



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

KARINNA MENDANHA SOARES

**Modelagem de membranas
peptídicas formadas por arginina e
fenilalanina usando dinâmica
molecular**

Goiânia
2023



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

Karina Mendanha Soares

3. Título do trabalho

Modelagem de membranas peptídicas formadas por arginina e fenilalanina usando 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 19/04/2023, às 16:26, 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 **Karina Mendanha Soares, Discente**, em 20/04/2023, às 17:02, 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 **3686766** e o código CRC **E013B063**.

Referência: Processo nº 23070.010536/2023-18

SEI nº 3686766

KARINNA MENDANHA SOARES

Modelagem de membranas peptídicas formadas por arginina e fenilalanina usando dinâmica molecular

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

Área de concentração: Física

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

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Colherinhas de Oliveira

Goiânia
2023

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

Soares, Karinna Mendanha

Modelagem de membranas peptídicas formadas por arginina e fenilalanina usando dinâmica molecular [manuscrito] / Karinna Mendanha Soares. - 2023.

f.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Colherinhas Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, , Programa de Pós-Graduação em Física, Goiânia, 2023.

Bibliografia. Apêndice.

Inclui abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Dinâmica Molecular. 2. Peptídeo. 3. Hidrofilicidade. 4. Ligações de Hidrogênio. 5. Tempo de vida de LHs. I. Oliveira, Guilherme Colherinhas, orient. II. Título.

CDU 539



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE FÍSICA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 209 da sessão de Defesa de Dissertação de Karinna Mendanha Soares, que confere o título de Mestra em Física, na área de concentração em Física.

Aos 08 dias do mês de março de 2023, a partir das 09h30min, no Laboratório de Mídias do Instituto de Física, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “Modelagem de membranas peptídicas formadas por arginina e fenilalanina usando 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 Agnaldo Rosa de Almeida (CCET/UEG), membro titular externo; e Professor Doutor Wesley Bueno Cardoso (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 Dissertação, tendo sido a candidata aprovada 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 08 dias do mês de março de 2023.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Colherinhas De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 08/03/2023, às 11:11, 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 **Agnaldo Rosa de Almeida, Usuário Externo**, em 08/03/2023, às 11:11, 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 **Wesley Bueno Cardoso, Professor do Magistério Superior**, em 08/03/2023, às 11:17, 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 **3557832** e o código CRC **7F4E7F5E**.

Dedico às inúmeras cientistas cujos nomes
foram subtraídos da história da ciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a minha mãe Juliana Antônio Mendanha por ser minha principal fonte de apoio, energia e acolhimento, agradeço ao meu pai Wilian da Costa Soares pelos inúmeros esforços para que eu chegasse até aqui, e aos meus irmãos, Leonardo e Wanessa, por serem os melhores parceiros que eu poderia ter.

Agradeço as grandes mulheres da minha família, minhas avós Aparecida (*in memoriam*) e Maria, por passarem por gerações o quanto é importante uma mulher ir atrás dos seus sonhos.

Agradeço ao meu orientador Guilherme Colherinhas pela paciência, dedicação e apoio, sempre me mostrando os melhores caminhos.

Agradeço aos meus amigos de longa data e aos que conheci em todos esses anos de Instituto de Física, todos fizeram esta jornada ser um pouco mais leve.

Por fim, agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa ofertada no âmbito do Programa de Pós-Graduação em Física.

RESUMO

A utilização de recursos computacionais para modelagem de nanoestruturas orgânicas, a partir de peptídeos, tem potencial para elucidar características fundamentais que orientam as interações moleculares e que colaboram com o entendimento do processo de automontagem desses materiais. Neste trabalho, desenvolvemos um estudo de modelagem computacional para obter propriedades estruturais e energéticas de uma membrana formada por peptídeos usando dinâmica molecular. Nossas simulações foram realizadas explorando três formas de justaposição entre os peptídeos que moldam a nanoestrutura orgânica. Elas mostram que as três formas de organização são viáveis durante o processo de automontagem levando a estruturas semelhantes. Nossos resultados reforçam a importância das ligações de hidrogênio e a correta modelagem da estrutura hidrofóbica e hidrofílica do peptídeo no processo de modelagem de nanomembranas (especialmente peptídeos do tipo bola-anfifílico). Para a espessura da membrana, nossos resultados, obtidos a partir do perfil de densidade de massa foram iguais a 2,28; 2,25 e 2,22 nm. Já a partir do mapeamento da superfície encontramos resultados iguais a 2,47; 2,14 e 2,32 nm, que difere em até 2,36 nm do resultado experimental de 3,2 – 4,5 nm. Isso nos levou a adotar um modelo de bicamada, na qual os resultados destacam uma espessura média de 3,95 nm indicando que os resultados experimentais podem, então, estar indicando a presença de estruturas de bicamada e não de monocamadas.

Palavras - chave: Dinâmica Molecular, Peptídeo, Hidrofilicidade, Ligações de Hidrogênio, Tempo de vida de LHs

ABSTRACT

The use of computational resources for modeling organic nanostructures from peptides has a potential to elucidate fundamental characteristics that guide molecular interactions and that collaborate with the understanding of the self-assembly process of these materials. In this study, we describe a structural and energetic study of a membrane using molecular dynamics. Our simulations were carried out by exploring three ways of juxtaposition between the peptides that shape the organic nanostructure. The simulations also shows that the three forms of organization are viable during the self-assembly process leading to similar structures. Our studies reinforce the importance of hydrogen bond and the correct modeling of the hydrophobic and hydrophilic structure of the peptide in the nanomembrane idealization process (especially bola-amphiphilic peptide). For membrane thickness, our results obtained from the mass density profile were 2,28; 2,25 and 2,22 nm. From the surface mapping we found the results 2,47; 2,14 and 2,32 nm, that differs by up to 2,36 nm from the experimental result of 3,2 – 4,5 nm. This led us to adopt a bilayer model in which the results highlight an average thickness of 3,95 nm indicating that the experimental results may be indicate the presence of structures bilayers model and not monolayers.

