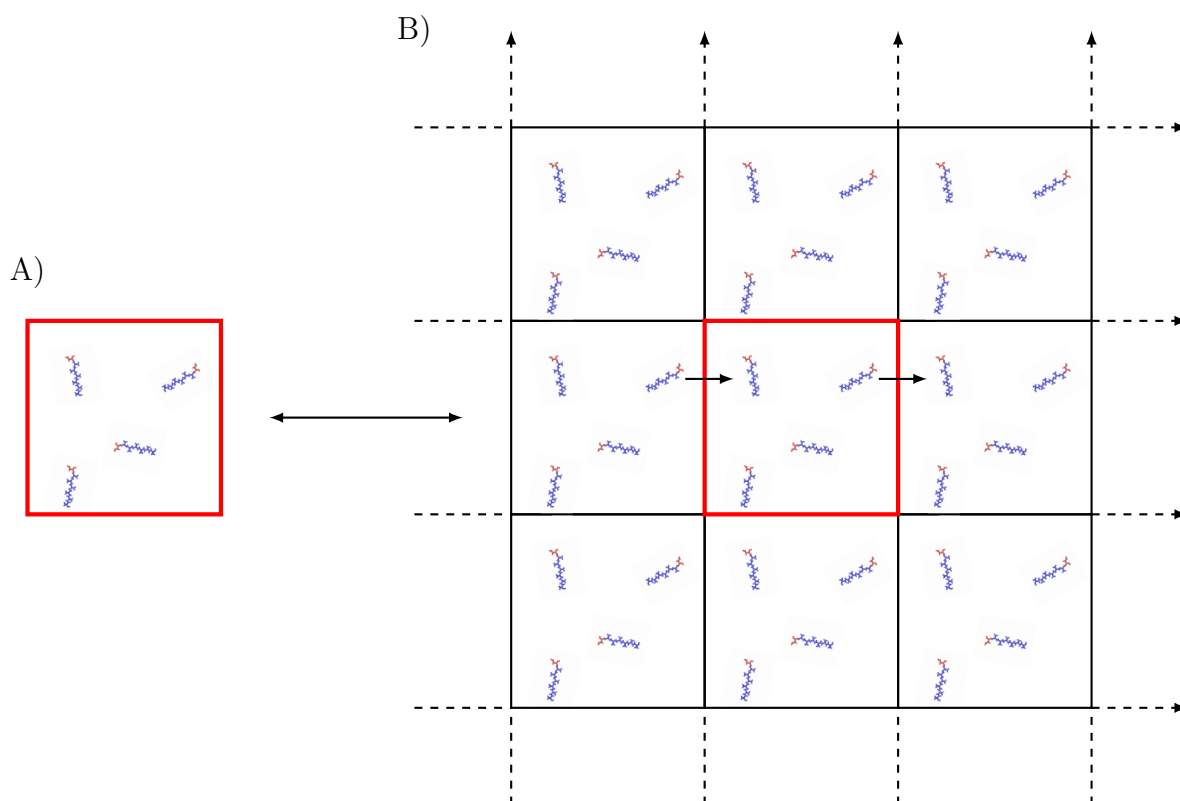


Figura 2.7: Condição periódica de contorno aplicada à caixa central. Composto simulado: peptídeo A_6D . Em vermelho, temos a caixa central de simulação que será replicada nas três dimensões espaciais. Quando uma partícula deixa a caixa de simulação, ela entra no lado oposto mantendo o número de partículas na caixa central constante.

Métodos de constrição

Nas simulações envolvendo DM, as constrições são métodos computacionais empregados para manter a integridade das ligações químicas, bem como o estiramento linear e angular das interações entre os átomos simulados [165]. Outrossim, os métodos de constrição também permitem controlar os modos vibracionais de alta frequência, regulando, então, a temperatura do sistema [166].

Existem várias modelagens computacionais que estabelecem os parâmetros de constrição que serão usados durante as simulações. Em relação ao programa GROMACS, este, como padrão, utiliza o algoritmo LINCS (em inglês, *LINear Constraint Solver*) [167], muito embora possa, também, utilizar o algoritmo SHAKE [168] a critério do usuário.

O algoritmo LINCS, via multiplicadores de Lagrange, aplica constrições aos parâmetros do sistema, de maneira que, quando o sistema molecular se torna instável, ou seja, as vibrações moleculares, ângulos e distâncias interatômicas se tornam muito elevados em relação a um parâmetro estabelecido, a simulação é interrompida, retornando um aviso de erro ao usuário.

Simulações *umbrella sampling*

No âmbito das simulações *in silico*, existe uma relação direta entre a dimensão do sistema analisado e o custo computacional efetivamente necessário para que seja possível executar tais simulações. Em vista disso, há de se observar que, ao aumentar as dimensões do sistema analisado, seja ampliando o número de constituintes moleculares, seja estendendo o intervalo de tempo simulado, o custo computacional aumentará na mesma proporção.

Sobre as simulações desenvolvidas no presente trabalho, estas foram conduzidas em intervalo de tempo da ordem de nanossegundos. Todavia, processos físico-químicos levada a cabo em laboratórios acontecem em escalas de tempo muito mais longas. Dessa forma, caso desejássemos conduzir nossas simulações computacionais em intervalos de tempos mais elevados, digamos, da ordem de milissegundo, precisaríamos potencializar os recursos computacionais, bem com o respectivo tempo computacional seria estendido em demasia, tonando a simulação, por vezes, impraticável.

Isso posto, nas últimas décadas, diversos esforços científicos foram empregados com o objetivo de viabilizar a execução de simulações mais complexas e com elevados valores para os tempos de simulação. Entre as diversas propostas adotadas, podemos citar uma denominada de *coarse-graind* [169], na qual, os átomos do sistema não são tratados individualmente, ao invés disso, as moléculas, ou região do sistema, são consideradas como subgrupos, reduzindo, dessa forma, o cálculo computacional. Usando o referido modelo, os tempos de simulação podem ser aumentados, aproximando-se daqueles valores observados para os experimentos químicos ou biológicos, sem a contrapartida do aumento do custo computacional.

Ainda sobre a temática relacionada ao custo operacional, outra questão se mostra pertinente: qual seria o tempo necessário para que sobrevenha eventos mais raros? Ou seja, quanto devo aguardar para que a minha simulação acesse aos microestados de um sistema físico com baixa probabilidade de ocorrência? Nesses casos, há a possibilidade de que alguns desses eventos, de maneira natural, não ocorram, ou, para que se efetivem, seria necessário conduzir simulações por tempos suficientemente longos, o que, de certa forma, inviabilizaria as pesquisas científicas levadas a cabo pela sistemática computacional.

Dessa forma, uma outra abordagem comumente empregada na literatura científica consiste em estabelecer métodos computacionais nos quais a frequência que determinados eventos ocorrem seja significativamente aumentada, fazendo com que as amostras estatísticas tornem-se mais eficientes e reproduzam as propriedades estatísticas de interesse. No mais, tratando-se de mecânica estatística, o cálculo das propriedades físicas passa, indubitavelmente, por médias estatísticas tomadas sobre uma elevada quantidade de microestados, gerando, caso isso não ocorra, uma divergência entre os resultados teóricos e experimentais.

Expomos tal narrativa para apresenta que, de um ponto de vista estatístico, esperar que o sistema molecular, por si só, atinja alguns estados do sistema de maneira espontânea, não é a melhor sistemática adotada. Nesse quadro, torna-se fundamental estabelecer métodos aproximativos que tenham a intenção de levar o sistema físico à lugares sobre a curva de potencial que, naturalmente, não seriam alcançados. Por conseguinte, várias metodologias computacionais foram desenvolvidas com o propósito de aprimorar as amostras estatísticas, de forma a conduzir o sistema físico aos estados energéticos com baixa probabilidade de ocorrência. Entre as propostas computacionais direcionadas a este fim, citamos *umbrella sampling* [170] e *umbrella sampling* adaptativa [171], cada qual com sua especificidade e campo de atuação.

Os métodos supracitados voltados à obtenção do melhoramento das amostras estatísticas focam na exploração do conceito de energia livre. Então, para que seja possível determinar a dinâmica do sistema molecular e, conseqüentemente, as propriedades físicas e químicas da matéria, uma condição indispensável é conhecer sua energia como função das diversas coordenadas internas do sistema. Nesse contexto, denomina-se potencial de força média, em inglês, *Potential of Mean Force* (PMF) [172], a energia livre de um sistema em função de uma determinada coordenada genérica. Essa modelagem matemática é utilizada para avaliar a dependência existente entre as coordenadas genéricas usadas e as mudanças nos termos da energia livre.

De todo modo, são necessários métodos computacionais que sejam capazes de levar o sistema sob estudo aos estados energéticos que não seriam alcançados naturalmente, mapeando toda a estrutura do PMF. Nesse ínterim, uma metodologia que há muito tem sido empregada no âmbito das simulações computacionais é aquela intitulada de *umbrella sampling*. Segundo os fundamentos dessa abordagem, creditada a Torrie e Valleau [170], particiona-se o intervalo energético de interesse em regiões menores, que serão simuladas individualmente. Em cada uma dessas regiões, será adicionado um potencial extra, geralmente uma função harmônica, forçando a amostra a atingir estados com baixa probabilidade. Ao final das etapas de simulação, a soma dos potenciais obtidos em cada uma das regiões corresponderá à curva energética do sistema.

Quanto às simulações conduzidas no software GROMACS, efetua-se a metodologia de *umbrella sampling*, entre outras formas, pela abordagem computacional denominada de *pulling* [173]. Consoante essa sistemática, a força média entre os centros de massa de dois grupos previamente selecionados será determinada a partir de uma técnica de extração ou, a depender do interesse, através de sucessivas inserções moleculares. Seja como for, progressivamente, os grupos pré-selecionados são espacialmente separados. Ao final da abordagem, o processo de *umbrella sampling* será realizado sobre as configurações obtidas pela método de *pulling*, gerando, portanto, a energia livre do sistema molecular e, conseqüentemente, as propriedades físicas e químicas de interesse.

Ligação de hidrogênio

A ligação de hidrogênio (LH) pode ser conceituada como uma interação atrativa intermolecular estabelecida entre uma região de alta densidade eletrônica e uma molécula de hidrogênio [174]. Dentre as diversas interações intermoleculares existentes entre as moléculas de água, a LH exerce um papel central. Nesse quadro, a título exemplificativo, essas ligações são imprescindíveis no âmbito das estruturas biológicas, tal qual ocorre com o estabelecimento de conformações tridimensionais das moléculas de proteína e do DNA [175].

Quanto aos parâmetros norteadores utilizados na mensuração das LHs, diz-se que essas ligações apresentam um caráter direcional, ou seja, o estabelecimento e a manutenção das ligações de hidrogênio guardam uma forte dependência com os ângulos e as distâncias interatômicas existentes entre os participantes do processo de interação [174]. Dessa forma, pode-se afirmar que o parâmetro mais simples e imediato utilizado para a definição das ligações de hidrogênio seria o critério geométrico, no qual, o cômputo das LHs leva em consideração as distâncias e os ângulos mantidos entre o hidrogênio da espécie doadora e o átomo eletronegativo da espécie receptora.

Seguindo com as definições utilizadas no critério geométrico, expomos, na Fig. (2.8), os parâmetros espaciais empregados pelo software GROMACS [173]. Nesse aspecto, as ligações químicas foram representadas na forma de linhas tracejadas. De outra parte, adotamos as seguintes orientações para a identificação das LHs: $r \leq 0,35 \text{ nm}$ e $\alpha \leq 30^\circ$, sendo que r é definido como a distância entre um átomo doador e um átomo receptor das ligações de hidrogênio e α é o ângulo existente entre o átomo de hidrogênio e os átomos doadores e receptores. Em adição, segundo a modelagem computacional proposta por Luzar e Chandler [176], esses valores numéricos tomados para as distâncias e para os ângulos podem ser obtidos a partir da função distribuição radial da distância e da função distribuição angular, respectivamente.

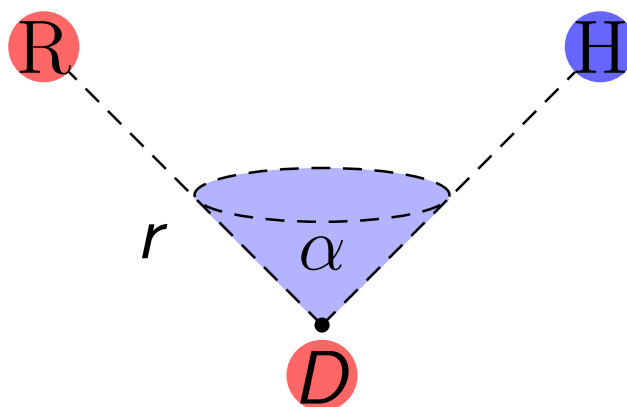


Figura 2.8: Critérios geométricos utilizados na caracterização das LH. H representa o átomo de hidrogênio, D o átomo doador e R é o átomo receptor.

Um último aspecto a ser abordado diz respeito ao cômputo do tempo de vida das ligações de hidrogênio. Nesse âmbito, as funções de autocorrelação são metodologias apropriadas para a descrição das propriedades físicas que possuem dependência temporal. Em [176], Luzar e Chandler, via a utilização dos critérios geométricos supracitados, definiram um parâmetro $h(t)$, intitulado de operador de população de ligação de hidrogênio, que retrata a dinâmica das LHs. Tal parâmetro assume o valor unitário quando um par de átomos especificados mantêm-se unidos por intermédio da ligação de hidrogênio e nulo na situação oposta. Dessa forma, a Eq. (2.20) retrata a probabilidade de que uma LH seja sustentada em $t > 0$, uma vez que ela existia em $t = 0$ s.

$$c(t) = \frac{\langle h(0)h(t) \rangle}{\langle h \rangle}, \quad (2.20)$$

em que, $h(0)$ é o valor do operador em $t = 0$ s e $\langle h \rangle$ corresponde à média temporal de h . Enfim, futuras análises que versam sobre as ligação de hidrogênio, bem como aquelas direcionadas à caracterização dos respectivos tempos de vida serão devidamente abordadas nos próximos capítulos desta tese.

MEMBRANAS PEPTÍDICAS EM LÍQUIDO IÔNICO

Avaliaremos, ao longo deste capítulo, o comportamento, tanto energético quanto estrutural, de membranas peptídicas, quando estas estão imersas em líquido iônico (LI). O referido interesse é decorrente tanto das características ecologicamente viáveis que as membranas construídas à base dos aminoácidos possuem, quanto das potenciais aplicações dessas membranas como eletrodos de supercapacitores orgânicos [84]. De todo modo, a utilização desses compostos orgânicos biodegradáveis está no cerne da área de pesquisa conhecida como "química verde", a qual aponta um interesse pelo desenvolvimento de compostos que não sejam nocivos à saúde e ao meio ambiente.

À vista dessas mencionadas potencialidades, recorreremos à DM com o intuito de buscar indícios que apontem a existência de estabilidade energética e estrutural relativas às membranas peptídicas imersas no LI. Assim sendo, a teoria associada à mecânica estatística é de suma importância nesse estudo investigativo. Por último, segue exposto, na Fig. (3.1), a representação molecular do processo de formação da membrana $(A_6D)_{90}$, processo esse que será retratado nas próximas seções.

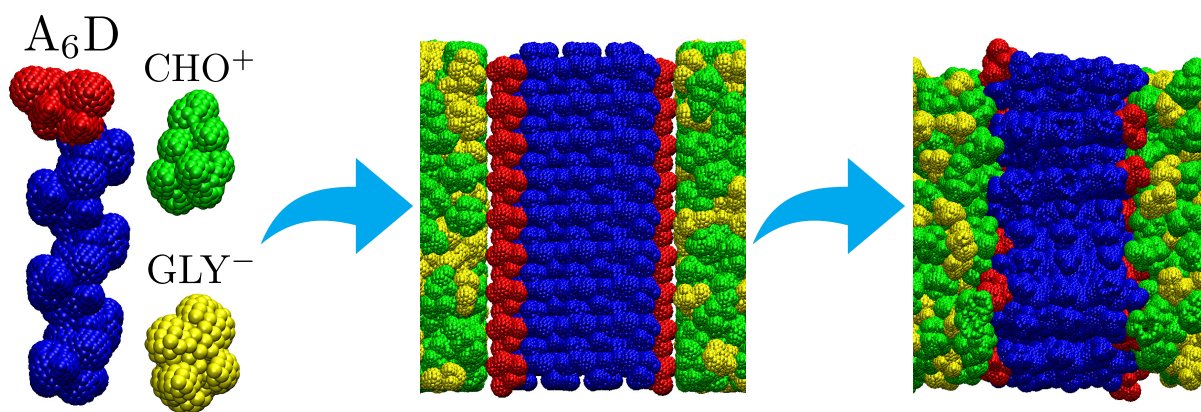


Figura 3.1: Processo de montagem da membrana $(A_6D)_{90}$. CHO = Colina (Verde), GLY = Glicina (Amarelo), A = Alanina (Azul) e D = Ácido Aspártico (Vermelho).

Dinâmica Molecular: Preparação inicial e resultados

Estruturas membranares

Iniciaremos a presente seção, fazendo uma abordagem geral sobre as técnicas computacionais que foram empregadas para a construção, tanto das nanomembranas, quanto do líquido iônico, bem como discorreremos sobre os resultados que foram alcançados. Quanto às análises dos resultados, nossas avaliações estarão centradas em aspectos energéticos e estruturais relativos as seis nanomembranas. Também ressaltamos que as referidas membranas foram formadas a partir da justaposição de monômeros de polipeptídeo dispostos na conformação folha- β .

No que tange à construção dos monômeros polipeptídicos, a cauda do reportado monômero foi estruturada tendo como base os aminoácidos apolares alanina (A/ALA) ou leucina (L/LEU), seguida por um dos grupos polares: lisina (K/LYS), ácido aspártico (D/ASP) ou arginina (R/ARG), sendo estes aminoácidos utilizados para a construção da cabeça eletricamente carregada do monômero. Em decorrência dos aminoácidos utilizados nas construções das "cabeças" polares dos monômeros, as moléculas A_6X possuem cargas elétricas líquidas iguais a $-1e$, $+1e$ e $+1e$, respectivamente, para as estruturas A_6D , A_6K e A_6R , enquanto que para as construções L_6X , as cargas elétricas são iguais a $-1e$, $+1e$ e $+1e$, respectivamente, para os compostos L_6D , L_6K e L_6R . As seis moléculas utilizadas na construção das nanomembranas estão dispostas na Fig. (3.2), ao passo que nas Figs. (3.3) e (3.4) apresentamos as configurações iniciais para as estruturas membranares A_6X e L_6X (com $X = D, R$ ou K), respectivamente.

Acerca das etapas destinadas a construção das nanomembranas, em um primeiro momento, foram construídos dímeros - os quais são entendidos como uma molécula formada por duas unidades similares - para os compostos A_6X e L_6X e estes foram replicados nas direções X e Y do eixo cartesiano a uma proporção de 5:9 [6:5] dímeros. Ao final do processo de replicação, obtivemos as membranas $(A_6X)_{90}$ [$(L_6X)_{60}$], nas quais os subíndices apresentados nas estruturas membranares correspondem ao número de monômeros presentes em cada membrana. Além disso, temos que cada membrana terá a superfície recoberta por um dos aminoácido $X (= D, R$ ou $K)$ a depender da estrutura biológica sob análise.

Em síntese, retratamos, nas Tabelas (3.1) e (3.2), as principais características associadas aos monômeros e às membranas simuladas. Mostramos as informações relativas ao número de átomos que compõem cada monômero, com valores iguais a 75, 85, 87, 129, 139 e 141 para os compostos A_6D , A_6K , A_6R , L_6D , L_6K e L_6R , respectivamente. Outras informações indicam as dimensões iniciais (X_0 , Y_0 , Z_0) das caixas de simulação, bem como os valores finais (X_f , Y_f , Z_f) obtidos após as simulações de DM. De mesmo modo, ressaltamos a área média ocupada por cada peptídeo presente na membrana.

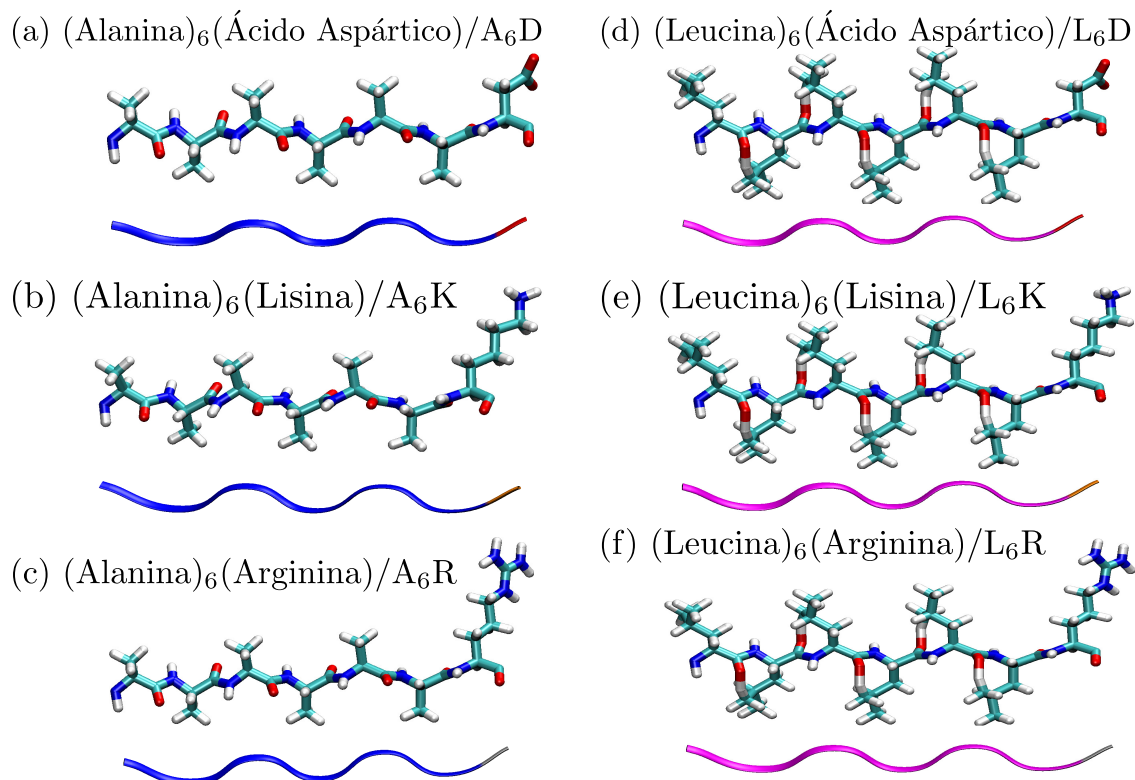


Figura 3.2: Estruturas das seis moléculas estudadas neste trabalho. (a) A_6D , (b) A_6K , (c) A_6R . (d) L_6D , (e) L_6K , (f) L_6R . Esfera azul = Átomo de nitrogênio; Esfera branca = Átomo de hidrogênio; Esfera vermelha = Átomo de oxigênio; Esfera verde = Átomo de carbono.

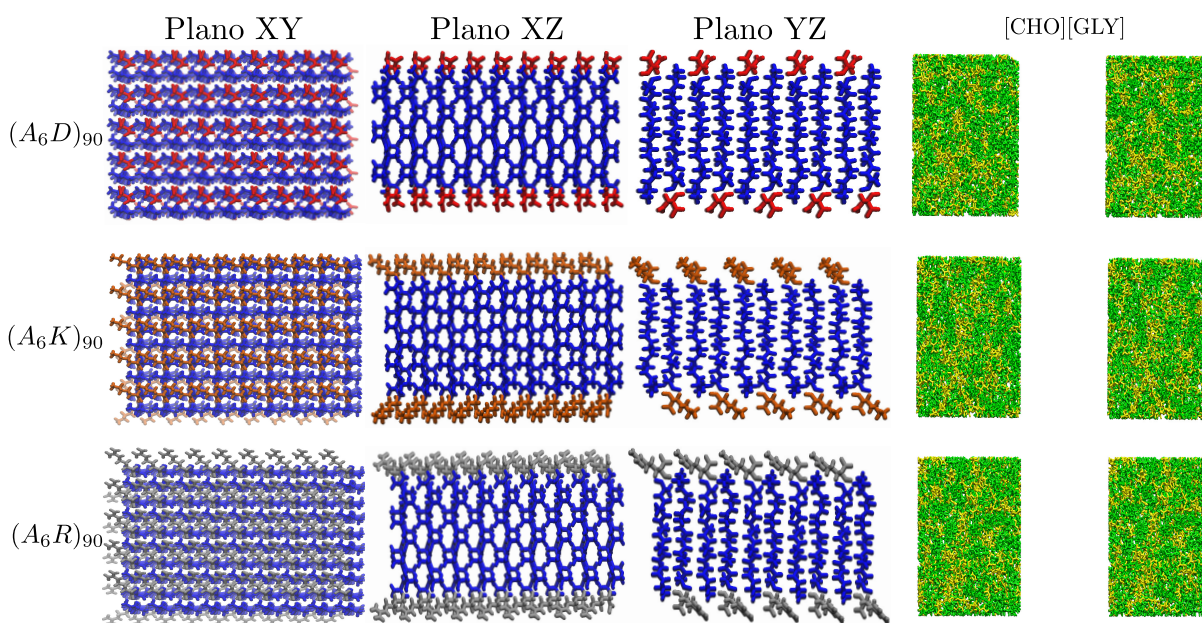


Figura 3.3: Visão superficial e lateral das três membranas A_6X , juntamente com o par colina/glicina, [CHO][GLY], relativo ao líquido iônico. A = Alanina (azul), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).

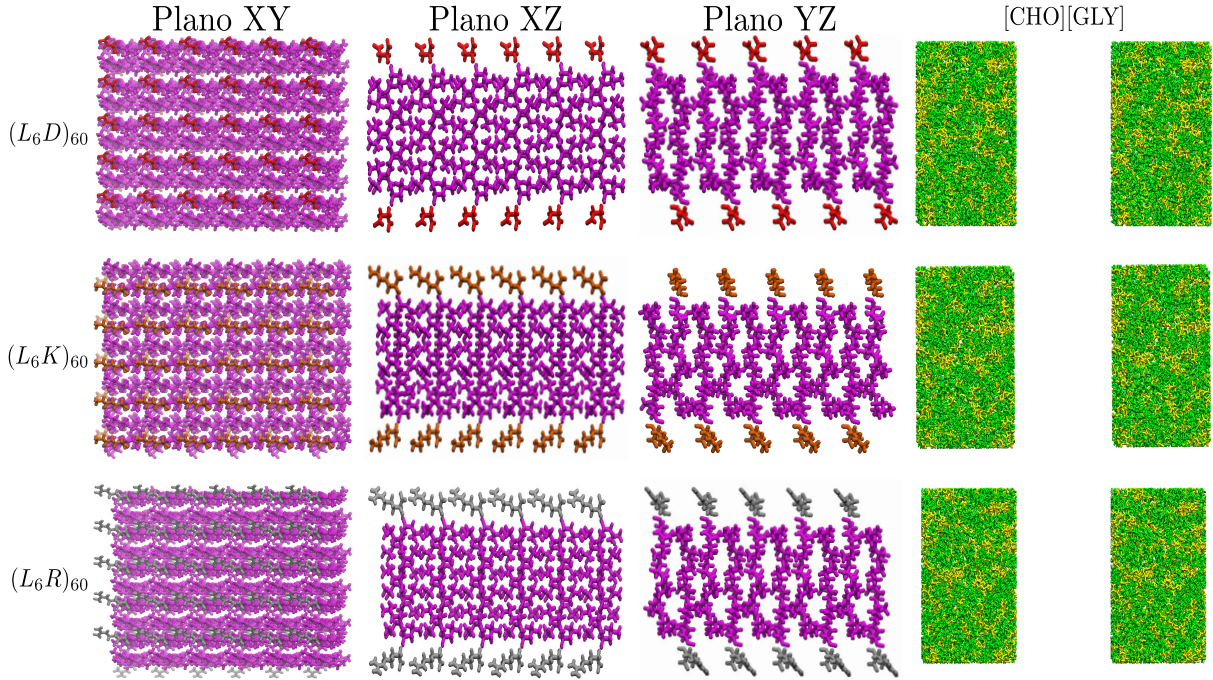


Figura 3.4: Visão superficial e lateral das três membranas L_6X , juntamente com o par colina/glicina, [CHO][GLY], relativo ao líquido iônico. L = Leucina (rosa), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).

Monômero	A_6D	A_6K	A_6R	L_6D	L_6K	L_6R
Átomos por peptídeo	75	85	87	129	139	141
Carga total	-1e	+1e	+1e	-1e	+1e	+1e
Grupo carregado	D	K	R	D	K	R
Dimensão X_0 (nm)	5,400	5,400	5,400	6,050	6,050	6,050
Dimensão Y_0 (nm)	4,500	4,500	4,500	5,200	5,200	5,200
Dimensão Z_0 (nm)	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Dimensão X_f (nm)	5,354	5,383	5,399	6,071	6,064	6,072
Dimensão Y_f (nm)	4,500	4,516	4,542	5,234	5,264	5,225
Dimensão Z_f (nm)	3,996	4,006	4,008	4,014	4,009	4,013
Volume final (nm ³)	96,276	97,384	98,285	127,547	127,971	127,317
Números de CHO	385	389	393	508	509	509
Números de GLY	385	389	393	508	509	509
Total de átomos	12010	12144	12270	15877	15918	15920

Tabela 3.1: Parâmetros usados para os monômeros na solução de LI colina/glicina, [CHO][GLY]. A = Alanina, L = Leucina, D = Ácido aspártico, K = Lisina, R = Arginina.

Membrana	$(A_6D)_{90}$	$(A_6K)_{90}$	$(A_6R)_{90}$	$(L_6D)_{60}$	$(L_6K)_{60}$	$(L_6R)_{60}$
Carga total	-90e	+90e	+90e	-60e	+60e	+60e
Dimensão X_0 (nm)	5,439	5,722	5,850	6,143	6,252	6,406
Dimensão Y_0 (nm)	4,525	4,895	4,200	5,242	5,455	5,565
Dimensão Z_0 (nm)	11,358	11,431	11,517	11,865	12,067	12,067
Dimensão X_f (nm)	5,433	5,459	5,337	6,120	6,131	6,046
Dimensão Y_f (nm)	4,520	4,670	4,744	5,222	5,350	5,252
Dimensão Z_f (nm)	10,239	10,339	10,508	10,080	10,026	10,387
Volume final (nm ³)	251,441	263,578	266,049	322,143	328,861	329,825
Carga/nm ²	-1,832	1,765	1,777	-0,939	0,915	0,945
Área/peptídeo	0,27	0,28	0,28	0,53	0,55	0,53
Números de CHO	770	778	786	1016	1018	1018
Números de GLY	770	778	786	1016	1018	1018
Total de átomos	30620	31768	32196	39236	39898	40018

Tabela 3.2: Parâmetros usados para os membranas na solução de LI colina/glicina, [CHO][GLY]. A = Alanina, L = Leucina, D = Ácido aspártico, K = Lisina, R = Arginina.

As simulações completamente atomísticas de Dinâmica Molecular (DM), relacionadas aos monômeros e às membranas, foram conduzidas usando o campo de força CHARMM36 [177], ao passo que para o LI, composto por colina [CHO] e glicina [GLY], usamos o campo de força proposto por Canongia Lopes-Pádua [178] com as devidas parametrizações para que as propriedades físico-químicas do referido LI sejam reproduzidas com exatidão.

Para o processo de equilibração da caixa de simulação, utilizamos simulações nos *ensembles* NVT/NPT, respectivamente, com tempo de simulação de 30ns alternando ambas as etapas, enquanto que para a produção da conformação final e construção das configurações nas quais efetivamos as médias estatísticas, realizamos uma simulação de 100ns no *ensemble* NPT. O comprimento das ligações foi mantido por intermédio do algoritmo LINCS [167]. No cálculo das interações de Lennard-Jones (LJ), empregamos o potencial de *shift-Verlet* com raio de corte de 1,0 nm e as interações de Coulomb foram tratadas utilizando o algoritmo PME (acrônimo da expressão inglesa *Particle Mesh Ewald*) [179].

Durante as diversas etapas das simulações computacionais, realizamos um processo de reescalamento de temperatura com uma periodicidade na ordem de 0,2 ps e com valor da temperatura em torno de 300 K. Sobre o acoplamento de pressão, utilizamos a representação de Parrinello-Rahman [180], em contextos isotrópico [semi-isotrópico] para os monômeros [nanomembranas], com intervalos temporais da ordem de 0,2 ps, pressão de 1,013 bar e compressibilidade de $4,5 \times 10^{-5}$ (1/bar).

A evolução temporal das nanoestruturas foi determinada em um intervalo de tempo de 2,0 fs , enquanto que para as realizações das médias estatísticas tomamos o intervalo de tempo 4,0 fs , de maneira que ao final dos 100 ns obtivemos um total de 25000 configurações salvas, as quais foram usadas na construção de valores médios das propriedades estatísticas pretendidas.

Utilizamos o programa Packmol [181] para a construção da distribuição inicial do LI [CHO][GLY] com uma tolerância de 2,0 Å entre as moléculas. A Dinâmica Molecular foi realizada utilizando a versão 2016 do GROMACS [173] e a análise visual foi conduzida utilizando o programa VMD [182]. Os mapas de espessuras das membranas foram feitos usando o programa GridMat-MD [183].

Avaliamos as forças médias requeridas para as extrações dos polipeptídeos A_6X [L_6X] utilizando a técnica denominada *umbrella sampling*, assim como implantado na versão 2016 do programa GROMACS [173]. Por conseguinte, realizamos um total de 200 extrações em cada uma das nanomembranas simuladas, de sorte que a diferença temporal entre duas extrações consecutivas seja de 0,5 ns .

Para a remoção do monômero peptídico a partir da nanomembrana, utilizamos a disposição geométrica cilíndrica, na qual dois grupos foram previamente definidos. O primeiro grupo selecionado foi o monômero a ser retirado, ao passo que o segundo refere-se ao restante da membrana que permanece fixa. Em ambos os casos, a remoção foi efetiva tendo como referência o centro de massa de cada um dos grupos selecionados.

No âmbito da técnica de *pulling*, a velocidade de extração dos monômeros A_6X [L_6X] manteve-se constante a uma taxa de 0,1 nm/ps . Para a caracterização da análise de extração, observamos o comportamento da força, $F(t)$, a qual foi representada em $kJ/mol\ nm$, pelo correspondente tempo de remoção, sendo que este foi representado em ps . Isso posto, os resultados foram expressos através de gráficos cujos eixos das ordenadas (Y) demonstraram o comportamento das forças de extrações, enquanto que os eixos das abscissas (X) estão associados ao tempo necessário para a realização da remoção.

A partir de toda a descrição metodológica supracitada, foram obtidos os resultados estruturais e energéticos referentes às nanomembranas peptídicas envoltas por LI. Sendo assim, apresentaremos os seguintes tópicos: Perfil densidade de massa, Ligações de hidrogênio, Função Autocorrelação para as ligações de hidrogênio (LHs), Análise da Energia e Extração de monômeros.

Perfil densidade de massa e distribuição de cargas

Conforme indicado anteriormente, as Figs. (3.3) e (3.4) representam as configurações iniciais das membranas estudadas no presente trabalho, ao passo que as Figs. (3.5) e (3.6) retratam as disposições espaciais das nanoestruturas quando estas já se encontram

no equilíbrio termodinâmico. Como podemos inferir a partir dos resultados apresentados nas Figs. (3.5) e (3.6), as estruturas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$ mantêm os monômeros alinhados nas direções X e Y do plano cartesiano.

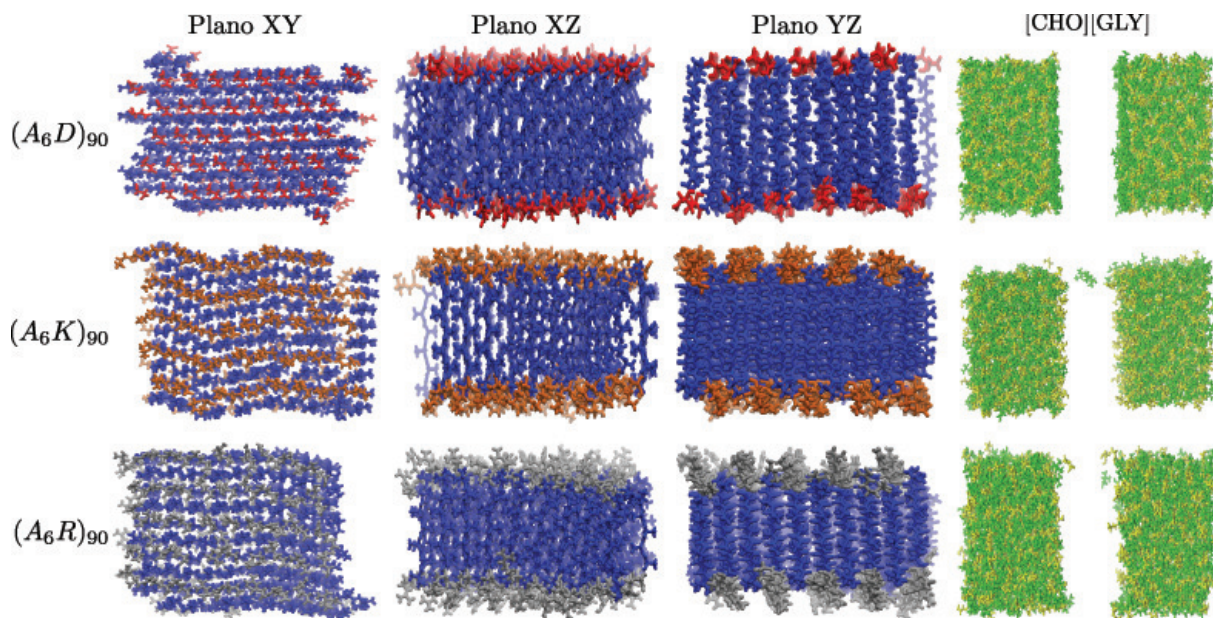


Figura 3.5: Visão superficial e lateral das três membranas equilibradas A_6X juntamente com o par [CHO][GLY] relativo ao LI. A = Alanina (azul), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).

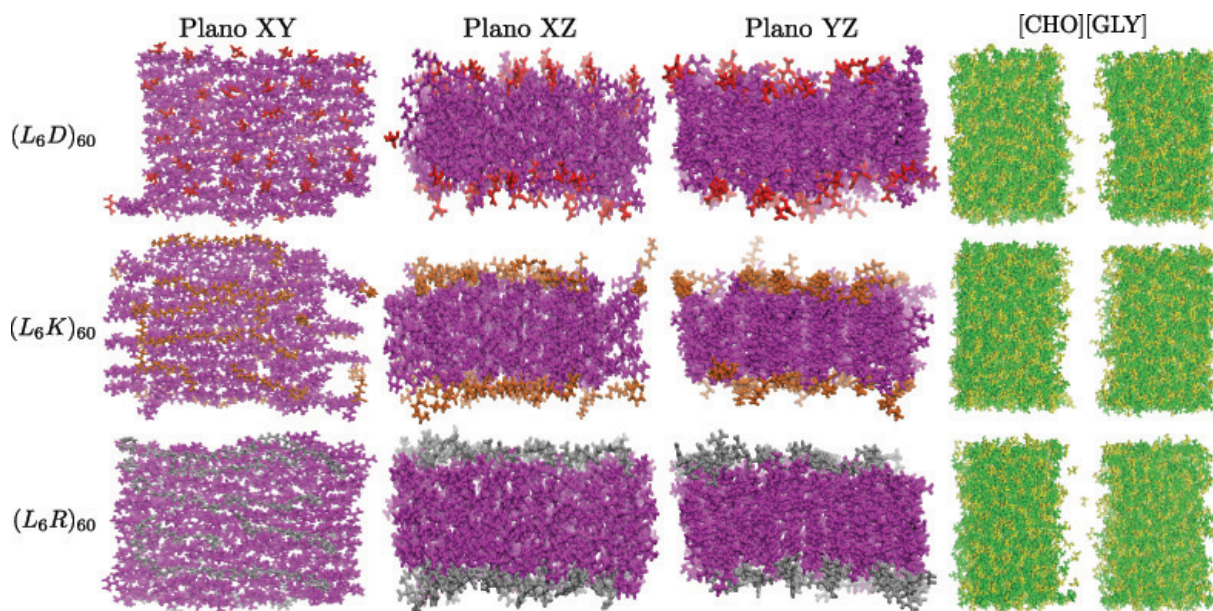


Figura 3.6: Visão superficial e lateral das três membranas equilibradas L_6X juntamente com o par [CHO][GLY] relativo ao LI. L = Leucina (rosa), D = Ácido aspártico (vermelho), K = Lisina (marrom), R = Arginina (cinza), CHO = Colina (verde), e GLY = Glicina (amarelo).

Esses resultados foram alcançados em decorrência do elevado número de ligações de hidrogênio (LH) a que estas membranas estão submetidas. Tais ligações formam uma rede na estrutura membranar e são imprescindíveis no processo de alinhamento dos referidos monômeros. Ademais, expomos, na Fig. (3.7), o perfil de densidade de massa para os compostos polipeptídicos simulados. Desses resultados, podemos inferir que há reduzidos valores para a densidade do LI no interior das membranas ($(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$).

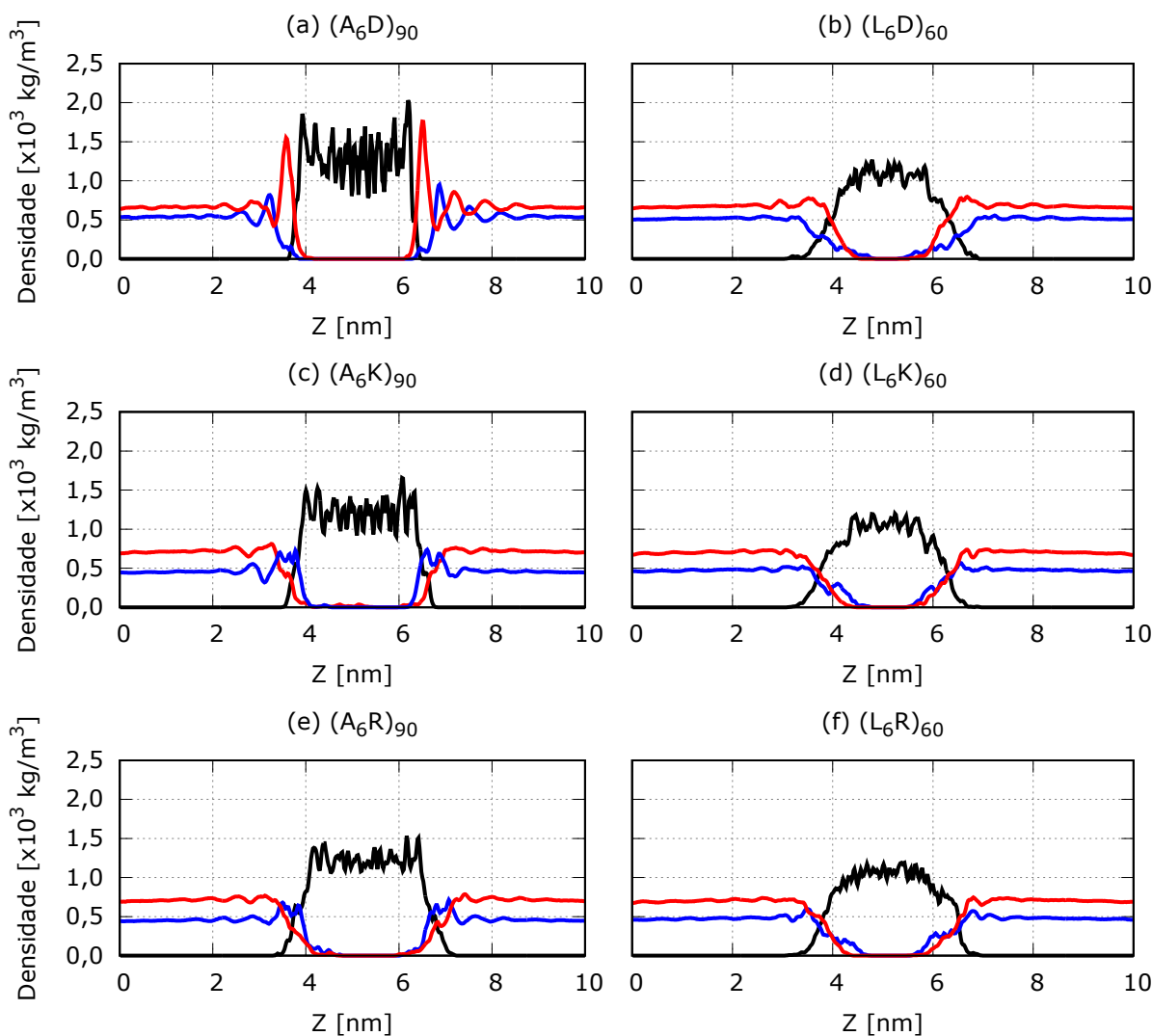


Figura 3.7: Perfil de densidade de massa das seis nanomembranas. Linha preta [Polipeptídeo]; Linha vermelha [CHO]; Linha azul [GLY].

Em consonância ao exposto na Fig. (3.7), avaliamos que há um ligeiro aumento da concentração de LI nas superfícies das membranas. Em decorrência desse aumento de densidade, observaram-se as seguintes disposições estruturais em torno das membranas: $[CHO] \dots (A_6D)_{90} \dots [CHO]$, $[GLY] \dots (A_6K)_{90} \dots [GLY]$ e $[GLY] \dots (A_6R)_{90} \dots [GLY]$, entre as quais, a separação mais evidente se identifica para a construção $(A_6D)_{90}$. Notamos também que a separação de LI próxima à membrana foi menos evidente para o caso $(L_6D)_{60}$, além de constatarmos uma ligeira infiltração de moléculas de LI na superfície dessa membrana.

Seguindo com as análises, a referida propriedade relacionada à separação do LI em camadas sob a superfície da membrana pode ser explicada em virtude da densidade superficial de carga elétrica (σ). Nesse quadro, temos para as membranas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$ os valores de $-1,832$, $1,765$ e $1,777 e/nm^2$, respectivamente, enquanto que os valores referentes às estruturas $(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$ são de $-0,939$, $0,915$ e $0,945 e/nm^2$, nessa devida ordem. Contrapondo-se os resultados obtidos para a densidade superficial de carga, constatamos uma redução de $48,8\%$, $48,2\%$ e $46,8\%$ entre as membranas A_6X e L_6X .

Espessuras das membranas

Mostramos, na Fig. (3.8), um mapa representativo para as espessuras médias das nanomembranas simuladas. Esse mapa superficial foi construído a partir de uma grade de 50×50 pontos cujos resultados são expressos por: $2,424$; $2,775$ e $3,038 nm$ [$2,388$; $2,553$ e $2,635 nm$] para as membranas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$ [$(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$], respectivamente. Resultados para as mesmas membranas envoltas por meio aquoso [184] indicam valores para as espessuras médias como sendo: $3,03$; $3,57$ e $3,69 nm$ [$2,59$; $3,14$ e $3,28 nm$] para as membranas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$ [$(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$], nessa ordem. Em comparação aos resultados por nós introduzidos, constatamos uma taxa de compressão da ordem de $20,0\%$; $22,3\%$ e $17,7\%$ [$7,8\%$; $18,7\%$ e $19,7\%$], a qual foi ocasionada em decorrência das interações existentes entre o LI-membrana.

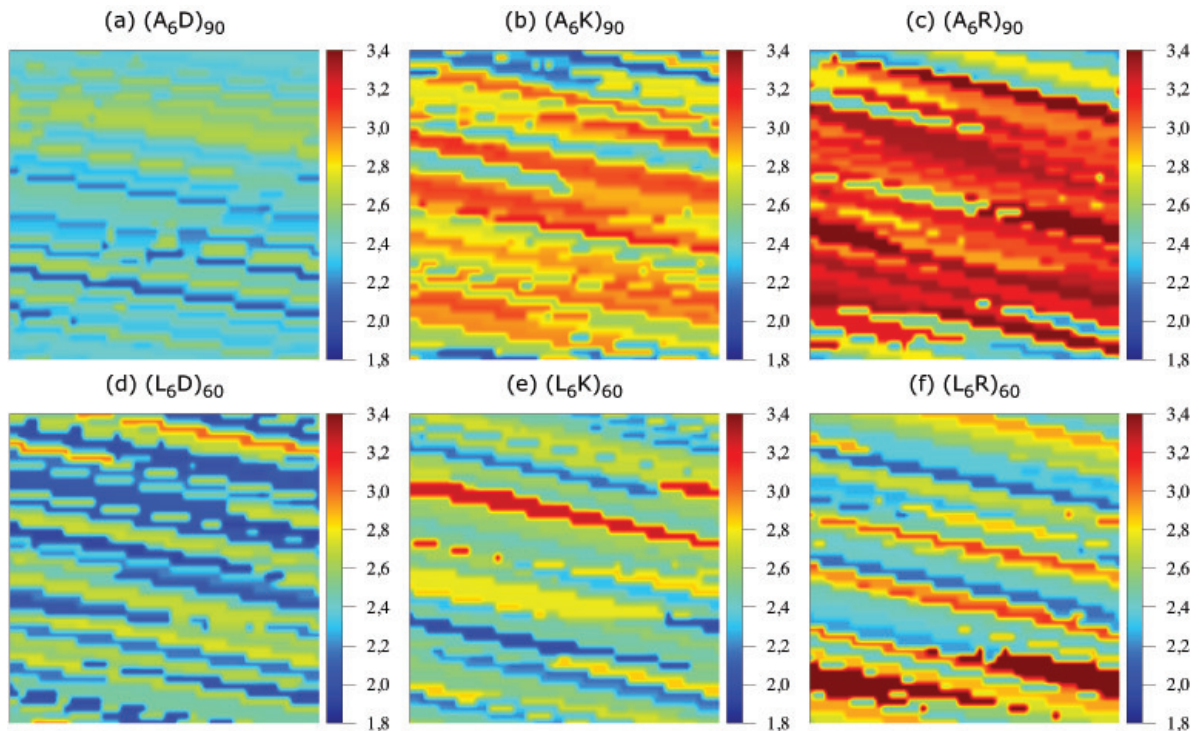


Figura 3.8: Espessuras médias para as membranas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$, $(A_6R)_{90}$, $(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$ em LI colina/glicina, [CHO][GLY].

Comparando com os resultados obtidos em solução aquosa [184], constatamos ainda que a compressão da membrana em LI não afeta, de maneira relevante, a disposição espacial dos polipeptídeos membranares. Sobre essa disposição espacial, temos que cada polipeptídeo ocupa uma área aproximada de $0,27\text{-}0,28 \text{ nm}^2$ [$0,25\text{-}0,27 \text{ nm}^2$] para as membranas A_6X e $0,53\text{-}0,55 \text{ nm}^2$ [$0,51\text{-}0,57 \text{ nm}^2$] para as estruturas L_6X , quando em solução LI [Solução Aquosa]. Portanto, tem-se que essas membranas nanoestruturadas possuem um elevado potencial para a aplicabilidade em processos nos quais sejam exigidos a separação entre o LI. Tal resultado é devido à baixa taxa de infiltração, por parte da partículas do LI, bem como à alta compactação sofrida por essas membranas, tornando-as estáveis durante as etapas de simulação.

Apresentamos, conforme exposto na Fig. (3.9), o perfil de densidade para as membranas nas direções X e Y , bem como representamos, na Tabela (3.3), um quadro resumido sobre essas informações. Como pode ser observado, as estruturas formadas a partir do esqueleto de leucina (L) apresentam maiores separações na direção X em decorrência do arranjo espacial Folha- β de seus respectivos monômeros.

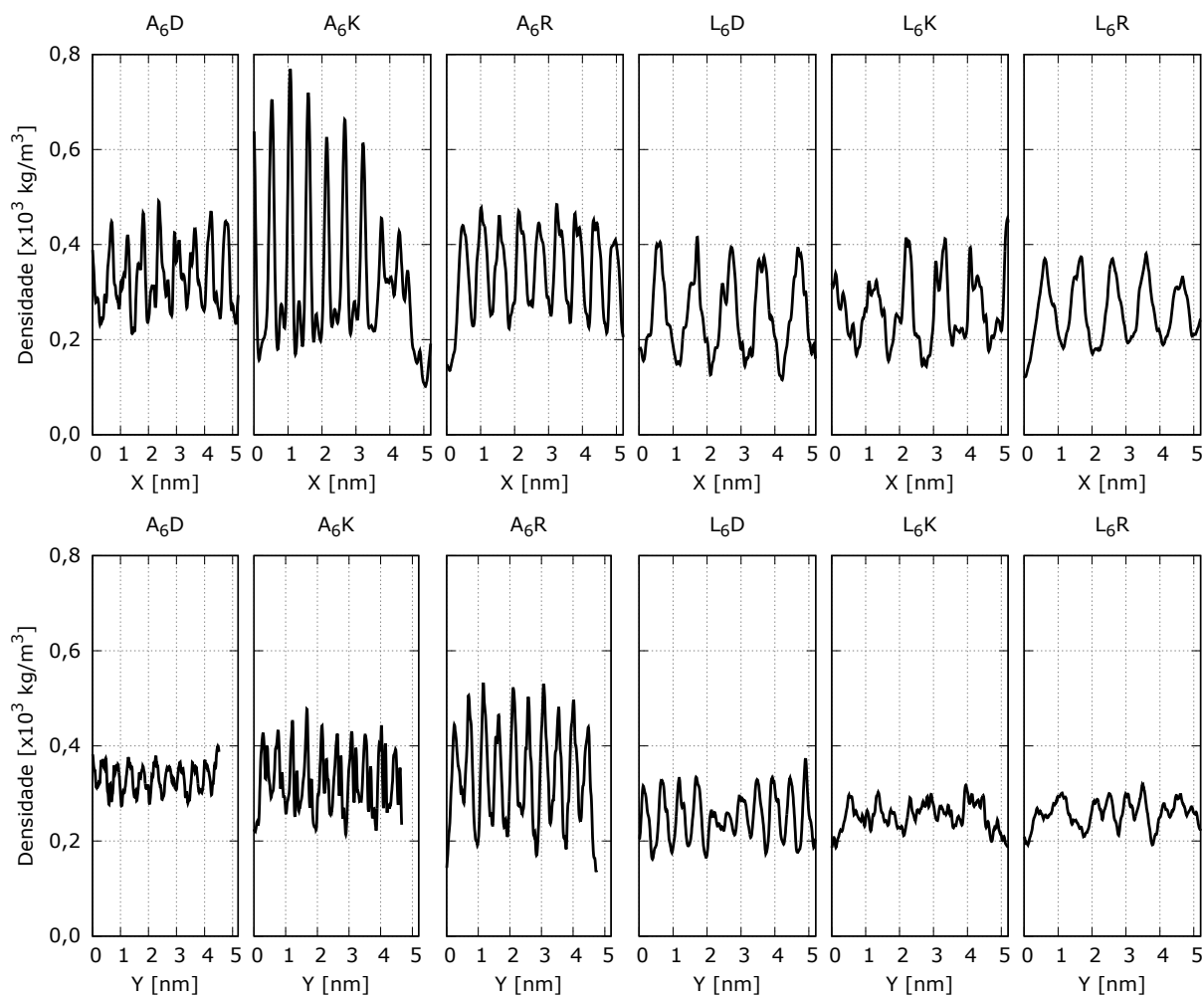


Figura 3.9: Perfil de densidade dos monômeros nas nanomembranas simuladas.

Distância radial (nm)	Distância em X	Distância em Y
$(A_6D)_{90}$	0,54	0,44
$(A_6K)_{90}$	0,53	0,47
$(A_6R)_{90}$	0,53	0,47
$(L_6D)_{60}$	1,02	0,49
$(L_6K)_{60}$	0,96	0,50
$(L_6R)_{60}$	0,62	0,61

Tabela 3.3: Distanciamento médio entre estruturas laminares adjacentes dos grupos A_6X e L_6X , em nm.

Em relação aos monômeros/membranas construídos à base do aminoácido alanina, a distância média entre cada lâmina peptídica pode ser vista na Tabela (3.3). Nesses casos, identificamos que a distância na direção X , para a estrutura $(A_6X)_{90}$, é de aproximadamente 0,53 nm, enquanto que, tratando-se das membranas $(L_6X)_{60}$, os valores figuram em torno de 0,62-1,02 nm. Sobre a direção Y , valores assemelhados foram identificados para ambas as membranas.

Seguindo com as análises da densidade, conclui-se que as membranas peptídicas apresentam um ordenamento laminar em ambas as direções espaciais, conforme consta na Fig. (3.9). Logo, pode-se afirmar que essa forte tendência em estabelecer disposições laminares indica a existência de alinhamento entre os monômeros membranares adjacentes, processo esse que se torna importante na estabilização membranar e na sistemática de auto-organização das estruturas.

Ligações de Hidrogênio

Identificamos na seção anterior que os monômeros que compõem a membrana apresentam um ligeiro ordenamento espacial ao longo das direções X e Y do eixo cartesiano. Também afirmamos que esse processo de alinhamento é imprescindível na estabilização e manutenção da membrana polipeptídica. Quanto às razões que fundamentam tal alinhamento, encontram-se as interações energéticas e as ligações de hidrogênio estabelecidas entre os peptídeos. Acerca das interações energéticas, estas serão apreciadas em outra seção deste capítulo, enquanto que, nesta seção, avaliaremos as interações provenientes das LH.

Para procedermos à referida análise, os números médios das ligações de hidrogênio (LHs) firmadas entre os constituintes membranares são mostrados nas Tabelas (3.4) e (3.5), para as estruturas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$, respectivamente. Para as estruturas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$ [$(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$], os números médios de LHs entre os peptídeos são de 7,8, 8,2 e 8,3 [6,0, 5,8 e 6,8], respectivamente.

À vista disso, cerca de 55,4-56,4% [57,3-65,5%] representam ligações entre os esqueletos de alaninas [leucinas], enquanto que, aproximadamente, 0,0-15,8% [3,3-27,9%] correspondem à quantidade de LHs estabelecidas entre as "cabeças" eletricamente carregadas dos monômeros. Como pode ser observado na Fig. (3.10), há uma direção preferencial para a organização das LHs. Esse fato dispõe que as estruturas simuladas passam a se organizar na forma de lâminas peptídicas emparelhadas.

Ligações de Hidrogênio	$(A_6D)_{90}$ [A_6D]	$(A_6K)_{90}$ [A_6K]	$(A_6R)_{90}$ [A_6R]
$A_6X - A_6X$	7,8 [0,0]	8,2 [0,0]	8,3 [0,0]
$A_6X - CHO$	0,7 [2,7]	0,2 [1,5]	0,2 [1,4]
$A_6X - GLI$	0,3 [9,8]	4,1 [12,8]	5,6 [14,5]
$ALA - ALA$	4,4 [0,0]	4,6 [0,0]	4,6 [0,0]
$ALA - X$	3,5 [0,0]	2,3 [0,0]	2,5 [0,0]
$X - X$	0,0 [0,0]	1,3 [0,0]	1,3 [0,0]
$ALA - CHO$	0,0 [0,7]	0,0 [0,6]	0,0 [0,5]
$X - CHO$	0,7 [2,0]	0,2 [0,9]	0,2 [0,9]
$ALA - GLI$	0,2 [8,9]	1,5 [9,0]	1,3 [8,7]
$X - GLI$	0,1 [0,9]	2,6 [3,8]	4,3 [5,8]

Tabela 3.4: Número médio de ligações de hidrogênio (LH) para as moléculas A_6X nas configurações membranas [monômeros] quando estas estão envoltas por uma solução iônica de [CHO][GLY]. O valor foi calculado por número de peptídeo presente na membrana.

Ligações de Hidrogênio	$(L_6D)_{60}$ [L_6D]	$(L_6K)_{60}$ [L_6K]	$(L_6R)_{60}$ [L_6R]
$L_6X - L_6X$	6,0 [0,0]	5,8 [0,1]	6,8 [0,0]
$L_6X - CHO$	1,1 [2,3]	0,5 [1,6]	0,4 [1,7]
$L_6X - GLI$	1,7 [9,2]	5,0 [12,0]	5,8 [15,5]
$LEU - LEU$	3,5 [0,0]	3,8 [0,0]	3,9 [0,0]
$LEU - X$	2,3 [0,0]	0,8 [0,0]	1,0 [0,0]
$X - X$	0,2 [0,0]	1,2 [0,0]	1,9 [0,0]
$LEU - CHO$	0,1 [0,4]	0,1 [0,5]	0,1 [0,6]
$X - CHO$	0,9 [1,8]	0,3 [1,1]	0,3 [1,0]
$LEU - GLI$	1,3 [8,4]	0,2 [8,0]	1,7 [9,0]
$X - GLI$	1,3 [8,4]	3,0 [4,0]	4,1 [6,4]

Tabela 3.5: Número médio de ligações de hidrogênio (LH) para as moléculas L_6X nas configurações membranas [monômeros] quando estas estão envoltas por uma solução iônica de [CHO][GLY]. O valor foi calculado por número de peptídeo presente na membrana.

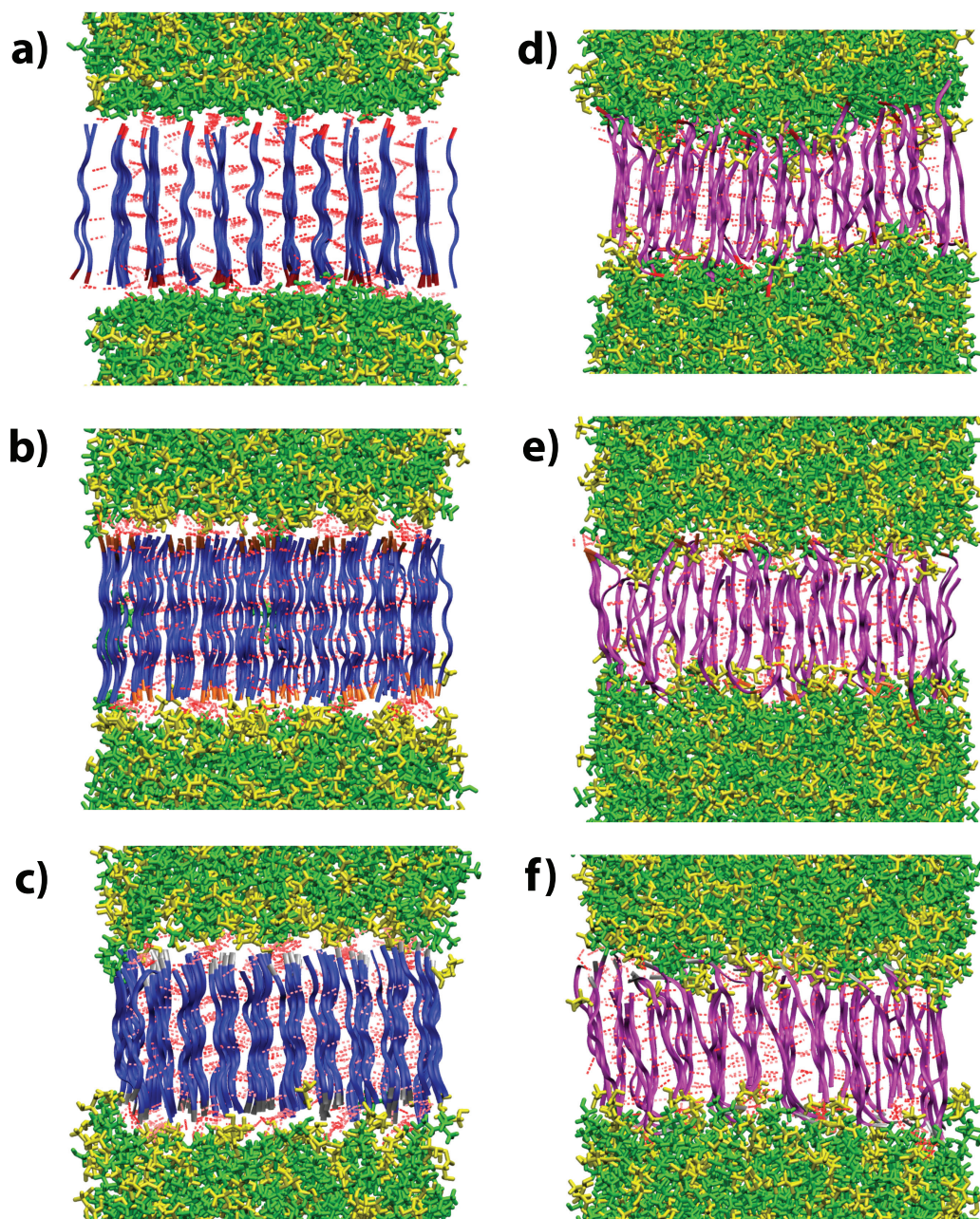


Figura 3.10: Representação das Ligações de Hidrogênio (LH) para a) $(A_6D)_{90}$, b) $(A_6K)_{90}$, c) $(A_6R)_{90}$, d) $(L_6D)_{60}$, e) $(L_6K)_{60}$ e f) $(L_6R)_{60}$. As ligações de hidrogênio estão representadas em pontos vermelhos.

O número médio de LHs existentes entre os polipeptídeos e os íons do LI mostram que a colina (CHO) possui baixa interação com os aminoácidos. Assim, apontamos que os compostos membranares $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$ [$(L_6D)_{60}$, $(L_6K)_{60}$ e $(L_6R)_{60}$] têm valores da ordem de 0,2 e 0,7 [0,4 e 1,1], respectivamente, para as LHs entre $(A_6X)_{90}$ [$(L_6X)_{60}$] e a colina (CHO). Esses valores são significativamente reduzidos, quando comparamos com aqueles associados às ligações existentes entre o monômero em LI, cujos resultados são ordem de 1,4 e 2,7 [1,6 e 2,3].

Em contrapartida, observamos que, para o caso da glicina (GLY), formou-se um elevado número de LHs entre esses íons e os polipeptídeos na membrana. Nesse contexto, os valores identificados para os números médios de LHs são da ordem de 0,3-5,6 [1,7-5,8], sendo que, dessas ligações, a maioria ocorreu entre os íons e as cabeças carregadas dos monômeros situados nas superfícies membranares. Dessarte, a maioria das interações existentes entre os monômeros com os íons foram substituídas por ligações entre os polipeptídeos na membrana. Essas interações contribuíram de maneira efetiva para o processo de auto-organização e estabilidade estrutural das membranas simuladas.

No mais, podemos também observar que as membranas interagem com o LI próximo à superfície e, desse modo, essa interação elétrica tem impactado no mecanismo de compressão membranar. Conclui-se que as interações existentes entre os polipeptídeos membranares, bem como a compressão ocasionada pelo LI são fatores que conduzem ao processo de organização espacial dos peptídeos nas membranas. Sobre as interações mantidas entre os monômeros polipeptídicos, a Fig. (3.11) ilustra uma representação das LHs existentes em uma membrana de $(A_6D)_{90}$. Nessa figura, indicamos os respectivos pares Doadores/Receptores.

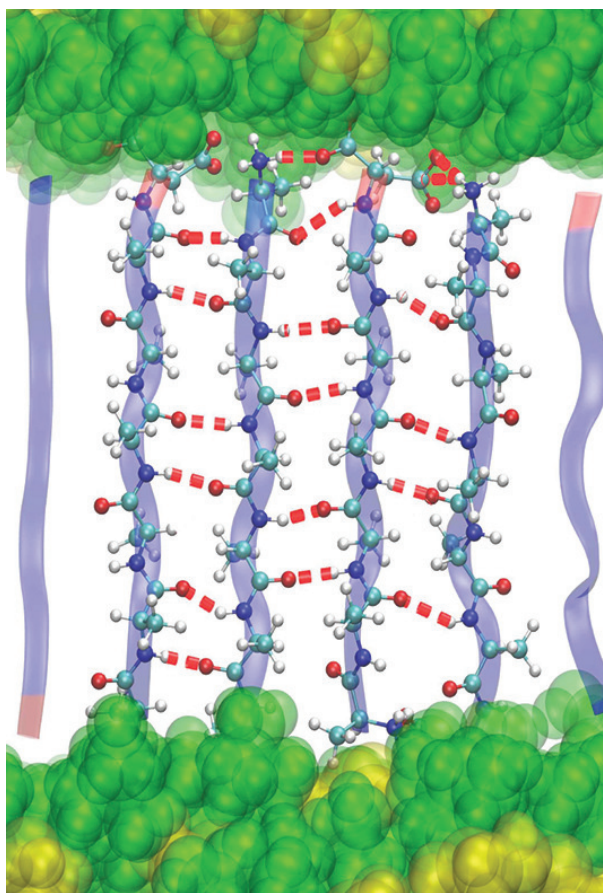


Figura 3.11: Representação das LHs existentes entre os peptídeos que compõem a estrutura $(A_6D)_{90}$. Os átomos de nitrogênio, oxigênio, carbono e hidrogênio foram apresentados nas cores azul, vermelho, ciano e branco, respectivamente. O LI está retratado em verde-amarelo.

Função Autocorrelação para as ligações de hidrogênio

A função autocorrelação, função $C(t)$, responsável por descrever a dinâmica dos processos de relaxação das LHs, corresponde à probabilidade de uma ligação de hidrogênio, definida em um tempo $t = 0$, também existir em um tempo $t > 0$. Calculamos o valor de $C(t)$ para os seguintes casos: LHs existentes entre os peptídeos membranares, entre os peptídeos e o LI, bem como entre os monômeros solvatados no LI. Ambos os resultados foram alcançados mediante a utilização da metodologia proposta por Luzar e Chandler [185, 186] com os seguintes critérios geométricos: distância entre oxigênio-oxigênio ou entre oxigênio-nitrogênio não maiores que $0,35 \text{ nm}$ e o ângulo de LHs inferior a 30° .

Os resultados obtidos para os valores de $C(t)$ estão descritos nas Figs. (3.12) e (3.13). Avaliando esses resultados, temos que a função $C(t)$, referente às interações firmadas entre peptídeos membranares, Fig. (3.12.a), apresenta menor taxa de decaimento para as estruturas $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$ quando comparamos com os valores de $(A_6D)_{90}$. Isso indica que, durante as simulações, a qualidade das ligações de hidrogênio mantém-se em maior concentração para as membranas com cabeças polares compostas por K e R em comparação com as membranas constituídas pelo grupo polar D .

De outra parte, as análises dos resultados identificados para as membranas $(L_6X)_{60}$ apontam que os valores para a função $C(t)$, Fig. (3.12.b), apresentam comportamentos mais similares entre si. Além do mais, podemos afirmar que, entre as estruturas $(L_6X)_{60}$, aquela que dispõe de um maior tempo de vida é relativa às interações entre os monômeros L_6K - L_6K .

Sobre as ligações de hidrogênio mantidas entre as membranas e o LI, vemos que estas sofrem um expressivo decaimento, Fig. (3.12.c-d). Por conseguinte, o comportamento de $C(t)$, para as ligações $(A_6X)_{90}\dots\text{LI}$ e $(L_6X)_{60}\dots\text{LI}$, apresenta um decaimento mais acentuado do que aquele observado para as interações polipeptídeos-polipeptídeos. Sobre essa temática, constata-se que as membranas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$ possuem comportamento análogo para o tempo de vida das LHs entre membrana-LI, para $X = K$ e R . No entanto, para $X = D$, temos a estimativa de um menor tempo de vida para as interações A_6D -LI e L_6D -LI.

Justificamos esse comportamento anômalo, relativo ao caso da terminação em D , quando identificamos a existência de um menor número de LHs entre essa terminação e os íons constituintes do LI, consoante apresentado na Tabela (3.4). Outra consequência decorrente desse acentuado decaimento é uma maior mobilidade para o LI na superfície da membrana. Logo, ao avaliarmos o aumento da mobilidade encontrada para as membranas construídas à base do ácido aspártico, notamos que esse aumento garante a formação de uma superfície menos ondulada para os compostos com terminações D do que para aquelas com terminações K e R . Tal avaliação pode ser identificada nos mapas de superfície dispostos na Fig. (3.8).

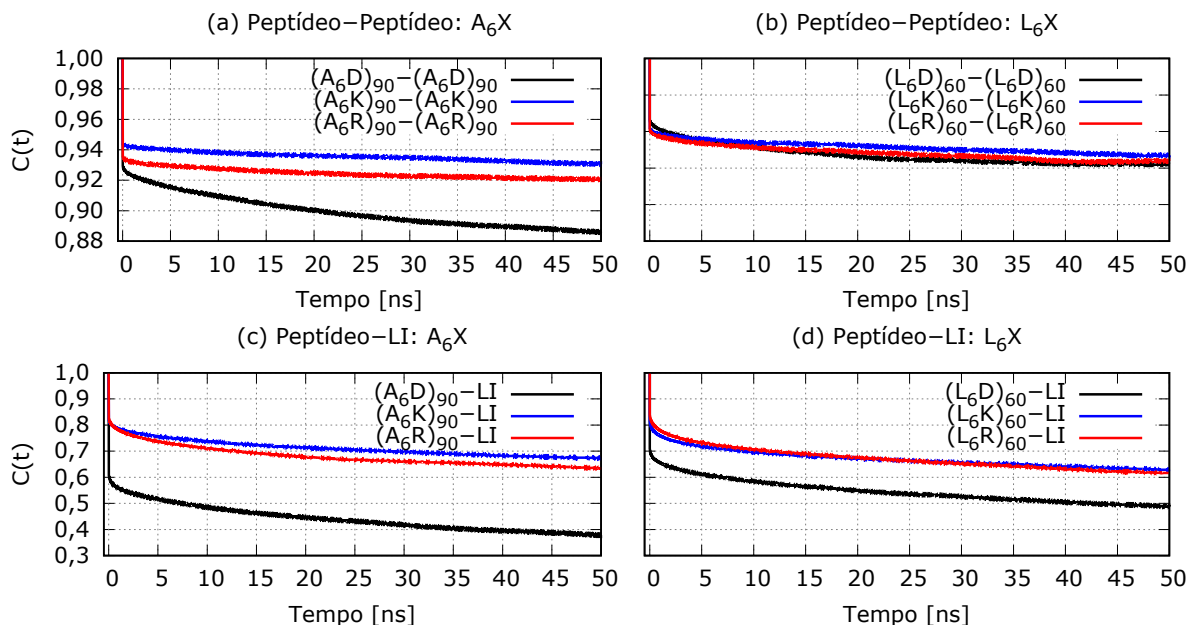


Figura 3.12: Função autocorrelação, $C(t)$, para as LHM: (a)-(b) Peptídeo-Peptídeo, (c)-(d) Peptídeo-LI. Análise realizada para as estruturas membranares em LI.

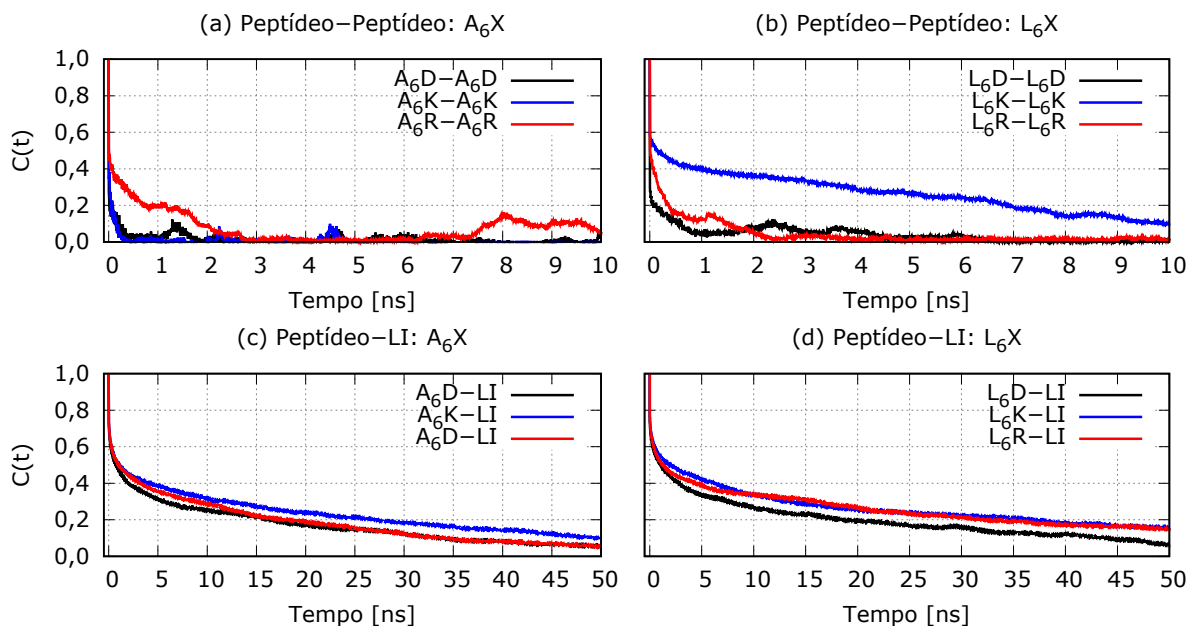


Figura 3.13: Função autocorrelação, $C(t)$, para as LHM: (a)-(b) Peptídeo-Peptídeo, (c)-(d) Peptídeo-LI. Análise realizada para os monômeros em LI.

As Figs. (3.13.a-b) mostram o comportamento de $C(t)$ para os LHM estabelecidas entre os monômeros solvatados no LI. À vista disso, notamos que essas ligações intramoleculares apresentam um rápido decaimento de $C(t)$, o que indica um pequeno tempo de vida para esse tipo de ligação nos monômeros. Esse alto decaimento observado para as LHM do monômero aponta que este não possui uma tendência em se enrolar e, dessa forma, não há a formação de estrutura tipicamente α -hélice.

Seguindo com os resultados expostos na Fig. (3.13.b), temos que as oscilações dispostas nas curvas de autocorrelação indicam uma possível configuração estrutural do monômero de modo a favorecer a formação das ligações de hidrogênio em algum momento das simulações. Além disso, notamos que apenas as interações L_6K-L_6K apresentam um decaimento mais brando quando comparados com os outros monômeros.

Esse resultado aproxima-se daquele exposto na Fig. (3.12.b), demonstrando um comportamento padrão para estruturas compostas pelo aminoácido K . Em última análise, as Figs. (3.13.c-d) mostram as interações entre os monômeros A_6X e L_6X com o LI. Essas avaliações atestam um rápido decaimento de $C(t)$, sendo mais acentuado que aqueles observado para as interações membrana-LI. Dessa análise, conclui-se que o tempo de vida das LHs entre os peptídeos e o LI são menores para os monômeros em solução do que os observados para as membranas em solução.

Análise energética

Reservaremos esta seção para avaliarmos o comportamento das interações energéticas que ocorreram nas membranas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$. Dessa forma, em um primeiro momento, apresentaremos as contribuições energéticas de Coulomb e, logo em sequência, as interações de Van der Waals (*vdW*).

Acerca das interações de Coulomb, dispomos, nas Tabelas (3.6) e (3.7), os valores médios para as energias de interação entre as estruturas A_6X e L_6X ($X = D, K$ e R), tanto para o monômero isolado no LI, quanto organizados na disposição membranar.

Energia de Coulomb	A_6D	$(A_6D)_{90}$	A_6K	$(A_6K)_{90}$	A_6R	$(A_6R)_{90}$
$A_6X - A_6X$	-2530,8	-3050,7	-2471,7	-2899,3	-1607,4	-1999,4
$A_6X - CHO$	-533,0	-198,3	-188,2	6,2	-160,1	20,1
$A_6X - GLY$	-533,0	-6,4	-794,0	-297,0	-796,8	-327,0
$ALA - ALA$	-1759,4	-1878,3	-1722,5	-1897,3	-1747,8	-1891,3
$ALA - X$	-163,7	-559,6	-200,6	-311,8	-185,0	-346,2
$X - X$	-607,7	-612,8	-548,6	-690,3	325,4	238,1
$ALA - CHO$	-1,0	60,3	-11,7	10,8	-8,9	11,5
$X - CHO$	-532,0	-258,6	-176,5	-4,6	-151,2	8,6
$X - GLY$	21,6	11,6	-308,2	-159,2	-329,6	-212,5
$ALA - GLY$	-477,9	-18,0	-485,8	-137,8	-467,2	-114,6

Tabela 3.6: Energia de Coulomb média para as estruturas A_6X (em kJ/mol) obtidas para os monômeros e nanomembrana polipeptídeos quando estes estão na presença da solução iônica de colina/glicina, $[CHO][GLY]$. Os resultados para as membranas foram determinados por número de polipeptídeos que compõem cada estrutura.

Energia de Coulomb	L_6D	$(L_6D)_{60}$	L_6K	$(L_6K)_{60}$	L_6R	$(L_6R)_{60}$
$L_6X - L_6X$	-1957,6	-2311,9	-1912,9	-2239,0	-982,3	-1362,1
$L_6X - CHO$	-529,4	-257,1	-167,7	-18,7	-130,9	-2,4
$L_6X - GLY$	-478,3	-71,0	-773,9	-336,6	-849,7	-335,0
$LEU - LEU$	-1201,3	-1255,3	-1199,0	-1303,0	-1180,7	-1299,6
$LEU - X$	-143,7	-453,8	-167,3	-262,6	-160,8	-279,4
$X - X$	-612,7	-602,9	-546,6	-673,5	359,3	216,9
$LEU - CHO$	6,4	22,3	21,4	8,1	24,4	2,3
$X - CHO$	-535,8	-279,4	-189,1	-26,8	-155,2	-4,6
$X - GLY$	21,1	19,5	-302,8	-185,4	-334,4	-204,8
$LEU - GLY$	-499,4	-90,6	-471,1	-151,3	-515,2	-130,2

Tabela 3.7: Energia de Coulomb média para as estruturas L_6X (em kJ/mol) obtidas para os monômeros e nanomembrana polipeptídicos quando estes estão na presença da solução iônica de colina/glicina, $[CHO][GLY]$. Os resultados para as membranas foram determinados por número de polipeptídicos que compõem cada estrutura.

Segundo os resultados apresentados nas Tabelas (3.6) e (3.7), quando comparamos as energias de Coulomb existentes entre os termos $E_{c(A_6X-A_6X)}$ e $E_{c(L_6X-L_6X)}$, tem-se que as estruturas compostas por alanina (A) apresentam valores de E_c mais elevados do que aqueles observados para a estrutura composta por leucina (L). Ao examinarmos os resultados energéticos dos monômeros ($A_6X - A_6X$) e ($L_6X - L_6X$), confrontando-os com os provenientes da estrutura membranar, nota-se que há um aumento da interação de Coulomb quando os monômeros se organizam em estruturas nanomembranares. Esses resultados indicam que o aumento da interação de Coulomb entre os pares ($A_6X - A_6X$) e ($L_6X - L_6X$) contribui no processo de estabilização da membrana. Outras análises indicam que os valores de E_c , para as configurações $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$, mostram intensidades decrescentes para as interações coulombianas $E_{c(A_6X-A_6X)}$ e $E_{c(L_6X-L_6X)}$ de modo que temos $E_{c(X=D)} > E_{c(X=K)} > E_{c(X=R)}$, cujas diferenças percentuais entre os valores das interações elétricas dos monômeros ($A_6X - A_6X$) e ($L_6X - L_6X$) estão entre 23 – 32% .

Constatamos que os valores determinados para as energias de interação entre os aminoácidos $E_{c(ALA-ALA)}$ [$E_{c(LEU-LEU)}$], quando comparados com os resultados entre $E_{c(ALA-X)}$ [$E_{c(LEU-X)}$], apresentam valores cerca de 3,4 – 6,1 [2,8 – 5,0] mais elevados. Esses resultados mostram que existe uma prevalência das interações elétricas entre os termos ($ALA - ALA$) e ($LEU - LEU$) quando comparados com os termos ($ALA - X$) e ($LEU - X$). Nesse âmbito, as interações preferenciais são estabelecidas entre as caldas apolares e as cabeças polares dos peptídeos. Tal resultado demonstra o elevado grau de interação e, conseqüentemente, um acentuado grau de ordenação entre os peptídeos dispostos na estrutura membranar.

Apesar do predomínio energético exposto, as interações existentes entre os aminoácidos ($ALA - X$) e ($LEU - X$) desempenham um papel central no processo de estabilização membranar. Chegamos a essa conclusão analisando os valores das interações de Coulomb entre os grupos ($ALA - X$) e ($LEU - X$) em dois momentos distintos: o primeiro deles, quando o monômero encontra-se isolado no LI, e o segundo, tratando-se da organização membranar. Logo, verificamos que as interações entre os aminoácidos ($ALA - X$) e ($LEU - X$), quando em monômero no LI, apresentam valores compreendidos entre -163,7; -200,6 kJ/mol para os termos ($ALA - X$) e -143,7; -167,3 kJ/mol para ($LEU - X$), passando a assumir valores entre -311,8; -559,6 kJ/mol para ($ALA - X$) e -262,6; -453,8 kJ/mol para a ($LEU - X$), quando em membrana.

Portanto, concluímos que, ao dispor os monômeros na forma de nanomembranas, há um aumento considerável entre as interações elétricas mantidas entre os esqueletos alanina e leucina com os grupos residuais laterais, contribuindo com o processo de estabilidade membranar e caracterizando a membrana laminar. No mais, essa interação se dá, basicamente, entre a cabeça polar de um monômero com a calda apolar do monômero adjacente, criando um vínculo energético que impede a desordem dos esqueletos compostos pelos aminoácidos (ALA/LEU) nas lâminas empilhadas que estruturam a membrana. Além disso, essa interação ocorre na superfície da membrana, impedindo a infiltração do LI, cuja consequência seria a produção de impactos estruturais.

Inferimos que, para as membranas $(A_6X)_{90}$ [$(L_6X)_{60}$], com $X = D$ e K , os valores das energias $E_{c(X-X)}$ firmadas entre os aminoácidos são iguais a -613 e -690 [-603 e -674] kJ/mol. Por outro lado, para o caso de $X = R$, os valores de $E_{c(X-X)}$ estão compreendidos entre 238 e 217 kJ/mol para as membranas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$, respectivamente. Quanto às membranas formadas por $X = D$ e K , conclui-se que as interações do tipo $(X - X)$ colaboram para o processo de estabilização da membrana. Em contrapartida, para as membranas formadas pelo resíduo $X = R$, verifica-se que as interações estabelecidas na superfície membranar colaboram para o processo de instabilidade membranar. Contudo, mesmo em virtude desse comportamento energeticamente desfavorável presente na superfície da membrana, ressaltamos que as energias de interação entre os esqueletos alanina e leucina e entre os grupos ($ALA - X$) e ($LEU - X$) são predominantes, cuja consequência é a manutenção da nanoestrutura coesa, energeticamente estável e com grande ordenação.