Key - words: Molecular Dynamics, Peptide, Hydrophilicity, H-bond, HB-Lifetime

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1:	Forma estrutural geral dos aminoácidos. Em vermelho a função ácido carboxílico e em azul a função amina.	12
Figura 1.2:	Peptídeo de 10 alaninas com estrutura secundária do tipo α -hélice. Em verde a representação das ligações de hidrogênio.	14
Figura 1.3:	Nanoestruturas formadas por aminoácidos com estrutura secundária do tipo β -folha. A estrutura (a) é uma nanomembrana formada por ácido glutâmico (E), fenilalanina (F) e lisina (K) com sequência EF ₄ K; figura adaptada de Sousa [1] e a estrutura (b) mostra uma nanofibra formada por glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) com sequência G ₃ A ₃ V ₃ I ₃ K ₃ ; figura adaptada de Andrade [2].	15
Figura 1.4:	Peptídeo de 10 alaninas com estrutura secundária do tipo β -folha.	15
Figura 1.5:	Estrutura do tipo β -folha com orientação paralela e antiparalela. Adaptada de Nelson e Cox [3].	16
Figura 1.6:	Forma estrutural da arginina (R) e fenilalanina (F).	17
Figura 1.7:	Representação da lateral lateral e superior da estrutura dos peptídeos simulados: Arginina (R) e fenilalanina (F). Verde representam os átomos de carbono; branco representam os átomos de hidrogênio; vermelho representam os átomos de oxigênio; azul representam os átomos de nitrogênio.	18
Figura 2.1:	Caixa de simulação com condições periódicas de contorno. Adaptada de Verli [4].	22
Figura 2.2:	Representação esquemática para as interações que compõem um campo de força. Adaptada de Leach [5] e Andrade [6].	25
Figura 3.1:	Modelo-A de membrana de $R_2F_4R_2$ vista do plano YZ. Arginina (R) representada pela cor azul e fenilalanina (F) representada pela cor vermelha, ambas estão com estrutura secundária do tipo β -folha paralela.	29

Figura 3.2:	Modelo-B de membrana de $R_2F_4R_2$ vista do plano YZ. Arginina (R) representada pela cor azul é do tipo β -folha paralela e fenilalanina (F) representada pela cor vermelha é do tipo β -folha anti-paralela.	30
Figura 3.3:	Modelo-C de membrana de $R_2F_4R_2$ vista do plano YZ. Arginina (R) e fenilalanina (F) representada pela cor vermelha alternando entre paralela e anti-paralela.	30
Figura 3.4:	Estrutura inicial das nanomembranas peptídicas do Modelo-A. A figura (a) referente ao plano yz, figura (b) referente ao plano xz e figura (c) referente ao plano xy. Azul corresponde a Arginina (R); Vermelho corresponde a fenilalanina (F); Verde corresponde aos íons cloro (Cl).	33
Figura 3.5:	Estrutura inicial das nanomembranas peptídicas do Modelo-B. A figura (a) referente ao plano yz, figura (b) referente ao plano xz e figura (c) referente ao plano xy. Azul corresponde a Arginina (R); Vermelho corresponde a fenilalanina (F); Verde corresponde aos íons cloro (Cl).	34
Figura 3.6:	Estrutura inicial das nanomembranas peptídicas do Modelo-C. A figura (a) referente ao plano yz, figura (b) referente ao plano xz e figura (c) referente ao plano xy. Azul corresponde a Arginina (R); Vermelho corresponde a fenilalanina (F); Verde corresponde aos íons cloro (Cl).	35
Figura 3.7:	Monômero de $R_2F_4R_2$ em solução. Moléculas de água em vermelho e em verde íons de cloreto.	36
Figura 4.1:	Modelos equilibrados das membranas peptídicas estudadas. Azul representa a arginina (R). Vermelho representa a fenilalanina (F). Esferas verdes representam os íons de cloro	38
Figura 4.2:	Avaliação da espessura da nanomembrana e do comportamento de sua superfície hidrofílica composta pelo resíduo de arginina (R). Análise realizada usando o programa SuAVE [7].	39
Figura 4.3:	Média do perfil de densidade de massa de peptídeos e moléculas de água para membranas Modelos A, B e C [em kg/m^3]. A densidade de íons também é mostrada. (direção z). Em vermelho a densidade de massa da água, em azul a densidade de massa dos íons e em preto a densidade de massa da membrana.	46

Figura 4.4:	Modelo de bicamada proposto. Nas figuras (a) e (b) as argininas (R) estão representadas em azul e em vermelho as fenilalaninas (F), Na figura (c) a densidade de massa da membrana é mostrada em preto, em vermelho a densidade de massa da água e em azul a densidade de massa dos íons.	47
Figura 4.5:	Média do perfil de densidade de massa [em kg/m^3] das moléculas peptídicas para as membranas dos Modelos A, B e C (direção X e Y). As setas azuis indicam os picos utilizados para calcular as distâncias entre as lâminas peptídicas (β -folhas).	48
Figura 4.6:	Modelo que descreve uma ligação de hidrogênio	50
Figura 4.7:	Representação das ligações de hidrogênio para cada modelo de membrana. Arginina (R) representada pela cor azul, fenilalanina (F) pela cor vermelha, água pelas cores branca e amarela e ligações de hidrogênio pelas linhas de cor preta.	55
Figura A.1:	Primeira página do artigo <i>Modeling, energetic and structural analysis of peptide membranes formed by arginine and phenylalanine ($R_2F_4R_2$) using fully atomistic molecular dynamics</i>	61

LISTA DE ABREVIACOES

CHARMM do inglês *Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*

DM Dinâmica Molecular

LH Ligações de Hidrogênio

LJ Potencial de Lennard-Jones

MSD do inglês *Mean Square Displacement*

NPT *ensemble* Isobrico-Isotérmico. Número de partícula, Pressão e temperaturas constantes