Feita essa descrição sobre as interações energéticas de Coulomb, passemos às considerações acerca dos resultados obtidos para as interações de Lennard-Jones (LJ). Nesse contexto, tais resultados encontram-se dispostos nas Tabelas (3.8) e (3.9). Para uma apropriada comparação energética, os valores médios das energias foram determinados por número de polipeptídeos na membrana. De mesmo modo, os valores energéticos médios associados aos correspondentes monômeros imersos no LI também são mostrados para efeito de comparação.

Energia LJ	A_6D	$(A_6D)_{90}$	A_6K	$(A_6K)_{90}$	A_6R	$(A_6R)_{90}$
$A_6X - A_6X$	-35,5	-132,4	-40,5	-149,6	-41,8	-156,4
$A_6X - CHO$	-202,6	-33,3	-205,8	-19,4	-211,9	-27,2
$A_6X - GLY$	-92,7	-3,4	-89,5	-13,0	-98,7	-15,6
$ALA - ALA$	-26,1	-126,5	-24,6	-130,6	-27,2	-129,0
$ALA - X$	-7,6	2,2	-12,4	-21,2	-9,7	-21,0
$X - X$	-1,8	-0,4	-3,4	2,3	-4,9	-6,5
$ALA - CHO$	-164,5	-15,5	-159,9	-5,8	-148,6	-5,2
$X - CHO$	-38,0	-17,7	-45,8	-13,6	-63,3	-22,5
$X - GLY$	-13,3	-3,0	-11,0	-13,5	-13,8	-14,0
$ALA - GLY$	-79,4	-0,4	-78,5	0,5	-84,9	-1,6

Tabela 3.8: Médias dos valores referentes às energias de interação de Lennard-Jones (em kJ/mol) para os compostos A_6X nas disposições monoméricas e membranares quando estas estão na presença do LI colina/glicina. Resultados estão expressos por polipeptídeo.

Energia LJ	L_6D	$(L_6D)_{60}$	L_6K	$(L_6K)_{60}$	L_6R	$(L_6R)_{60}$
$L_6X - L_6X$	-82,4	-201,7	-89,9	-209,8	-82,1	-222,0
$L_6X - CHO$	-260,4	-72,9	-259,8	-58,6	-249,4	-61,2
$L_6X - GLY$	-157,7	-35,0	-153,5	-47,1	-156,6	-45,4
$LEU - LEU$	-71,1	-193,0	-73,8	-193,9	-68,2	-197,6
$LEU - X$	-9,4	-9,4	-12,6	-21,1	-8,4	-26,2
$X - X$	-1,9	0,7	-3,4	5,1	-5,4	1,8
$LEU - CHO$	-223,3	-49,9	-214,8	-30,1	-230,6	-26,1
$X - CHO$	-37,1	-23,0	-44,9	-28,5	-63,9	-35,1
$X - GLY$	-12,5	-8,1	-8,3	-12,9	-14,1	-13,8
$LEU - GLY$	-145,1	-26,9	-145,2	-34,1	-142,4	-31,6

Tabela 3.9: Médias dos valores referentes às energias de interação de Lennard-Jones (em kJ/mol) para os compostos L_6X nas disposições monoméricas e membranares quando estas estão na presença do LI colina/glicina. Resultados estão expressos por polipeptídeo.

As interações entre as estruturas ($A_6X - A_6X$) possuem energia de Lennard-Jones iguais a -35,5; -40,5; -41,8 kJ/mol (monômero em LI) e -132,4; -149,6; -156,4 kJ/mol (membrana em LI), para as estruturas $(A_6D)_{90}$, $(A_6K)_{90}$ e $(A_6R)_{90}$, respectivamente. Para $(L_6X - L_6X)$, os monômeros em LI apresentam energias iguais a -82,4; -89,9; -82,1 kJ/mol e, quando na forma membranares, as energias são -201,7; -209,8; -222,0 kJ/mol para $X=D$, K e R , nessa devida ordem.

Diante disso, observa-se que a organização dos monômeros peptídeos na forma membranar promove o aumento da energia de LJ ou vdW entre os constituintes ($A_6X - A_6X$) e ($L_6X - L_6X$), resultando em um aumento de estabilidade membranar. Para as interações entre os aminoácidos ($A_6X - A_6X$), os valores encontrados para a energia de Lennard-Jones, quando na forma membranar, são superiores, aproximadamente, 3,7 vezes àqueles encontrados para o monômero isolado em LI. Tratando-se das interações ($L_6X - L_6X$), tem-se que a organização na forma de membranas peptídicas promove um aumento no valor da energia vdW em torno de 2,5 vezes, quando comparado com o monômero isolado em LI.

Sobre as interações entre os aminoácidos ($ALA - ALA$) [$LEU - LEU$], as membranas (A_6X)₉₀ [(L_6X) ₆₀] apresentam energias iguais a -126,5; -130,6; -129,0 [-193,0; -193,9; -197,6] kJ/mol, para $X=D$, K e R , respectivamente, ao passo que os monômeros em LI possuem energias iguais a -26,1; -24,6; -27,2 [-71,1; -73,8; -68,2] kJ/mol, $X=D$, K e R . Vê-se, desse modo, que há um acréscimo energético para a interação vdW envolvendo ($ALA - ALA$) e ($LEU - LEU$), presentes na formação das membranas, colaborando com que estas mantenham-se íntegras. Quanto ao aumento energético observado para os peptídeos ($ALA - ALA$), há um acréscimo de 4,9 vezes, $X=D$, K e R , enquanto que para as interações entre os grupos ($LEU - LEU$), os aumentos energéticos encontrados estão próximos de 2,7 vezes, $X=D$, K e R .

Em última análise, comparando as interações entre os aminoácidos do esqueleto apolar ($ALA - ALA$) e ($LEU - LEU$) com as interações vdw entre os grupos polares ($X - X$), ambos definidos sobre a membrana, constatamos que as interações do grupo apolar são cerca de 316,5; 56,8; 19,8 [275,8; 38,1; 109,8] vezes maior para as membranas (A_6X)₉₀ [(L_6X) ₆₀], com $X=D$, K e R , respectivamente. Isso indica que há um aumento considerável das interações existentes entre os aminoácidos apolares. Tal fato tem como consequência a manutenção da estabilidade da membrana durante as diversas etapas das simulações computacionais.

Extração de monômeros

O Objetivo dessa seção consiste em efetuarmos uma análise energética e estrutural dos resultados obtidos durante as diversas etapas associadas à extração de um único monômero peptídico pré-selecionado. Logo, expomos, nas Figs. (3.14) e (3.15), a dinâmica de extração dos monômeros A_6D e L_6D , respectivamente. Para efetuarmos tal avaliação, realizamos um total de 200 extrações utilizando a técnica *umbrella sampling*, como implementado no GROMACS [173]. Nota-se que a membrana encontra-se deslocada da posição central, passando a ocupar a região à esquerda da caixa de simulação. Assim procedemos para que o monômero possa ter espaço suficiente para se desprender por completo da estrutura membranar.

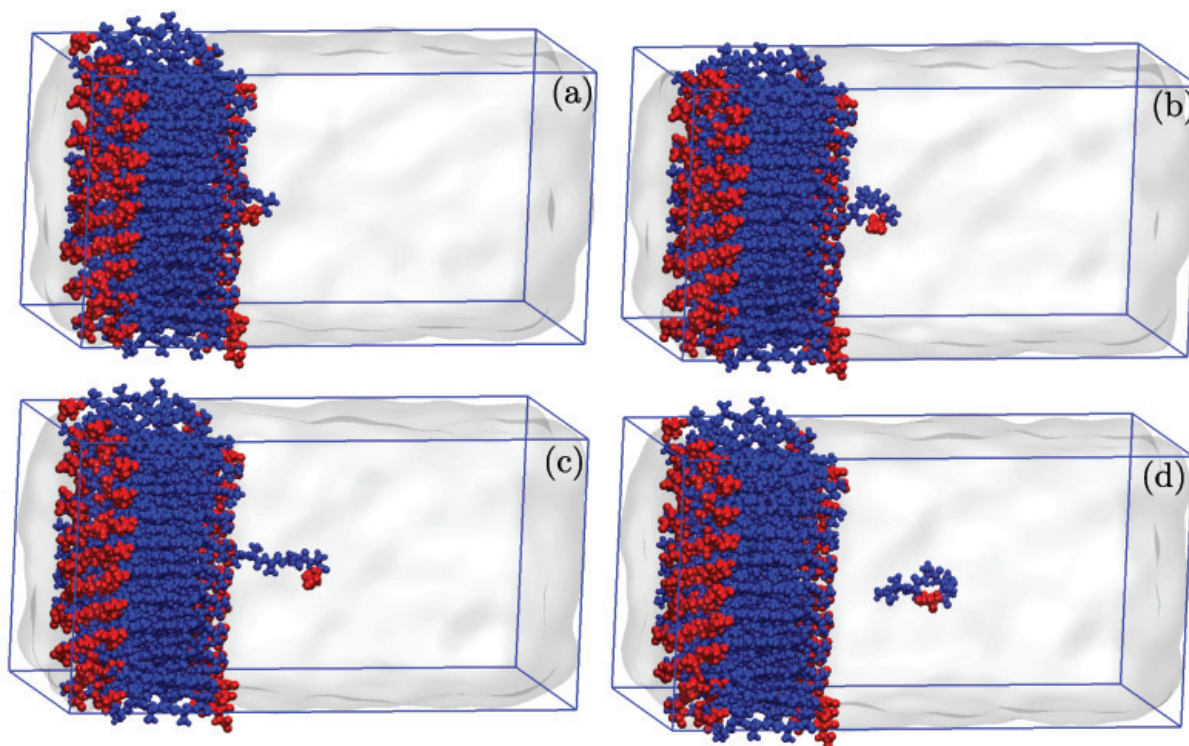


Figura 3.14: Extração da molécula A_6D a partir da estrutura membranar $(A_6D)_{90}$. A dinâmica de extração tem origem na Fig. (a), situação inicial, findando a remoção no quadro (d).

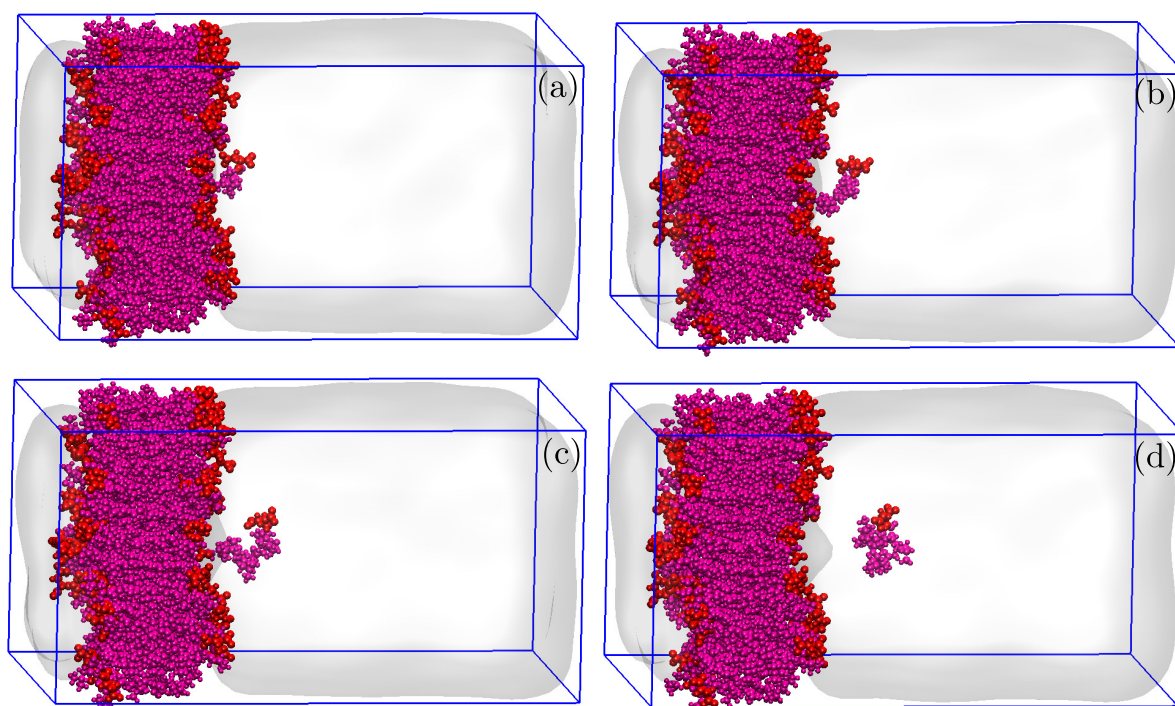


Figura 3.15: Extração da molécula L_6D a partir da estrutura membranar $(L_6D)_{60}$. A dinâmica de extração tem origem na Fig. (a), situação inicial, findando a remoção no quadro (d).

Os resultados para as forças médias necessárias para a extração de um único peptídeo, bem como os respectivos desvios-padrão estão representados nas Figs. (3.16) e (3.17). A Fig. (3.16) retrata as membranas $(A_6X)_{90}$, ao passo que a Fig. (3.17) corresponde às membranas $(L_6X)_{60}$. Logo, concluímos dos resultados que, em geral, os valores das forças apresentam um crescimento parcialmente constante até o momento em que os monômeros são extraídos da superfície membranar. A partir de então, os aminoácidos interagem com o LI e, conseqüentemente, as forças sofrem ligeiras flutuações em torno de seus valores médios.

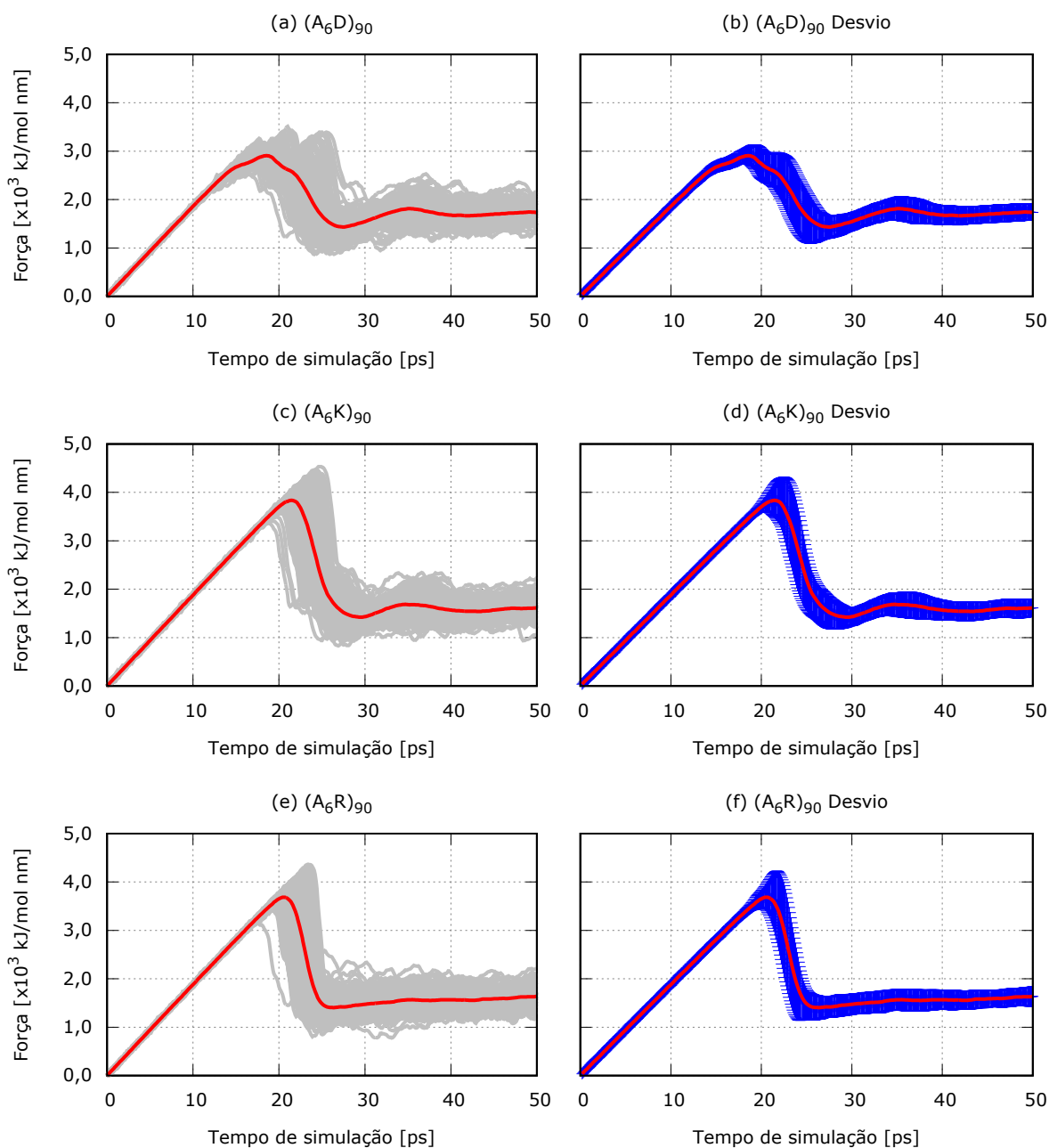


Figura 3.16: Forças médias requeridas para as extrações dos monômeros A_6X a partir das membranas (Linha vermelha) e os respectivos desvios-padrão (Linha azul).

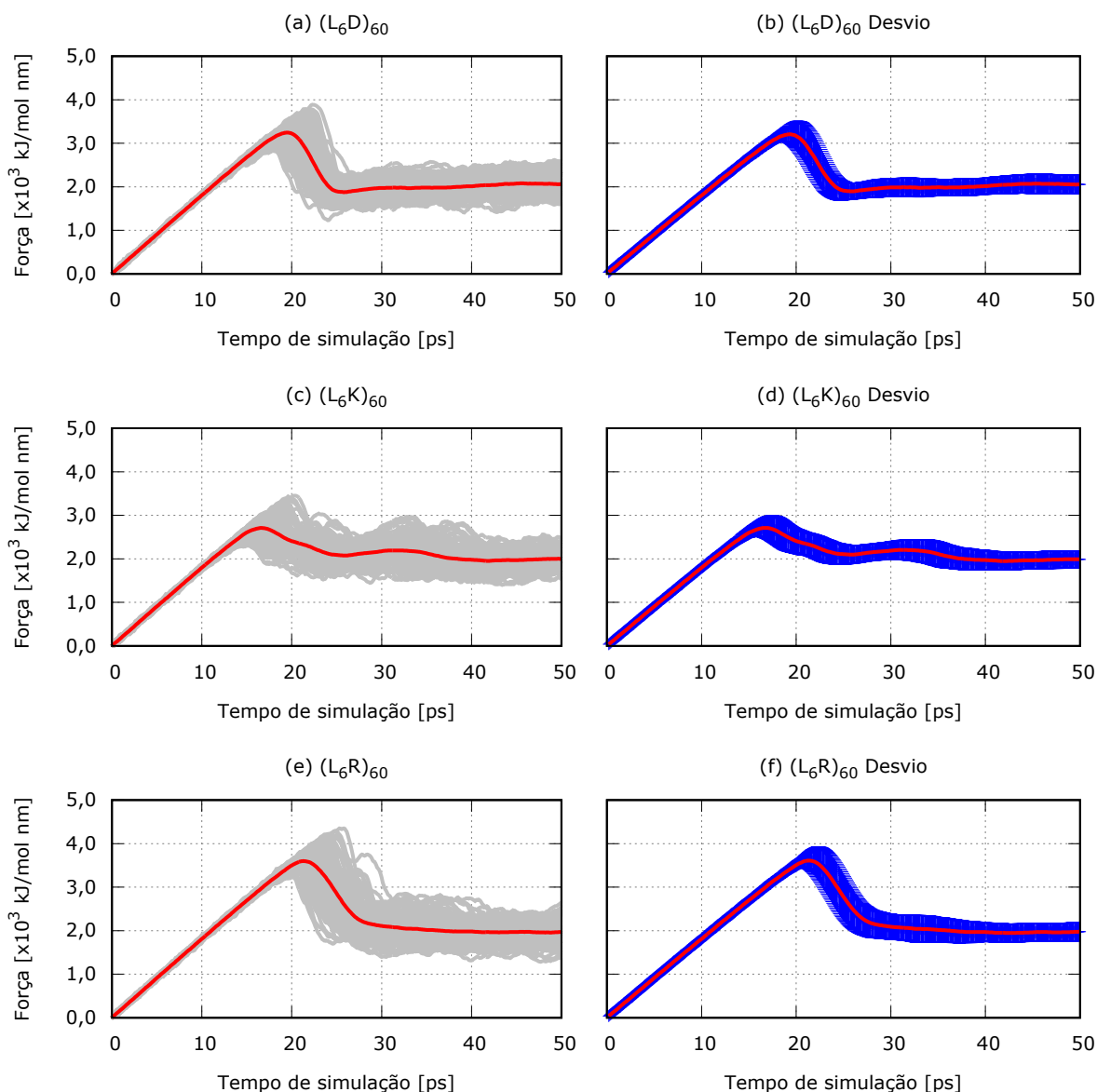


Figura 3.17: Forças médias requeridas para as extrações dos monômeros L_6X a partir das membranas (Linha vermelha) e os respectivos desvios-padrão (Linha azul).

Seguindo com as análises, podemos concluir que a força máxima requerida para a extração do monômero varia conforme a cabeça polar que o constitui. Nossas observações indicam que, para as estruturas $(A_6X)_{90}$, os valores relativos às forças estão entre 2.9 e 3.8×10^3 kJ/mol nm, enquanto que os compostos $(L_6X)_{60}$ apresentaram valores estabelecidos entre $2,8$ e $3,7 \times 10^3$ kJ/mol nm.

Os diferentes valores relacionados às forças de extração dos monômeros A_6X e L_6X eram esperados em decorrência de que as interações entre os aminoácidos alanina (A) são maiores que aquelas observados para a leucina (L), assim como exposto nas análises anteriores (LH e energia). Esses resultados respaldam o comportamento mais estável das estruturas compostas por alanina, quando estas são comparadas às membranas nas quais os monômeros são constituídos à base de leucina.

Para as membranas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$, as extrações ocorrem por volta de 20 ps e as resistências superficiais presentes no momento da remoção são diferentes entre as membranas. Constatamos ainda que, para os compostos $(A_6X)_{90}$, há uma queda acentuada nos valores das forças de extração a partir do momento em que os monômeros ficam imersos pelo LI, exceto a extração efetuada em $(A_6D)_{90}$. Portanto, verificamos que, entre as estruturas analisada, a extração dos monômeros na membrana $(A_6D)_{90}$ apresenta um tempo de interação mais longo, cerca de 5-10 ps a mais, quando comparados com as outras membranas. Tal comportamento observado para a membrana $(A_6D)_{90}$ pode ser entendido como consequência do elevado número de ligação de hidrogênio que os monômeros A_6D mantêm entre si, bem como fruto dos elevados valores para as interações coulombianas mantidas entre os pares $A_6D - A_6D$, em relação às demais membranas $(A_6X)_{90}$.

Em [187], Proença *et al* conduziram um estudo investigativo caracterizando o comportamento da membrana A_6R em água. Nesse trabalho, reportou-se que a força máxima para a extração das moléculas peptídicas estava por volta de $2,2 \times 10^3$ kJ/mol nm, ao passo que nossas simulações, conduzidas em LI, apresentam valores máximos próximos a $3,5 \times 10^3$ kJ/mol nm. Identificamos, desse modo, que há uma diferença expressiva entre as forças máximas necessárias para a extração do monômero em cada uma das simulações. Posto isso, essa notável diferença na força de extração pode ser entendida como decorrência do aumento de compressibilidade exercida pelo LI sob a estrutura membranar.

Sobre as demais membranas em LI, as forças máximas necessárias para a extração são, aproximadamente, 2,9; $3,8 \times 10^3$ kJ/mol nm, para $(A_6X)_{90}$, com $X=D$ e K , e 3,4; 2,8; $3,7 \times 10^3$ kJ/mol, para $(L_6X)_{60}$, com $X=D$, K e R , respectivamente. Comparando esses resultados com a força máxima de extração em água, encontramos as seguintes análises: Quanto às membranas $(A_6X)_{90}$, houve um aumento de 31,8% e 72,7%, com $X=D$ e K , enquanto para as membranas $(L_6X)_{60}$, o aumento da força máxima foi de 54,5%; 27,3%; 68,2%, com $X=D$, K e R . Como parte final dessa seção, podemos constatar que a presença do LI tem a potencialidade de conceber estruturas membranares mais compactas e rígidas, cuja consequência é o aumento da força necessária para a execução da técnica de *pulling*.

Considerações finais sobre o capítulo

Neste capítulo, discorremos sobre o estudo energético e estrutural das membranas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$ quando estas estruturas estão imersas pelo LI. No que tange ao perfil densidade de massa, constatamos baixa concentração de LI no interior das membranas simuladas. Concluimos também que as membranas em LI são mais compactadas, com uma área de ocupação por peptídeo de 0,27-0,28 nm², para as membranas $(A_6X)_{90}$, e 0,53-0,55 nm², para as $(L_6X)_{60}$, em comparação com os resultados obtidos em água [187].

Sobre os resultados das ligações de hidrogênio, constatamos a existência de um forte alinhamento dessas interações entre os monômeros das membranas, sendo que o referido alinhamento participa de maneira efetiva no processo de estabilização estrutural da membrana. Conclui-se também que há uma direção preferencial para a organização das LHs, fato esse que caracteriza a organização membranar como lâminas peptídicas empilhadas.

As análises energéticas indicam que os aminoácidos ALA [LEU] apresentam elevadas interações com as cabeças polares dos monômeros adjacentes. Esse comportamento legitimam a baixa taxa de infiltração do LI no interior da membrana peptídica, além de também contribuir para o processo de estabilização membranar. Nota-se que as membranas $(A_6D)_{90}$ e $(L_6D)_{60}$ apresentam maiores interações de Coulmb entre os aminoácidos $A_6D - A_6D$ e $L_6D - L_6D$, com valores iguais a $-3057,7$ e $-2311,9$ kJ/mol, respectivamente, contribuindo para manter a membrana coesa. No mais, os valores energéticos citados foram determinados por número de peptídeos presentes na membrana.

Sobre o processo de extração dos monômeros na membrana, vale ressaltar que, entre membranas $(A_6X)_{90}$, o comportamento mais díspar foi aquele observado para a membrana $(A_6D)_{90}$. Além disso, atentamo-nos ao fato de que as membranas polipeptídicas apresentam elevada rigidez estrutural quando imersas no LI composto pelo par iônico [CHO][GLY]. Dessa forma, observamos a possibilidade de aplicação das membranas $(A_6X)_{90}$ e $(L_6X)_{60}$ na construção de eletrodos biodegradáveis para supercapacitores. Esta substituição de equipamentos relacionados ao armazenamento de energia por compostos biodegradáveis e bio-sustentáveis tem trazido um expressivo desenvolvimento para as áreas da biomedicina, físico-química entre outras [188].

Em resumo, as propriedades associadas às membranas peptídicas, tais quais, baixa taxa de infiltração, bio-sustentabilidade e biocompatibilidade são de especial interesse nas áreas biológicas em decorrência de suas diversas aplicabilidades [189, 190]. Nesse cenário, destacamos as aplicações envolvendo o armazenamento de energia, contexto esse no qual mudanças por dispositivos renováveis e sustentáveis trariam incontáveis benefícios para o meio ambiente, entre os quais, citamos o inerente à redução dos riscos relacionados ao descarte dessas estruturas após seu tempo de vida [191].

INTERAÇÕES ENTRE BICAMADAS DE DOPC/COLESTEROL E FULLERENO- C_{60}

Neste momento da tese, reportaremos um estudo embasado nos fundamentos da Dinâmica Molecular (DM) e em resultados experimentais com o objetivo de descrever a dinâmica de interação entre as moléculas do fullereno- C_{60} com membranas lipídicas, as quais são compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 10%, 20% e 30% de moléculas de colesterol. Portanto, conduzimos uma análise entre as energias necessárias para a retirada de uma molécula de DOPC ou colesterol da membrana lipídica e comparamos com a energia empregada durante inserção da molécula de fullereno- C_{60} , analisando, quantitativamente, esse processo. Essas análises embasaram-se nas diversas funcionalidades que as moléculas de fullereno- C_{60} demonstraram ter em variadas áreas científicas, tais quais, biologia, química, nanomedicina e farmacologia, conforme exposto no primeiro capítulo.

De todo modo, as avaliações dos resultados sugerem que há uma relação direta entre o número de moléculas de colesterol presente na membrana lipídica e a energia necessária para a execução da técnica de inserção da molécula de fullereno- C_{60} , de sorte que o aumento no número de moléculas de colesterol na membrana promove alterações nos valores da microviscosidade, cujo impacto é a diminuição da mobilidade das moléculas de DOPC e, por outro lado, o aumento da energia necessária para efetuar a inserção molecular. Outros resultados apontam que a área média ocupada por cada molécula de DOPC é reduzida à medida que as moléculas de colesterol são adicionadas às camadas lipídicas. Enfim, nas seções que se seguem, dispomos sobre os resultados e suas respectivas análises estatísticas.

Detalhes computacionais

Quanto aos aspectos computacionais relacionados às simulações deste capítulo, procedemos à interação entre o fullereno- C_{60} com as seguintes membranas biológicas: membrana pura formada por 128 monômeros de Dipalmitoilfosfatidilcolina (DOPC) e membranas DOPC's com proporções variáveis de 10%, 20% e 30% de moléculas de colesterol (CHOL). Nesse quadro, empregamos o formalismo da DM para ressaltar os aspectos estruturais, energéticos e termodinâmicos das membranas DOPC/CHOL quando estas interagem com as moléculas de fullereno- C_{60} .

A priori, vale ressaltar que, durante a etapa de produção do espaço de configurações, os valores, tanto da temperatura quanto da pressão, mantiveram-se constantes em 298 K e 1 atm, respectivamente. As estruturas iniciais dos compostos moleculares DOPC/CHOL foram obtidas na base de dados Joakim P. M. Jämbeck *et al* [192, 193]. Sendo assim, expomos na Fig. (4.1) as membranas utilizadas nas simulações em análises, enquanto que na Tabela (4.1) retratamos os detalhes de cada estrutura lipídica.

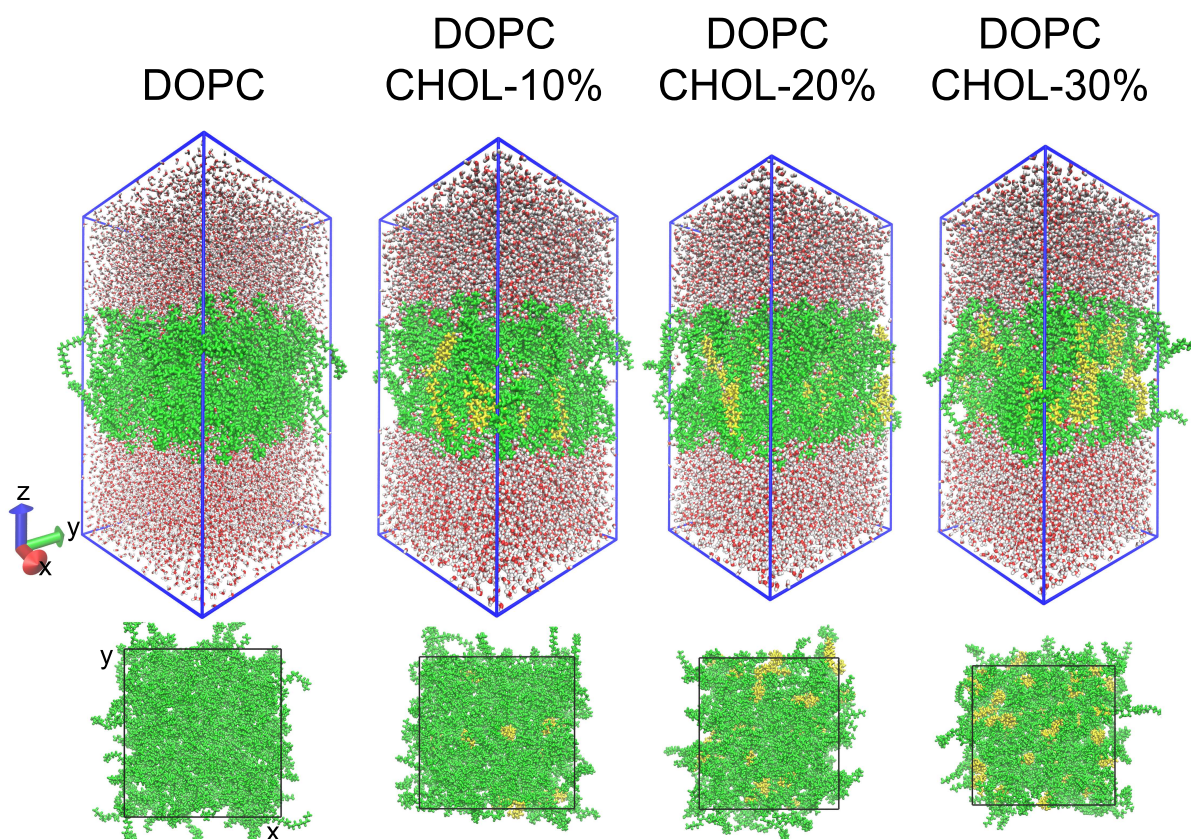


Figura 4.1: Caixas de simulação. Os lipídios DOPC's estão representados em verde, ao passo que as moléculas de colesterol estão destacadas em amarelo. As moléculas de água correspondem aos pontos vermelho/branco.

Sistema	Número de DOPCs	Colesterol (Moléculas; %)	Água (Moléculas)
DOPC	128	00 ; 00%	12.756
DOPC/CHOL-10%	116	12 ; 10%	10.872
DOPC/CHOL-20%	102	26 ; 20%	9.519
DOPC/CHOL-30%	90	38 ; 30%	8.929

Tabela 4.1: Composição dos sistemas DOPC/CHOL em água.

O processo de equilibração foi realizado com alternadas simulações nos *ensembles*: isovolumétrico-isotérmico (volume e temperatura constantes, denominando *ensemble* NvT) e isobárico-isotérmico (pressão e temperatura constantes, *ensemble* NpT). Descrevemos as moléculas de água usando o modelo TIP3P [194], enquanto que modelamos as moléculas de fullereno- C_{60} usando o campo de força Monticelli [195]. Os monômeros de lipídio e colesterol foram modelados pelo campo de força CHARMM36 [149]. Nesse conjuntura, realizamos simulações iniciais com tempos de 20–30 ns nos *ensembles* NvT/NpT, ao passo que, para a trajetória em equilíbrio termodinâmico, conduzimos uma simulação no *ensemble* NpT com um total de 100 ns, em que cada passo de integração assume o valor de 1 fs.

Com o objetivo de construir o espaço de configuração, os passos de integração foram salvos a cada 1 ps resultando em um total de 100.000 configurações, as quais foram usadas na determinação das médias estatísticas. As interações eletrostáticas existentes além de 1,2 nm foram realizadas com o auxílio do método de soma de Ewald (PME)[179]. Ademais, valores constantes da temperatura foram obtidos utilizando o reescalonamento de velocidade (*v-rescale*) [196] com periodicidade de 0,5 ps e, para o acoplamento de pressão, novamente utilizamos a representação de Parrinello-Rahman [180] com uma periodicidade de 0,2 ps com compressibilidade constante de $4,5 \times 10^{-5}$ (1/bar) e aplicações semi-isotrópicas.

A extração das moléculas de DOPC/CHOL, conduzida em cada uma das membranas simuladas, objetivou uma comparação energética para a inserção de moléculas de fullereno- C_{60} nas mesmas camadas lipídicas. Tanto nos processos de inserção das moléculas de fullereno- C_{60} , quanto no que tange aos processos de retirada de monômeros DOPC ou de CHOL, procedemos em concordância com o método *umbrella sampling*, como implementado no GROMACS [173]. Nesse âmbito, foram realizadas 150 extrações/inserções para os monômeros DOPC/CHOL e fullereno- C_{60} , com separação temporal de 0,5 ns entre as configurações iniciais. Posto isso, representamos, na Fig. (4.2), as extrações das moléculas DOPC e de CHOL comparando-as com o respectivo processo de inserção da molécula de fullereno- C_{60} .

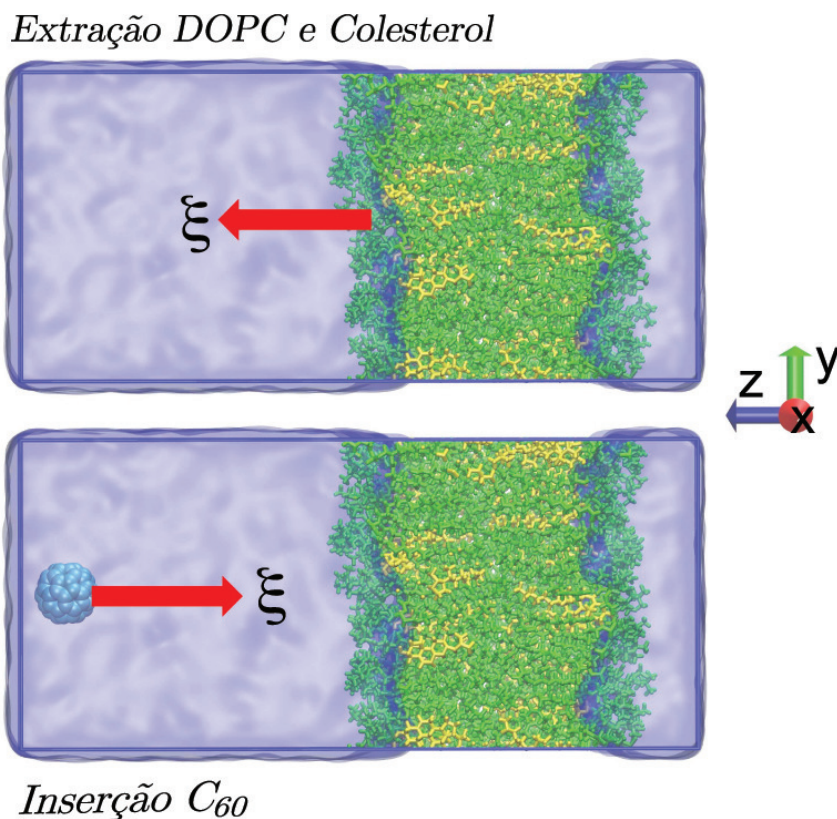


Figura 4.2: Extração das moléculas de DOPC e de CHOL e inserção de uma molécula de fullereno- C_{60} . As moléculas de DOPC e colesterol são mostradas em verde e amarelo, respectivamente. As moléculas de água são retratadas na forma de uma superfície azul. Fullereno- C_{60} representado por intermédio de uma esfera azul. ξ corresponde à força harmônica utilizada na remoção/inserção das moléculas estudadas.

Resultados e análises

Nesta seção, apresentaremos os resultados estruturais e os valores energéticos relativos às nanomembranas de DOPC em solução aquosa. Em vista disso, faremos uma descrição sobre os seguintes tópicos: Perfil densidade de massa e membranas DOPC/CHOL, Coeficiente de difusão, Energia de interação de Coulomb e LJ, Extração das moléculas Lipídio/Colesterol, Inserção de fullereno- C_{60} e reservamos a seção intitulada de "Considerações finais sobre o capítulo", com o objetivo de tecermos alguns comentários sobre os resultados alcançados.

Perfil de densidade de massa das membranas DOPC/CHOL

Detalhamos, na Fig. (4.3), o perfil de densidade de massa para as membranas DOPC/CHOL simuladas. Os resultados expostos pelo perfil de densidade apontam a presença de baixa taxa de concentração de moléculas de água no interior da membrana lipídica. Esse comportamento observado era esperado, pois os monômeros lipídicos são

hidrofóbicos e tendem a repelir as moléculas de água. Desse modo, tem-se que esses resultados indicam a existência de estabilidade membranar e a coesão estrutural tornando as membranas DOPC/CHOL estáveis para execução das simulações computacionais.

Embora as moléculas de água permaneçam, em sua maioria, no ambiente externo à membrana, conclui-se que há uma ligeira taxa de infiltração na superfície membranar, cerca de 2 nm. Dessa forma, constata-se que a interação entre as moléculas de água e colesterol se dão preponderantemente sob a estrutura superficial da membrana.

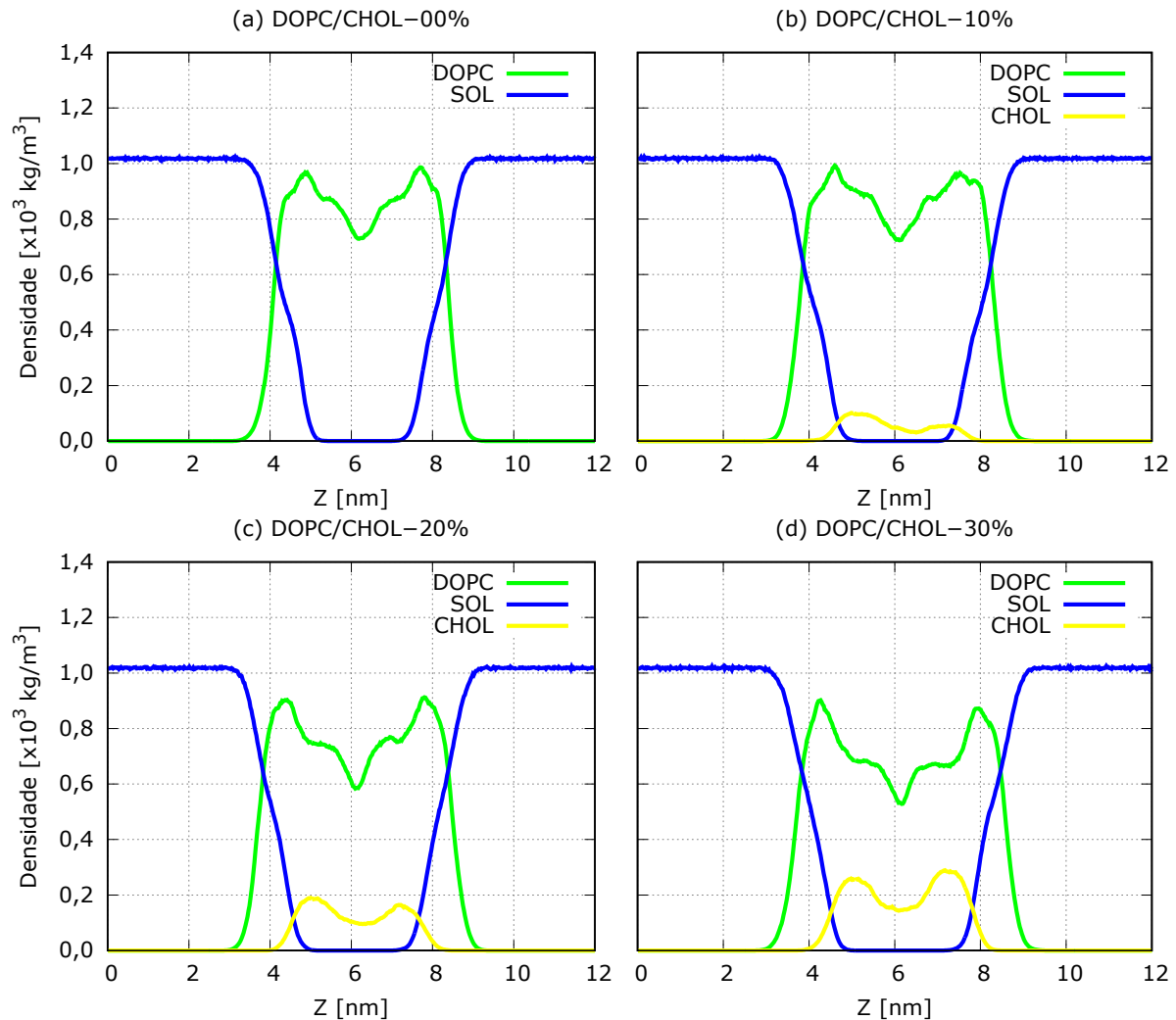


Figura 4.3: Perfil de densidade de massa para as estruturas DOPC/CHOL. (a) DOPC pura; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%. Linha azul = água; Linha preta = DOPC; Linha vermelha = CHOL.