NVT *ensemble* Isocrico-Isotérmico. Número de partícula, Volume e temperaturas constantes

PME do inglês *Particle Mesh Ewald*

VMD Visual Molecular Dynamics (Programa utilizado para figuras)

GROMACS do inglês *Groningen Machine for Chemical Simulations* (Pacote utilizado para as simulações de Dinâmica Molecular)

SUMÁRIO

Capítulo 1: Introdução	12
1.1 Estrutura primária e secundária de polipeptídeos	13
1.2 Sistema anfifílico	15
Capítulo 2: Dinâmica Molecular	20
2.1 Dinâmica Molecular	20
2.1.1 Condições Periódicas de Contorno	21
2.2 Algoritmo de Verlet	22
2.3 Algoritmo de <i>Velocity</i> -Verlet	23
2.4 Campo de Força CHARMM	24
2.5 Ligações de Hidrogênio	27
Capítulo 3: Modelagem Computacional	29
3.1 Arquitetura da Estrutura Membranar	29
3.2 Protocolo de Simulação	32
Capítulo 4: Resultados	37
4.1 Análise Estrutural	37
4.2 Energia de Coulomb e de Lennard-Jones	40
4.3 Perfil de Densidade	43
4.3.1 Densidade superficial de carga elétrica	43
4.3.2 Densidade de Massa	44
4.4 Deslocamento Quadrático Médio	49
4.5 Estrutura e Dinâmica das Ligações de Hidrogênio	49
Capítulo 5: Conclusões	57
APÊNDICES	60
Apêndice A: Trabalho Desenvolvido	61

INTRODUÇÃO

Aminoácidos são moléculas que desempenham um papel importante no funcionamento do nosso organismo e, quando ligados entre si, formam proteínas que são essenciais em desempenhar funções como o transporte de moléculas e defesa do organismo [8]. Encontramos no genoma humano 20 aminoácidos diferentes mas, estima-se que na natureza podemos encontrar mais de 300 diferentes tipos destas estruturas [3]. Os aminoácidos são compostos que possuem um função amina $-NH_2$ e uma função carboxila $-COOH$, sendo diferenciados entre si pela estrutura da cadeia lateral, ou seja, eles se diferenciam pela presença de um radical ligado ao carbono α , como mostra a Figura (1.1).

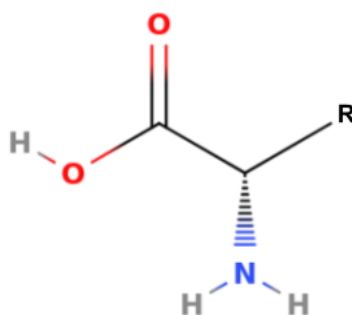


Figura 1.1: Forma estrutural geral dos aminoácidos. Em vermelho a função ácido carboxílico e em azul a função amina.

O radical (indicado por R) ligado a função amina é também importante para a classificação do aminoácido de acordo com a sua polaridade (polares e apolares) [8]; os radicais que são constituídos por hidrocarbonetos são classificados como apolares, ou seja, eles não interagem fortemente com a água, já os radicais que possuem carga elétrica não nula são classificados como polares, pois esta carga elétrica contribui diretamente

para uma forte interação com a água. Por fim, os aminoácidos polares tem classificações como aminoácidos básicos e ácidos, caso a carga elétrica seja positiva ou negativa, respectivamente [3]. Um exemplo de aminoácido apolar é a fenilalanina (F) e um exemplo de aminoácido polar subclassificado como aminoácido básico é a arginina (R). Estas estruturas, quando estão em pH neutro se apresentam, em geral, na forma *zwitterionica* na qual suas terminações estão os íons de *zwitter*, ou *zwitterion*, $-COO^{1-}$ e $-NH_3^{1+}$ [3].

1.1 Estrutura primária e secundária de polipeptídeos

Os aminoácidos fazem ligações peptídicas entre si, estas ligações são feitas entre o átomo C do grupo carboxila e o átomo N do grupo amina do aminoácido, formando polipeptídeos, nome dado para a ligação de mais de 10 aminoácidos [3]. Estas ligações são um exemplo de reações de condensação, sendo um tipo comum de reação que ocorre nas células vivas [3]. Os termos "proteína" e "polipeptídeos" podem ser muitas vezes permutado, sendo diferenciados por suas massas moleculares, onde é comum chamar de polipeptídeos para conjunto de aminoácidos que tem massa molecular abaixo de 10.000 *u* e proteínas massas moleculares maiores. Quando ligadas formando polipeptídeos ou proteínas, estes arranjos têm níveis estruturais que se referem a sua complexidade, chegando até o nível quaternário. Aqui discutiremos os dois primeiros níveis, o primário e o secundário [3].

As estruturas primárias de um polipeptídeo estão relacionadas aos aminoácidos que compõem a sua estrutura, sendo esta a sua principal característica. Cada proteína tem uma sequência de aminoácidos, que determina a sua função biológica [3]. Já as estruturas secundárias estão ligadas à forma estrutural que estes peptídeos se arranjam e dão origem a um padrão que se repete no decorrer dos aminoácidos que formam a cadeia polipeptídica, sendo classificadas como α -hélice e β -folha [8].

As estruturas do tipo α -hélice formam uma estrutura helicoidal (como uma escada caracol, por exemplo) que são estabilizadas por ligações de hidrogênio entre os grupos $-NH-$ e $-CO-$ da cadeia principal, este tipo de ligação, que mantém a estrutura, é mais frequentemente encontrada em proteínas e os átomos centrais que compõem os resíduos têm um grupo bem característico que formam ângulos diedrais que contribuem para a formação da estrutura tipo α -hélice [3]. A direção que a curva da α -hélice faz também é uma importante característica deste tipo de estrutura, sendo o giro pela direita o tipo mais

comum e as que vão para a esquerda, em geral, não têm estabilidade e não são encontradas em proteínas [3]. Apesar de ser o tipo de estrutura mais encontrada em proteínas, não são todos os aminoácidos que formam estruturas do tipo α -hélice. Quando são carregados tanto positivamente quanto negativamente, pode ocorrer uma intensa força de repulsão que poderá impedir que a estrutura permaneça na formatação do tipo α -hélice. A Figura (1.2) mostra uma sequência de 10 alaninas (A) ligadas com uma estrutura do tipo α -hélice.

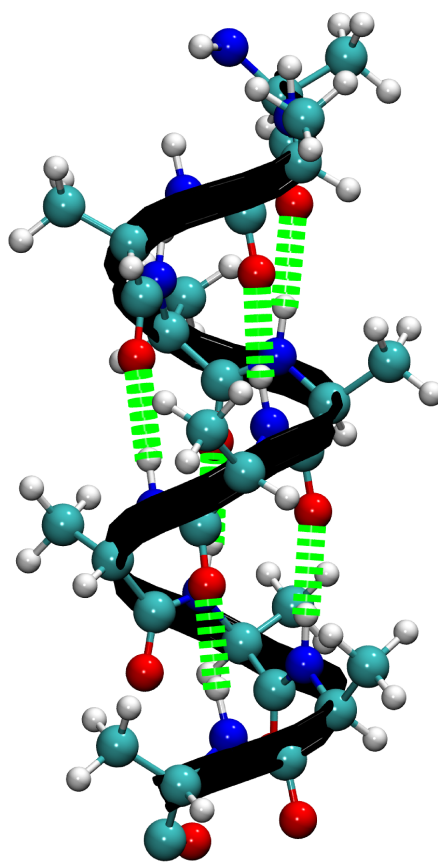


Figura 1.2: Peptídeo de 10 alaninas com estrutura secundária do tipo α -hélice. Em verde a representação das ligações de hidrogênio.

Estruturas do tipo β -folha têm uma aparência de zigue-zague e o radical do aminoácido se projeta para lados opostos. Estruturas do tipo β -folha são mais frequentemente encontradas em nanoestruturas do tipo membranas e tubos, como mostra na Figura (1.3). Na Figura (1.4) temos um exemplo de peptídeo do tipo β -folha.

A estrutura do tipo β -folha possui uma variação na orientação, podendo ser encontradas do tipo paralela e anti-paralela, mudando o padrão das ligações de hidrogênio

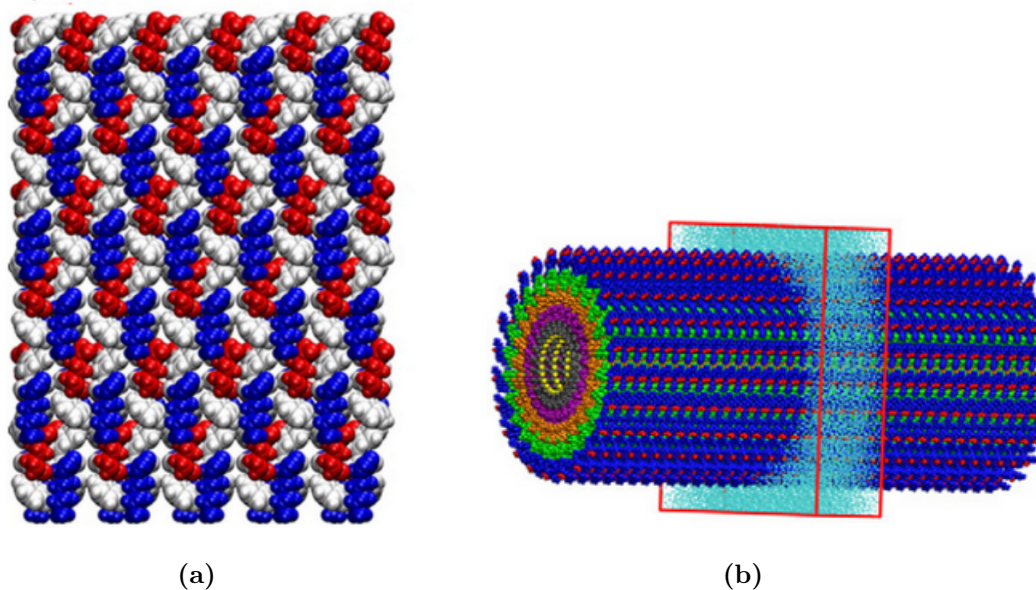


Figura 1.3: Nanoestruturas formadas por aminoácidos com estrutura secundária do tipo β -folha. A estrutura (a) é uma nanomembrana formada por ácido glutâmico (E), fenilalanina (F) e lisina (K) com sequência EF_4K ; figura adaptada de Sousa [1] e a estrutura (b) mostra uma nanofibra formada por glicina (G), alanina (A), valina (V), isoleucina (I) e lisina (K) com sequência $G_3A_3V_3I_3K_3$; figura adaptada de Andrade [2].

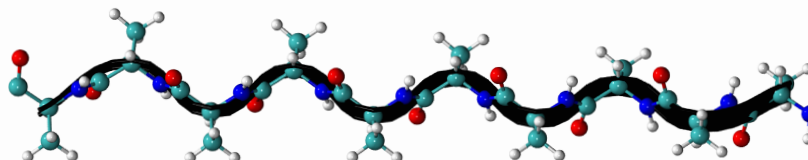


Figura 1.4: Peptídeo de 10 alaninas com estrutura secundária do tipo β -folha.

de cadeias laterais. As paralelas, como mostra a Figura (1.5a), numa cadeia terminal de $C \rightarrow N$, as ligações de hidrogênio estão orientadas neste mesmo sentido. Nas estruturas anti-paralelas, como mostra na Figura (1.5b), o padrão das ligações de hidrogênio são alinhados, enquanto uma cadeia está no sentido $N \rightarrow C$ terminal a outra está no sentido contrário indo para $C \rightarrow N$.