Em complemento, mostramos, na Fig. (4.4), os mapas de superfície para as membranas simuladas. Esses mapas descrevem o comportamento topológico das membranas, revelando informações sobre espessuras médias, presença de ondulações, taxa de infiltração entre outros aspectos relevantes. Isso posto, no presente trabalho, a construção do mapa de superfície se deu a partir de uma estrutura subdividida em uma matriz de 80×80 .

Os resultados mostram que as membranas lipídicas apresentam uma leve ondulação, bem como podemos concluir que as referidas membranas possuem espessuras médias com os seguintes valores: $4,096 \pm 0,340$ nm para a DOPC pura, $4,362 \pm 0,346$ nm para o caso DOPC/CHOL-10%, $4,503 \pm 0,336$ nm para DOPC/CHOL-20% e $4,642 \pm 0,305$ nm relativo à DOPC/CHOL-30%. Portanto, percebemos que, quando comparadas com a DOPC pura, há uma diferença percentual na espessura da ordem de 6%, 10% e 13%, respectivamente, para as membranas DOPC/CHOL-10%, DOPC/CHOL-20% e DOPC/CHOL-30%. Logo, infere-se dos mapas de superfície que, à medida que há a inclusão de moléculas de colesterol na membrana, esta tem sua espessura média aumentada.

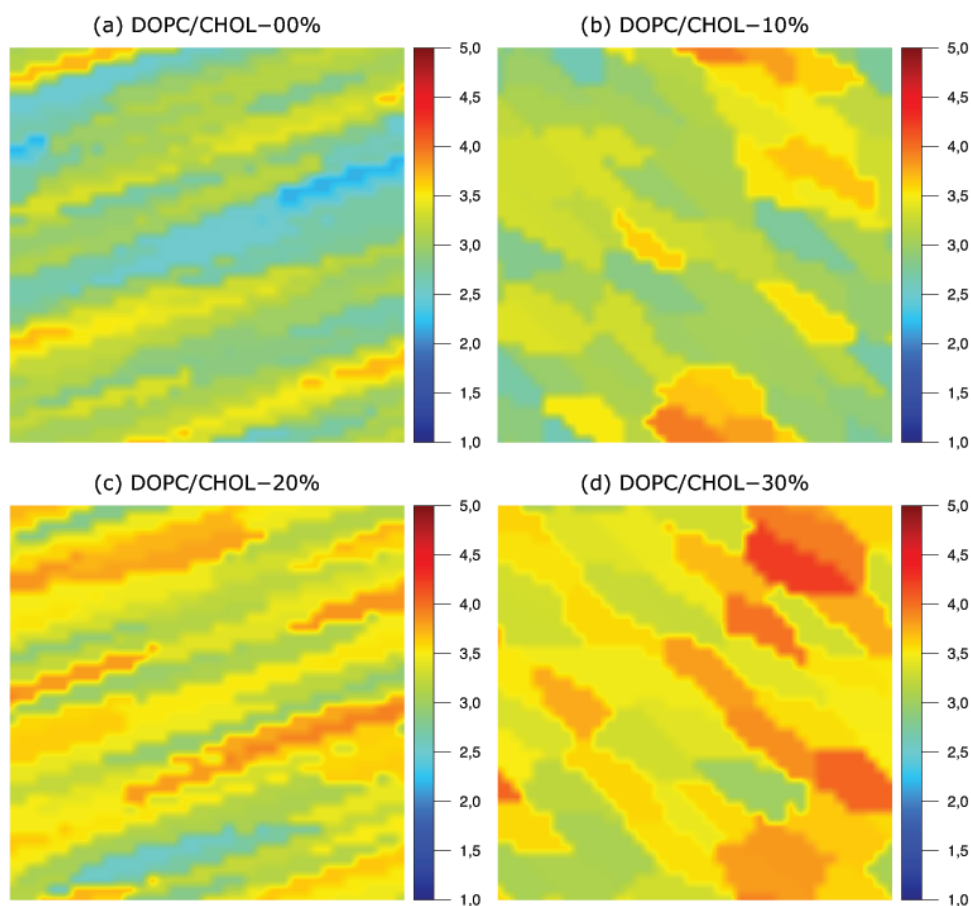


Figura 4.4: Espessuras membranares para os compostos DOPC/CHOL. (a) DOPC pura; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%. Escala em *nm*.

Outro resultado de extrema importância, diz respeito à área ocupada por lipídio em cada uma das membranas. Esses resultados revelam mais informações sobre a disposição espacial dos lipídios e moléculas de colesterol, bem como apontam a influência que as moléculas de colesterol fazem sobre o arranjo configuracional do sistema. Dessa forma, a partir da aplicação da Eq. (4.1), podemos estimar os valores das áreas ocupadas por lipídio em cada uma das camadas membranares.

$$A_m^{DM} = \frac{[dim(x) \times dim(y)]}{DPOCs}. \quad (4.1)$$

Em que $dim(x)$ e $dim(y)$ correspondem às dimensões das caixas de simulação nas direções x e y , respectivamente, e $DPOCs$ faz referência ao número de lipídios na membrana.

Expomos, na Tabela (4.2), os resultados oriundos da DM, bem como aquele originário de técnica experimental para o número de ocupação nas membranas. Desses resultados, aponta-se, portanto, que há uma menor área de ocupação dos lipídios à medida que o número de colesterol aumenta, evidenciando que as moléculas de DOPC estão mais compactas e aproximadas entre si, aumentando a rigidez membranar. Nesse domínio, a redução no valor da área ocupada está relacionada ao decréscimo da mobilidade das moléculas na membrana quando a esta é adicionada moléculas de colesterol.

Área por lipídio nm ² /DOPC	Resultado obtido via DM	Resultado obtido experimentalmente
DOPC	0,686	0,726 [197]
DOPC/CHOL-10%	0,602	-
DOPC/CHOL-20%	0,552	-
DOPC/CHOL-30%	0,501	-

Tabela 4.2: Número médio de ocupação de área por lipídio nas estruturas DOPC/CHOL.

Coeficiente de difusão

Prosseguindo com as análises dos resultados, neste momento do trabalho, discorreremos sobre uma abordagem denominada de coeficiente de difusão. Tal temática visa introduzir um parâmetro quantitativo que possa servir de indicativo para o grau de mobilidade das estruturas que compõem a membrana, bem como apresentar a influência que a temperatura, ou a concentração de determinado soluto, possui sobre a produção do espaço de fase estatístico. De todo modo, a sistemática apresentada possibilita estudar fenômenos de transporte entre meios com diferentes concentrações, assim como avaliar a rigidez membranar.

Sendo assim, para avaliarmos a mobilidade dos constituintes membranares, observamos que as estruturas atômicas, sejam nos compostos gasosos, líquidos ou sólidos, estão em constante movimento vibracional em decorrência das temperaturas às quais estão submetidas. Nesse contexto, em cada passo de simulação, existem deslocamentos dos átomos em torno de suas posições de equilíbrio, de forma que essas pequenas flutuações devem ser levadas em conta para efeito de construção das trajetórias da DM.

Ademais, há, no âmbito da mecânica estatística, uma outra abordagem matemática intitulada de deslocamento quadrático médio (em inglês, *Mean Square Displacement*,

MSD), que está associada à capacidade de dispersão (ora chamada difusão) das partículas do sistema. MSD representa o cômputo da média dos quadrados dos deslocamentos, tendo por referência a posição da partícula tomada em um tempo determinado, geralmente o tempo inicial de simulação ($t = 0$). A Eq. (4.2) demonstra a expressão matemática utilizada para descrever a função MSD [164].

$$MSD \equiv \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i(\Delta t) - x_{0i})^2 + (y_i(\Delta t) - y_{0i})^2 + (z_i(\Delta t) - z_{0i})^2, \quad (4.2)$$

em que N está associado ao número de partículas constituintes do sistema, Δt representa o passo de integração e x_{0i} , y_{0i} e z_{0i} descrevem as posições iniciais para a partícula i -ésima.

Por sua vez, o processo denominado de difusão, consiste, em resumo, no fenômeno de transporte de substâncias moleculares entre regiões com diferentes concentrações. Nesse aspecto, a difusão tem como origem o movimento molecular das partículas dispersas sobre o fluido. A lei macroscópica que descreve o fluxo de difusão (\mathbf{j}) é creditada a Fick, sendo expressa pela Eq. (4.3) [198].

$$\mathbf{j} = -D\nabla c, \quad (4.3)$$

sendo que o termo c representa a concentração do composto molecular, enquanto que D corresponde a uma constante de proporcionalidade, intitulada de coeficiente de difusão, que está associada à facilidade com que cada soluto se move em determinado solvente [198].

Em sistemas nas fases líquidas e gasosas, há o fenômeno da dispersão, que consiste no movimento randômico das partículas suspensas. Este movimento é conhecido como movimento Browniano e, em meados de 1905, foi estudado por Einstein [199]. Desse modo, Einstein modelou o deslocamento quadrático médio como uma função linear com a constante de difusão D , resultado na Eq. (4.4)

$$\langle (\mathbf{r} - \mathbf{r}_0)^2 \rangle = 2dD\Delta t, \quad (4.4)$$

sendo que o termo d corresponde ao número de dimensões simuladas e Δt representa o tempo decorrido desde o estado inicial do sistema [198].

Feito esse breve apontamento, relatamos, conforme exposto na Tabela (4.3), medidos em $10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, os coeficientes de difusão de Einstein para os compostos DOPC, colesterol e água. Também apresentamos, segundo a Fig. (4.5), os gráficos do modelo computacional para o cálculo do deslocamento quadrático médio cujos resultados foram sintetizados na Tabela (4.3). Analisando os resultados, temos que a mobilidade das moléculas de DOPC e colesterol diminuem à medida que as moléculas de colesterol são inseridas na bicamada lipídica.

Difusão ($10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)	DOPC	DOPC/ CHOL-10%	DOPC/ CHOL-20%	DOPC/ CHOL-30%
DOPC	0,2261 $\pm 0,0907$	0,2330 $\pm 0,0858$	0,1049 $\pm 0,1322$	0,0833 $\pm 0,0237$
Água	4,8740 $\pm 0,0044$	4,6590 $\pm 0,0858$	4,7795 $\pm 0,2649$	4,8479 $\pm 0,1131$
Colesterol	-	0,2419 $\pm 0,1024$	0,1095 $\pm 0,1389$	0,0857 $\pm 0,0347$

Tabela 4.3: Coeficiente de difusão para as moléculas DOPC, colesterol e água.

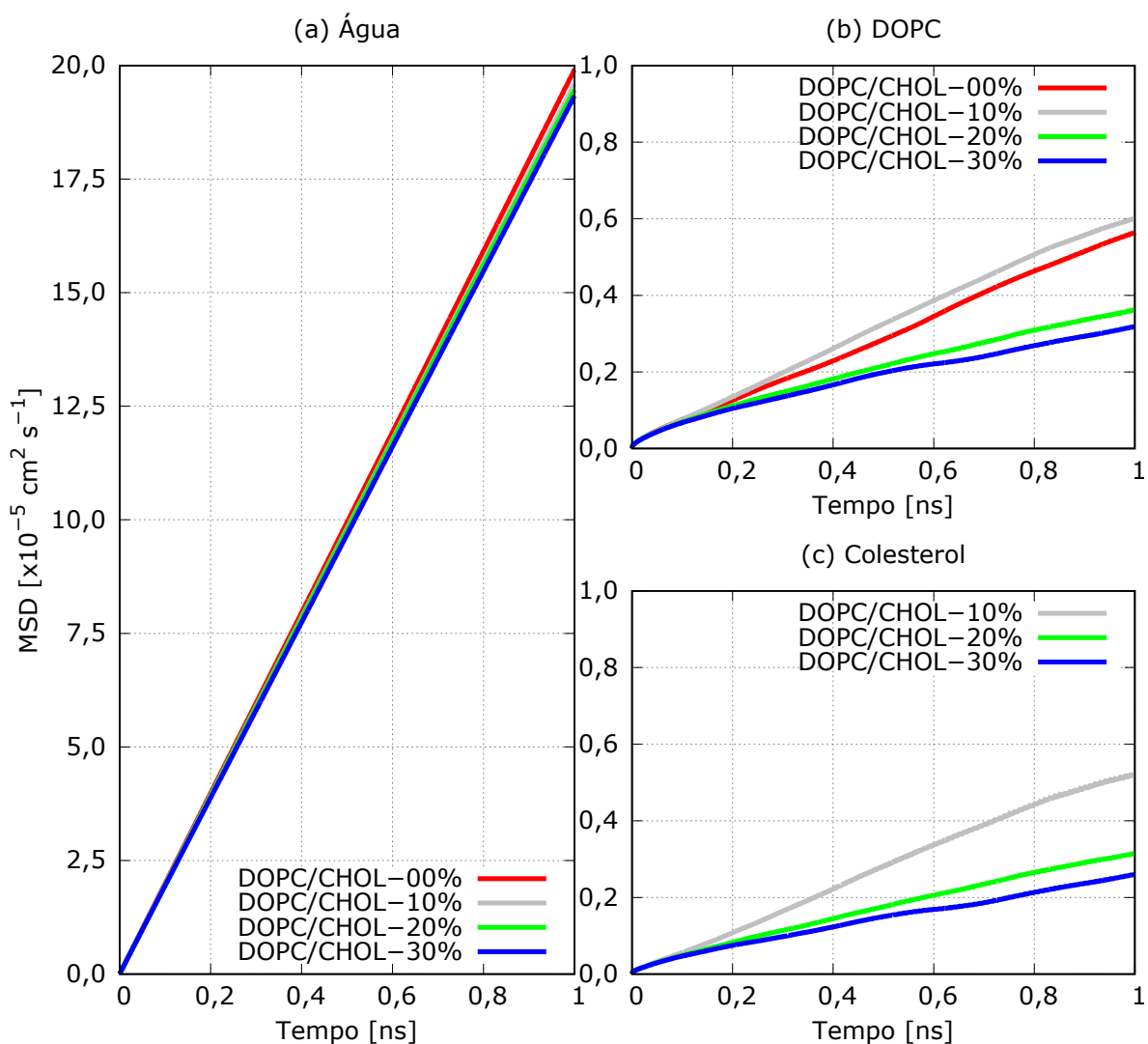


Figura 4.5: Curvas MSD obtidas a partir das simulações de DM. (a) Colesterol, (b) DOPC e (c) Água.

Em conjunto com as ferramentas computacionais, realizou-se a colaboração com o Prof. Dr. Sebastião Antônio Mendanha Neto do Instituto de Física da UFG (IF-UFG), que, utilizando a técnica experimental denominada de ressonância de spin eletrônico, teve por intuito apresentar um parâmetro que possa servir de comparativo com os resultados de mobilidade obtidos via DM. O parâmetro em questão é intitulado de tempo de correlação rotacional, τ_c , e pode ser entendido como o tempo médio que uma molécula rotaciona em torno de um determinado eixo e geralmente está associado à microviscosidade de uma membrana [200, 201].

Na Fig. (4.6), apresentamos o comportamento experimental do tempo de correlação rotacional em função da temperatura tendo por base a concentração de colesterol presente na estrutura membranar. As análises dos referidos resultados indicam que a adição de moléculas de colesterol proporciona uma significativa diferença na microviscosidade na faixa de temperatura de 10-25 °C, ao passo que na faixa de temperatura 30-40 °C as variações na microviscosidade são mais tênues.

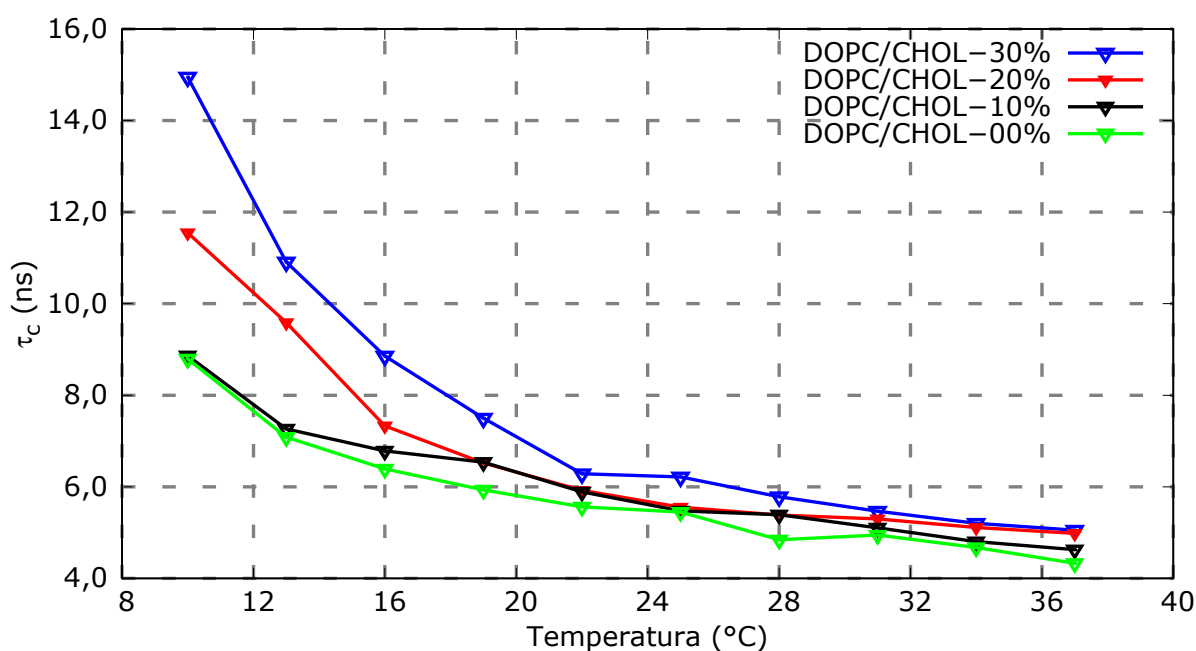


Figura 4.6: Correlação rotacional em função da temperatura. (a) DOPC pura (Cinza); (b) DOPC/CHOL-10% (Preto); (c) DOPC/CHOL-20% (Vermelho); (d) DOPC/CHOL-30% (Azul).

Por fim, em virtude dos resultados apresentados na Fig. (4.6), há, na região 10-25 °C, um notável incremento nos valores do parâmetro τ_c à medida que se aumenta a concentração de colesterol na membrana. Assim, posto que nossas simulações foram realizadas na faixa dos 25 °C, observa-se que há uma aproximação entre os resultados obtidos teórica e experimentalmente, uma vez que há o estabelecimento de uma relação inversa entre o tempo de correlação rotacional e o coeficiente de difusão [202].

Energia de interação de Coulomb e Lennard-Jones

Nesta seção, analisaremos os resultados obtidos para as interações de Coulomb e os valores das energias de Lennard-Jones (LJ), ambas determinadas em kJ/mol, conforme descrito na Tabela (4.4). Cada valor da energia foi determinado por número de moléculas de DOPC. À vista disso, faremos, separadamente, as seguintes análises: lipídio-lipídio (DOPC-DOPC), lipídio-água (DOPC-Água), lipídio-colesterol (DOPC-CHOL), colesterol-água (CHOL-Água) e colesterol-colesterol (CHOL-CHOL).

	DOPC	DOPC/ CHOL-10%	DOPC/ CHOL-20%	DOPC/ CHOL-30%
Interação de Coulomb				
DOPC-DOPC	223,5 ± 3,7	223,8 ± 4,0	226,6 ± 4,3	228,7 ± 4,4
DOPC-Água	-369,4 ± 7,1	-368,5 ± 7,5	-370,0 ± 7,9	-374,2 ± 8,3
DOPC-CHOL	—	-0,9 ± 0,5	-2,1 ± 1,0	-3,8 ± 1,2
CHOL-Água	—	-43,9 ± 6,4	-45,5 ± 4,3	-44,7 ± 3,5
CHOL-CHOL	—	-78,3 ± 2,1	-77,8 ± 1,4	-77,3 ± 1,2
Interação LJ				
DOPC-DOPC	-222,6 ± 2,0	-214,4 ± 2,0	-203,0 ± 2,2	-190,5 ± 2,1
DOPC-Água	-36,7 ± 1,8	-36,2 ± 1,8	-36,0 ± 2,0	-36,7 ± 2,0
DOPC-CHOL	—	-20,2 ± 0,6	-47,4 ± 1,3	-74,7 ± 1,9
CHOL-Água	—	-1,9 ± 2,3	-1,9 ± 1,6	-1,7 ± 1,3
CHOL-CHOL	—	-14,8 ± 3,6	-20,3 ± 3,1	-25,7 ± 2,7

Tabela 4.4: Energia de interação de Coulomb e Lennard-Jones (LJ) para o sistema DOPC/CHOL [em kJ/mol]. Os valores das energias são mostrados por moléculas de DOPC.

As análises dos resultados mostram que as interações de Coulomb entre as moléculas de DOPCs, representadas por $E_{DOPC-DOPC}^{Coulomb}$, permanecem aproximadamente constantes, muito embora ocorra a inclusão de moléculas de colesterol no interior da bicamada lipídica. Nesse cenário, as interações de Coulomb existentes entre as moléculas de DOPC assumem os seguintes valores: $E_{DOPC-DOPC}^{Coulomb} = 223,5; 223,8; 226,6; 228,7$ kJ/mol para as membranas DOPC pura, DOPC/CHOL-10%, DOPC/CHOL-20% e DOPC/CHOL-30%, respectivamente. Assim, observa-se que as diferenças energéticas figuram, em média, próximas a 2,2% e não representam uma diferença expressiva.

Apesar do comportamento observado para a energia de Coulomb, constata-se que os resultados relativos às interações de LJ, descritas por $E_{DOPC-DOPC}^{LJ}$, apresentaram um significativo decréscimo à medida que moléculas de colesterol foram adicionadas à

membrana. Desse modo, os resultados relacionados às interações LJ assumem os seguintes valores: $E_{DOPC-DOPC}^{LJ} = -222,6; -214,4; -203,0$ e $-190,5$ kJ/mol, para as membranas DOPC pura, DOPC/CHOL-10%, DOPC/CHOL-20% e DOPC/CHOL-30%, respectivamente. Sendo assim, observa-se que o aumento de moléculas de colesterol ampliou a energia de interação entre as moléculas de DOPC-DOPC cuja consequência é o alinhamento entre os monômeros adjacentes, promovendo o aumento de estabilidade membranar.

Quanto às interações coulombiana e LJ estabelecidas entre as moléculas de DOPC e colesterol, representadas por $E_{DOPC-CHOL}^{Coulomb}$ e $E_{DOPC-CHOL}^{LJ}$, respectivamente, notamos que há um aumento desses valores à medida que moléculas de colesterol são incluídas na membrana. Nesse caso, os resultados são expressos por: $E_{DOPC-CHOL}^{Coulomb} = [-0,9; -2,1; -3,8]$ kJ/mol, por unidade de DOPC, e $E_{DOPC-CHOL}^{vdW} = [-20,2; -47,4; -74,7]$ kJ/mol, por unidade de DOPC, para as membranas DOPC/CHOL-10%, DOPC/CHOL-20% e DOPC/CHOL-30%, respectivamente.

Logo, em virtude do acréscimo observado para os valores das energias, tanto dos termos de Coulomb (aumento por volta de 4,2 vezes), quanto de LJ (aumento de 3,7 vezes), nota-se que o aumento da quantidade de moléculas de colesterol torna as membranas mais estável e que as interações DOPC-CHOL passam a exercer elevada importância energética, contribuindo para que a membrana fique íntegra e coesa durante toda a simulação computacional. Vê-se, desse modo, que as interações entre os pares DOPC-CHOL e DOPC-DOPC são fundamentais na estabilização das membranas, cujo reflexo é a baixa concentração de moléculas de água no interior da membrana.

As energias de LJ e Coulomb, estabelecidas entre as moléculas CHOL-CHOL e representadas por $E_{CHOL-CHOL}^{LJ}$ e $E_{CHOL-CHOL}^{Coulomb}$, respectivamente, assumiram os seguintes valores: $E_{CHOL-CHOL}^{Coulomb} = [-78,3; -77,8; -77,3]$ kJ/mol e $E_{CHOL-CHOL}^{LJ} = [-14,8; -20,3; -25,7]$ kJ/mol para as membranas DOPC/CHOL-10%, DOPC/CHOL-20% e DOPC/CHOL-30%, respectivamente (as energias foram calculadas por moléculas de colesterol). Dessarte, quando analisamos em conjunto as contribuições de Coulomb e LJ, constata-se que há um aumento nas contribuições energéticas firmadas entre as moléculas CHOL-CHOL, promovendo, dessa forma, o aumento da estabilidade membranar à medida que moléculas de colesterol são adicionadas à membrana, bem como foi observado anteriormente.

Finalmente, sobre as interações existentes entre os monômeros DOPC-CHOL com as moléculas de água, encontramos os seguintes valores: $E_{CHOL-Água}^{Coulomb} = [-43,9; -45,5; -44,7]$ kJ/mol, para DOPC/CHOL-XX%, com XX= 10%, 20% e 30%, resultando em um diferença percentual máxima entre os valores igual a 3,5% e $E_{DOPC-Água}^{Coulomb} = [-369,4; -368,5; -370,0; -374,2]$ kJ/mol, para DOPC/CHOL-XX%, com XX= 00% (membrana pura), 10%, 20% e 30%, com diferença percentual máxima entre os valores igual a 1,5%. Em face da inexpressiva diferença percentual encontrada para a interação energética com as moléculas de água, pode-se afirmar que o processo de inserção de moléculas de CHOL não alteram, significativamente, a interação entre os grupos CHOL-Água e DOPC-Água.

Extração das moléculas DOPC/Colesterol

Buscando avaliar aspectos estruturais, bem como entender o comportamento energético das membranas DOPC/CHOL, realizamos uma sequência de 150 extrações de uma única molécula DOPC e, posteriormente, mais 150 extrações relativas ao monômero de colesterol. Cada extração foi conduzida sobre configurações estáveis distantes 0,5 ns. Ambas as extrações foram realizadas por intermédio da técnica denominada *umbrella sampling*, assim como implantado na versão 2016 do programa GROMACS [173]. Exibimos, conforme apresentado nas Figs. (4.7) e (4.8), respectivamente, a dinâmica de extração dos monômeros DOPC e CHOL.

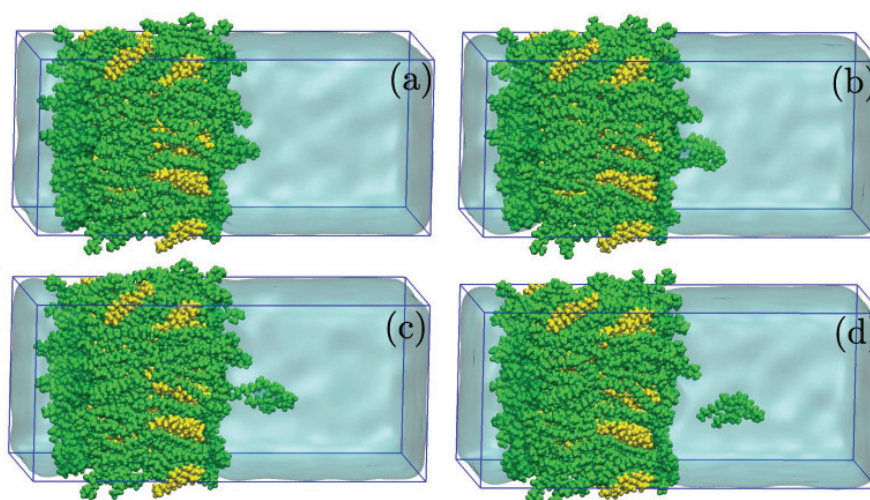


Figura 4.7: Extração da molécula de DOPC. As Figs. (a), (b), (c) e (d), respectivamente, correspondem à evolução temporal no processo de extração da molécula. DOPC (verde), CHOL (amarelo) e água (azul).

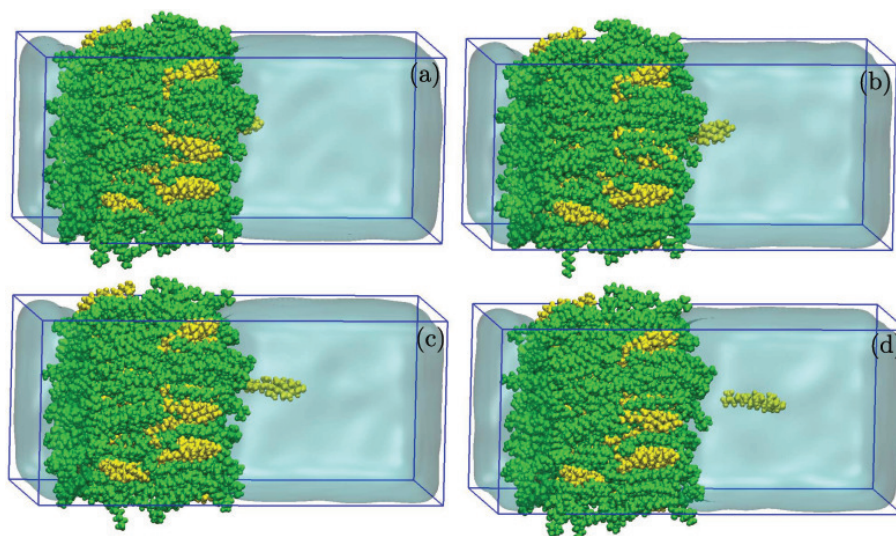


Figura 4.8: Extração da molécula de colesterol. As Figs. (a), (b), (c) e (d), respectivamente, correspondem à evolução temporal no processo de extração da molécula. DOPC (verde), CHOL (amarelo) e água (azul).

Expomos, de acordo com a Fig. (4.9), os resultados das 150 extrações da molécula de DOPC, retratando as respectivas médias e os desvios-padrão. Conclui-se, da Fig. (4.9), que, para a realização de algumas das 150 extrações, a força necessária para a remoção de um monômero de DOPC da membrana lipídica pode chegar até cerca de 1200 kJ/mol nm, no entanto, observamos que as médias das extrações, de modo geral, tiveram valores compreendidos na faixa entre 700-800 kJ/mol nm.

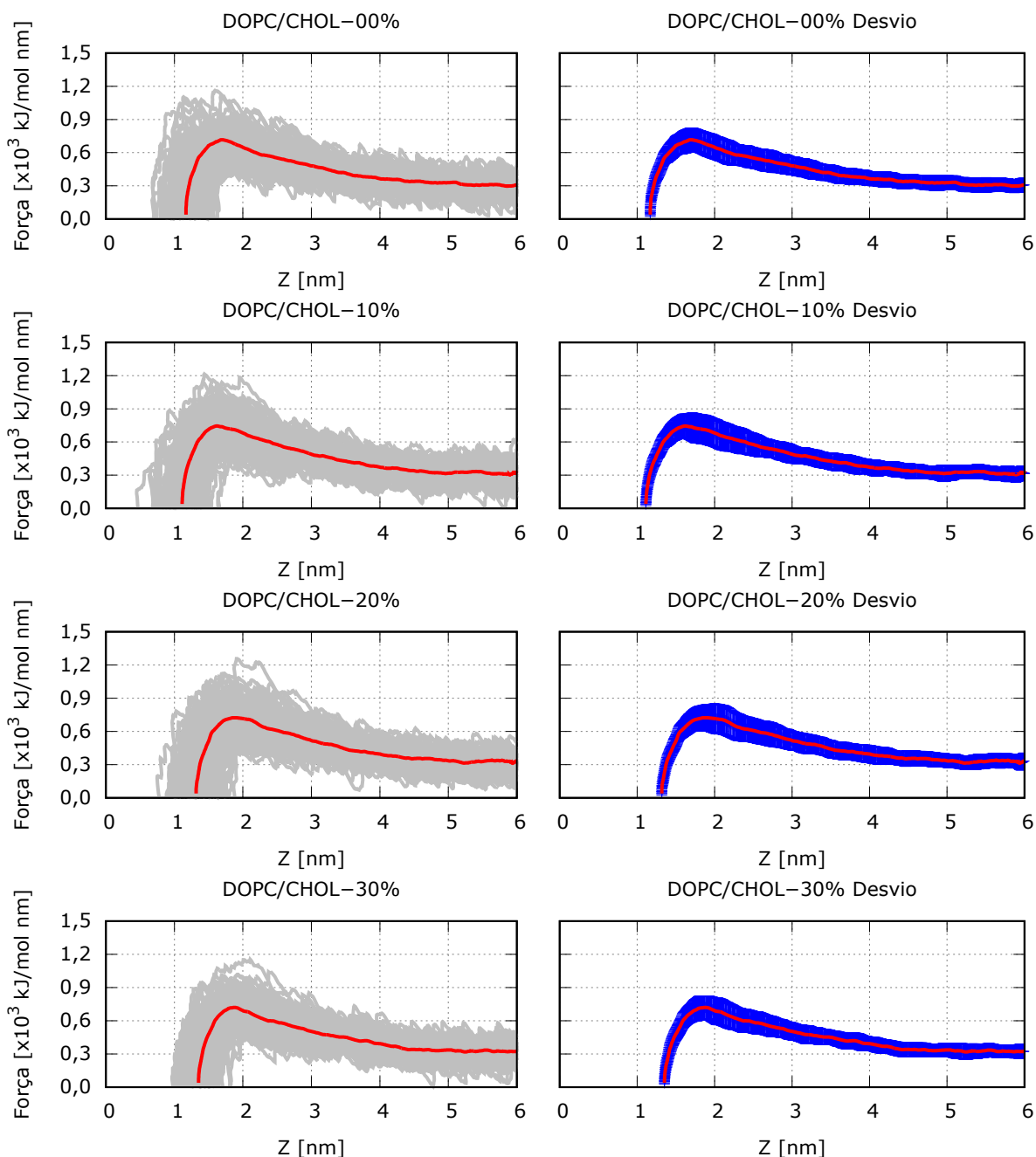


Figura 4.9: À esquerda, representado em cinza, plotamos todas as 150 extrações das moléculas DOPC, enquanto que as linhas vermelhas correspondem aos valores médios de todas as medidas. À direita, encontram-se a média e o respectivo desvio-padrão. (a) DOPC-00%; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%.

Destacamos, na Fig. (4.10), os valores das forças médias requeridas para as extrações dos monômeros de DOPC. A região compreendida em roxo representa a diferença entre os diversos valores máximos encontrados para a força de remoção. A partir dos resultados, concluímos que o processo de extração das moléculas de DOPC é independente do número de colesterol presentes na membrana, pois as diferenças observadas entre os valores médios máximos das forças de extração estão próximas a 20 kJ/mol nm. Logo, ao compararmos a diferença encontrada para a força de extração com o valor máximo alcançado para a remoção do DOPC, identificamos que a diferença corresponde a 2,1% e não representa um valor significativo.

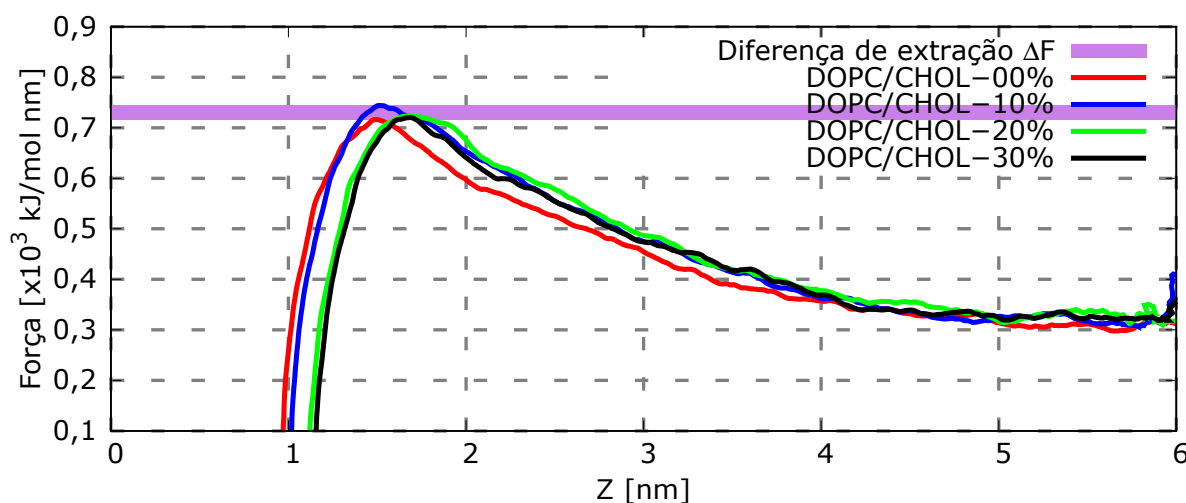


Figura 4.10: Força média para a extração dos monômeros de DOPC. (Azul) DOPC/CHOL-10%; (Verde) DOPC/CHOL-20%; (Preto) DOPC/CHOL-30% e (Vermelho) DOPC-00%. Faixa de energia cujo valor é $\Delta F = 20$ kJ/mol nm.

Nossos resultados mostram que, independentemente de qual seja a membrana em estudo, o valor máximo encontrado para a força de extração ocorre por volta de 10 ns. Por outro lado, após a separação entre o monômero e a superfície membranar, a força de extração lentamente decai até alcançar valores próximos a 350 kJ/mol nm, sendo que este valor corresponde àquele existente entre a molécula recém extraída e o solvente, entendido como uma força de arrasto. Portanto, concluímos que se faz necessária uma força 2,5 vezes mais elevada para extrair uma molécula de DOPC quando comparamos com a força necessária para arrastar essa mesma molécula na solução aquosa.

Na Fig. (4.11), apresentamos o mesmo processo de extração para os monômeros de colesterol. Esses resultados indicam que os valores máximos para as forças de extrações médias das moléculas de colesterol têm valores compreendidos entre 490-520 kJ/mol nm, sendo que estes resultados correspondem a 60% da força média requerida para a extração das moléculas de DOPC. Constatamos ainda que, ocasionalmente, os valores para as extrações dos monômeros de colesterol têm picos em torno de 1000-1200 kJ/mol nm, a depender do sistema molecular sob análise.

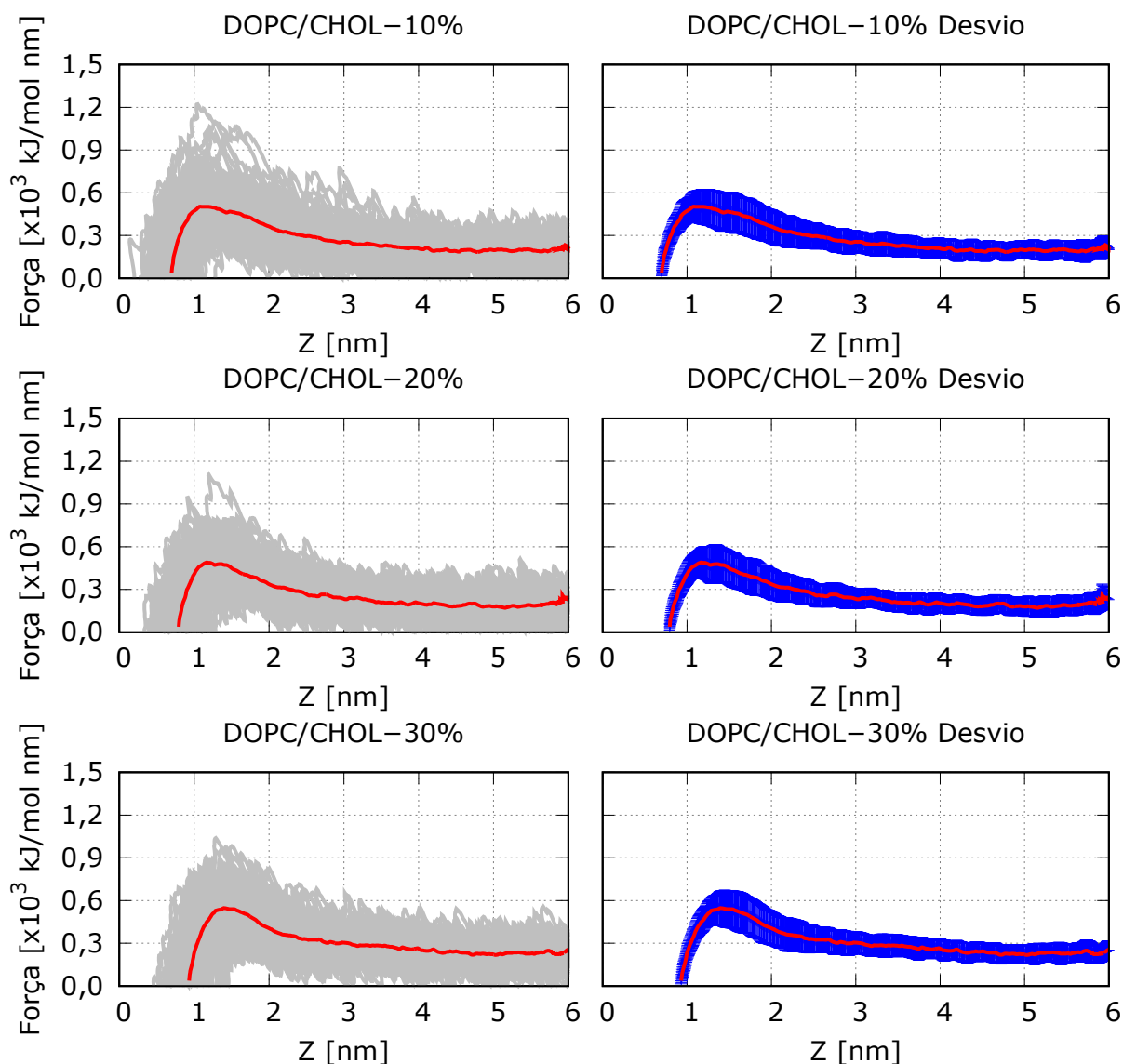


Figura 4.11: (Esquerda) Em cinza representamos as forças de extração para as moléculas de colesterol, enquanto que a curva em vermelho representa a média obtida dos a partir dos processos das forças. (Direita) Correspondentes valores médios e desvios-padrão. (a) DOPC/CHOL-10%; (b) DOPC/CHOL-20%; (c) DOPC/CHOL-30%.

Em última análise, apresentamos, na Fig. (4.12), a concatenação dos valores máximos para a força de extração das moléculas de colesterol. Identificamos, novamente, a região estabelecida entre os máximos na coloração roxa. As avaliações indicam que as diferentes concentrações de colesterol não alteram, significativamente, a dinâmica do processo de extração, sendo que a diferença observada entre os máximos das forças médias de extração é de 30 kJ/mol nm e revelam que, de maneira geral, as curvas de extração, para ambos os casos, apresentam comportamento similar. Também identificamos que as forças de arrasto das moléculas de colesterol estão próximas a 200 kJ/mol nm. Esses resultados indicam que as forças de arrasto para as moléculas de colesterol correspondem a cerca de 2/3 das forças de arrasto para as moléculas de DOPC em água.