1.2 Sistema anfílico

Vimos que peptídeos e proteínas são formados a partir das ligações entre aminoácidos e que aminoácidos tem diferentes polaridades. O que acontece se um aminoácido

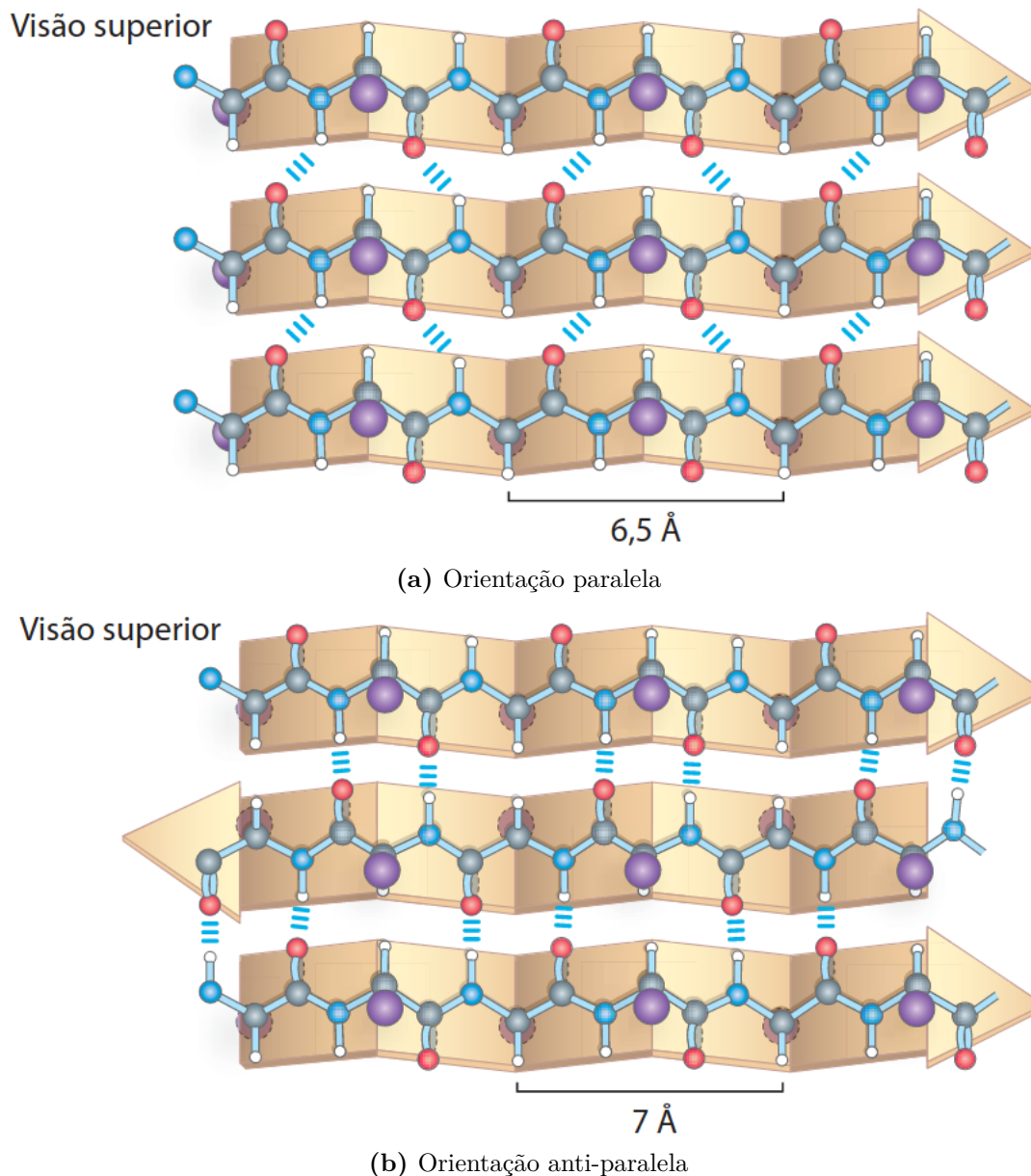


Figura 1.5: Estrutura do tipo β -folha com orientação paralela e antiparalela. Adaptada de Nelson e Cox [3].

polar se ligar com um aminoácido apolar? Esta interação resulta em um sistema anfífilico, um sistema na qual a estrutura química possui uma parte hidrofóbica e uma parte hidrofílica [9]. Os peptídeos do tipo surfactantes (SLPs, do inglês: *Surfactant-like peptides*) são anfífilicos, possuem uma cauda hidrofóbica, podendo ou não possuir carga. Temos também os surfactantes do tipo bola-anfífilicos que possuem uma cabeça polar em cada uma das extremidades da cadeia hidrofóbica, tornando-os mais solúveis em água. Trabalhos recentes mostram que peptídeos do tipo bola-anfífilico têm excelentes aplicações no estudo de nanomembranas [1, 10] e, neste trabalho, estudaremos uma nanomembrana formada por peptídeos do tipo bola-anfífilicos compostos por arginina (R) e fenilalanina

(F), aminoácidos representados na Figura (1.6).