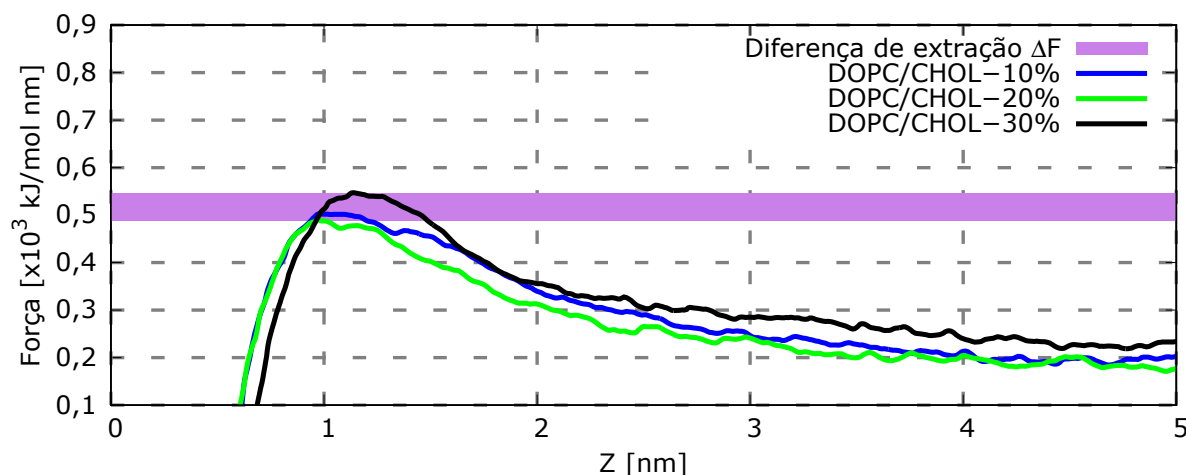


Figura 4.12: Força média para a extração dos monômeros de colesterol. (Azul) DOPC/CHOL-10%; (Verde) DOPC/CHOL-20%; (Preto) DOPC/CHOL-30%. Faixa de energia cujo valor é $\Delta F = 30$ kJ/mol nm.

Inserção do fullereno- C_{60} em membranas DOPC/CHOL

No processo de inserção da molécula de fullereno- C_{60} , em um primeiro momento, posicionamos o fullereno- C_{60} a uma determinada distância da superfície da membrana lipídica. Posteriormente, o fullereno- C_{60} foi inserido na membrana, em uma de suas faces, e extraído do lado oposto, em consonância ao exposto na Fig. (4.13). Retratamos na Fig. (4.14) o resultado das forças requeridas durante o processo de inclusão/exclusão da molécula de fullereno- C_{60} .

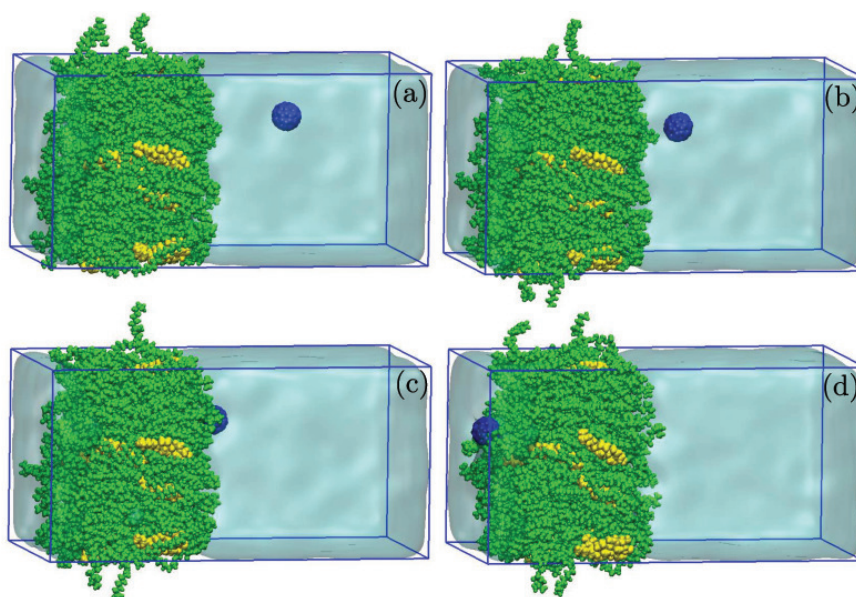


Figura 4.13: Inserção da molécula de fullereno- C_{60} . A Fig. (a) representa a situação inicial, seguida pelas Figs. (b),(c) e (d). A Fig. (d) representa o momento em que a molécula de fullereno- C_{60} transpassa a membrana lipídica. Azul escuro: fullereno- C_{60} . Verde: DOPC. Amarelo: CHOL.

Os resultados apresentados na Fig. (4.14) indicam que os valores médios para as inserções de moléculas de fullereno- C_{60} assumem valores compreendidos entre 740-820 kJ/mol nm. Os resultados mostram um aumento significativo da força requerida para a inserção à medida que a concentração de colesterol aumenta na membrana. Nesse contexto, frisamos os valores das forças médias máximas como sendo: 740 kJ/mol nm para DOPC pura, 750 kJ/mol nm para DOPC/CHOL-10%, 770 kJ/mol nm para DOPC/CHOL-20% e 820 kJ/mol nm para DOPC/CHOL-30%.

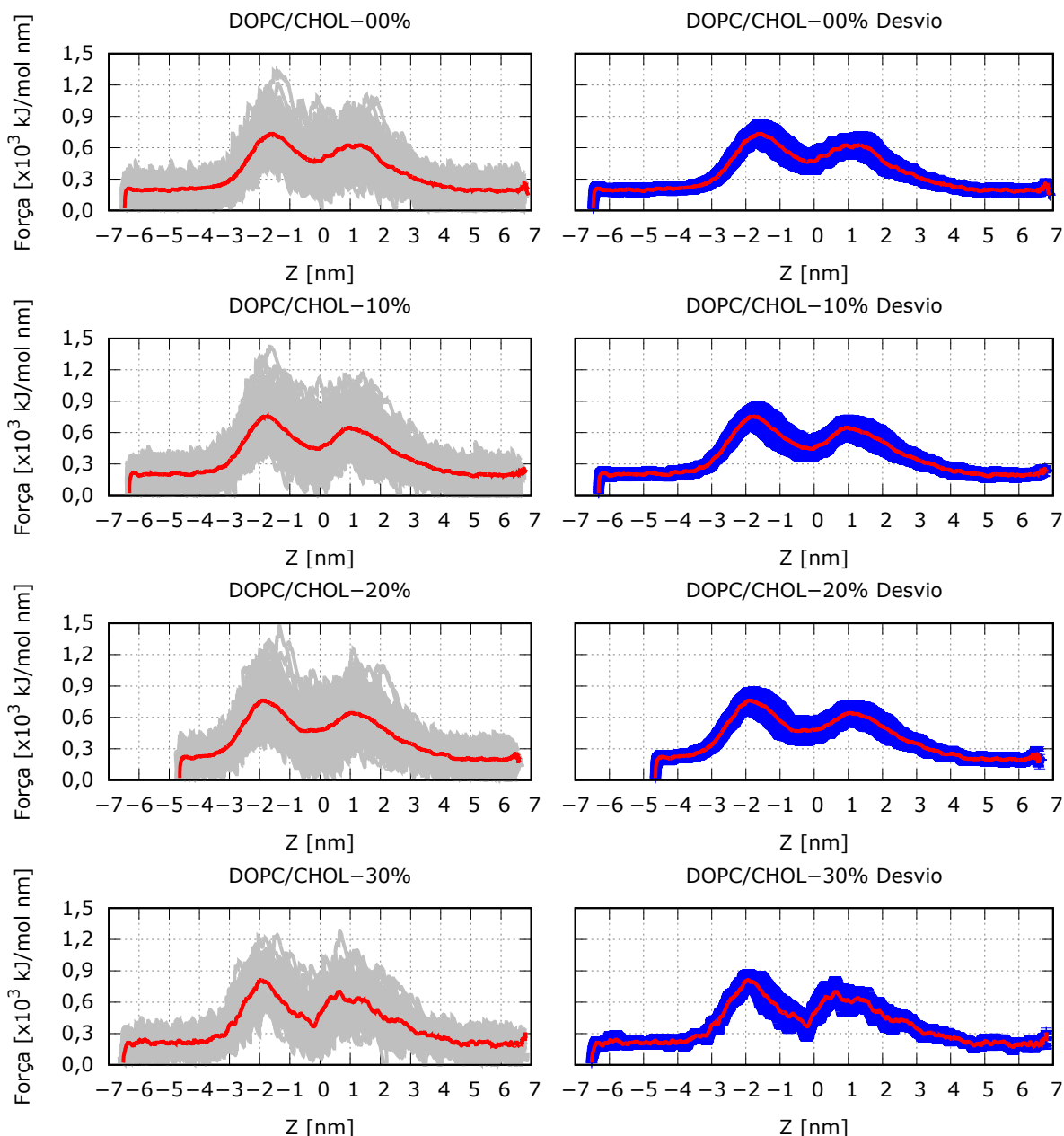


Figura 4.14: (Esquerda) Em cinza, representamos as forças requeridas para a inserção da molécula de fullereno- C_{60} na camada lipídica para os 150 processos executados. O processo de inserção é seguido por um processo de extração no lado oposto da membrana. Linha vermelha representa o valor médio. (Direita) Em azul, temos o desvio padrão. (a) DOPC pura; (b) DOPC/CHOL-10%; (c) DOPC/CHOL-20%; (d) DOPC/CHOL-30%.

As análises dos resultados da inserção do fullereno- C_{60} indicam que os valores médios requeridos para a extração de uma molécula de DOPC aproximam-se dos valores obtidos para a inserção do fullereno- C_{60} . Entretanto, a comparação entre a extração de moléculas de colesterol e inserção da molécula de fullereno- C_{60} apontam que, em média, o processo de inserção das moléculas de fullereno- C_{60} necessita de uma força média 50% mais elevados do que aqueles necessários para a retirada de uma molécula de colesterol. Ademais, retratamos, na Fig. (4.15), os valores médios observados para a inserção/extração da molécula de fullereno- C_{60} nas membranas DOPC/CHOL-XX%.

Pode-se observar, na Fig. (4.15), a presença de um segundo pico na força que corresponde ao momento da extração da molécula de fullereno- C_{60} na outra face da bicamada. Os valores máximos para as forças médias do segundo pico são representados por 630, 650, 640 e 680 kJ/mol nm, respectivamente, para DOPC/CHOL-XX%, com $XX = 00, 10, 20, 30\%$. Há uma redução nos valores máximos, pois, durante a inserção de fullereno- C_{60} , a estrutura da membrana DOPC/CHOL-XX% foi comprometida, resultando, assim, em menores valores necessários para a força de extração do fullereno- C_{60} .

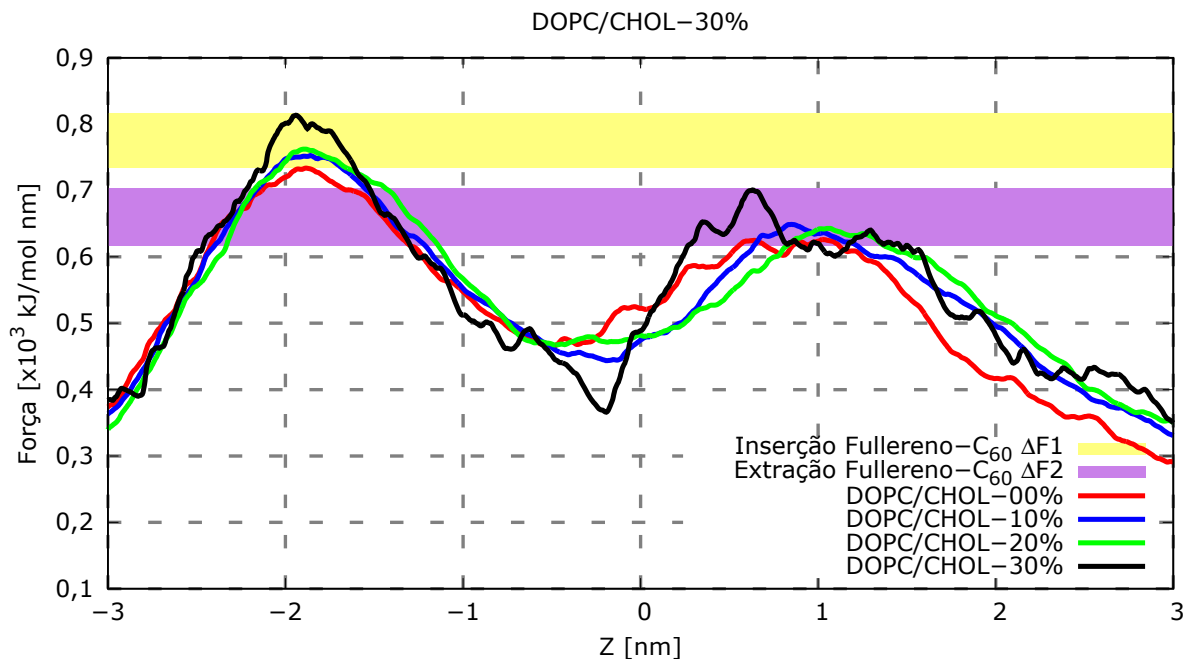


Figura 4.15: Sobreposição das médias requeridas para a inserção/extração da molécula de fullereno- C_{60} nas membranas DOPC/CHOL-XX. (Linha vermelha) DOPC pura; (Linha azul) DOPC/CHOL-10%; (Linha verde) DOPC/CHOL-20%; (Linha preta) DOPC/CHOL-30%. Faixas de energias iguais a $\Delta F1 = 20$ e $\Delta F2 = 50$ kJ/mol nm.

Constatamos a partir da Fig. (4.15) que a região central da membrana possui uma menor força de resistência quando comparada com as bordas da bicamada lipídica. Tal comportamento é decorrente da menor densidade de massa encontrada na região central, assim como pode ser visualizado no perfil densidade de massa disposto na Fig. (4.3).

Em síntese, analisando os resultados da interação do fullereno- C_{60} com a membrana DOPC, observa-se que o aumento das moléculas de colesterol na bicamada lipídica resulta na ampliação da força necessária para promover a inclusão/exclusão da molécula de fullereno- C_{60} . Pode-se concluir isso, pois, quanto ao processo de inclusão de fullereno- C_{60} (primeiro pico da Fig. (4.15)), temos os seguintes valores para as forças máximas: 720, 730, 750 e 800 kJ/mol nm, para DOPC/CHOL-XX%, com $XX = 00, 10, 20$ e 30% , mostrando que há um aumento da força quando as moléculas de colesterol são inseridas.

Por outro lado, tratando-se da exclusão de fullereno- C_{60} (segundo pico da Fig. (4.15)), as forças máximas são: 630, 650, 640 e 680 kJ/mol nm, respectivamente, para DOPC/CHOL-XX%, com $XX = 00, 10, 20, 30\%$, e, de mesmo modo, observamos o aumento da força à medida que as moléculas de colesterol são adicionadas à membrana. Tem-se, assim, que as moléculas de colesterol exercem um papel central no processo de manutenção da rigidez estrutural das membranas lipídicas.

Considerações finais sobre o capítulo

Ao longo do capítulo exposto, apresentamos os resultados computacionais e experimentais relativos ao comportamento energético e estrutural das membranas DOPC, quando às membranas lipídicas são inseridas moléculas de colesterol a uma razão de 10%, 20% e 30% em comparação com a concentração de DOPC. Assim, como forma de conclusão do presente capítulo, revisitaremos os principais resultados e suas devidas implicações.

Quanto ao perfil densidade de massa, os resultados computacionais indicam a presença de baixa taxa de concentração de moléculas de água no interior da membrana lipídica, cuja consequência é a formação de estruturas membranares estáveis e perduráveis. Tal resultado era esperado em decorrência do alto caráter hidrofóbico que as moléculas de lipídio apresentam. Esse comportamento estável encontrado para as membranas lipídicas era uma condição imprescindível para início das simulações, porquanto garantia que as membranas estavam em equilíbrio termodinâmico.

Em adição, realizamos o cálculo da área média ocupada por lipídio em cada camada membranar. Esses resultados apontaram que a inclusão de moléculas de colesterol promove uma redução na área ocupada por cada moléculas de DOPC, resultando, dessa forma, em estruturas membranares mais compactas. Outrossim, podemos inferir que, ao aumentar o número de moléculas de colesterol na membrana, a força requerida para a inserção do composto fullereno- C_{60} acentua-se na mesma proporção.

Sobre o coeficiente de difusão, o parâmetro experimental denominado de tempo de correlação rotacional, τ_c , assinala a influência que as moléculas de colesterol têm sobre a mobilidade membranar, cuja implicação direta é o aumento da rigidez dos compostos moleculares à medida que há a inclusão de moléculas de colesterol. Nossos resultado computacionais vão de encontro aos obtidos pelo meios experimentais, atestando uma

clara dependência da mobilidade membranar com o aumento de moléculas de colesterol. Ademais, há de se observar que o aumento da rigidez membranar também repercute diretamente na força necessária para procedermos à inserção ou à extração da molécula de fullereno- C_{60} .

As análises das interações de Coulomb e LJ, entre os constituintes membranares, apontam que as interações firmadas entre os monômeros DOPC-DOPC, DOPC-CHOL e CHOL-CHOL tiveram seus valores aumentados à proporção que as moléculas de colesterol foram adicionadas à membrana lipídica. Nesse contexto energético, depreende-se que o aumento de colesterol na estrutura membranar influi, de maneira decisiva, no processo de estabilidade e rigidez membranar. De mesmo modo, vê-se que o aumento da energia entre os monômeros é responsável por mantê-los com uma direção preferencial, implicando na formação de estruturas com reduzidas taxas de infiltração aquosa.

Acerca dos resultados obtidos a partir da técnica de inclusão/exclusão da molécula de fullereno- C_{60} , observamos que há um aumento da força necessária para a respectiva inclusão/exclusão em decorrência do aumento de moléculas de colesterol presentes na membrana. Desse modo, conclui-se que o aumento da rigidez membranar está diretamente ligado ao aumento de moléculas de colesterol na bicamada lipídica. Então, identificamos que o aumento da rigidez dos compostos moleculares implica em um aumento da energia necessária para procedermos à técnica de *pulling*.

Por último, quanto à comparação estabelecida entre o processo de inclusão da molécula de fullereno- C_{60} e a extração das moléculas de DOPC e colesterol, as análises realizadas indicam certa similaridade entre o processo de inclusão da molécula fullereno- C_{60} e a extração da molécula de DOPC. Todavia, efetuando a análise entre a inclusão da molécula fullereno- C_{60} e a extração da molécula de colesterol, observa-se que, em média, para a inserção do fullereno- C_{60} , é necessária uma força de inserção por volta de 50% mais elevada que aquela encontrada para a retirada da molécula de colesterol.

INTERAÇÃO ENTRE O FÁRMACO L-GL13K E AS MEMBRANAS LIPÍDICAS

A prescrição médica inapropriada, a escassez de testes para orientar a adequada prescrição de antibióticos, bem como o uso excessivo destes medicamentos têm promovido um fenômeno global de resistência aos tradicionais agentes bactericidas [89]. Portanto, há, nas últimas décadas, notáveis avanços científicos direcionados à produção de fármacos que possam aumentar a eficácia contra as ações nocivas das bactérias, dos fungos e dos vírus [92, 93].

Entre a nova classe de agentes com características antimicrobianas, destacam-se aqueles construídos à base de peptídeos. Nesse âmbito, o enantiômero da molécula peptídica GL13K, a saber, L-GL13K, é um bactericida com comprovada eficácia contra diversas bactérias, a exemplo das *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Streptococcus gordonii* [102], que, conforme relatado no primeiro capítulo, podem causar pneumonia, infecção intestinal e insuficiência cardíaca, respectivamente.

À vista das mencionadas potencialidades farmacológicas atreladas ao monômero L-GL13K, objetivamos, neste capítulo, avaliar, de um ponto de vista computacional, quais são as etapas relacionadas à interação entre o monômero polipeptídico L-GL13K e as membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) e moléculas de colesterol (CHOL) a uma proporção de $XX = 00, 10, 30\%$. Enfim, nas próximas seções, apresentaremos a metodologia abordada, bem como os resultados obtidos para estes sistemas.

Detalhes computacionais

Acerca dos aspectos computacionais associados às simulações deste capítulo, promovemos a interação entre o monômero antimicrobiano L-GL13K e as seguintes membranas lipídicas: membrana pura formada por 128 monômeros de Dipalmitoilfosfatidilcolina (DOPC) e membranas DOPCs com proporções de 10% e 30% de moléculas de colesterol (CHOL). Para efetuarmos as análises do comportamento da densidade de massa, força de inserção e número de ligações de hidrogênio, calculamos as médias estatísticas e os respectivos desvios-padrão dessas grandezas físicas. Sobre o processo de construção do monômero L-GL13K, utilizamos o programa PyMOL [203], ao passo que as estruturas iniciais dos compostos moleculares DOPC/CHOL foram obtidas na base de dados Joakim P. M. Jämbeck *et al* [192, 193].

A etapa de equilibração energética foi realizada com alternância nos *ensembles* isovolumétrico-isotérmico (volume e temperatura constantes, denominando *ensemble* NvT) e isobárico-isotérmico (pressão e temperatura constantes, *ensemble* NpT). Para a trajetória responsável por armazenar as configurações finais, conduzimos uma simulação no *ensemble* NpT de 100 ns, sendo que, para cada passo de integração, assumimos o valor de 1 fs. Ademais, valores constantes para a temperatura foram obtidos utilizando o reescalonamento de velocidade (*v-rescale*) [196], com periodicidade de 0,5 ps e, quanto ao acoplamento de pressão, utilizamos a representação de Parrinello-Rahman [180], com uma periodicidade de 0,2 ps e compressibilidade constante de $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. As moléculas de água foram simuladas usando o modelo TIP3P [194], enquanto que os monômeros de lipídio, colesterol e L-GL13K foram modelados utilizando o campo de força CHARMM36 [149].

No decorrer do processo de interação entre o peptídeo L-GL13K e as membranas lipídicas, procedemos com a técnica de *umbrella sampling*, conforme implementado no programa GROMACS [173]. Nesse sentido, foram realizadas 150 inserções do citado monômero farmacológico, com separação temporal de 0,5 ns entre duas configurações consecutivas, sendo que ambas configurações estavam em equilíbrio termodinâmico. Em seguida, com o objetivo de quantificar a influência gerada pelo peptídeo L-GL13K sobre as membranas lipídicas simuladas, comparamos os perfis de densidade antes e após a inserção do fármaco, apontando as diferenças encontradas entre esses dois momentos.

Além desses aspectos, efetuamos uma análise comparativa com o objetivo de avaliar os resultados alcançados tanto para a força de inserção do monômero L-GL13K, quanto para as ligações de hidrogênio mantidas entre o fármaco e a membrana. Finalmente, representamos, na Fig. (5.1), as etapas relacionadas à inserção do composto L-GL13K. Logo, apresentamos a mencionada figura da seguinte forma: em vermelho, encontra-se a molécula L-GL13K. As cores verde e amarelo representam, respectivamente, os compostos DOPC e CHOL, enquanto que a superfície azulada retrata as moléculas de água.

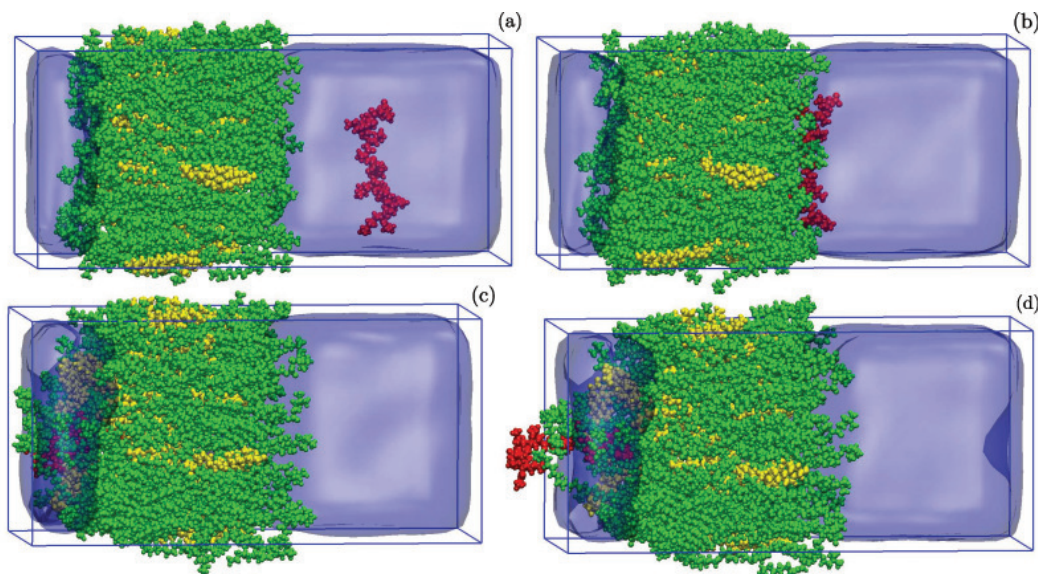


Figura 5.1: Interação entre o fármaco L-GL13K e a membrana lipídica. O quadro (a) representa a situação inicial. Em (d), destacamos o momento em que a molécula L-GL13K transpassa a membrana lipídica. Vermelho: L-GL13K, verde: DOPC, amarelo: CHOL e azul: água.

Detalhes computacionais sobre a técnica de *umbrella sampling*

Conforme anteriormente pontuamos, os resultados provenientes da interação entre o polipeptídeo L-GL13K e as membranas lipídicas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10, 30\%$, foram alcançados mediante a técnica de *umbrella sampling*. Essa técnica, através de sucessivas aplicações de potenciais harmônicos, conduz o sistema molecular aos estados energéticos mais desfavoráveis e se mostra uma abordagem imprescindível na obtenção das propriedades estatísticas do sistema físico sob análise.

Nesse quadro, reafirmaremos que a técnica de *umbrella sampling* foi estabelecida com uma sequência de 150 inserções do fármaco L-GL13K, com separação temporal de 0,5 ns entre duas configurações consecutivas. Ademais, a operacionalização dessas etapas deu-se nos mesmos moldes das simulações conduzidas nos capítulos três e quatro. Todavia, tratando-se da sistemática abordada no presente estudo, identificamos certas singularidades que julgamos serem imperiosas, motivos pelos quais as descreveremos em mais detalhes nas análises que se sucedem. Isso posto, detalharemos os problemas que foram observados, bem como apontaremos as respectivas soluções encontradas, descrevendo os diversos estágios que antecederam ao processo de inserção molecular.

Sendo assim, em um primeiro momento das simulações computacionais, foi realizada uma etapa direcionada à produção das configurações estáveis sobre as quais a técnica de *umbrella sampling* será executada. Durante essa primeira etapa da simulação, fixamos o monômero ao longo do eixo Z da caixa de simulação e procedemos de forma que o peptídeo L-GL13K pudesse se movimentar apenas no plano $X - Y$.

Procedemos assim como forma de manter as distâncias entre a molécula L-GL13K e as membranas DOPCs constantes durante todas as etapas de inserção. Dessa forma, poderíamos, diretamente, tomar a média sobre os vários valores obtidos para os perfis de força e de densidade, pois asseguraríamos que, a cada passo de integração, o monômero ocuparia a mesma distância entre o centro de massa do fármaco e da membrana. Logo, não seria necessário assumir que existem desvios-padrão associados à posição do L-GL13K ao longo do eixo Z da caixa.

Porém, durante as sucessivas etapas relacionadas à produção das 150 configurações estáveis, as dimensões das caixas de simulação foram diminuindo, gradativamente, até não ser mais possível promover à inserção molecular e, conseqüentemente, a simulação foi interrompida. Tal inviabilidade de inserção é decorrente de dois fatores que retrataremos a seguir. O primeiro deles é devido à alteração no valor da pressão durante as etapas da simulação. Portanto, identificamos que as dimensões espaciais associadas ao monômero L-GL13K contribuem para promover um desequilíbrio na pressão, caso o peptídeo seja mantido fixo. Desse modo, constatamos que a promoção da técnica de *umbrella sampling* em compostos que possuem dimensões espaciais próximas às da membrana, na qual será feita a inserção, poderá alterar o acoplamento de pressão e, então, a estabilidade da simulação.

Outro fator digno de nota que tende a influir nos resultados obtidos a partir da técnica de *umbrella sampling* consiste na distância existente entre o monômero a ser inserido e a membrana a ser transpassada. Nesse contexto, por força das condições originalmente impostas pelo programa GROMACS, há um limite máximo de separação entre os grupos selecionados. Logo, o programa define, como padrão, para o distanciamento máximo entre os dois grupos, o valor de 0,49 vezes o tamanho da caixa de simulação ao longo do eixo Z [163]. Quando a distância ente esses grupos supera essa medida, a simulação é interrompida e uma mensagem de erro é reportada ao usuário.

À vista desse último aspecto abordado, uma prática recorrente nas simulações envolvendo a técnica de *umbrella sampling* consiste no deslocamento da membrana simulada de modo a diminuir a distância entre os grupos pré-selecionados. Sendo assim, deslocamos, reiteradamente, a membrana em torno de seus eixos coordenados. Contudo, necessita-se atentar ao fato de que, uma vez realizada a inversão da caixa ao longo de um de seus eixos cartesianos, é necessário, de mesmo modo, alterar o sentido em que a inclusão do monômero ocorrerá, porquanto a prática de translação em torno dos eixos altera o sentido e a direção em que se dará o processo de *pulling*.

Em virtude desses problemas que foram relatados, a solução encontrada foi deixar a molécula livre nas três dimensões espaciais do eixo. Entretanto, quando assim agimos, constatamos outro problema: o monômero poderia ser encontrado em qualquer lugar da região aquosa e, a depender da distância existente entre a molécula L-GL13K e a membrana DOPC, o processo de *pulling* não mais poderia ocorrer por razões de

extrapolação da distância máxima de separação permitida pelo programa GROMACS, conforme relatamos anteriormente. No mais, expomos, na Fig. (5.2), a título de exemplo, algumas posições ocupadas pelo peptídeo durante a etapa de construção das configurações estáveis, evidenciando que, em algumas situações, a inserção estaria inviabilizada de acontecer pela direção positiva do eixo Z .

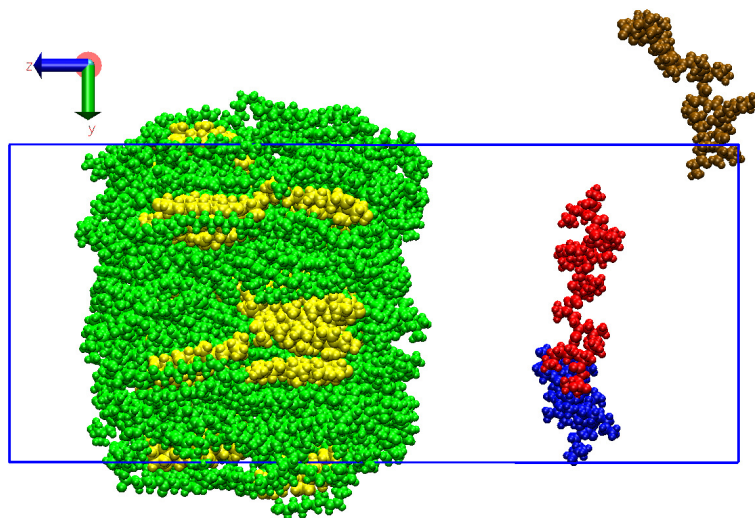


Figura 5.2: Comparação estabelecida entre as posições dos monômeros L-GL13K em diversas etapas das simulações. Verde: DOPC. Amarelo: colesterol. Azul, vermelho e marrom: Peptídeos relacionados às simulações de número 7º, 8º e 20º, respectivamente.

A Fig. (5.2) foi organizada da seguinte forma: concatenamos três situações distintas que evidenciam as diversas posições admissíveis pelo fármaco L-GL13K dentro da caixa de simulação. Em marrom, canto superior à direita, retratamos o monômero obtido durante a 20ª etapa de simulação, enquanto que os monômeros representados nas cores azul e vermelho referem-se as 7ª e 8ª simulações, respectivamente. Assim, as avaliações provenientes desses resultados indicam que a inserção do monômero obtido na 20ª simulação não pode ser efetivada ao longo da direção positiva do eixo Z , sendo que, nesse caso, tivemos que rotacionar a caixa central e, conseqüentemente, inverte a direção na qual ocorreria a inserção do peptídeo L-GL13K, orientando-o ao longo da direção negativa do eixo Z .

Todavia, atuando assim, teremos duas espécies de curvas para representar as forças de inserção e os perfis de densidade de massa dos constituintes membranares: uma delas diz respeito àquelas que apresentam a concavidade voltada para baixo, retratando a situação na qual a inserção é efetivada na direção positiva do eixo Z . A outra espécie que obtivemos está associada àquele padrão de curva que terá a sua concavidade voltada para cima. Esse último caso foi obtido quando realizamos o processo de inserção pela direção negativa do eixo Z , processo esse que foi alcançado a partir do deslocamento da caixa de simulação. Além disso, exemplificamos, na Fig. (5.3), essa dualidade encontrada para o perfil de força, mostrando as curvas de inserção para a 7ª, 8ª, 9ª e 10ª simulação.

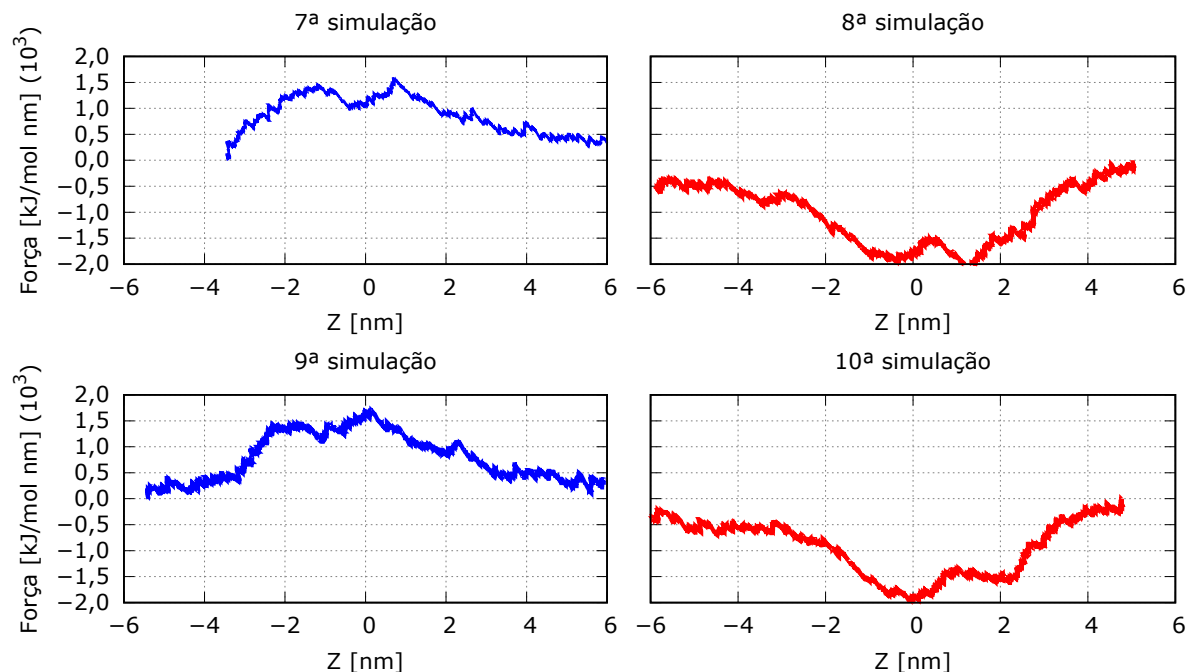


Figura 5.3: Perfis da força de inserção para o polipeptídeo L-GL13K. Os resultados apresentados reproduzem as 7^a, 8^a, 9^a e 10^a simulação. As cores azul e vermelho referem-se, respectivamente, às simulações com concavidades voltadas para baixo e para cima.

Segundo os resultados decorrentes da Fig. (5.3), observa-se que, caso desejássemos estabelecer a curva média para a inserção do monômero, não poderíamos obtê-la diretamente, pois a soma das contribuições entre as curvas com a concavidade voltadas para cima (cores vermelhas) e para baixo (cores azuis) se cancelariam e não seria possível estabelecer o comportamento médio durante o processo de *pulling*. Nesse aspecto, contornamos tal problemática invertendo o perfil de força da Fig. (5.3). Sendo assim, para cada um dos resultados que apresentam a concavidade voltadas para cima, realizamos a inversão do eixo com o intuito de manter a mesma orientação para todos os gráficos da força de inserção.

Um último aspecto a ser abordado diz respeito às alterações que devem ser efetivadas no perfil de densidade. Então, nos mesmos moldes em que efetuamos os ajustes do perfil da força, também devemos alterar as curvas de densidade de massa. Isso ocorre pois constatamos que a inversão na direção em que se dará a inserção do monômero L-GL13K promove mudanças nos perfis de densidade de massa, porquanto, em certas situações, a inserção se estabelecerá da direção positiva para a negativa do eixo Z e, em outros casos, o processo será invertido.

Enfim, somente após procedermos às adequações nas direções em que a técnica de *umbrella sampling* iria ser executada, bem como a realização dos mencionados ajustes nas curvas de densidade de massa, promovemos as respectivas análises dos resultados alcançados durante as etapas das simulações computacionais. Analise essa que nos propomos a apresentar nas próximas seções.

Resultados obtidos

Neste momento do trabalho, centraremos nossos esforços nas análises dos resultados relacionados à inserção do fármaco L-GL13K nas membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10, 30\%$. Portanto, avaliaremos as seguintes seções: força de inserção da molécula L-GL13K, ligação de hidrogênio, perfil densidade de massa dos constituintes membranares e mapas superficiais. Ao final, será apresentada a conclusão do capítulo.

Força de inserção da molécula L-GL13K

Para efetuarmos as análises das forças requeridas durante a inserção do monômero L-GL13K, utilizamos os resultados provenientes da modelagem computacional denominada *umbrella sampling* e registramos os perfis de força para as 150 inserções moleculares. Logo, expomos, na Fig. (5.4), a junção de todas as curvas alcançadas durante as inclusões do fármaco nas membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10$ e 30% , bem como apresentamos os respectivos desvios-padrão.

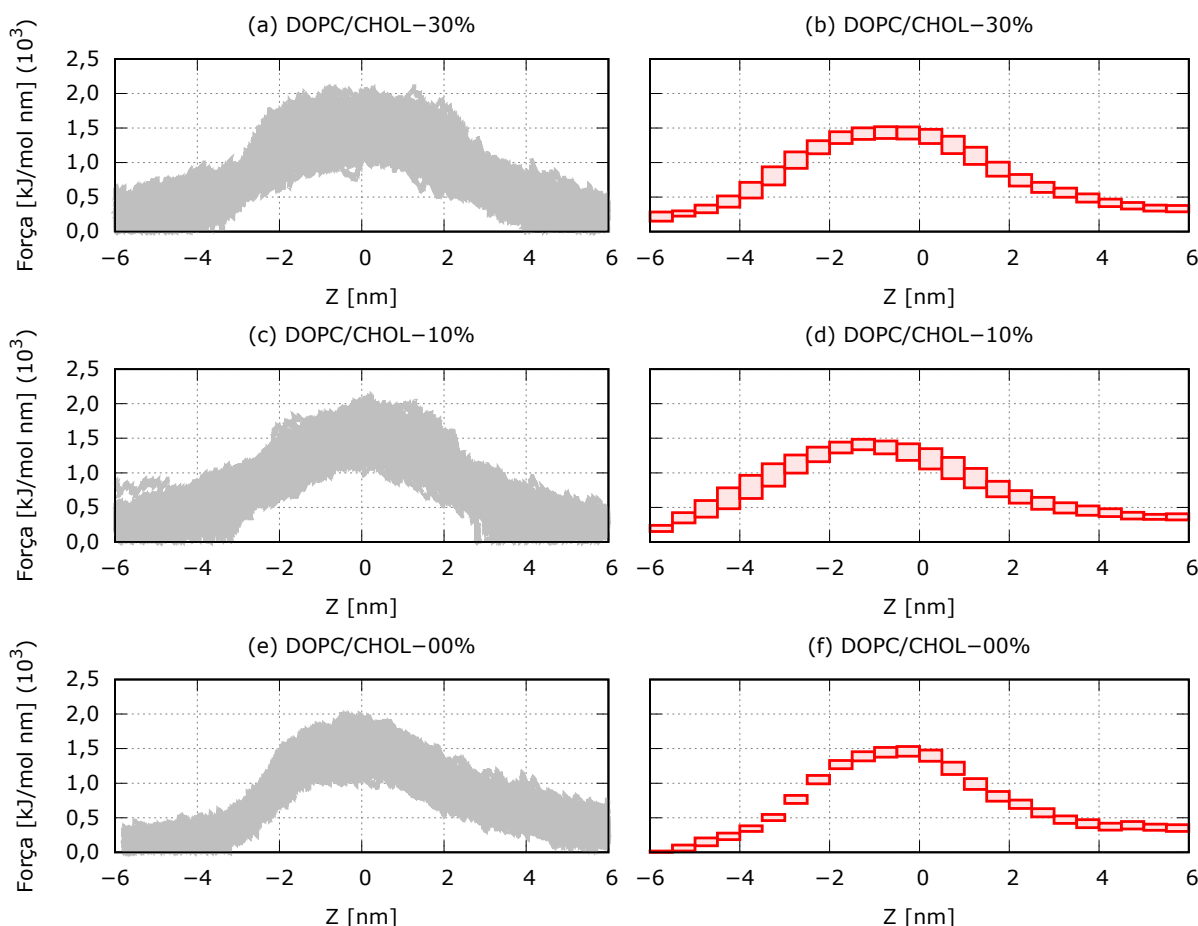


Figura 5.4: Representação das forças necessárias para a inserção do fármaco L-GL13K nas membranas lipídicas. Os quadros (a), (c) e (e) caracterizam a união das 150 inserções. Os quadros (b), (d) e (f) correspondem às médias e aos desvios-padrão das forças observadas.

Os resultados dispostos na Fig. (5.4) apontam que as forças de inserção do peptídeo L-GL13K alcançaram valores máximos superiores a $2,1 \times 10^3$ kJ/mol nm. Em outro momento da tese, mais precisamente quando efetuamos as análises energéticas sobre a inclusão da molécula de fullereno- C_{60} , constatamos que o valor máximo obtido durante essa etapa da simulação figurava em torno de $1,4 \times 10^3$ kJ/mol nm [204]. Dessa forma, podemos afirmar que, em alguns casos pontuais, a força necessária para efetuarmos a inclusão do fármaco supera em 50% o valor máximo encontrado para a inserção da molécula alotrópica do carbono.