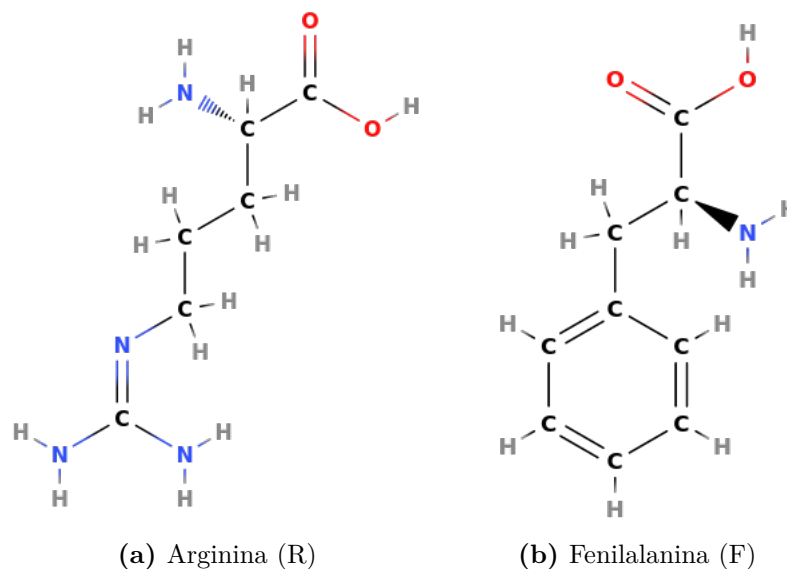


Figura 1.6: Forma estrutural da arginina (R) e fenilalanina (F).

Resultados experimentais têm demonstrado que peptídeos β -folha envolvendo uma combinação de arginina (R) e fenilalanina (F) apresentam excelente versatilidade no processo de automontagem e podem dar origem a estruturas como micelas e vesículas, além de fitas e tubos, micelas cilíndricas [11]. É ainda relatado por Lucas R. Melo e colaboradores [11] que a estrutura auto-organizada, formada por estes aminoácidos, tem uma forte dependência com o arranjo da sequência de resíduos peptídicos. Um exemplo são as construções de membranas F_4R_4 e $R_2F_4R_2$. Os modelos dibloco (F_4R_4) representam uma estrutura com cabeça polar e cauda hidrofóbica alongada que são propensas a modelar estruturas como as vesículas, enquanto os modelos bola-anfifílicos ($R_2F_4R_2$), como mostra a Figura (1.7), possuem duas cabeças polares e um corpo central hidrofóbico que favorecem a formação de membranas ou estruturas semelhantes à fitas.

A aplicação deste tipo de estrutura membranar alavancou o campo da nanomedicina para o tratamento de várias doenças, como o uso para regulação de cardiomiócitos [12], uso para antibiofilmes comutáveis que visa o controle do biofilme [13–16], uso como fármaco bioativo com efeito antibacteriano [17–20] (especialmente para estruturas baseadas em blocos que contêm resíduos R e F) e armazenamento de energia como eletrodos em supercapacitores [21]. Um efeito importante é que essas bioatividades incluem penetração celular e efeito antimicrobiano, que também está associado ao agregado resultante da auto-organização de nanoestruturas [22–24].

Trabalhos anteriores desenvolvidos por B. Gerbelli e colaboradores [25] tam-

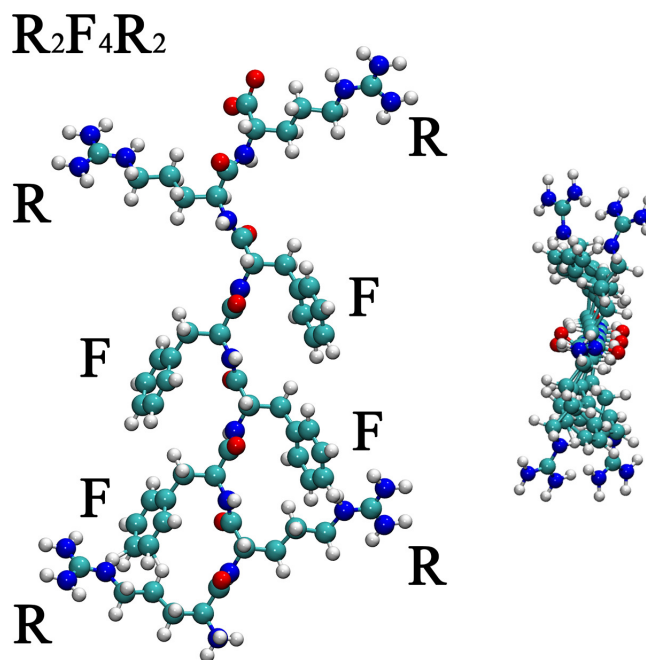


Figura 1.7: Representação da lateral lateral e superior da estrutura dos peptídeos simulados: Arginina (R) e fenilalanina (F). Verde representam os átomos de carbono; branco representam os átomos de hidrogênio; vermelho representam os átomos de oxigênio; azul representam os átomos de nitrogênio.

bém mostraram outras estruturas baseados em arginina e fenilalanina, caracterizadas pela sequência $(RF)_4$, indicando que esses peptídeos possuem afinidade por membranas DPPC com alta absorção na superfície dessas membranas [25]. A dependência da auto-organização em função do comprimento da sequência $(RF)_N$, $N = 1 - 5$, também foi estudada experimentalmente por E. Silva e colaboradores [26], descrevendo essas estruturas semelhante a fitas com uma grande variedade de escalas de comprimento, alternando estruturas nanométricas ou mesmo embalagem em nível molecular. E. Silva e colaboradores [26] ainda demonstram que o polimorfismo de estruturas auto-organizadas tem uma forte dependência do comprimento do peptídeo em que o aumento progressivo da ordenação cristalina é proporcional ao aumento do número de pares de dímeros de RF [26].

Embora os resultados experimentais destaquem algumas características estruturais da auto organização peptídica, há uma necessidade crescente de caracterização estrutural, ao nível molecular, obtido através de simulações computacionais com alta precisão metodológica e de modelagem. Estudos recentes envolvendo dinâmica molecular, mostram que esta técnica tem apresentado resultados confiáveis quando comparada com dados experimentais e contribui para o entendimento da formação de nanoestrutura desta natureza [27–37]. Alguns resultados teóricos anteriores mostraram também que peptídeos que formam membranas, fitas ou nanofibras e que possuem aminoácidos polares em sua

estrutura, garantem uma organização coesa e fortemente alinhada devido a formação de uma rede de ligações de hidrogênio [27, 34, 38–42].