Entretanto, para emprendermos uma análise comparativa mais detalhada entre as forças empregadas, tanto na inserção do fármaco L-GL13K, quanto do fullereno- C_{60} , devemos quantificar o comportamento da inclusão através dos valores médios obtidos durante as simulações computacionais. Por isso, expomos, na Fig. (5.5), a comparação entre os perfis de forças determinados para cada sistema. Nessa figura, plotamos, no mesmo gráfico, as forças alcançadas para a inserção do fullereno- C_{60} e do fármaco L-GL13K. Em ambos os casos, as membranas foram centralizadas em $Z = 0$ nm.

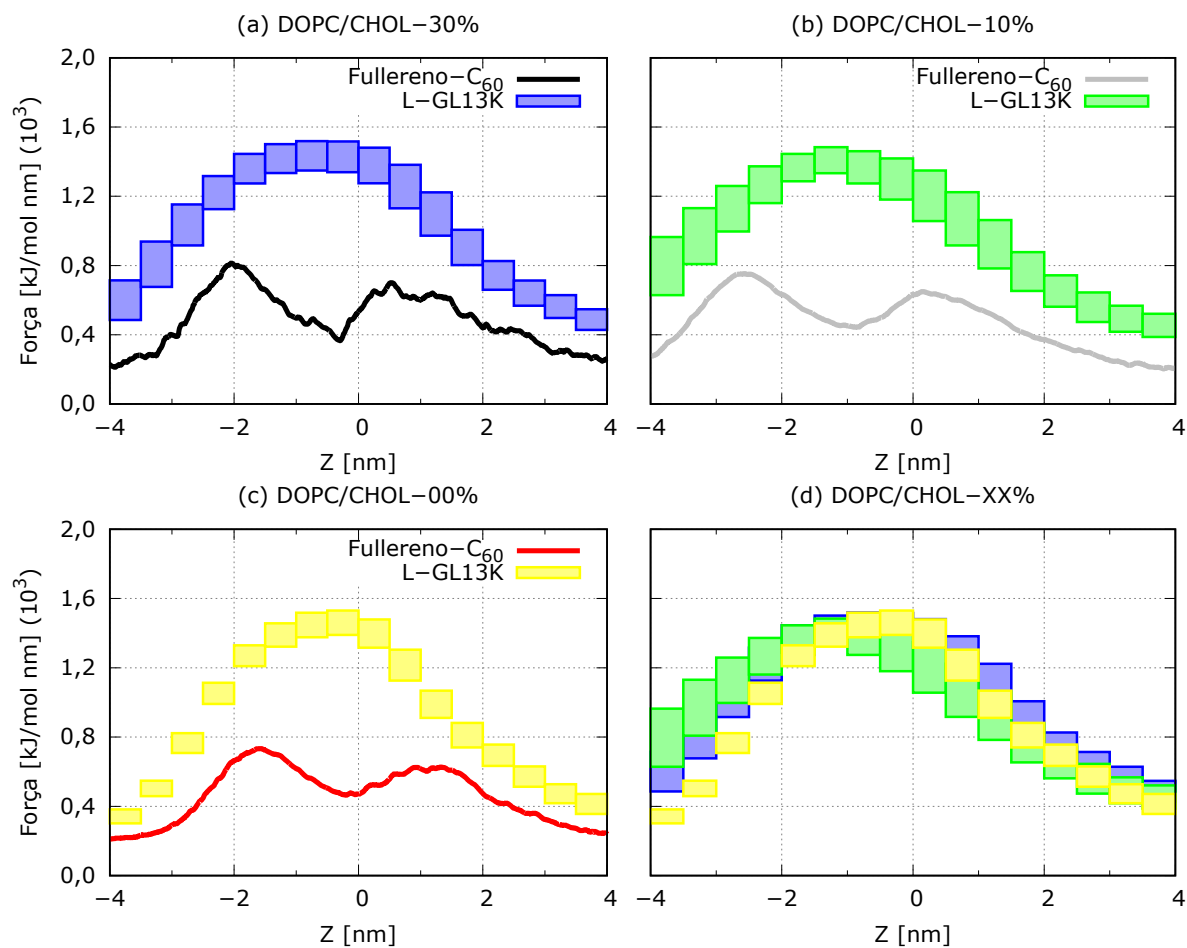


Figura 5.5: Comparação entre as forças necessárias para a inclusão do peptídeo L-GL13K e do fullereno- C_{60} . Os quadros (a), (b) e (c) retratam as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 30, 10$ e 00% , respectivamente. Em (d), agrupamos as curvas médias obtidas nos quadros (a), (b) e (c).

Consoante os resultados dispostos na Fig. (5.5), avaliamos que, independentemente de qual simulação estejamos conduzindo, não é mais possível estabelecer, de maneira precisa, a força empreendida para que o monômero L-GL13K atravesse a face superior e inferior da bicamada lipídica. Deduzimos isso ao observar que, nos resultados envolvendo o peptídeo L-GL13K, há apenas um valor máximo para cada um dos perfis de força. Contudo, enquanto tratávamos da inserção do fullereno- C_{60} , essa distinção era clara e podia ser acompanhada no perfil de força, Fig. (5.5). Por conseguinte, concluímos que a inviabilidade na diferenciação deve-se ao aumento considerável nas dimensões espaciais existentes entre o fármaco L-GL13K e o fullereno- C_{60} .

As forças máximas necessárias para a inclusão da molécula polipeptídica ocorrem por volta de $1,4 \times 10^3$ kJ/mol nm, para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00, 10$ e 30%). Esses resultados sugerem que as moléculas de colesterol não exercem influência significativa durante a técnica de *umbrella sampling* do composto L-GL13K. Entretanto, quando comparamos com os resultados obtidos a partir da inclusão do fullereno- C_{60} nas mesmas membranas lipídicas, reconhecemos que há um comportamento desigual, pois o aumento das moléculas de colesterol é fator responsável por aumentar a força necessária para promover a inclusão e exclusão do fullereno- C_{60} .

Avaliando as forças de arrasto entre o monômero L-GL13K e as moléculas de água, verificamos que esses valores começam a surgir a partir de $Z = 2$ nm e, em todas as membranas simuladas, as forças convergem para valores próximos a $0,38 \times 10^3$ kJ/mol nm. Além disso, comparando os valores obtidos para a força de arrasto das moléculas de DOPC, Fig. (4.10), e do fármaco L-GL13K, certificamos que não há distinção apreciável entre esses dois eventos, pois ambos os resultados estão próximos a $0,38 \times 10^3$ kJ/mol nm. Portanto, notamos que a força necessária para arrastar o monômero lipídico entre as moléculas de água aproxima-se daquela obtida para manter a molécula L-GL13K em movimento no meio aquoso.

Por último, observando as forças de arrasto obtidas para o fullereno- C_{60} e para o fármaco L-GL13K, temos que os valores encontrados para as moléculas alotrópicas do carbono mantêm-se em torno de $0,2 \times 10^3$ kJ/mol nm. À vista disso, fruto da interação elétrica existente entre o composto peptídico L-GL13K e o meio aquoso, indicamos que se faz necessária uma força 90% mais elevada para sustentar a molécula L-GL13K em movimento dentro da solução de água.

Perfil densidade de massa

Os resultados inerentes ao perfil de densidade de massa para as membranas lipídicas encontram-se expostos na Fig. (5.6). Em vista disso, organizamos a Fig. (5.6) da seguinte forma: os quadros (a), (c) e (e) representam, respectivamente, a união dos perfis de densidade de massa para todas as 150 inserções do agente farmacológico que

ocorreram nas membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10, 30\%$. O eixo da abscissa representa a dimensão da caixa de simulação ao longo da direção Z , medida em nm, enquanto que o eixo da ordenada está associado à densidade dos constituintes membranares, medida em kg/m^3 .

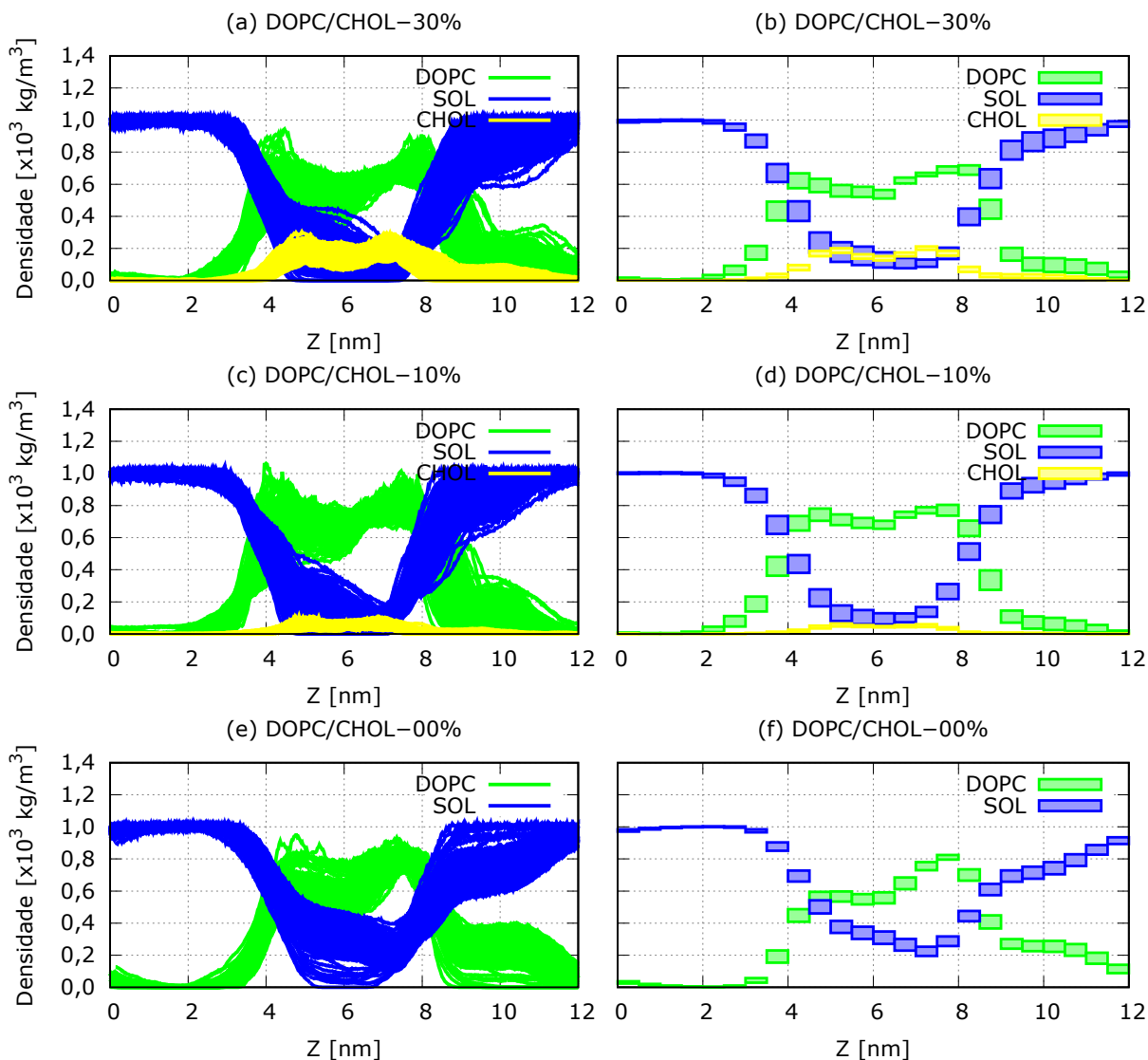


Figura 5.6: Perfil de densidade das membranas após a interação com o monômero L-GL13K. As Figs. (a), (c) e (e) representam a união das 150 inserções. As Figs. (b), (d) e (f) correspondem à média e ao desvio-padrão.

Quanto aos quadros (b), (d) e (f), estes estão relacionados às médias e aos desvios-padrão das membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10, 30\%$, respectivamente. Todavia, gostaríamos de apresentar algumas considerações sobre a forma com que essas medidas estatísticas foram obtidas. Por força da impossibilidade simulacional em manter o monômero L-GL13K fixo no eixo Z , conforme os relatos apresentados anteriormente, passamos a considerar que a posição do peptídeo L-GL13K deve ser especificada, assumindo um respectivo desvio-padrão ao longo do eixo Z .

Dessa forma, ao avaliarmos os resultados dispostos nos quadros (b), (d) e (f) da Fig. (5.6), devemos identificar um desvio-padrão na posição do monômero peptídico L-GL13K e um nos valores da densidade de massa. O desvio-padrão relacionado à distância foi mantido constante e fixado em 0,5 nm, ao passo que para os valores dos desvios das densidades, avaliamos suas flutuações em torno dos seus respectivos valores médios. Portanto, cada caixa registra valores médios bem como os correspondentes desvios-padrão para a posição e para a densidade.

Prosseguindo com as análises, resultados anteriores apontaram que as membranas lipídicas são responsáveis por promover uma nítida separação entre elas e o meio aquoso. Além disso, concluímos que este comportamento é oriundo do alto caráter hidrofóbico a que as moléculas de DOPC estão submetidas, fazendo com que, na parte interna das membranas lipídicas, não existam moléculas de água.

Por outro lado, segundo os resultados evidenciados na Fig. (5.6), constatamos que, independentemente de qual seja a membrana observada, a inserção do monômero L-GL13K altera, significativamente, o perfil de densidade de massa dos lipídios. Para chegarmos à referida conclusão, efetuamos a comparação entre o perfil de densidade de massa antes e após o processo de inserção monomérica. Para tal análise comparativa, iniciaremos o estudo pela DOPC pura e, em seguida, passaremos às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 10, 30\%$.

Em um primeiro instante, tratando-se da estrutura DOPC/CHOL-00%, as simulações conduzidas no estudo sobre a inserção do fullereno- C_{60} apontam que a bicamada de DOPC pura está posicionada na caixa central de simulação, em média, entre $Z = 4,2$ nm (face de inserção) e $Z = 8,2$ nm (face de extração), com espessura média resultante de $4,096 \pm 0,340$ nm. Ao efetuarmos a inserção do peptídeo L-GL13K, Fig. (5.6f), observamos que as faces de inserção das membranas simuladas têm valores compreendidos entre $Z = 3,5$ e $4,5$ nm. Desse modo, um primeiro resultado que podemos identificar corresponde ao fato de que a inserção do fármaco não promove alterações significativas na posição em que se encontra a face superior da membrana. Ou seja, em todas as inserções, a face superior da bicamada lipídica ficará disposta entre $Z = 3,5$ e $4,5$ nm.

Contudo, quanto às faces de extração das membranas de DOPC/CHOL-00%, obtidas após a inserção do monômero L-GL13K, constatamos que as moléculas lipídicas são transportadas para a parte final da caixa de simulação. Por isso, podemos identificar que, em média, as moléculas de DOPCs da face de extração passaram a ocupar uma região espacial compreendida entre $Z = 8,5$ e 12 nm. Esses resultados atestam que houve uma desestruturação da camada lipídica, cujo resultado imediato é o aumento de infiltração. Outrossim, podemos estender as análises do perfil de densidade às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 10$ e 30% , Figs. (5.6d) e (5.6b), evidenciando que, em ambos os casos, os monômeros lipídicos da camada de extração ficaram dispersos e as moléculas de água passaram a ocupar a região central da membrana.

Com o objetivo de apreciar e quantificar a dinâmica de interação entre o fármaco L-GL13K e as membranas de DOPC, analisaremos a densidade dos constituintes membranares em separado. Por conseguinte, em uma primeira etapa, será efetuada a comparação entre as densidades das moléculas de DOPC. Em seguida, passaremos às análises das infiltrações aquosas, avaliando o perfil de densidade antes e após a inclusão do fármaco, à procura de indícios que apontem a influência que a molécula L-GL13K possui sobre as membranas lipídicas.

Comparação da densidade de massa: moléculas de DOPC

Expomos, na Fig. (5.7), o perfil de densidade de massa para as moléculas de DOPC. Organizamos a mencionada figura da seguinte forma: os quadros (a), (b) e (c) representam a densidade das DOPCs para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10$ e 30% , respectivamente. Em cada um desses quadros, apresentamos o comportamento da densidade antes e após a inclusão do fármaco L-GL13K.

Além disso, a linha destacada em verde indica o perfil de densidade antes da inclusão, enquanto que as curvas representadas na forma retangular reproduzem a densidade das moléculas lipídicas após a inserção do peptídeo. Sobre o quadro (d), reunimos as curvas obtidas nos quadros (a), (b) e (c) para efeito de comparação.

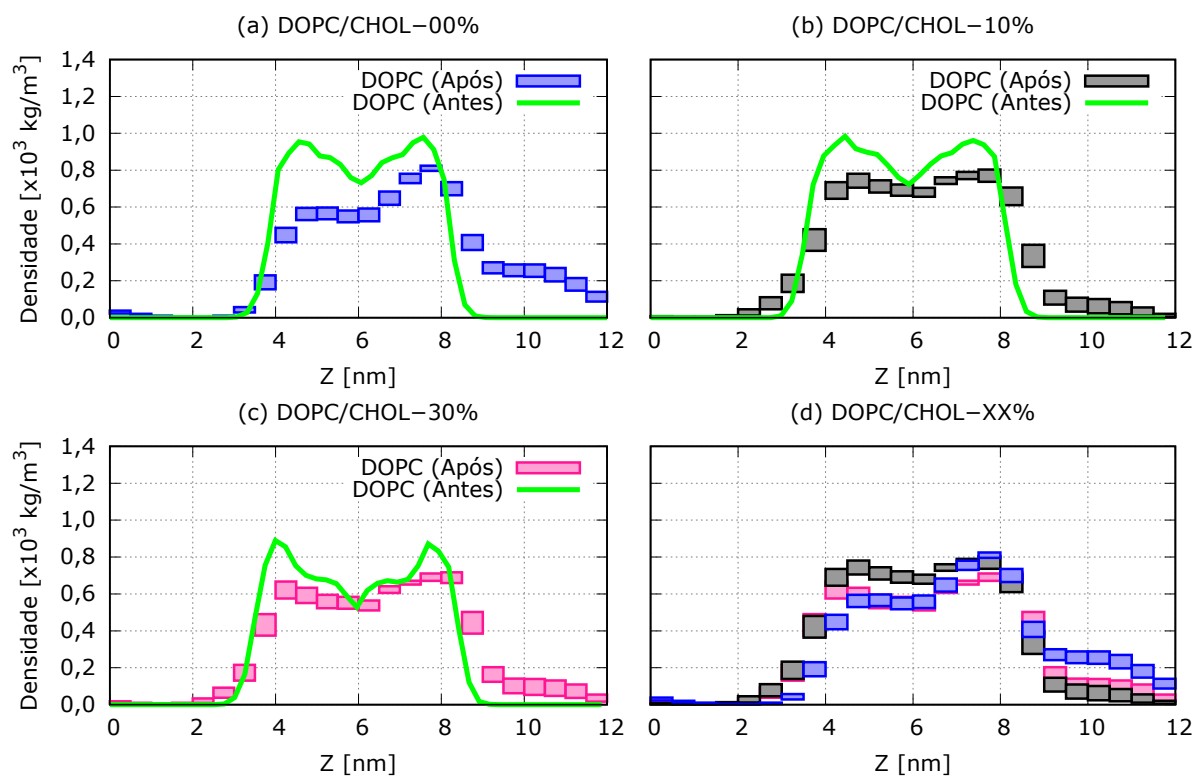


Figura 5.7: Perfil de densidade de massa para as DOPCs. Os quadros (a), (b) e (c) correspondem à densidade para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10$ e 30% . Em (d), união dos quadros (a), (b) e (c). Sobre as cores, rosa, cinza e azul representam as membranas com 30% , 10% e 00% de moléculas de colesterol, respectivamente.

Abordando os resultados da membrana DOPC/CHOL-00%, Fig. (5.7a), notamos que, antes da inclusão, a densidade das moléculas de DOPC, curva verde, apresenta duas regiões com valores máximos: uma delas encontra-se em torno de $Z = 4,4$ nm, enquanto que a outra região máxima está localizada próxima a $Z = 7,7$ nm. Ao iniciarmos a técnica de *umbrella sampling*, os resultados obtidos atestam que o perfil de densidade é intensamente afetado. Com o propósito de quantificar essas alterações nos perfis de densidade, avaliaremos a inserção do peptídeo L-GL13K em quatro regiões distintas: uma compreendida entre $Z = [4,6]$ nm, outra na faixa dos $Z = [6,8]$ nm, uma terceira região entre $Z = [8, 10]$ nm e, por último, a região estabelecida entre $Z = [10, 12]$ nm.

Para a região compreendida entre $Z = [4, 6]$ nm, observamos que a densidade do monômero DOPC passa de $0,96 \times 10^3$ kg/m³ para $0,53 \times 10^3$ kg/m³, o que significa uma redução de, aproximadamente, 45% da densidade de massa dos lipídios. Nesse âmbito, identificamos que as moléculas lipídicas que inicialmente ocupavam essa primeira região foram dispersas por todo o restante da caixa de simulação. Certificamos ainda que, quando comparada com as densidades das membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 10$ e 30%), a bicamada lipídica DOPC/CHOL-00% apresenta a maior redução nos valores da densidade.

Justifica-se o comportamento obtido para a membrana de DOPC pura por duas vias: a primeira delas encontra respaldo pela ausência de moléculas de colesterol, pois, segundo as observações dispostas no capítulo quatro, as moléculas de colesterol exercem um papel central sobre a mobilidade dos constituintes membranares, de sorte que, aumentando o número de moléculas de CHOL, a mobilidade é drasticamente reduzida, tornando a membrana mais rígida. Isso significa dizer que, no caso de não haver a presença de moléculas de colesterol, mais facilmente a bicamada lipídica poderá ser desfeita. Quanto ao segundo aspecto, temos que as ligações de hidrogênio firmadas entre o peptídeo L-GL13K e as moléculas de DOPC exercem um papel vital na desestabilização da camada lipídica. Contudo, tal análise quantitativa será efetuada em outro momento deste capítulo.

Sobre a região compreendida entre $Z = [6, 8]$ nm, embora em menor proporção, também podemos acompanhar uma redução nos valores da densidade de massa das moléculas de DOPC. Nesse caso, a membrana anterior à inserção apresentava, em seu valor máximo, a densidade de $0,97 \times 10^3$ kg/m³, ao passo que, quando avaliamos o instante posterior à inserção, a densidade foi reduzida para $0,69 \times 10^3$ kg/m³, cuja redução percentual figura em torno de 29%.

Mantendo-se as mesmas análises comparativas, podemos identificar que, na região fixada entre $Z = [8, 10]$ nm, antes do processo de inclusão, não existiam moléculas dispersas de DOPC em água. Por outro lado, notamos que, após a técnica de *umbrella sampling*, a densidade de massa, em média, apresentou valores próximos a $0,41 \times 10^3$ kg/m³. Quanto à última região, constituída entre $Z = [10, 12]$, verificamos que o resultado obtido para a densidade de massa das moléculas de DOPC saltou de nulo para, aproximadamente, $0,22 \times 10^3$ kg/m³.

Sucintamente, os valores encontrados para as densidades das membranas lipídicas com ($XX = 00, 10$ e 30%) foram expostos na Tabela (5.1). Nesse âmbito, os resultados exibidos entre colchetes representam a densidade após a inclusão do peptídeo e aqueles mantidos do lado de fora retratam a densidade antes de procedermos à técnica de inserção.

Densidade (kg/m^3) $\times 10^3$	[4, 6] nm	[6, 8] nm	[8, 10] nm	[10, 12] nm
DOPC/CHOL-00%	0,96 [0,53]	0,97 [0,69]	0 [0,41]	0 [0,22]
DOPC/CHOL-10%	0,99 [0,71]	0,96 [0,74]	0 [0,28]	0 [0,05]
DOPC/CHOL-30%	0,86 [0,60]	0,84 [0,70]	0 [0,31]	0 [0,07]

Tabela 5.1: Densidade das moléculas de DOPC. Antes [Após] o processo de inserção do monômero. Separamos a membrana em quatro regiões espaciais: [4, 6] nm, [6, 8] nm, [8, 10] nm e [10, 12] nm.

Os valores da Tabela (5.1) revelam que, na região estabelecida entre $Z = [4, 6]$ nm, as reduções nos valores da densidade foram de 45%, 28% e 30% para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00, 10$ e 30%), respectivamente. Essas reduções indicam que a ausência das moléculas de colesterol na bicamada DOPC/CHOL-00% influi, significativamente, no processo de deslocamento das moléculas de DOPC a partir da superfície membranar. Também podemos observar que, tratando-se das membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 10$ e 30%), a diferença de colesterol não promove profundas alterações quanto ao deslocamento de moléculas lipídicas nessa mesma região.

Acerca da região estabelecida entre $Z = [6, 8]$ nm, encontramos as seguintes reduções nos valores da densidade de massa das DOPCs: 29%, 23% e 16% para as membranas com ($XX = 00, 10$ e 30%), nessa devida ordem. De posse desses resultados, reconhecemos que quanto maior a concentração de colesterol presente na membrana, menor será o número de moléculas de DOPC transportadas para o restante da caixa de simulação. Portanto, esses argumentos reforçam a ideia de que o colesterol atua de modo a manter a estrutura da membrana rígida durante a técnica de *umbrella sampling*.

Por último, quanto à região fixada entre $Z = [8, 10]$ nm, o aumento nos valores da densidade de massa da DOPC foi mais acentuado para a membrana DOPC/CHOL-00%, passando de nulo para $0,41 \times 10^3 \text{ kg}/\text{m}^3$, enquanto que, nas demais camadas lipídicas, os valores mantiveram-se próximos a zero. Comportamento similar foi encontrado na região $Z = [10, 12]$ nm. Nesse caso, a densidade da DOPC pura mantém-se em torno de $0,22 \times 10^3 \text{ kg}/\text{m}^3$, ao passo que as demais membranas, nessa mesma região, apresentaram valores para as densidades próximos entre si e estabelecidos em torno de $0,05 \times 10^3 \text{ kg}/\text{m}^3$. Logo, em ambas as regiões abordadas, concluímos que as moléculas de colesterol influenciam na inserção do monômero L-GL13K, uma vez que a presença dessas moléculas na membrana tende a impor resistência à inserção do fármaco.

Comparação da densidade de massa: moléculas de água

A Fig. (5.8) reflete o perfil de densidade da água antes e após a inserção do peptídeo L-GL13K nas membranas lipídicas. Sistematizamos essa figura da seguinte forma: os quadros (a), (b) e (c) retratam o comportamento da densidade das moléculas de água para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00, 10$ e 30%), respectivamente, ao passo que o quadro (d) corresponde à junção desses mesmos gráficos obtidos após o processo de inclusão do agente farmacológico.

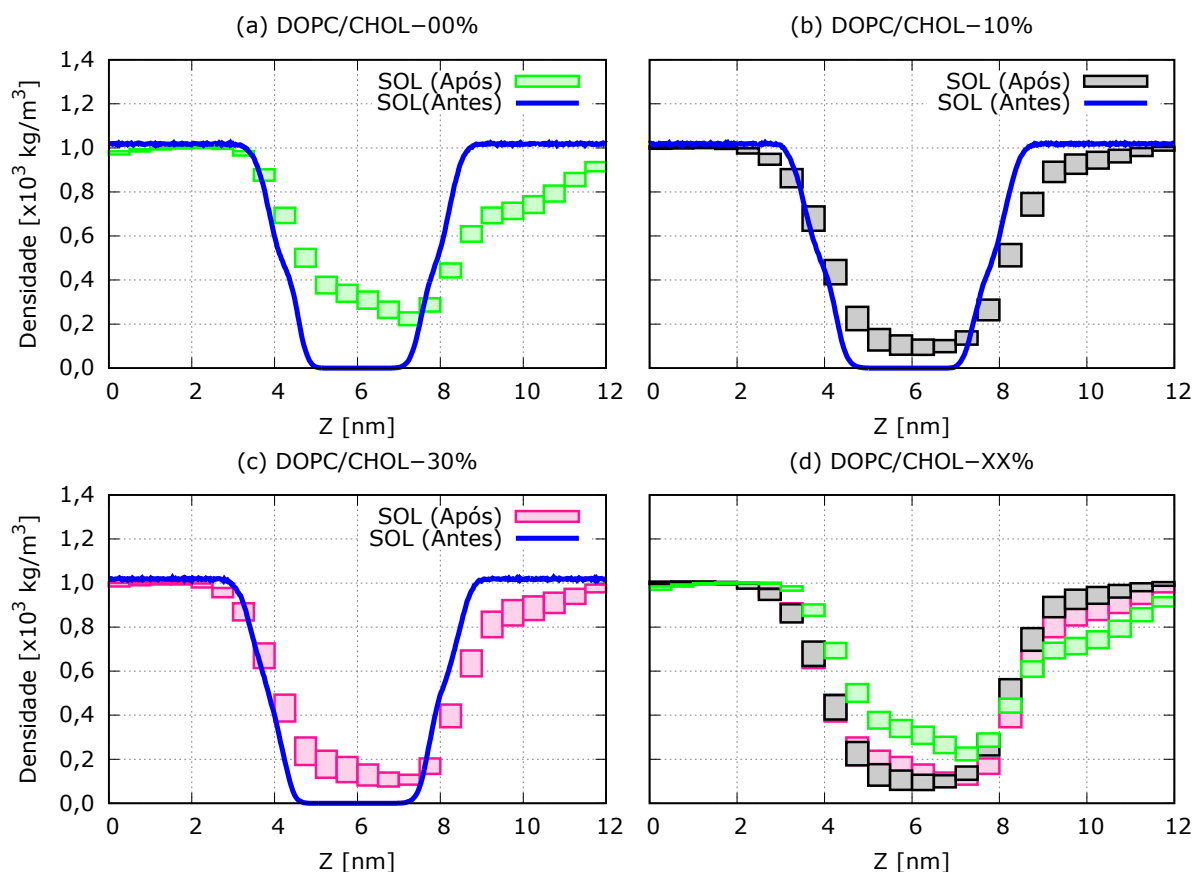


Figura 5.8: Densidade das moléculas de água (SOL) antes e após a inserção do monômero L-GL13K. Em azul, temos a densidade antes da inserção. A curva retangular representa a densidade do meio aquoso após a inserção do fármaco. O quadro (d) representa todas as densidades para as moléculas de água nas membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00\%$ (verde), 10% (cinza) e 30% (rosa).

Para que possamos identificar e quantificar os efeitos decorrentes da interação entre a molécula L-GL13K e a bicamada lipídica, efetuaremos as análises dessa seção nos mesmos moldes em que foram realizadas as avaliações para a densidade das moléculas de DOPC. Portanto, efetuaremos as análises comparativas por regiões específicas, de maneira que os valores da densidade serão avaliados em quatro regiões distintas: uma compreendida entre $Z = [4, 6]$ nm, outra na faixa dos $Z = [6, 8]$ nm, uma terceira região entre $Z = [8, 10]$ nm e, por último, a região estabelecida entre $Z = [10, 12]$ nm.

Na seção anterior, constatamos que as moléculas de colesterol exercem um papel central na manutenção da estabilidade membranar, de sorte que quanto maior o percentual de colesterol presente na membrana, menor será o número de moléculas de DOPC que serão transportadas dentro da caixa de simulação durante a inserção do fármaco L-GL13K. Além do mais, identificamos que a ação de deslocar a molécula de L-GL13K, por intermédio da técnica de *umbrella sampling*, influi diretamente no perfil de densidade das moléculas de água, haja vista que o lugar que era ocupado pelas moléculas de lipídeo, após a sua retirada, passa a ser preenchido pelas moléculas de água.

Com respeito à região estabelecida entre $Z = [4, 6]$ nm, os resultados obtidos para a densidade de massa da água apontam as seguintes alterações: para a membrana DOPC/CHOL-00%, a densidade de massa vai de zero para $0,44 \times 10^3$ kg/m³, enquanto que para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 10\%$ e 30%), após o processo de *umbrella sampling*, as densidades são de $[0,23; 0,25] \times 10^3$ kg/m³, respectivamente. Desse modo, empreendendo uma análise comparativa com as densidades de massa das moléculas de DOPC, identificamos que a região onde existir uma maior taxa de deslocamento de moléculas de DOPC, haverá uma maior infiltração de moléculas de água.

Sobre a região entre $Z = [6, 8]$ nm, as densidades para as moléculas de água, após a inserção, foram de $[0,28; 0,15; 0,12] \times 10^3$ kg/m³ para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, $XX = 00\%$, 10% e 30% , respectivamente. Dessa maneira, reconhecemos que, ao aumentarmos a concentração de colesterol na membrana de zero para 10% , a taxa de infiltração de água diminui em 46% e, estendendo a concentração de colesterol até a proporção de 30% , observamos que a redução nos valores da infiltração de água alcançam parâmetros na faixa de 57% .

Quanto à região $Z = [8, 10]$ nm, as densidades de massa das moléculas de água alcançaram os seguintes valores: $[0,62; 0,81; 0,78] \times 10^3$ kg/m³, para as DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Nesse contexto, após a execução da técnica de *umbrella sampling*, as moléculas de água passaram a ocupar a região central das membranas, cuja consequência é a redução da densidade na região entre $Z = [8, 10]$ nm. Esse processo de deslocamento do meio aquoso é responsável por desestabilizar a membrana lipídica, uma vez que o interior da membrana apresenta um caráter altamente hidrofóbico.

Finalmente, relativo à região ente $Z = [10, 12]$ nm, os subseqüentes valores foram determinados para as densidades da água: $[0,62; 0,91; 0,87] \times 10^3$ kg/m³, para DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Deduzimos que a membrana DOPC pura, quando comparada com as demais, teve a maior alteração no perfil de densidade por motivos da inserção do peptídeo L-GL13K. Portanto, constatamos que a densidade da água, nessa região, reduziu em 38% , 9% e 13% para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00\%$, 10% e 30% , nessa devida ordem. Em suma, encerraremos essa seção sinalizando que a presença das moléculas de CHOL diminui, tanto a taxa de infiltração de água, quanto o deslocamento das DOPCs durante o processo de inserção.

Ligação de hidrogênio

Nesta seção, discutiremos sobre os aspectos relacionados às ligações de hidrogênio mantidas entre os elementos simulados durante a técnica de *umbrella sampling*. Logo, as avaliações serão efetuadas em duas etapas: na primeira delas, estudaremos as LHs existentes entre as moléculas de DOPC e o fármaco L-GL13K, Fig. (5.9). Essa primeira análise indicará qual a importância das LHs para o deslocamento das moléculas lipídicas no interior da caixa de simulação e qual a relevância desse processo para a estabilidade membranar. Acerca da segunda etapa, Fig. (5.10), examinaremos a formação das LHs entre o composto peptídico e o meio aquoso, estabelecendo de que forma essas interações alteram a taxa de hidratação da bicamada lipídica.

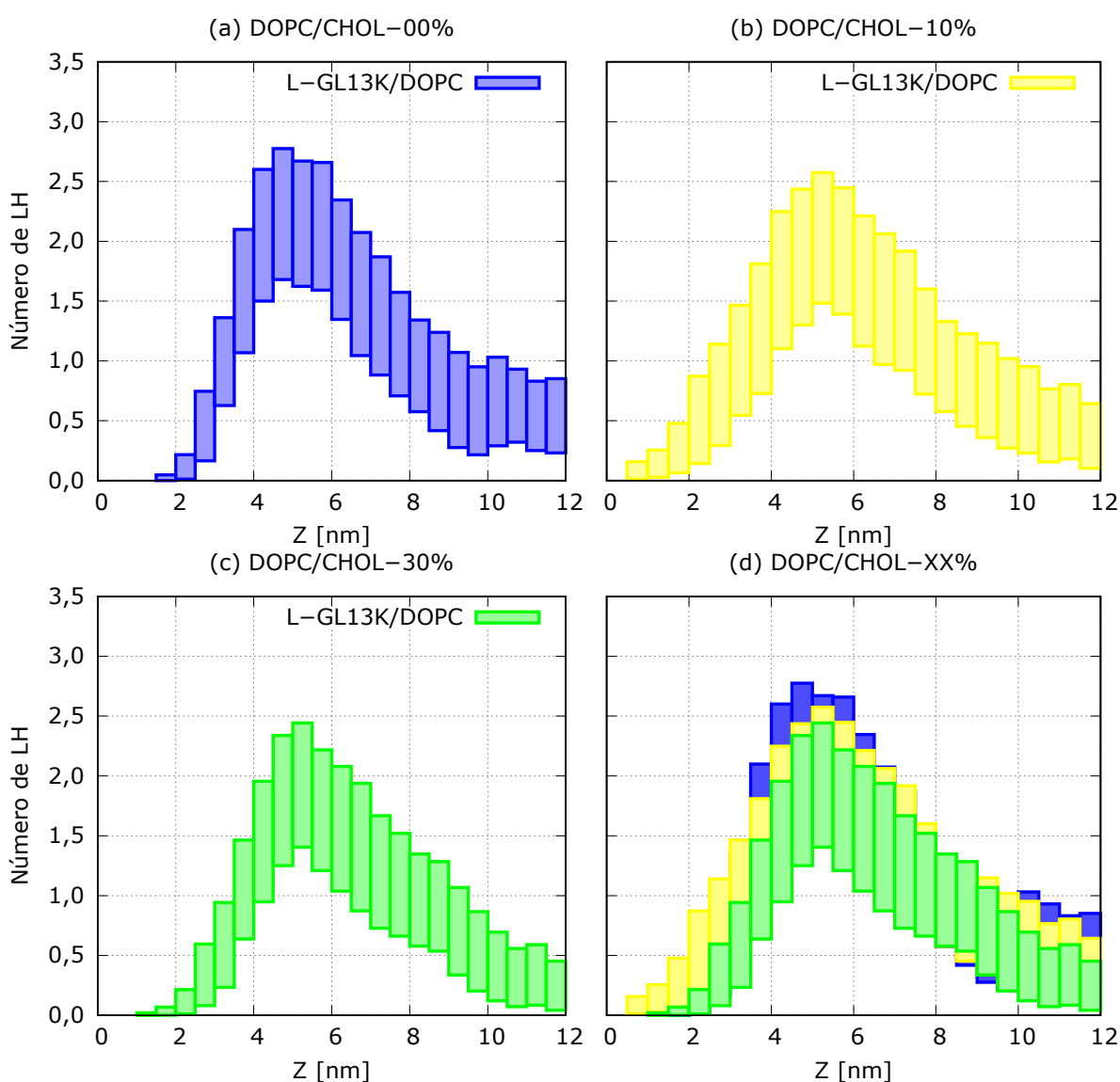


Figura 5.9: Número médio de ligações de hidrogênio entre a molécula de DOPC e o peptídeo L-GL13K mantidas durante o processo de *pulling*. Os quadros (a), (b) e (c) referem-se às membranas DOPC/CHOL-XX% ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Em (d), agrupamos os valores médios e os respectivos desvios-padrão para efeito de comparação.

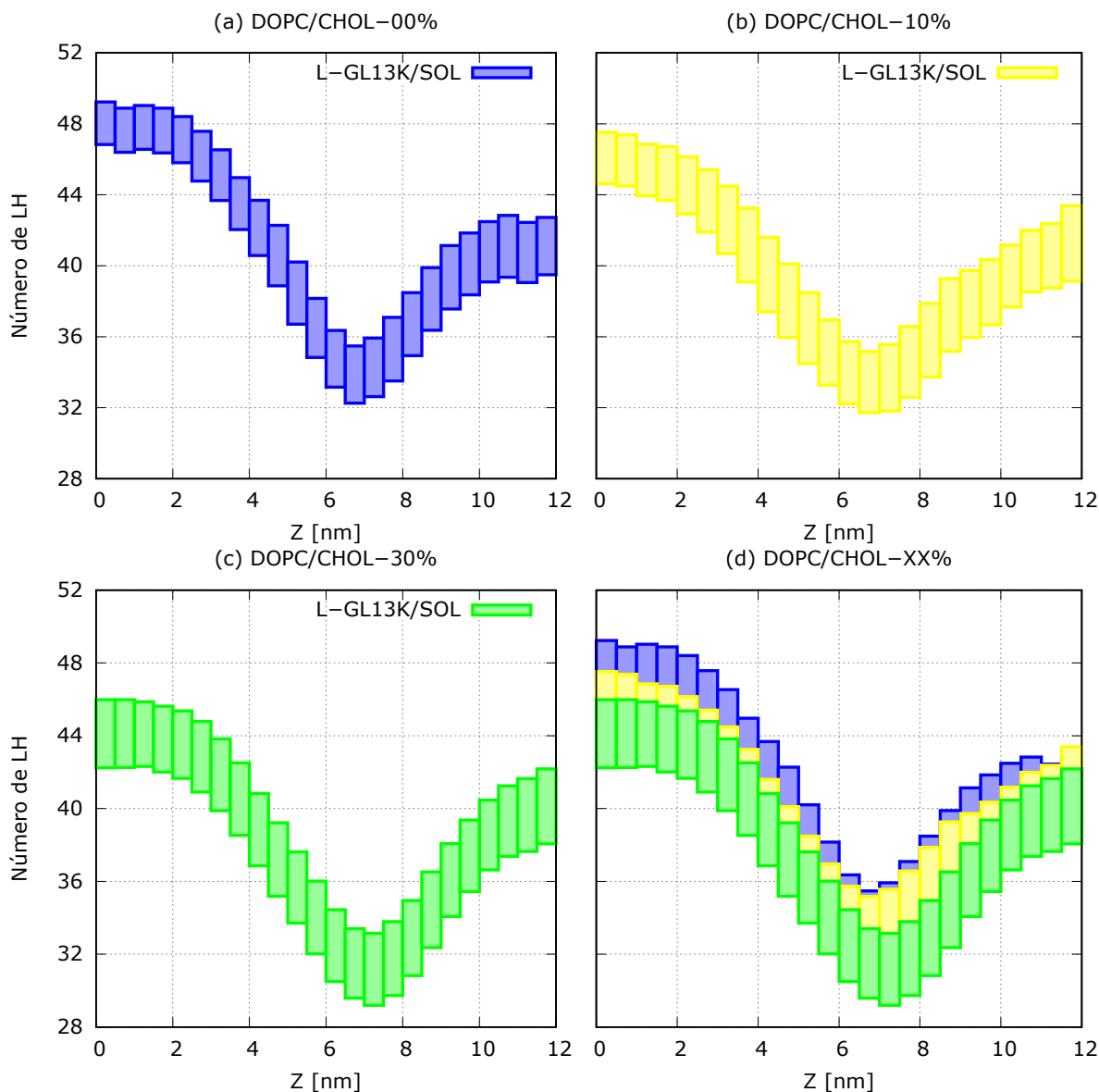


Figura 5.10: Número médio de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e o peptídeo L-GL13K mantidas durante o processo de *pulling*. Os quadros (a), (b) e (c) referem-se às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Em (d), agrupamos os valores médios e os respectivos desvios-padrão para efeito de comparação.

Tratando-se dos resultados apresentados na Fig. (5.9), constatamos que a região na qual se iniciará a inserção do fármaco apresenta ligeiras alterações no número médio de LHs a depender da membrana simulada. Essas alterações ocorrem devido à distância entre o monômero e a membrana que, conforme pontuamos na seção "Detalhes computacionais sobre a técnica de *umbrella sampling*", não é possível controlar de maneira precisa. Por essa razão, obtemos que a introdução do fármaco L-GL13K na membrana DOPC/CHOL- 00% transcorre na região estabelecida entre $[1,5;2,5]$ nm. De mesmo modo, para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 10\%$ e 30%), a região de interação será firmada entre $[1,0;1,5]$ nm e $[1,5;2,0]$ nm, respectivamente.

Sobre o número médio de ligações de hidrogênio entre o L-GL13K e as moléculas de DOPC, os resultados dispostos na Fig. (5.9) assinalam os subseqüentes valores máximos para as LHs: 2,23; 2,02; 1,92, para as membranas com 00%, 10% e 30% de CHOL, nessa devida ordem. Esses resultados revelam que a membrana lipídica pura mantém, aproximadamente, 9,5% mais ligações de hidrogênio com o fármaco L-GL13K do que a membrana DOPC/CHOL-10% e 14% superior àquelas ligações observadas entre o L-GL13K e o DOPC para a estrutura DOPC/CHOL-30%. Ademais, considerando que há desvios associados ao número de LH entre o L-GL13K e o DOPC, apuramos que os valores máximos [mínimos] definidos para as interações de hidrogênio, na região $Z = [4, 6]$ nm, serão expressos por: 2,77 [1,71]; 2,55 [1,54]; 2,21 [1,20] relativos às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%).

Entre o par DOPC/L-GL13K, o maior valor obtido para o número médio de ligações de hidrogênio foi verificado para a bicamada DOPC/CHOL-00%. Tal resultado é devido à elevada concentração de moléculas lipídicas presentes na membrana pura. Ressaltamos que há um total de 128, 116 e 90 moléculas de DOPC para as estruturas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%), o que equivale a 64, 58 e 45 moléculas lipídicas por camada membranar. Além disso, salientamos que o valor máximo para as LHs ocorrem na região central da bicamada lipídica, local este que não deveria ocorrer esse tipo de interação em decorrência do caráter hidrofóbico das moléculas de DOPC.

No tocante à membrana DOPC/CHOL-00%, as análises da seção antecedente, intitulada "Comparação da densidade de massa: moléculas de DOPC", revelaram que, na região estabelecida entre $Z = [4, 6]$ nm, as densidades das moléculas lipídicas passaram de $0,96 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$ para $0,53 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, implicando em uma redução de 45% do valor inicial. Nesse âmbito, temos que essa região corresponde ao momento em que a ligação de hidrogênio atinge seu valor máximo. A partir de então, via ligações de hidrogênio, as moléculas de DOPC são progressivamente removidas da membrana lipídica e deslocadas para o restante da caixa central de simulação. Sobre as demais membranas simuladas, comportamento similar pode ser constatado, de forma que as LHs são responsáveis por desprender os monômeros lipídicos da primeira camada e por levá-los a ocupar as demais áreas da célula unitária.

Acerca da manutenção das LHs entre o par DOPC/L-GL13K, os resultados provenientes da Fig. (5.9) enfatizam que as ligações estabelecidas na região central são mantidas no decurso de processo de *pulling*, embora existam reduções nos seus valores médios. Logo, apontamos que, na região entre $Z = [4, 6]$ nm, os números médios de LHs eram de 2,23; 2,02; 1,92, para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%). Agora, ao avaliarmos essas mesmas membranas na região estabelecida entre $Z = [10, 12]$ nm, os valores médios das LHs passaram a ser 0,66; 0,52; 0,46. Esses resultados assinalam que, em média, 30%, 25% e 23% das LH estabelecidas entre o fármaco e as DOPCs, na região central da membrana, são mantidas até o momento final da simulação.

À vista das LHs existentes entre as moléculas de DOPC e L-GL13K, podemos concluir que essas interações são responsáveis por promover a desestruturação da membrana lipídica, pois, ao oportunizar o processo de transporte das moléculas de DOPC, as LHs promovem o aumento de infiltração aquosa no interior da bicamada lipídica. Portanto, reconhecemos que, uma vez estabelecida a ligação de hidrogênio entre o par DOPC/L-GL13K, essas ligações alteram os perfis de densidade de massa da água e das moléculas de DOPC, cujo resultado é o aumento de instabilidade membranar na região.

Com respeito aos resultados dispostos na Fig. (5.10), esta figura representa o número de LHs mantidas entre o peptídeo L-GL13K e a água. Segundo esses resultados, identificamos a existência de duas regiões distintas: a primeira delas, mantida entre $Z = [0, 2]$ nm, refere-se à área externa na qual o monômero L-GL13K interage tão somente com as moléculas de água. De outra parte, a segunda região, compreendida entre $Z = [6, 8]$ nm, diz respeito ao momento em que o fármaco atinge a região central da membrana lipídica e, por essa razão, será intitulada de região interna.

Quanto aos resultados da região externa, os valores máximos para o número de LHs entre o fármaco e as moléculas de água foram de 47,2; 45,7; 43,8 relativos às membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%), respectivamente. Essa diferença inicial sobre o número de LH estabelecidas entre o fármaco e o meio aquoso é oriunda das alterações na disposição geométrica a que o monômero está submetido. Sendo assim, no decorrer das simulações, o monômero poderá ter sua área de interação com as moléculas de água reduzida, interferindo diretamente no número de ligações de hidrogênio.

Sobre a região interna, os resultados obtidos para o número médio de LHs entre o L-GL13K e a água foram de 35,1; 32,8; 30,1, para as DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%), nessa ordem. Efetuando uma análise comparativa com a região externa, identificamos uma redução no número médio de LH próxima a 25%, 28% e 31%, para $XX = 00\%$, 10% e 30% . Esses valores reforçam a ideia de que as moléculas de colesterol têm vital importância na manutenção da estrutura membrana, pois, ao aumentar o número de moléculas de colesterol na membrana, maior será a redução no número médio das LHs entre o monômero L-GL13K e o meio aquoso. Isso significa dizer que uma menor quantidade de água entrou na região interna da membrana.

Perante os resultados e discussões apresentadas nesta seção, podemos concluir que as ligações de hidrogênio desempenham uma ação central no processo de desestabilização membranar. Nesse quadro, as análises sugerem que as interações entre o fármaco L-GL13K e as moléculas de DOPC promovem o deslocamento dos monômeros lipídicos por toda a extensão da caixa de simulação, feito esse que viabiliza o aumento de infiltração de água no interior da bicamada lipídica. Em outro sentido, também utilizamos o conceito de LH para corroborar a importância do colesterol no processo de estabilidade das bicamadas lipídicas.

Mapas Superficiais

Conforme apresentado na seção anterior, ao promovermos a interação entre o fármaco L-GL13K e as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10$ e 30% , há uma notória infiltração de água, a qual é responsável por desestabilizar a estrutura da bicamada lipídica. Nessa mesma seção, concluímos que a presença das moléculas de colesterol altera a taxa de infiltração, de sorte que a membrana com menor concentração de colesterol apresenta maior taxa de infiltração.

Avançando com as análises que versam sobre o impacto que o monômero L-GL13K desempenha sobre a estrutura membranar, objetivamos, agora, apresentar um parâmetro quantitativo que possa servir de indicativo para apontar o grau de eficiência da interação estabelecida entre o monômero e as superfícies simuladas. Tal análise auxiliará na identificação de qual a fração da área membranar que será comprometida durante o processo de interação peptídeo-DOPC. Nesse aspecto, recorreremos aos mapas de superfície que, conforme vimos anteriormente, indicam de que forma a espessura membranar está se alterando. Portanto, os mapas 2D serão usados para definir a proporção membranar que será afetada durante o processo de interação e de que forma a infiltração aquosa está se alterando.

Isso posto, apresentamos, nas Figs. (5.12) e (5.13), os mapas de superfície referentes às membranas DOPC/CHOL-00% e DOPC/CHOL-30%, respectivamente. Então, para efetuarmos as avaliações estruturais, organizamos essas figuras da seguinte forma: no quadro (a) $T = 0$ ns, a molécula L-GL13K encontra-se depositada sobre a camada superior da membrana em um instante anterior à inserção molecular. Nos quadros que se seguem, o polipeptídeo foi sucessivamente inserido no interior da membrana, via um potencial harmônico proveniente da técnica de *umbrella sampling*, até alcançar o quadro (t), que representa o momento no qual o monômero transpassa por completo a membrana lipídica. Por último, expomos, na Fig. (5.11), a representação molecular para os quadros (a) e (t) das Figs. (5.12) e (5.13).

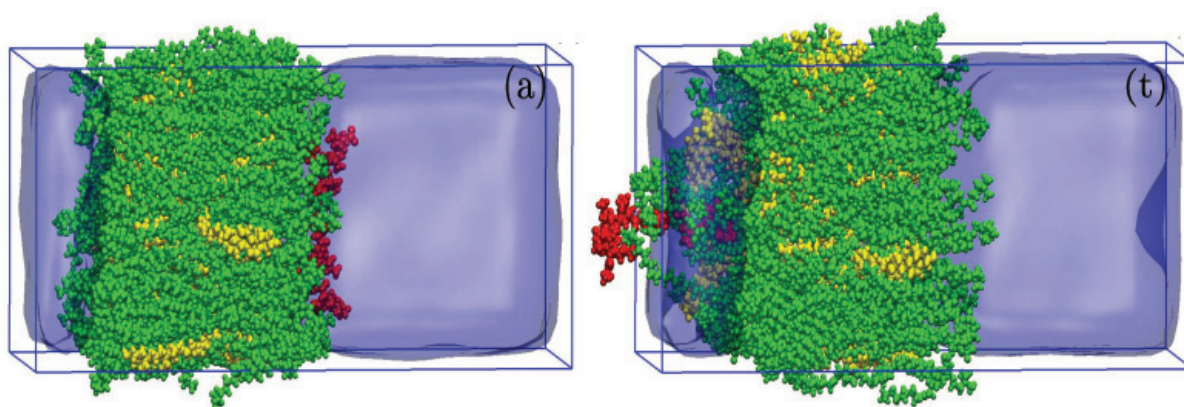


Figura 5.11: Representação molecular para o instante inicial, (a) $T = 0$ ns, e instante final, quadro (t). Vermelho: L-GL13K. Verde: DOPC. Amarelo: colesterol.

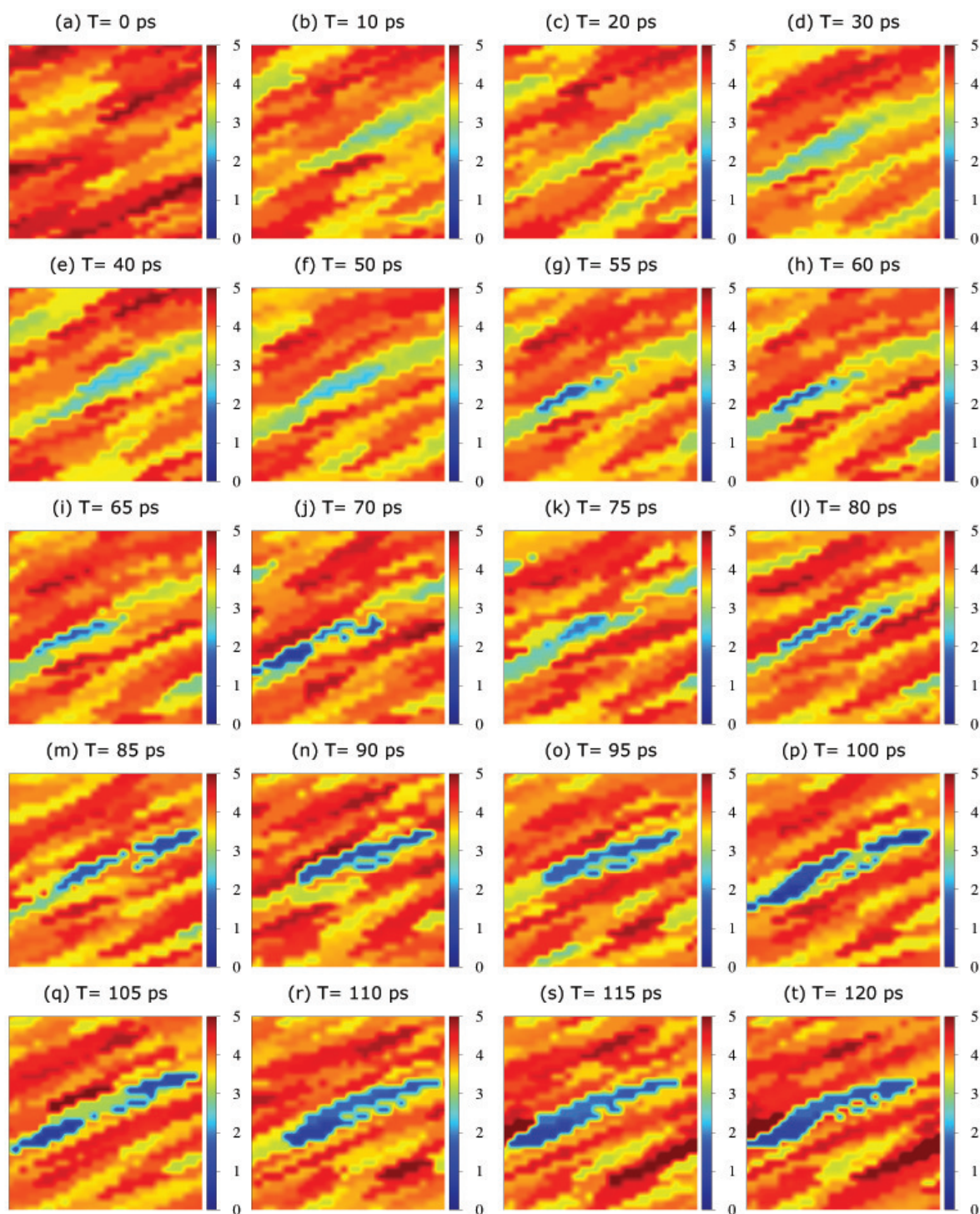


Figura 5.12: Mapa superficial relativo à membrana DOPC/CHOL-00% obtido durante a técnica de *umbrella sampling*. A escala de cor representa a espessura da membrana em cada ponto de sua superfície. O quadro (a) retrata a situação inicial, enquanto que o quadro (t) corresponde ao momento que o monômero L-GL13K atravessa a membrana.

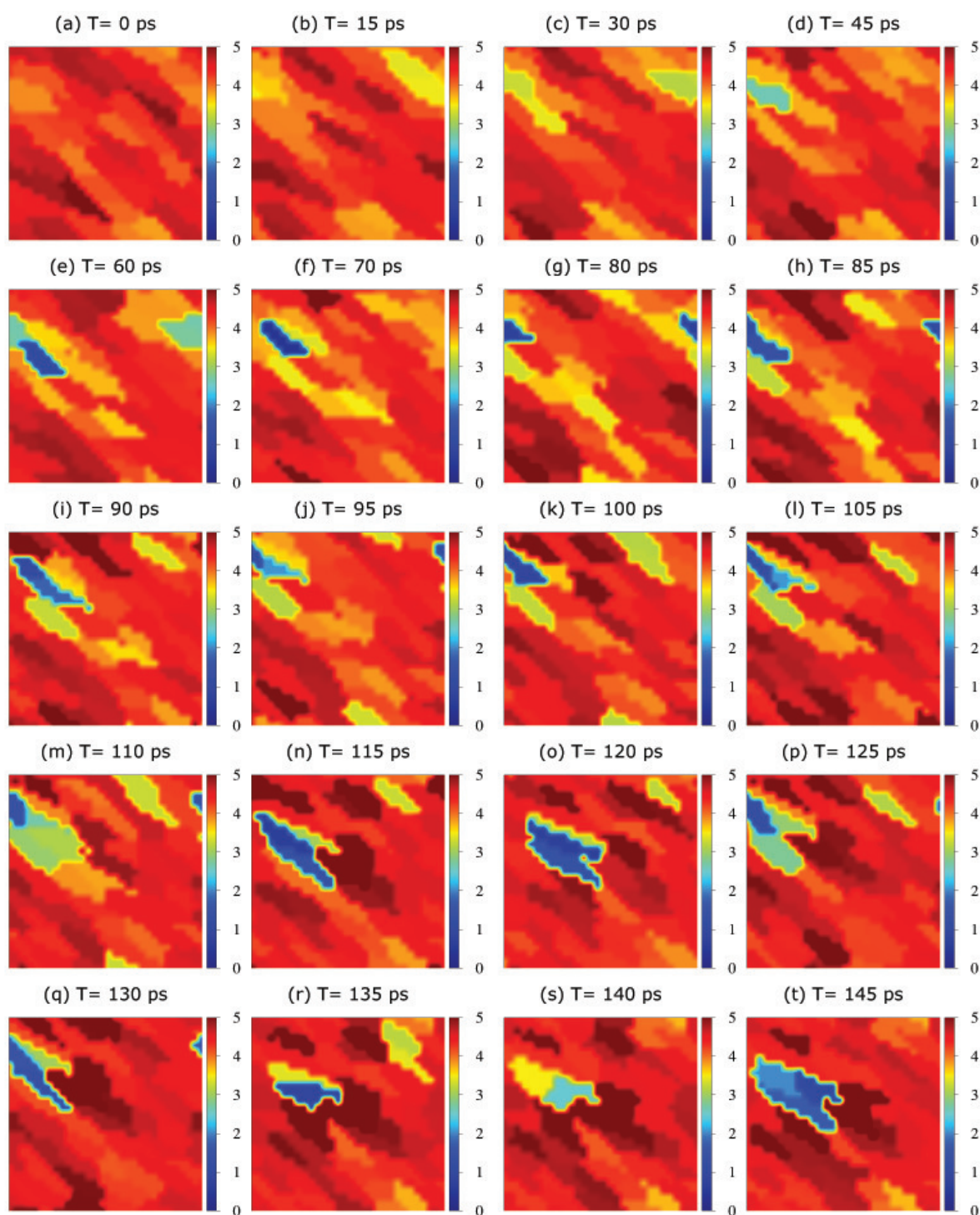


Figura 5.13: Mapa superficial relativo à membrana DOPC/CHOL-30% obtido durante a técnica de *umbrella sampling*. A escala de cor representa a espessura da membrana em cada ponto de sua superfície. O quadro (a) retrata a situação inicial, enquanto que o quadro (t) corresponde ao momento que o monômero L-GL13K atravessa a membrana.

Quanto à espessura média inicial (\bar{e}), reiteramos que, segundo os resultados apresentados no capítulo quatro, a membrana DOPC/CHOL-00% apresenta valor de \bar{e} por volta de $4,096 \pm 0,340$ nm, enquanto que a membrana DOPC/CHOL-30% possui o valor de \bar{e} na faixa de 4.642 ± 0.305 nm, motivo pelo qual há uma alteração notável no padrão de cores entre as Figs. (5.12) e (5.13). Feita essa consideração preliminar acerca da espessura média das membranas, daremos início às análises dos resultados relacionados aos mapas superficiais. Logo, iniciaremos nossas análises avaliando o comportamento da membrana DOPC/CHOL-00% e, em seguida, apresentaremos os resultados relacionados à membrana DOPC/CHOL-30%. Ao final da seção, efetuaremos um estudo comparativo entre ambas as membranas.

A Fig. (5.12) representa as diversas etapas que ocorreram durante a inserção do fármaco na membrana DOPC/CHOL-00%. Para a situação inicial, quadro (a), depositamos o monômero sobre a superfície membranar de modo que não houvesse alterações preceptivas sobre o valor da espessura média. Essa ausência de alteração para os valores da espessura pode ser observada pela uniformidade de coloração encontrada no quadro (a). Sobre o distanciamento temporal entre dois quadros sucessivos, mantivemos o espaçamento de 10 ps, para as figuras estabelecidas entre (a) e (f), e 5 ps, para os resultados dispostos entre (g) e (t).

Avaliando os resultados dispostos no quadro (b) da Fig. (5.12), constatamos que há, no centro da membrana, o surgimento de uma região cuja espessura tenha sofrido uma redução considerável (região verde claro), sendo certo que essa região demarca o local em que a inserção do fármaco irá ocorrer. Desse fato, podemos constatar que, após o decurso de apenas 10 ps, já é possível conhecer a região na qual a inserção ocorrerá. Isso significa dizer que a ausência de moléculas de colesterol promove uma inserção facilitada, de sorte que a simples interação do fármaco com a superfície da bicamada lipídica já é uma condição suficiente para alterar a espessura membranar.

Seguindo com resultados da membrana DOPC/CHOL-00%, observamos que a partir do quadro (b) da Fig. (5.12), a ruptura central vai gradativamente intensificando e indo em direção às extremidades da membrana até chegar ao quadro (t), $T = 120$ ps, momento em que a ruptura atinge o valor máximo de 92% ao longo do eixo X . Esse aumento da ruptura faz com que as moléculas de água passem a ocupar a região central da membrana, resultando em um processo de desestabilização da bicamada lipídica.

Sobre os resultados da membrana DOPC/CHOL-30%, Fig. (5.13), não há, inicialmente, nenhuma alteração perceptível [quadro (a)]. Porém, à medida que a molécula L-GL13K começa a interagir com a membrana lipídica, pequenas regiões comprometidas começam a surgir e passam a apresentar reduções nos valores de suas espessuras. No quadro (d), instante $T = 45$ ps, surge uma pequena ruptura na estrutura membranar, disposta no canto superior esquerdo, resultando em uma região que tem a espessura média da ordem de 2,6 nm.

Para o quadro (e), instante $T = 60$ ps, observamos o surgimento de duas regiões comprometidas: na primeira delas, canto superior à esquerda, a região reduzida consiste na extensão da ruptura obtida no quadro anterior (d), todavia mais intensificada devido ao processo de inserção da molécula L-GL13K. Quanto a esta primeira região, temos que o valor da espessura está compreendido em torno de 1,0 nm, coloração azul escuro. Além disso, a segunda região, localizada no canto superior direito do quadro (e) e representada na coloração azul turquesa claro, tem sua espessura definida em torno de 2,5 nm. Em ambas as regiões consideradas, o valor relatado para a espessura indica a distância entre as "cabeças" polares dos monômeros lipídicos, sendo que cada um destes monômeros pertencem a uma superfície da membrana. De todo modo, tal parâmetro aponta a existência de uma desordem entre os monômeros que constituem a bicamada lipídica e reflete o aumento de instabilidade estrutural devido à inserção do fármaco.

Ao evoluirmos o sistema do quadro (e) para o (f), constatamos que a região comprometida localizada na parte superior à direita do quadro (e) (azul turquesa claro) desapareceu e a membrana, nessa região, passou a apresentar a mesma espessura que possuía no quadro (d). O referido processo de reestruturação da espessura é decorrente da alta concentração de moléculas de colesterol presente em cada uma das camadas lipídicas que, no caso da membrana DOPC/CHOL-30%, corresponde a 19 moléculas de colesterol por camada membranar. Dessa forma, podemos afirmar que a presença das moléculas de colesterol confere à membrana lipídica resistência à inserção do fármaco, de tal forma que pequenas desordens são reestabelecidas.

Esse processo de reestruturação de áreas comprometidas indica que as moléculas de colesterol atuam como um agente de contenção de desordens, responsáveis por manter a estrutura membranar íntegra durante as etapas da inserção molecular. Nesse contexto, podemos afirmar que as desordens sentidas pela membrana DOPC/CHOL-30% são concentradas em regiões mais pontuais e não se espalham por toda a superfície membranar. Em contrapartida, no caso da membrana DOPC/CHOL-00%, os resultados apresentados na Fig. (5.12) permitem concluir que a desordem, nesta membrana, vai-se intensificando e indo em direção às extremidades da membrana, de modo que a membrana DOPC pura é mais impactada do que a DOPC/CHOL-30%.

Outra consequência proveniente do caráter reestruturador das moléculas de colesterol é a homogeneização das espessuras. Nesse âmbito, constatamos que, durante as etapas de inserção do peptídeo L-GL13K na membrana DOPC/CHOL-30%, as espessuras se mantêm constantes. Isso pode ser identificado pelo predomínio da coloração avermelhada nas diversas etapas da inserção, indicando que os valores das espessuras estão na faixa 4,6 nm. Assim, temos que a inserção da molécula L-GL13K perpendicular à superfície da bicamada lipídica é responsável por deslocar os constituintes membranares do centro para as regiões laterais da membrana, porém, a presença das moléculas de colesterol proporciona uma reorganização do sistema.

Embora as moléculas de colesterol apresentem o referido caráter reestruturador, tendente a dificultar o processo de inserção do fármaco, constatamos que a interação estabelecida entre o monômero L-GL13K e a membrana DOPC/CHOL-30% é responsável por desestruturar a bicamada lipídica, cujo resultado é o aumento da infiltração de água. Logo, apuramos que, a partir do quadro (d), instante $T = 45$ ps da Fig. (5.13), haverá o estabelecimento de um processo gradativo de perturbação membranar até atingir o quadro (t), instante $T = 145$ ps, que representa a etapa final do processo de inserção molecular.

Sobre uma análise comparativa entre ambas as membranas, gostaríamos de assinalar que a influência gerada pelas moléculas de colesterol, durante a inserção do fármaco L-GL13K, também pode ser sentida pelo tempo necessário para que seja possível efetuar a completa ruptura membranar. Desse modo, segundo consta na Fig. (5.13), faz-se necessário um tempo de 145 ps para o completo processo de inserção do fármaco na membrana DOPC/CHOL-30% [quadro (t)], ao passo que, tratando-se da membrana DOPC/CHOL-00%, o tempo de inserção é de 120 ps. Tal distinção temporal reforça a ideia de que a inserção molecular, em compostos com maior quantidade de colesterol, é energética e estruturalmente mais dispendiosa.

Com o intuito de finalizarmos a presente seção, faremos, neste momento, uma análise comparativa entre as últimas configurações obtidas durante a técnica de *umbrella sampling*, ou seja, abordaremos os resultados dispostos no quadro (t) nas Figs. (5.13) e (5.12). Para tal feito, estabelecemos uma relação entre a área membranar e a respectiva espessura. Nesse sentido, categorizamos os valores das espessuras em intervalos de 0,5 nm e os associamos à correspondente área ocupada. A Fig. (5.14) representa a organização desses resultados em classes numéricas.

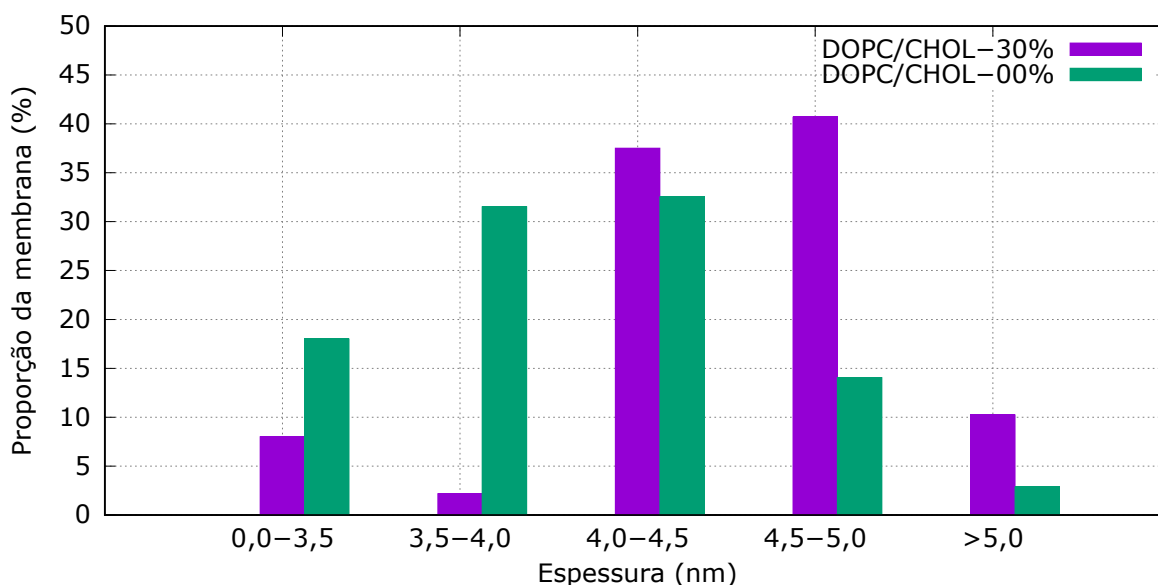


Figura 5.14: Histograma representando a proporção da espessura membranar. O eixo X corresponde ao intervalo da espessura, enquanto que o eixo Y está associado à proporção da membrana. Roxo: DOPC/CHOL-30%. Verde: DOPC/CHOL-00%

O histograma exibido na Fig. (5.14) pode ser interpretado da seguinte maneira: o eixo X representa a espessura membranar, com valores subdivididos entre 0 e 5 nm, com espaçamento de 0,5 nm entre dois intervalos consecutivos. O eixo Y indica qual a porcentagem da área membranar que tem aquela determinada espessura. Assim, a título elucidativo, temos que a membrana DOPC/CHOL-00% possui, aproximadamente, 32% de sua área com espessura entre 3,5-4,0 nm, sendo que, nesse mesmo intervalo, a membrana DOPC/CHOL-30% apresentou 2,5% de sua área total.

Ao apreciar a faixa de espessura compreendida entre 0,0 e 3,5 nm, os resultados obtidos para a membrana DOPC/CHOL-00% apontam que 18% de sua área têm essa classe de espessura, enquanto que, nesse mesmo intervalo, a membrana DOPC/CHOL-30% possui 8% de sua área total. O intervalo de espessura entre 0,0 e 3,5 serve para apontar o grau de desordem lipídica a que as membranas lipídicas estão sujeitas quando o monômero L-GL13K é inserido. Logo, quanto maior a proporção da membrana com essa espessura, maior será o grau de desordem lipídica e, conseqüentemente, maior o grau de instabilidade estrutural. Esse intervalo foi escolhido pois ambas as membranas, nas situações iniciais, possuem espessuras médias superiores a 4 nm, de maneira que as espessuras entre 0,0 e 3,5 nm apontam um comportamento fora do padrão de normalidade.

Vê-se, portanto, que a membrana DOPC/CHOL-00% é mais impactada pela inserção do fármaco do que a DOPC/CHOL-30% haja vista que a membrana pura tem uma maior proporção de área no intervalo de espessura entre 0,0 e 3,5 nm. Justifica-se esse comportamento pela ausência de moléculas de colesterol na membrana DOPC/CHOL-00%, tornando-a mais sujeita às alterações estruturais durante a inserção molecular. Porém, gostaríamos de destacar que, quando tratávamos sobre o coeficiente de correlação rotacional, havíamos identificado que as moléculas de colesterol estão associadas à taxa de mobilidade dos constituintes membranares, de sorte que, aumentando o número de CHOL na membrana, diminui-se a mobilidade das moléculas.

Sendo assim, salientamos que, nas situações em que há redução nos valores da concentração de colesterol e, conseqüentemente, aumento nos valores para a mobilidade, a espessura membranar sofre impactos estruturais mais intensos. Em vista disso, podemos apontar a existência de uma relação entre a mobilidade dos constituintes membranares e a espessura obtida durante a inserção do fármaco, de maneira que, quanto maior a mobilidade, maior será a proporção da área que será afetada durante o processo de *pulling*.

Em resumo, reconhecemos a existência de uma relação entre o número de moléculas de colesterol na membrana e a dimensão da espessura afetada durante a inserção do monômero L-GL13K. Nesse caso, apontamos que quanto maior o número de CHOL na membrana, menor será a espessura da área afetada. Esses resultados vão de encontro àqueles obtidos no capítulo quatro que afirmam ser a inclusão de moléculas de colesterol um fator responsável por promover uma redução na área ocupada por cada molécula de DOPC, resultando, dessa forma, em estruturas membranares mais compactas.

Considerações finais

Neste capítulo, avaliamos os resultados provenientes da interação entre o peptídeo L-GL13K com as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$, em que $XX = 00, 10$ e 30% . Assim agimos, pois, experimentalmente, o composto L-GL13K foi estudado e apresentou notáveis características farmacológicas contra diversas ameaças patogênicas, a exemplo das bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*; e *Streptococcus gordonii* [102].

Portanto, utilizamos técnicas computacionais de Dinâmica Molecular para promovermos a compreensão dos processos físico-químicos que estão no cerne da interação entre o fármaco e as membranas lipídicas. Nesse sentido, não detínhamos a intenção de exaurir toda a discussão sobre o tema, mas apresentar um trabalho que abordasse as potencialidades existentes no estudo das investigações farmacológicas do composto L-GL13K por modelagem computacional, destacando características estruturais e energéticas.

Os resultados avaliados foram obtidos a partir de quatro técnicas computacionais: perfil de força para a inserção do monômero polipeptídico, perfil de densidade de massa, ligações de hidrogênio e mapas superficiais. Quanto aos resultados alcançados a partir do perfil de força durante a inserção do peptídeo L-GL13K, reconhecemos que as moléculas de colesterol não exercem influência significativa na força requerida durante a técnica de *umbrella sampling*, pois, na média, os valores máximos encontrados flutuam em torno de $1,4 \times 10^3$ kJ/mol nm. De mesmo modo, indicamos que se faz necessária uma força cerca de 90% mais elevada para sustentar a molécula L-GL13K em movimento dentro das moléculas de água, quando comparada com o fullereno- C_{60} .

Sobre os resultados obtidos para o perfil de massa, constatamos que a inserção do monômero L-GL13K altera, substancialmente, o perfil de densidade de massa das membranas lipídicas. Assim, averiguamos que, na região compreendida entre $Z = [4, 6]$ nm, as densidades de massa das moléculas de DOPC diminuem 45%, 28% e 30% para as membranas DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00, 10$ e 30%), respectivamente. Esses resultados estabelecem que as moléculas lipídicas que ocupavam essa região foram deslocadas para o restante da caixa de simulação, cuja implicação direta é a desestruturação de uma região da bicamada lipídica com conseqüente aumento de infiltração de moléculas de água.

As análises dos resultados computacionais confirmam que o número de moléculas de colesterol na bicamada lipídica influencia, significativamente, no processo de desprendimento das moléculas de DOPC a partir da estrutura membranar, de tal modo que o aumento no número de moléculas de colesterol reduz o número de moléculas lipídicas que serão deslocadas por outras regiões da caixa de simulação. Este comportamento encontra respaldo nos dados obtidos a partir da técnica experimental denominada de ressonância de spin eletrônico. Segundo os resultados alcançados a partir dessa técnica, ao aumentar o número de moléculas de colesterol na membrana, a mobilidade de seus constituintes é drasticamente reduzida, tornando a membrana mais rígida.

Para avaliarmos os resultados alcançados a partir das ligações de hidrogênio, desenvolvemos essa temática em duas etapas distintas: na primeira delas, analisamos o número de LHs mantidas entre as moléculas lipídicas de DOPC e o fármaco L-GL13K. Quanto ao segundo momento, detivemos nossas avaliações sobre a formação e manutenção das LHs entre o composto peptídico L-GL13K e o meio aquoso.

Os resultados obtidos na primeira etapa indicam que as LHs são responsáveis por promover uma desestruturação da membrana lipídica, porque, ao favorecer o processo de deslocamento das moléculas de DOPC, as ligações de hidrogênio promovidas pelo fármaco aumentam a infiltração de água. Portanto, reconhecemos que, uma vez firmada a ligação de hidrogênio entre o par DOPC/L-GL13K, essas ligações são causadoras das alterações nos perfis de densidade, tanto da água quanto das moléculas de DOPC, cujo resultado é o aumento de instabilidade da membrana na região da inserção.

Sobre as LHs estabelecidas entre as moléculas de água e o composto L-GL13K, os resultados afirmam que o aumento no número de CHOL na membrana reduz a taxa de infiltração aquosa. Essa conclusão foi possível pois detivemos uma análise comparativa entre duas regiões distintas: uma externa à membrana, região entre $Z = [0, 2]$ nm, e outra interna, mantida entre $Z = [6, 8]$ nm. À vista disso, quando o fármaco é deslocado da região externa para a interna, constatamos uma redução no número de LH entre o L-GL13K e a água da ordem de 25%, 28% e 31%, para DOPC/CHOL- $XX\%$ ($XX = 00\%$, 10% e 30%), respectivamente. Logo, ao aumentar o número de moléculas de CHOL, a redução nos valores da LH será maior, indicando a presença de uma menor concentração de molécula de água no interior da bicamada lipídica.

Finalmente, tratando-se dos resultados obtidos a partir dos mapas de superfície, utilizamos essas avaliações para estimar as alterações nas espessuras a que as membranas lipídicas estavam submetidas durante a técnica de *umbrella sampling*. Assim, os resultados obtidos a partir dos mapas superficiais revelam que a ruptura ocasionada pelo fármaco na membrana DOPC/CHOL-30% é mais restrita a determinadas regiões, enquanto que as rupturas constatadas para a membrana de DOPC pura são menos localizadas e se estendem para as regiões vizinhas à inserção do fármaco. Como justificativa para esse comportamento, havíamos sustentado que as moléculas de colesterol dificultam o processo de ruptura superficial da membrana.

CONCLUSÃO

Chegamos ao fim deste trabalho e como última etapa, revisitaremos os principais pontos que foram apresentados, bem como indicaremos as perspectivas para os próximos trabalhos. Sendo assim, iniciaremos nossas considerações discorrendo sobre as propriedades das membranas peptídicas em Líquido Iônico (LI), cujo conteúdo foi objeto de estudo ao longo do terceiro capítulo desta tese. Passaremos, em sequência, às avaliações energéticas e estruturais de membranas lipídicas em água e estabereceremos um análise sobre o custo energético necessário para promovermos à inserção da molécula de fullereno- C_{60} . Tal temática foi objeto de estudo durante o quarto capítulo. Por último, reavaliaremos os resultados dispostos no quinto capítulo, os quais trataram das potencialidades farmacológica atreladas ao monômero peptídeo L-GL13K.

No decurso do terceiro capítulo, avaliamos o comportamento estrutural e energético de membranas peptídicas, quando elas estavam imersas em líquido iônico formado pelo par colina (COL) e glicina (GLY). Vimos que as escolhas dos elementos constituintes do LI e das membranas peptídicas foram legitimadas pelas características ecologicamente viáveis às quais os compostos peptídicos estão submetidos. Além disso, utilizamos os aminoácidos apolares alanina (A/ALA) ou leucina (L/LEU) para a construção da "cauda", seguido por um dos grupos polares: lisina (K/LYS), ácido aspártico (D/ASP) ou arginina (R/ARG), sendo que estes aminoácidos foram utilizados para a construção da "cabeça" eletricamente carregada dos monômeros polipeptídicos.

Quanto às conclusões desse capítulo, avaliamos que as Ligações de Hidrogênio (LH) entre os monômeros membranares são responsáveis por estabelecer um forte alinhamento destes compostos através das direções X e Y do eixo cartesiano, promovendo, assim, a estabilização estrutural das membranas peptídicas. De mesmo modo, identificamos que a direção preferencial das LHs possibilita a organização membranares na forma de lâminas peptídicas empilhadas. Ademais, sobre as análises energéticas, os resultados apontam que os aminoácidos ALA [LEU] apresentam elevadas interações com as "cabeças" polares dos monômeros adjacentes cuja implicação é a redução na taxa de infiltração do LI.

Podemos afirmar, então, que existe estabilidade energética e estrutural das membranas peptídicas quando estas estão imersas em LI. Isso significa dizer que as membranas peptídicas mantêm-se íntegras e coesa durante as diversas etapas das simulações computacionais. Apreciamos, em adição, que as cargas elétricas do LI contribuem para compressão da membrana, conferindo-lhe estabilidade estrutural. Portanto, futuros trabalhos poderiam explorar a referida estabilidade das membranas peptídicas para promover a construção de dispositivos biodegradáveis e biosustentáveis direcionados ao armazenamento de energia.

Acerca dos resultados dispostos no quarto capítulo, técnicas computacionais e experimentais foram utilizadas para descrever as propriedades físico-químicas de membranas lipídicas compostas por DOPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) a uma proporção de 10%, 20% e 30% de moléculas de colesterol, quando imersas em água. Em adição, avaliamos a energia necessária para que o fullereno- C_{60} possa transpassar as membranas lipídicas, estabelecendo uma análise comparativa com a energia requerida para que a molécula de colesterol ou de DOPC possa ser extraída a partir da superfície membranar. O interesse em estudar a interação entre a molécula de fullereno- C_{60} e as membranas lipídicas repousa sobre as diversas funcionalidades que as moléculas alotrópicas do carbono possuem, tais quais, no processo de *drug delivery*, nanomedicina entre outros.

Sobre os resultados ordenados no quarto capítulo, observamos que a inclusão de moléculas de colesterol promove uma redução na área ocupada por cada molécula de DOPC, proporcionando a formação de estruturas membranares mais compactas. Sob a ótica experimental, evidenciamos que a inclusão de moléculas de colesterol tem como consequência a redução na mobilidade membranar. Nesse mesmo contexto, identificamos que a redução nos valores da mobilidade oportuniza o aumento da rigidez dos compostos moleculares cuja implicação direta é o aumento da força requerida para que a molécula de fullereno- C_{60} possa ser inserida ou extraída a partir da bicamada lipídica.

No que se refere às análises energéticas, os resultados dispostos no quarto capítulo afirmam que as interações entre os monômeros DOPC-DOPC, DOPC-CHOL e CHOL-CHOL tiveram seus valores aumentados à medida que as moléculas de colesterol foram adicionadas à bicamada lipídica. Esse aumento energético é responsável pela formação de estruturas membranares estáveis com reduzida taxa de infiltração aquosa. Acerca dos resultados obtidos a partir da técnica de *umbrella sampling*, as avaliações realizadas indicam que a energia requerida para a inserção da molécula de fullereno- C_{60} aproxima-se daquela obtida para promover a extração da molécula de DOPC, enquanto que a energia necessária para efetuar a extração da molécula de colesterol é cerca de 50% menor que a requerida para proceder à inserção da molécula de fullereno- C_{60} .

No âmbito de futuros trabalhos envolvendo a interação entre as moléculas alotrópicas do carbono e as bicamadas lipídicas, avaliaríamos as potencialidades das moléculas de fullereno- C_{60} no âmbito dos processos de *drug delivery*, quantificando o custo energé-

tica necessário para efetuar o transporte de determinados agentes farmacológico. Além disso, estenderíamos as avaliações energéticas e estruturais que foram desenvolvidas no quarto capítulo deste trabalho para analisarmos as etapas que estão associadas à inserção de outras moléculas alotrópicas do carbono, a exemplo dos compostos estabelecidos entre o fullereno- C_{20} e o fullereno- C_{960} .

Tratando-se dos resultados apresentados no quinto capítulo, apontamos que existe, nos dias atuais, um fenômeno global em que as bactérias estão constantemente oferecendo resistência aos tradicionais agentes farmacológicos. Ressaltamos ainda que este fenômeno, entre outros motivos, está associado à indicação médica inapropriada e à escassez de testes para orientar a prescrição adequada de antibióticos. Em adição, destacamos que as estruturas construídas à base de peptídeo têm-se mostrado como um nova classe de compostos que apresentam notáveis propriedades farmacológicas, atraindo o interesse da comunidade científica.

Nesse contexto, o monômero peptídico L-GL13K, pela abordagem experimental, foi estudado e apresentou notáveis propriedades farmacológicas contra diversas ameaças patogênicas. Sendo assim, avaliamos, sobre os fundamentos da Dinâmica Molecular, quais são as etapas que estão relacionadas à interação do composto L-GL13K com as membranas lipídicas de DOPC/CHOL- $XX\%$, com $XX = 00, 10$ e 30% de moléculas de colesterol, apontando as potencialidades farmacológicas deste composto peptídico, bem como a influência que as moléculas de colesterol exercem durante o processo de interação.