Especificamente, para as nanoestruturas formadas pelo peptídeo $R_2F_4R_2$, que possui uma região central composta por fenilalaninas (F), apresenta um comportamento único quando comparado às estruturas estudadas em trabalhos anteriores. O aminoácido fenilalanina não apresenta regiões de interesse para o surgimento de grandes redes de ligações de hidrogênio capazes de manter uma nanoestrutura de membrana coesa e estável, a partir do seu radical composto por um anel aromático. Assim, como essas nanoestruturas existem? Evidências experimentais mostram que as nanoestruturas em folha (ou fita) ocorrem com alta interação justamente entre os compostos aromáticos do resíduo de fenilalanina, formando estruturas agregadas com características laminares com espessuras próximas à 4 nm [11].

Neste trabalho, objetivamos avaliar computacionalmente o comportamento dessas nanoestruturas compostas pelo peptídeo $R_2F_4R_2$. Com o uso de simulações de dinâmica molecular atomística e um protocolo robusto e consolidado para estudos nanoestruturas peptídicas em solução [28–31, 33, 34, 38, 39, 43–45]. Buscamos avaliar as interações energéticas entre cada resíduo peptídico que compõe a nanoestrutura orgânica, determinando características estruturais e confirmando a existência de multicamadas no processo de autocaracterização das estruturas e não apenas monocamadas como idealizado na literatura [11]. As análises também serão conduzidas a fim de destacar a importância das ligações de hidrogênio na região interna da membrana, onde as evidências destacam uma maior relevância das interações envolvendo os anéis aromáticos que compõem a região hidrofóbica composta com fenilalaninas (F). Em todos os casos, procuramos discutir como a estabilidade dessas estruturas ocorrem.

Para isto, o texto será organizado na seguinte sequência: o Capítulo 2 mostraremos o que é dinâmica molecular, o algoritmo de integração das equações de movimento e uma descrição sobre o campo de força; no Capítulo 3 apresentaremos a metodologia que foi utilizada para realizar o trabalho como a montagem da nanoestrutura e os detalhes computacionais da simulação; no Capítulo 4 será apresentado os resultados, tais como análise estrutural, análise de energia, perfil de densidade de massa e estrutura das ligações de hidrogênio; e por fim no Capítulo 5 faremos uma conclusão com base no estudo discutido anteriormente.

DINÂMICA MOLECULAR

O método de Dinâmica Molecular (DM) nos permite estudar algumas propriedades fundamentais para a caracterização de membranas peptídicas, como propriedades energéticas e estruturais. Assim, faremos uma análise da característica estrutural do peptídeo, uma análise do comportamento das energias de interação de Coulomb e de van der Waals entre os peptídeos, entre os peptídeos e a água, entre os peptídeos e os íons e entre seus resíduos que compõem o peptídeo. Analisaremos também o número médio das ligações de hidrogênio e a sua dinâmica, tais como o seu tempo de vida, energia de corte para a ruptura de uma ligação de hidrogênio ΔG (energia livre de Gibbs), além do perfil de densidade de massa. Todas essas análises serão realizadas avaliando a trajetória clássica obtida via DM.

2.1 Dinâmica Molecular

O método de DM consiste em resolver, durante um tempo limitado, as equações de movimento para um sistema de muitas partículas. Este método é uma das técnicas mais versáteis para descrever sistemas de muitos corpos, já que matematicamente é um problema complicado descrever tais sistemas. Para realizar uma simulação de DM precisamos estabelecer alguns parâmetros iniciais como posição e velocidade das partículas junto com as condições de contorno que caracterizam o sistema periódico. Com isto, é preciso determinar as posições e velocidades em cada etapa posterior, para assim obter as trajetórias das partículas ao longo do tempo.

A partir do cálculo da energia potencial, a DM, por meio de algoritmos de integração, resolve-se as equações do movimento para cada partícula i que compõe a

caixa de simulação. Assim, a trajetória do sistema é obtida, contendo sua evolução temporal, de onde configurações podem ser extraídas para obtenção de médias de propriedades específicas, tais como energia interna, energia livre, temperatura, etc, a partir de propriedades microscópicas do sistema. Neste contexto o movimento das partículas pode ser dado por

$$\vec{F}_i = m_i \vec{\ddot{r}}_i \quad (2.1)$$

sendo m_i a massa da partícula i e $\vec{\ddot{r}}_i$ a derivada segunda da posição da partícula i . A equação para a força sobre cada partícula, é dada por:

$$\vec{F}_i = -\vec{\nabla}U_i. \quad (2.2)$$

em que U_i representa a energia potencial da partícula i . A escolha do potencial é muito importante para caracterizar o sistema. Veremos posteriormente a importância de escolher um bom campo de força que descreva o sistema a ser simulado.

2.1.1 Condições Periódicas de Contorno

Quanto maior o sistema a ser simulado, maior será o custo computacional para realizar a simulação de DM. No entanto, ao realizar uma simulação usando DM, podemos ter efeitos indesejados que não são comuns em um sistema macroscópico real. Então, controlar as dimensões da caixa a ser simulada impondo condições periódicas de contorno é uma forma de reduzir tais efeitos. Nesta estratégia, se um átomo sair em uma extremidade da caixa, automaticamente outro átomo entra em sua direção oposta fazendo com que o sistema permaneça com o número de átomos constantes. Nas condições periódicas de contorno a caixa de simulação é centralizada e replicada em todas as direções, como destaca a Figura (2.1)

Quando estabelecidas as condições iniciais precisamos de algoritmos de integração para resolver as equações de movimento. Estas equações são resolvidas para períodos de equilíbrio termodinâmico e da simulação de DM, produzindo a trajetória que será utilizada para obter os resultados que serão discutidos. Um dos algoritmos numéricos (método de diferenças finitas) que permitem a integração destas equações de movimento são: algoritmo de verlet [46] e algoritmo de *velocity-verlet* [47] que serão discutidos a seguir.