Os resultados apresentados durante o quinto capítulo apontam que as ligações de hidrogênio mantidas entre o fármaco L-GL13K e a moléculas de DOPC são responsáveis por desestabilizar a estrutura da bicamada lipídica, deslocando as moléculas de DOPC por toda a extensão da caixa de simulação. Além desse fato, identificamos que durante a técnica de *umbrella sampling*, as rupturas ocasionadas na superfície membranar serão mais restritas e pontuais para aquelas membranas que possuem maior quantidade de moléculas de colesterol. Dessa forma, avaliamos que as moléculas de colesterol tornam o processo de inserção moléculas mais desfavorável.

Finalmente, reconhecemos que existe uma relação entre a mobilidade dos constituintes membranares e a área que será afetada durante o processo de inserção do fármaco L-GL13K. Avaliamos, portanto, que a área impactada será maior para aquelas bicamadas lipídicas que possuem maiores valores para a mobilidade. Acerca das futuras pesquisas que possam ser efetivas no âmbito da farmacologia, avaliaríamos os impactos ocasionados pela simples deposição da molécula de L-GL13K sobre a superfície da membrana lipídica. Nesse caso, examinaríamos a interação entre o fármaco e a bicamada lipídica sem a aplicação de um potencial harmônico externo proveniente da técnica de *umbrella sampling*. Esses resultados evidenciaríamos quais são os aminoácidos que preferencialmente se ligam à superfície da membrana lipídica e como ocorre o processo de ancoragem do composto peptídico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Hou, X.-D. et al. Evaluation of toxicity and biodegradability of cholinium amino acids ionic liquids. **PLoS ONE**, Public Library of Science (PLoS), v. 8, n. 3, p. e59145, 2013. Citado na página 18.
- [2] Santis, S. D. et al. Cholinium-amino acid based ionic liquids: a new method of synthesis and physico-chemical characterization. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 17, n. 32, p. 20687–20698, 2015. Citado na página 18.
- [3] Metropolis, N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 21, n. 6, p. 1087–1092, 1953. Citado na página 20.
- [4] Alder, B. J.; Wainwright, T. E. Phase transition for a hard sphere system. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 27, n. 5, p. 1208–1209, 1957. Citado na página 20.
- [5] Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**, Springer Nature America, Inc, v. 171, n. 4356, p. 737–738, 1953. Citado na página 20.
- [6] Levinthal, C. Molecular model-building by computer. **Scientific American**, Springer Nature, v. 214, n. 6, p. 42–52, 1966. Citado na página 20.
- [7] Rahman, A. Correlations in the motion of atoms in liquid argon. **Phys. Rev.**, American Physical Society, v. 136, p. A405–A411, 1964. Citado na página 20.
- [8] Verlet, L. Computer "experiments" on classical fluids. ii. equilibrium correlation functions. **Phys. Rev.**, American Physical Society, v. 165, p. 201–214, 1968. Citado na página 20.
- [9] Rahman, A.; Stillinger, F. H. Molecular dynamics study of liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 55, n. 7, p. 3336–3359, 1971. Citado na página 20.
- [10] Harp, G. D.; Berne, B. J. Time-correlation functions, memory functions, and molecular dynamics. **Phys. Rev. A**, American Physical Society, v. 2, p. 975–996, 1970. Citado na página 20.
- [11] Harp, G. D.; Berne, B. J. Linear- and angular-momentum autocorrelation functions in diatomic liquids. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 49, n. 3, p. 1249–1254, 1968. Citado na página 20.

- [12] Francoeur, E. Cyrus levinthal, the kluge and the origins of interactive molecular graphics. **Endeavour**, Elsevier BV, v. 26, n. 4, p. 127–131, 2002. Citado na página 20.
- [13] Francoeur, E. The forgotten tool: The design and use of molecular models. **Social Studies of Science**, SAGE Publications, v. 27, n. 1, p. 7–40, 1997. Citado na página 20.
- [14] Hersh, R. T.; Eck, R. V.; Dayhoff, M. O. Atlas of protein sequence and structure, 1966. **Systematic Zoology**, Oxford University Press (OUP), v. 16, n. 3, p. 262, 1967. Citado na página 20.
- [15] González, M. Force fields and molecular dynamics simulations. **École thématique de la Société Française de la Neutronique**, EDP Sciences, v. 12, p. 169–200, 2011. Citado 3 vezes nas páginas 21, 39 e 40.
- [16] Levitt, M.; Warshel, A. Computer simulation of protein folding. **Nature**, Springer Science and Business Media LLC, v. 253, n. 5494, p. 694–698, 1975. Citado na página 21.
- [17] Born, M.; Oppenheimer, R. Zur quantentheorie der molekeln. **Annalen der Physik**, Wiley, v. 389, n. 20, p. 457–484, 1927. Citado 2 vezes nas páginas 21 e 38.
- [18] Brooks, C. L.; Karplus, M.; Pettitt, B. M. **Proteins: A Theoretical Perspective of Dynamics, Structure and Thermodynamics**, Wiley, v. 1, 1990. Citado na página 21.
- [19] Smith, B. Dynamics of proteins and nucleic acids. **Biochemical Education**, Elsevier BV, v. 17, n. 4, p. 220, 1989. Citado na página 21.
- [20] Schlick, T. **Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide**, Springer New York, v. 1, 2010. Citado na página 21.
- [21] Allen, M. P.; Tildesley, D. J. **Computer Simulation of Liquids**, Oxford University Press, v. 1, 2017. Citado na página 21.
- [22] Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A. **Fundamentos da biologia celular: uma introdução à biologia molecular da célula**, Artes Médicas Sul, v. 1, 1999. Citado 3 vezes nas páginas 22, 23 e 24.
- [23] Sonnino, S. et al. Gangliosides as components of lipid membrane domains. **Glyco-biology**, Oxford University Press (OUP), v. 17, n. 1, p. 1R–13R, 2006. Citado na página 22.
- [24] Singer, S. J.; Nicolson, G. L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. **Science**, American Association for the Advancement of Science (AAAS), v. 175, n. 4023, p. 720–731, 1972. Citado na página 22.
- [25] Zhang, J.; Liu, Q. Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain. **Protein & Cell**, Springer Science and Business Media LLC, v. 6, n. 4, p. 254–264, 2015. Citado na página 22.
- [26] Florent-Béchar, S. et al. Towards a nutritional approach for prevention of alzheimer disease: Biochemical and cellular aspects. **Journal of the Neurological Sciences**, Elsevier BV, v. 262, n. 1-2, p. 27–36, 2007. Citado na página 22.

- [27] Schley, P. D.; Brindley, D. N.; Field, C. J. (n-3) PUFA alter raft lipid composition and decrease epidermal growth factor receptor levels in lipid rafts of human breast cancer cells. **The Journal of Nutrition**, Oxford University Press (OUP), v. 137, n. 3, p. 548–553, 2007. Citado na página 22.
- [28] Liao, Z. et al. Lipid rafts and HIV pathogenesis: Host membrane cholesterol is required for infection by HIV type 1. **AIDS Research and Human Retroviruses**, Mary Ann Liebert Inc, v. 17, n. 11, p. 1009–1019, 2001. Citado na página 22.
- [29] Sheng, R. et al. Cholesterol modulates cell signaling and protein networking by specifically interacting with PDZ domain-containing scaffold proteins. **Nature Communications**, Springer Science and Business Media LLC, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2012. Citado na página 22.
- [30] Kaiser, H. et al. Lateral sorting in model membranes by cholesterol-mediated hydrophobic matching. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 108, n. 40, p. 16628–16633, 2011. Citado na página 22.
- [31] Schengrund, C.-L. Lipid rafts: Keys to neurodegeneration. **Brain Research Bulletin**, Elsevier BV, v. 82, n. 1-2, p. 7–17, 2010. Citado na página 22.
- [32] Goñi, F. M. The basic structure and dynamics of cell membranes: An update of the Singer–Nicolson model. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, Elsevier BV, v. 1838, n. 6, p. 1467–1476, 2014. Citado na página 22.
- [33] Whitesides, G.; Mathias, J.; Seto, C. Molecular self-assembly and nanochemistry: a chemical strategy for the synthesis of nanostructures. **Science**, American Association for the Advancement of Science (AAAS), v. 254, n. 5036, p. 1312–1319, 1991. Citado na página 22.
- [34] Zhang, J. et al. **Self-Assembled Nanostructures**. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 2004. Citado na página 23.
- [35] Yadav, S.; Sharma, A. K.; Kumar, P. Nanoscale self-assembly for therapeutic delivery. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Frontiers Media SA, v. 8, p. 127, 2020. Citado na página 23.
- [36] Busseron, E. et al. Supramolecular self-assemblies as functional nanomaterials. **Nanoscale**, The Royal Society of Chemistry, v. 5, p. 7098–7140, 2013. Citado na página 23.
- [37] Habibi, N. et al. Self-assembled peptide-based nanostructures: Smart nanomaterials toward targeted drug delivery. **Nano Today**, Elsevier BV, v. 11, n. 1, p. 41–60, 2016. Citado na página 23.
- [38] Cavalli, S.; Albericio, F.; Kros, A. Amphiphilic peptides and their cross-disciplinary role as building blocks for nanoscience. **Chem. Soc. Rev.**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 39, n. 1, p. 241–263, 2010. Citado na página 23.
- [39] Ghadiri, M. R. et al. Erratum: Self-assembling organic nanotubes based on a cyclic peptide architecture. **Nature**, Springer Nature, v. 372, n. 6507, p. 709–709, 1994. Citado na página 23.

- [40] Cui, H.; Webber, M. J.; Stupp, S. I. Self-assembly of peptide amphiphiles: From molecules to nanostructures to biomaterials. **Biopolymers**, Wiley, v. 94, n. 1, p. 1–18, 2010. Citado na página 23.
- [41] Khoe, U.; Yang, Y.; Zhang, S. Self-assembly of nanodonor structure from a cone-shaped designer lipid-like peptide surfactant†. **Langmuir**, American Chemical Society (ACS), v. 25, n. 7, p. 4111–4114, 2009. Citado na página 23.
- [42] Sunna, A.; Care, A.; Bergquist, P. **Peptides and peptide-based biomaterials and their biomedical applications**, Springer Nature, v. 1, 2017. Citado na página 24.
- [43] Kopeček, J. Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Elsevier BV, v. 20, n. 1, p. 1–16, 2003. Citado na página 24.
- [44] Mart, R. J. et al. Peptide-based stimuli-responsive biomaterials. **Soft Matter**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 2, n. 10, p. 822, 2006. Citado na página 24.
- [45] Morais, J. M.; Papadimitrakopoulos, F.; Burgess, D. J. Biomaterials/tissue interactions: Possible solutions to overcome foreign body response. **The AAPS Journal**, American Association of Pharmaceutical Scientists, v. 12, n. 2, p. 188–196, 2010. Citado na página 24.
- [46] Onuki, Y. et al. A review of the biocompatibility of implantable devices: Current challenges to overcome foreign body response. **Journal of Diabetes Science and Technology**, SAGE Publications, v. 2, n. 6, p. 1003–1015, 2008. Citado na página 24.
- [47] Silva, G. et al. Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers selective differentiat. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 303, n. 5662, p. 1352–1355, 2004. Citado na página 24.
- [48] Mikhalevich, V. et al. Amphiphilic peptide self-assembly: Expansion to hybrid materials. **Biomacromolecules**, American Chemical Society (ACS), v. 18, n. 11, p. 3471–3480, 2017. Citado na página 24.
- [49] Hosseinkhani, H.; Hong, P.-D.; Yu, D.-S. Self-assembled proteins and peptides for regenerative medicine. **Chemical Reviews**, American Chemical Society (ACS), v. 113, n. 7, p. 4837–4861, 2013. Citado na página 24.
- [50] Zhang, S. et al. Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 90, n. 8, p. 3334–3338, 1993. Citado na página 24.
- [51] He, Y. et al. Highly permeable biomimetic reverse osmosis membrane with amphiphilic peptide stabilized aquaporin as water filtering agent. **Journal of Applied Polymer Science**, Wiley, v. 135, n. 15, p. 46169, 2017. Citado na página 24.
- [52] Leite, D. et al. Peptide self-assemblies for drug delivery. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Bentham Science Publishers Ltd., v. 15, n. 22, p. 2277–2289, 2015. Citado na página 25.

- [53] Colherinhas, G.; Fileti, E. Molecular description of surfactant-like peptide based membranes. **The Journal of Physical Chemistry C**, American Chemical Society (ACS), v. 118, n. 18, p. 9598–9603, 2014. Citado na página 25.
- [54] L.Jones, R. A. **Soft Condensed Matter**, Oxford University Press, v. 1, 2002. Citado na página 25.
- [55] Nikoofard, N.; Maghsoodi, F. Dynamic stability of nano-fibers self-assembled from short amphiphilic a6d peptides. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 148, n. 13, p. 134903, 2018. Citado na página 25.
- [56] Hamley, I. W.; Dehsorkhi, A.; Castelletto, V. Self-assembled arginine-coated peptide nanosheets in water. **Chemical Communications**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 49, n. 18, p. 1850, 2013. Citado na página 25.
- [57] Vauthey, S. et al. Molecular self-assembly of surfactant-like peptides to form nanotubes and nanovesicles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 99, n. 8, p. 5355–5360, 2002. Citado na página 25.
- [58] Nicolas, P.; Mor, A. Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates. **Annual Review of Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 277–304, 1995. Citado na página 25.
- [59] Dehsorkhi, A. et al. Interaction between a cationic surfactant-like peptide and lipid vesicles and its relationship to antimicrobial activity. **Langmuir**, American Chemical Society (ACS), v. 29, n. 46, p. 14246–14253, 2013. Citado na página 25.
- [60] Maltzahn, G. von et al. Positively charged surfactant-like peptides self-assemble into nanostructures. **Langmuir**, v. 19, n. 10, p. 4332–4337, 2003. Citado na página 25.
- [61] Tao, K. et al. Self-assembling peptide semiconductors. **Science**, American Association for the Advancement of Science (AAAS), v. 358, n. 6365, p. 9756, 2017. Citado na página 25.
- [62] Chan, F. T. et al. Structure-specific intrinsic fluorescence of protein amyloids used to study their kinetics of aggregation. **Bio-nanoimaging**, Elsevier, v. 1, p. 147–155, 2014. Citado na página 25.
- [63] Kresse, G.; Hafner, J. Ab initiomolecular-dynamics simulation of the liquid-metal–amorphous-semiconductor transition in germanium. **Physical Review B**, American Physical Society (APS), v. 49, n. 20, p. 14251–14269, 1994. Citado na página 25.
- [64] Adler-Abramovich, L.; Gazit, E. The physical properties of supramolecular peptide assemblies: from building block association to technological applications. **Chem. Soc. Rev.**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 43, n. 20, p. 6881–6893, 2014. Citado na página 25.
- [65] Anastas, P. T.; Kirchhoff, M. M. Origins, current status, and future challenges of green chemistry†. **Accounts of Chemical Research**, American Chemical Society (ACS), v. 35, n. 9, p. 686–694, 2002. Citado na página 26.

- [66] Singh, S. K.; Savoy, A. W. Ionic liquids synthesis and applications: An overview. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier BV, v. 297, p. 112038, 2020. Citado na página 26.
- [67] Song, J.; Han, B. Green chemistry: a tool for the sustainable development of the chemical industry. **National Science Review**, Oxford University Press (OUP), v. 2, n. 3, p. 255–256, 2014. Citado na página 26.
- [68] Poliakoff, M. Green chemistry: Science and politics of change. **Science**, American Association for the Advancement of Science (AAAS), v. 297, n. 5582, p. 807–810, 2002. Citado na página 26.
- [69] Shuai, J. et al. Health risk assessment of volatile organic compounds exposure near daegu dyeing industrial complex in south korea. **BMC Public Health**, Springer Nature, v. 18, n. 1, 2018. Citado na página 26.
- [70] Plechkova, N. V.; Seddon, K. R. Applications of ionic liquids in the chemical industry. **Chem. Soc. Rev.**, The Royal Society of Chemistry, v. 37, p. 123–150, 2008. Citado na página 26.
- [71] Zlotin, S. G.; Makhova, N. N. Ionic liquids as substrate-specific recoverable solvents and catalysts of regio-, stereo- and enantioselective organic reactions. **Mendeleev Communications**, Elsevier BV, v. 20, n. 2, p. 63–71, 2010. Citado na página 26.
- [72] Petkovic, M. et al. Exploring fungal activity in the presence of ionic liquids. **Green Chem.**, The Royal Society of Chemistry, v. 11, p. 889–894, 2009. Citado na página 26.
- [73] Lopes, J. N. C. et al. Deviations from ideality in mixtures of two ionic liquids containing a common ion. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society (ACS), v. 109, n. 8, p. 3519–3525, 2005. Citado na página 26.
- [74] Earle, M. J.; Seddon, K. R. Ionic liquids. green solvents for the future. **Pure and Applied Chemistry**, Walter de Gruyter GmbH, v. 72, n. 7, p. 1391–1398, 2000. Citado na página 26.
- [75] Petkovic, M. et al. Novel biocompatible cholinium-based ionic liquids—toxicity and biodegradability. **Green Chemistry**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 12, n. 4, p. 643, 2010. Citado na página 27.
- [76] Cull, S. et al. Room-temperature ionic liquids as replacements for organic solvents in multiphase bioprocess operations. **Biotechnology and Bioengineering**, Wiley, v. 69, n. 2, p. 227–233, 2000. Citado na página 27.
- [77] Welton, T. Room-temperature ionic liquids. solvents for synthesis and catalysis. **Chemical Reviews**, American Chemical Society (ACS), v. 99, n. 8, p. 2071–2084, 1999. Citado na página 27.
- [78] Sheldon, R. A. Green solvents for sustainable organic synthesis: state of the art. **Green Chemistry**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 7, n. 5, p. 267, 2005. Citado na página 27.

- [79] Gordon, C. M. New developments in catalysis using ionic liquids. **Applied Catalysis A: General**, Elsevier BV, v. 222, n. 1-2, p. 101–117, 2001. Citado na página 27.
- [80] Sheldon, R. Catalytic reactions in ionic liquids. **Chemical Communications**, Royal Society of Chemistry (RSC), n. 23, p. 2399–2407, 2001. Citado na página 27.
- [81] Adawiyah, N. et al. Ionic liquids as a potential tool for drug delivery systems. **MedChemComm**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 7, n. 10, p. 1881–1897, 2016. Citado na página 27.
- [82] Somers, A. et al. A review of ionic liquid lubricants. **Lubricants**, MDPI AG, v. 1, n. 1, p. 3–21, 2013. Citado na página 27.
- [83] Perkin, S. Ionic liquids in confined geometries. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 14, n. 15, p. 5052, 2012. Citado na página 27.
- [84] Colherinhas, G.; Malaspina, T.; Fileti, E. E. Storing energy in biodegradable electrochemical supercapacitors. **ACS Omega**, American Chemical Society (ACS), v. 3, n. 10, p. 13869–13875, 2018. Citado 2 vezes nas páginas 27 e 52.
- [85] Atkins, P.; Jones, L. Princípios de química. Questionando a vida moderna e o meio ambiente. **bookman**, v. 1, 2012. Citado na página 27.
- [86] Seddon, K. R. Ionic liquids for clean technology. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 68, n. 4, p. 351–356, 1999. Citado na página 27.
- [87] Dupont, J.; Suarez, P. A. Z. Physico-chemical processes in imidazolium ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 8, n. 21, p. 2441, 2006. Citado na página 27.
- [88] Davies, J.; Davies, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, American Society for Microbiology, v. 74, n. 3, p. 417–433, 2010. Citado na página 27.
- [89] Watkins, R. R.; Bonomo, R. A. Overview: Global and local impact of antibiotic resistance. **Infectious Disease Clinics of North America**, Elsevier BV, v. 30, n. 2, p. 313–322, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 27 e 99.
- [90] Fleming, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of b. influenz. **British of experimental pathology**, v. 10, n. 3, p. 226–236, 1929. Citado na página 28.
- [91] Abraham, E. P.; Chain, E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. **Nature**, Springer Science and Business Media LLC, v. 146, n. 3713, p. 837–837, 1940. Citado na página 28.
- [92] Iwu, C. D.; Korsten, L.; Okoh, A. I. The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: A concern for public health. **MicrobiologyOpen**, Wiley, v. 9, n. 9, 2020. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 99.

- [93] Hernando-Amado, S. et al. Antibiotic resistance: Moving from individual health norms to social norms in one health and global health. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers Media SA, v. 11, 2020. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 99.
- [94] Browne, K. et al. A new era of antibiotics: The clinical potential of antimicrobial peptides. **International Journal of Molecular Sciences**, MDPI AG, v. 21, n. 19, p. 7047, 2020. Citado na página 28.
- [95] Memariani, H. et al. Mechanism of action and in vitro activity of short hybrid antimicrobial peptide PV3 against pseudomonas aeruginosa. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Elsevier BV, v. 479, n. 1, p. 103–108, 2016. Citado na página 28.
- [96] Memariani, H. et al. Membrane-active peptide PV3 efficiently eradicates multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa in a mouse model of burn infection. **APMIS**, Wiley, v. 126, n. 2, p. 114–122, 2018. Citado na página 28.
- [97] Hilchie, A. L.; Wuerth, K.; Hancock, R. E. W. Immune modulation by multifaceted cationic host defense (antimicrobial) peptides. **Nature Chemical Biology**, Springer Science and Business Media LLC, v. 9, n. 12, p. 761–768, 2013. Citado na página 28.
- [98] Pachón-Ibáñez, M. E. et al. Perspectives for clinical use of engineered human host defense antimicrobial peptides. **FEMS Microbiology Reviews**, Oxford University Press (OUP), v. 41, n. 3, p. 323–342, 2017. Citado na página 28.
- [99] Khurshid, Z. et al. Human oral defensins antimicrobial peptides: A future promising antimicrobial drug. **Current Pharmaceutical Design**, Bentham Science Publishers Ltd., v. 24, n. 10, p. 1130–1137, 2018. Citado na página 28.
- [100] Lohner, K. New strategies for novel antibiotics: peptides targeting bacterial cell membranes. **General Physiology and Biophysics**, AEPRESS, s.r.o., v. 28, n. 2, p. 105–116, 2009. Citado na página 28.
- [101] Zarrinnahad, H. et al. Apoptotic effect of melittin purified from iranian honey bee venom on human cervical cancer HeLa cell line. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, Springer Science and Business Media LLC, v. 24, n. 4, p. 563–570, 2017. Citado na página 28.
- [102] Abdolhosseini, M. et al. Lysine substitutions convert a bacterial-agglutinating peptide into a bactericidal peptide that retains anti-lipopolysaccharide activity and low hemolytic activity. **Peptides**, Elsevier BV, v. 35, n. 2, p. 231–238, 2012. Citado 3 vezes nas páginas 28, 99 e 126.
- [103] Hirt, H. et al. A d-enantiomer of the antimicrobial peptide GL13K evades antimicrobial resistance in the gram positive bacteria enterococcus faecalis and streptococcus gordonii. **PLOS ONE**, Public Library of Science (PLOS), v. 13, n. 3, p. e0194900, 2018. Citado na página 28.
- [104] Ye, Z. et al. Self-assembly dynamics and antimicrobial activity of all l- and d-amino acid enantiomers of a designer peptide. **Nanoscale**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 11, n. 1, p. 266–275, 2019. Citado na página 28.

- [105] Bjarnsholt, T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. **APMIS**, Wiley, v. 121, p. 1–58, 2013. Citado na página 28.
- [106] Kumar, A. et al. Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. **International Journal of Medical Microbiology**, Elsevier BV, v. 307, n. 8, p. 481–489, 2017. Citado na página 28.
- [107] Roy, R. et al. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**, Informa UK Limited, v. 9, n. 1, p. 522–554, 2018. Citado na página 29.
- [108] Kirmusaoglu, S. Staphylococcal biofilms: Pathogenicity, mechanism and regulation of biofilm formation by quorum-sensing system and antibiotic resistance mechanisms of biofilm-embedded microorganisms. **InTech**, v. 1, 2016. Citado na página 29.
- [109] Achinas, S.; Charalampogiannis, N.; Euverink, G. J. W. A brief recap of microbial adhesion and biofilms. **Applied Sciences**, MDPI AG, v. 9, n. 14, p. 2801, 2019. Citado na página 29.
- [110] Chmielewski, R.; Frank, J. Biofilm formation and control in food processing facilities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Wiley, v. 2, n. 1, p. 22–32, 2003. Citado na página 29.
- [111] Lu, L. et al. Developing natural products as potential anti-biofilm agents. **Chinese Medicine**, Springer Science and Business Media LLC, v. 14, n. 1, 2019. Citado na página 29.
- [112] Houdt, R. V.; Michiels, C. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. **Journal of Applied Microbiology**, Wiley, v. 109, n. 4, p. 1117–1131, 2010. Citado na página 29.
- [113] Wojtyczka, R. et al. Biofilm formation and antimicrobial susceptibility of staphylococcus epidermidis strains from a hospital environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, MDPI AG, v. 11, n. 5, p. 4619–4633, 2014. Citado na página 29.
- [114] Abdallah, M. et al. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. **Archives of Microbiology**, Springer Science and Business Media LLC, v. 196, n. 7, p. 453–472, 2014. Citado na página 29.
- [115] Busscher, H. J. et al. The effect of buttermilk consumption on biofilm formation on silicone rubber voice prostheses in an artificial throat. **European Archives of Otorhino-Laryngology**, Springer Science and Business Media LLC, v. 255, n. 8, p. 410–413, 1998. Citado na página 29.
- [116] Gristina, A. G. Biomaterial-centered sepsis and the total artificial heart. **JAMA**, American Medical Association (AMA), v. 259, n. 6, p. 870, 1988. Citado na página 29.
- [117] Nickel, J. C. et al. Tobramycin resistance of pseudomonas aeruginosa cells growing as a biofilm on urinary catheter material. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, American Society for Microbiology, v. 27, n. 4, p. 619–624, 1985. Citado na página 29.

- [118] McLaughlin-Borlace et al. Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. **Journal of Applied Microbiology**, Wiley, v. 84, n. 5, p. 827–838, 1998. Citado na página 29.
- [119] Aswathanarayan, J. B.; Vittal, R. R. Microbial biofilms and their control by various antimicrobial strategies. **Microbial Pathogens and strategies for combating them: Science, Technology and Education**, p. 124–133, 2013. Citado na página 29.
- [120] Rishi, P. et al. Efficacy of designer K11 antimicrobial peptide (a hybrid of melittin, cecropin a1 and magainin 2) against acinetobacter baumannii-infected wounds. **Pathogens and Disease**, Oxford University Press (OUP), v. 76, n. 7, 2018. Citado na página 29.
- [121] Ramos-Martín, F. et al. Antimicrobial peptide k11 selectively recognizes bacterial biomimetic membranes and acts by twisting their bilayers. **Pharmaceuticals**, MDPI AG, v. 14, n. 1, p. 1, 2020. Citado na página 29.
- [122] Hirt, H.; Gorr, S.-U. Antimicrobial peptide GL13K is effective in reducing biofilms of pseudomonas aeruginosa. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, American Society for Microbiology, v. 57, n. 10, p. 4903–4910, 2013. Citado na página 29.
- [123] Kroto, H. W. et al. C60: Buckminsterfullerene. **Nature**, Springer Science and Business Media LLC, v. 318, n. 6042, p. 162–163, 1985. Citado na página 30.
- [124] Buseck, P. R.; Tsipursky, S. J.; Hettich, R. Fullerenes from the geological environment. **Science**, American Association for the Advancement of Science (AAAS), v. 257, n. 5067, p. 215–217, 1992. Citado na página 30.
- [125] Krätschmer, W. et al. Solid c60: a new form of carbon. **Nature**, Springer Science and Business Media LLC, v. 347, n. 6291, p. 354–358, 1990. Citado na página 30.
- [126] Goodarzi, S. et al. Fullerene: biomedical engineers get to revisit an old friend. **Materials Today**, Elsevier BV, v. 20, n. 8, p. 460–480, 2017. Citado na página 30.
- [127] Castro, E. et al. Fullerenes in biology and medicine. **Journal of Materials Chemistry B**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 5, n. 32, p. 6523–6535, 2017. Citado na página 30.
- [128] Raza, K. et al. C₆₀-Fullerenes for delivery of docetaxel to breast cancer cells: A promising approach for enhanced efficacy and better pharmacokinetic profile. **International Journal of Pharmaceutics**, Elsevier BV, v. 495, n. 1, p. 551–559, 2015. Citado na página 30.
- [129] Jensen, A. W.; Wilson, S. R.; Schuster, D. I. Biological applications of fullerenes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Elsevier BV, v. 4, n. 6, p. 767–779, 1996. Citado na página 30.
- [130] Ashcroft, J. M. et al. Fullerene (C₆₀) immunoconjugates: interaction of water-soluble c60 derivatives with the murine anti-gp240 melanoma antibody. **Chemical Communications**, Royal Society of Chemistry (RSC), n. 28, p. 3004, 2006. Citado na página 30.

- [131] Friedman, S. H. et al. Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification. **Journal of the American Chemical Society**, American Chemical Society (ACS), v. 115, n. 15, p. 6506–6509, 1993. Citado na página 30.
- [132] Zupanc, J. et al. Experimental evidence for the interaction of C₆₀-Fullerene with lipid vesicle membranes. **Carbon**, Elsevier BV, v. 50, n. 3, p. 1170–1178, 2012. Citado na página 31.
- [133] Santos, S. M. et al. Interaction of fullerene nanoparticles with biomembranes: From the partition in lipid membranes to effects on mitochondrial bioenergetics. **Toxicological Sciences**, Oxford University Press (OUP), v. 138, n. 1, p. 117–129, 2013. Citado na página 31.
- [134] Oberdörster, G. et al. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. **Inhalation Toxicology**, Informa UK Limited, v. 16, n. 6-7, p. 437–445, 2004. Citado na página 31.
- [135] Qiao, R. et al. Translocation of C₆₀ and its derivatives across a lipid bilayer. **Nano Letters**, American Chemical Society (ACS), v. 7, n. 3, p. 614–619, 2007. Citado na página 31.
- [136] Jeng, U.-S. et al. Dispersion of fullerenes in phospholipid bilayers and the subsequent phase changes in the host bilayers. **Physica B: Condensed Matter**, Elsevier BV, v. 357, n. 1-2, p. 193–198, 2005. Citado na página 31.
- [137] Hwang, K. C.; Mauzerall, D. Photoinduced electron transport across a lipid bilayer mediated by c70. **Nature**, Springer Science and Business Media LLC, v. 361, n. 6408, p. 138–140, 1993. Citado na página 31.
- [138] Salinas, S. R. A. **Introdução à Física Estatística**, EdUSP, 2005. Citado 3 vezes nas páginas 33, 34 e 35.
- [139] Nosé, S. A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. **Molecular Physics**, Informa UK Limited, v. 52, n. 2, p. 255–268, 1984. Citado na página 34.
- [140] Hoover, W. G. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. **Phys. Rev. A**, American Physical Society, v. 31, p. 1695–1697, 1985. Citado na página 34.
- [141] Bond, S. D.; Leimkuhler, B. J.; Laird, B. B. The nosé–poincaré method for constant temperature molecular dynamics. **Journal of Computational Physics**, Elsevier BV, v. 151, n. 1, p. 114–134, 1999. Citado na página 34.
- [142] Berendsen, H. J. C. et al. Molecular dynamics with coupling to an external bath. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984. Citado na página 34.
- [143] Dokholyan, N. V. **Computational Modeling of Biological Systems**, Springer US, 2012. Citado 4 vezes nas páginas 34, 35, 38 e 46.

- [144] LeSar, R. **Introduction to Computational Materials Science: Fundamentals to Applications**, Cambridge University Press, 2013. Citado 2 vezes nas páginas 36 e 37.
- [145] Verlet, L. Computer "experiments" on classical fluids. I. thermodynamical properties of lennard-jones molecules. **Phys. Rev.**, American Physical Society, v. 159, p. 98–103, 1967. Citado na página 36.
- [146] 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**, AIP Publishing, v. 76, n. 1, p. 637–649, 1982. Citado na página 36.
- [147] Monticelli, L.; Tieleman, D. P. Force fields for classical molecular dynamics. In: **Methods in Molecular Biology**. [S.l.]: Humana Press, 2012. p. 197–213. Citado 6 vezes nas páginas 38, 40, 41, 42, 43 e 44.
- [148] Rappe, A. K. et al. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. **Journal of the American Chemical Society**, American Chemical Society (ACS), v. 114, n. 25, p. 10024–10035, 1992. Citado na página 39.
- [149] Best, R. B. et al. Optimization of the additive charmm all-atom protein force field targeting improved sampling of the backbone phi, psi and side-chain chi(1) and chi(2) dihedral angles. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 9, p. 3257–3273, 2012. Citado 3 vezes nas páginas 39, 80 e 100.
- [150] Cornell, W. D. et al. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. **Journal of the American Chemical Society**, American Chemical Society (ACS), v. 117, n. 19, p. 5179–5197, 1995. Citado na página 39.
- [151] Oostenbrink, C. et al. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53a5 and 53a6. **Journal of Computational Chemistry**, Wiley, v. 25, n. 13, p. 1656–1676, 2004. Citado na página 39.
- [152] Jorgensen, W. L.; Maxwell, D. S.; Tirado-Rives, J. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, American Chemical Society (ACS), v. 118, n. 45, p. 11225–11236, 1996. Citado na página 39.
- [153] Sun, H. COMPASS: an ab initio force-field optimized for condensed-phase Applications Overview with details on alkane and benzene compounds. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society (ACS), v. 102, n. 38, p. 7338–7364, 1998. Citado na página 39.
- [154] Fileti, E. E.; Chaban, V. V. The force field for imidazolium-based ionic liquids: Novel anions with polar residues. **Chemical Physics Letters**, v. 633, p. 132 – 138, 2015. Citado na página 39.

- [155] HESS, B. et al. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, Wiley, v. 18, n. 12, p. 1463–1472, 1997. Citado na página 40.
- [156] Jensen, F. **Introduction to Computational Chemistry**, Wiley, 2007. Citado 2 vezes nas páginas 40 e 42.
- [157] Field, M. J. **A Practical Introduction to the Simulation of Molecular Systems**, Cambridge University Press, 2007. Citado 2 vezes nas páginas 41 e 46.
- [158] Morse, P. M. Diatomic molecules according to the wave mechanics. II. vibrational levels. **Physical Review**, American Physical Society (APS), v. 34, n. 1, p. 57–64, 1929. Citado na página 41.
- [159] Urey, H. C.; Bradley, C. A. The vibrations of pentatomic tetrahedral molecules. **Physical Review**, American Physical Society (APS), v. 38, n. 11, p. 1969–1978, 1931. Citado na página 43.
- [160] Anézo, C. et al. Methodological issues in lipid bilayer simulations. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society (ACS), v. 107, n. 35, p. 9424–9433, 2003. Citado na página 45.
- [161] Tieleman, D. P.; Berendsen, H. J. C. Molecular dynamics simulations of a fully hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer with different macroscopic boundary conditions and parameters. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 105, n. 11, p. 4871–4880, 1996. Citado na página 45.
- [162] Patel, R. Y.; Balaji, P. V. Effect of the choice of the pressure coupling method on the spontaneous aggregation of DPPC molecules. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society (ACS), v. 109, n. 30, p. 14667–14674, 2005. Citado na página 45.
- [163] Spoel, D. van der et al. **Gromacs User Manual version 3.1**, 2001. Citado 2 vezes nas páginas 46 e 102.
- [164] Frenkel, D.; Smit, B. **Understanding Molecular Simulation From Algorithms to Applications**, Academic Press, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 46 e 85.
- [165] Tuckerman, M. **Statistical Mechanics: Theory And Molecular Simulation**, Oxford Graduate Texts, v. 1, 2001. Citado na página 47.
- [166] Eastwood, M. P. et al. Equipartition and the calculation of temperature in biomolecular simulations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, American Chemical Society (ACS), v. 6, n. 7, p. 2045–2058, 2010. Citado na página 47.
- [167] Hess, B. et al. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. **J. Comput. Chem.**, v. 18, p. 18–1463, 1997. Citado 2 vezes nas páginas 47 e 56.
- [168] Ryckaert, J.-P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H. J. Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. **Journal of Computational Physics**, Elsevier BV, v. 23, n. 3, p. 327–341, 1977. Citado na página 47.

- [169] Tozzini, V. Coarse-grained models for proteins. **Current Opinion in Structural Biology**, Elsevier BV, v. 15, n. 2, p. 144–150, 2005. Citado na página 48.
- [170] Torrie, G. M.; Valleau, J. P. Monte carlo free energy estimates using non-boltzmann sampling: Application to the sub-critical lennard-jones fluid. **Chemical Physics Letters**, Elsevier BV, v. 28, n. 4, p. 578–581, 1974. Citado na página 49.
- [171] Bartels, C.; Karplus, M. Probability distributions for complex systems: adaptive umbrella sampling of the potential energy. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society (ACS), v. 102, n. 5, p. 865–880, 1998. Citado na página 49.
- [172] Kirkwood, J. G. Statistical mechanics of fluid mixtures. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 3, n. 5, p. 300–313, 1935. Citado na página 49.
- [173] Abraham, M. J. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, Elsevier BV, v. 1-2, p. 19–25, 2015. Citado 7 vezes nas páginas 49, 50, 57, 72, 80, 90 e 100.
- [174] Kollman, P. A.; Allen, L. C. Theory of the hydrogen bond. **Chemical Reviews**, American Chemical Society (ACS), v. 72, n. 3, p. 283–303, 1972. Citado na página 50.
- [175] Nelson, D.; Cox, M. **Princípio de Bioquímica de Lehninger**, artmed, 2014. Citado na página 50.
- [176] Luzar, A.; Chandler, D. Effect of environment on hydrogen bond dynamics in liquid water. **Phys. Rev. Lett.**, American Physical Society, v. 76, p. 928–931, 1996. Citado 2 vezes nas páginas 50 e 51.
- [177] 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_2 dihedral angles. **Journal of Chemical Theory and Computation**, American Chemical Society (ACS), v. 8, n. 9, p. 3257–3273, 2012. Citado na página 56.
- [178] Lopes, J. N. C.; Pádua, A. A. H. Molecular force field for ionic liquids III: imidazolium, pyridinium, and phosphonium cation; chloride, bromide, and dicyanamide anions. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society (ACS), v. 110, n. 39, p. 19586–19592, 2006. Citado na página 56.
- [179] 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**, AIP Publishing, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993. Citado 2 vezes nas páginas 56 e 80.
- [180] Parrinello, M.; Rahman, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics**, AIP Publishing, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, 1981. Citado 3 vezes nas páginas 56, 80 e 100.
- [181] Martínez, L. et al. PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, Wiley, v. 30, n. 13, p. 2157–2164, 2009. Citado na página 57.
- [182] Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, Elsevier BV, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. Citado na página 57.

- [183] 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**, Wiley, v. 30, n. 12, p. 1952–1958, 2009. Citado na página 57.
- [184] Colherinhas, G.; Fileti, E. Molecular description of surfactant-like peptide based membranes. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 118, n. 18, p. 9598–9603, 2014. Citado 2 vezes nas páginas 60 e 61.
- [185] Luzar, A. Resolving the hydrogen bond dynamics conundrum. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 113, n. 23, p. 10663–10675, 2000. Citado na página 66.
- [186] Luzar, A.; Chandler, D. Hydrogen-bond kinetics in liquid water. **Nature**, Springer Science and Business Media LLC, v. 379, n. 6560, p. 55–57, 1996. Citado na página 66.
- [187] Proença, B.; Oliveira, L. B. A.; Colherinhas, G. Stability and structural analysis of a6r polypeptide nanosheets: A theoretical study using the classical molecular dynamics simulation. **The Journal of Physical Chemistry C**, American Chemical Society (ACS), v. 122, n. 42, p. 24445–24453, 2018. Citado na página 76.
- [188] Davis, J. J. et al. Molecular bioelectronics. **Journal of Materials Chemistry**, Royal Society of Chemistry (RSC), v. 15, n. 22, p. 2160, 2005. Citado na página 77.
- [189] Artero, V. Bioinspired catalytic materials for energy-relevant conversions. **Nature Energy**, Springer Science and Business Media LLC, v. 2, n. 9, 2017. Citado na página 77.
- [190] Milroy, C. A.; Manthiram, A. Bioelectronic energy storage: A pseudocapacitive hydrogel composed of endogenous biomolecules. **ACS Energy Letters**, American Chemical Society (ACS), v. 1, n. 4, p. 672–677, 2016. Citado na página 77.
- [191] Moon, W. G. et al. A biodegradable gel electrolyte for use in high-performance flexible supercapacitors. **ACS Applied Materials & Interfaces**, American Chemical Society (ACS), v. 7, n. 6, p. 3503–3511, 2015. Citado na página 77.
- [192] Jämbeck, J. P. M.; Lyubartsev, A. P. An extension and further validation of an all-atomistic force field for biological membranes. **Journal of Chemical Theory and Computation**, American Chemical Society (ACS), v. 8, n. 8, p. 2938–2948, 2012. Citado 2 vezes nas páginas 79 e 100.
- [193] Jämbeck, J. P. M.; Lyubartsev, A. P. Another piece of the membrane puzzle: Extending slipids further. **Journal of Chemical Theory and Computation**, American Chemical Society (ACS), v. 9, n. 1, p. 774–784, 2012. Citado 2 vezes nas páginas 79 e 100.
- [194] Jorgensen, W. L. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983. Citado 2 vezes nas páginas 80 e 100.
- [195] Monticelli, L. On atomistic and coarse-grained models for C₆₀-Fullerene. **Journal of Chemical Theory and Computation**, American Chemical Society (ACS), v. 8, n. 4, p. 1370–1378, 2012. Citado na página 80.

- [196] Bussi, G.; Donadio, D.; Parrinello, M. Canonical sampling through velocity rescaling. **The Journal of Chemical Physics**, AIP Publishing, v. 126, n. 1, p. 14101, 2007. Citado 2 vezes nas páginas 80 e 100.
- [197] Mills, T. T. et al. Order parameters and areas in fluid-phase oriented lipid membranes using wide angle x-ray scattering. **Biophysical Journal**, Elsevier BV, v. 95, n. 2, p. 669–681, 2008. Citado na página 84.
- [198] Waigh, T. A. **Applied Biophysics: A Molecular Approach for Physical Scientists**, John Wiley and Sons, Ltd, 2007. Citado na página 85.
- [199] Einstein, A. Über die von der molekularkinetischen theorie der wärme geforderte bewegung von in ruhenden flüssigkeiten suspendierten teilchen. **Annalen der Physik**, Wiley, v. 322, n. 8, p. 549–560, 1905. Citado na página 85.
- [200] Mendanha, S. A.; Alonso, A. Effects of terpenes on fluidity and lipid extraction in phospholipid membranes. **Biophysical Chemistry**, Elsevier BV, v. 198, p. 45–54, 2015. Citado na página 87.
- [201] Mendanha, S. A. et al. An EPR spin probe study of the interactions between PC liposomes and stratum corneum membranes. **International Journal of Pharmaceutics**, Elsevier BV, v. 545, n. 1-2, p. 93–100, 2018. Citado na página 87.
- [202] Berliner, L. J. **Spin Labeling Theory and Applications**, Academic Press, 1976. Citado na página 87.
- [203] Schrödinger, L.; DeLano, W. **PyMOL**. Citado na página 100.
- [204] Alves, E. D.; Colherinhas, G.; Mendanha, S. A. Assessing the DOPC-cholesterol interactions and their influence on fullerene c60 partitioning in lipid bilayers. **Journal of Molecular Liquids**, Elsevier BV, v. 315, p. 113698, 2020. Citado na página 106.