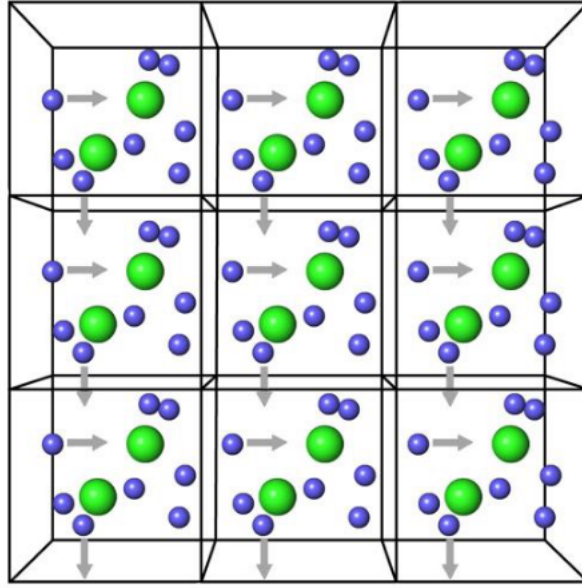


Figura 2.1: Caixa de simulação com condições periódicas de contorno. Adaptada de Verli [4].

2.2 Algoritmo de Verlet

O algoritmo de Verlet parte das expansões em Taylor da posição r em torno de δt [46]

$$\begin{aligned} r(t + \delta t) &= r(t) + \frac{dr(t)}{dt}\delta t + \frac{1}{2!}\frac{d^2r(t)}{dt^2}\delta t^2 + \frac{1}{3!}\frac{d^3r(t)}{dt^3}\delta t^3 + O(\delta t^4) \\ &= r(t) + v_r(t)\delta t + \frac{F_r(t)}{2m}\delta t^2 + \frac{1}{3!}\frac{d^3r(t)}{dt^3}\delta t^3 + O(\delta t^4) \end{aligned} \quad (2.3)$$

e, para $(t - \delta t)$, temos

$$\begin{aligned} r(t - \delta t) &= r(t) - \frac{dr(t)}{dt}\delta t + \frac{1}{2!}\frac{d^2r(t)}{dt^2}\delta t^2 - \frac{1}{3!}\frac{d^3r(t)}{dt^3}\delta t^3 + O(\delta t^4) \\ &= r(t) - v_r(t)\delta t + \frac{F_r(t)}{2m}\delta t^2 - \frac{1}{3!}\frac{d^3r(t)}{dt^3}\delta t^3 + O(\delta t^4). \end{aligned} \quad (2.4)$$

Fazendo a soma das Eqs (2.3) e (2.4) temos a equação de evolução da posição no instante $(t + \delta t)$ [46]

$$r(t + \delta t) = 2r(t) - r(t - \delta t) + \ddot{r}(t)\delta t^2 + O(\delta t^4) \quad (2.5)$$

onde $O(\delta t^4)$ é o erro que representa a ordem do primeiro termo que geralmente é desprezado nas expansões, devido ao erro associado ao incremento de tempo.

Quando subtraímos as Eqs (2.3) e (2.4) temos a equação de evolução da velocidade em t , dada por

$$\dot{r}(t) = \frac{r(t + \delta t) - r(t - \delta t)}{2\delta t} + O(\delta t^2). \quad (2.6)$$

Como podemos ver, temos aqui um erro na ordem de δt^2 sendo então um método menos preciso em comparação com o cálculo da posição.

Uma das grandes vantagens do método de Verlet, em relação ao método de Euler¹, é que ele é um método preciso para o cálculo das posições e umas das desvantagens é que uma imprecisão no cálculo das velocidades ainda persiste. Temos, ainda, uma divisão por um número pequeno (δt) e a velocidade e a posição são calculados em tempos diferentes. Uma melhoria no método de Verlet é o método de *velocity-verlet*, que usa as equações de verlet, mas nos oferece a velocidade e a posição no mesmo instante de tempo. Veremos mais sobre este método a seguir.

2.3 Algoritmo de *Velocity-Verlet*

A partir da Eq. (2.6), do método de Verlet, temos:

$$r(t - \delta t) = r(t + \delta t) - 2\dot{r}(t)\delta t. \quad (2.7)$$

Substituindo Eq. (2.7) na Eq. (2.5), temos a equação de evolução da posição

$$r(t + \delta t) = r(t) + \dot{r}(t)\delta t + \frac{1}{2}\ddot{r}(t)\delta t^2 + O(\delta t^4). \quad (2.8)$$

Para a equação da evolução da velocidade fazemos $t \rightarrow t + \delta t$ na Eq. (2.6) para obter,

$$\dot{r}(t + \delta t) = \frac{r(t + \delta t + \delta t) - r(t + \delta t - \delta t)}{2\delta t} \quad (2.9)$$

que resulta em:

1. método de primeira ordem, que a partir do valor inicial, é usado para solucionar equações diferenciais ordinárias

$$\dot{r}(t + \delta t) = \frac{r(t + 2\delta t) - r(t)}{2\delta t}. \quad (2.10)$$

Vamos fazer $t \rightarrow t + \delta t$ na Eq. (2.5) resultando em:

$$r(t + 2\delta t) = 2r(t + \delta t) - r(t) + \ddot{r}(t + \delta t)\delta t^2 \quad (2.11)$$

substituindo a Eq. (2.10) na (2.11) temos:

$$\dot{r}(t + \delta t) = \frac{r(t + \delta t) + r(t)}{\delta t} + \frac{\ddot{r}(t + \delta t)\delta t}{2} \quad (2.12)$$

finalmente, substituindo a Eq. (2.8) na Eq. (2.12) temos

$$\dot{r}(t + \delta t) = \dot{r}(t) + \frac{1}{2}[\ddot{r}(t + \delta t) + \ddot{r}(t)]\delta t + O(\delta t^2), \quad (2.13)$$

que representa a evolução da velocidade.

Neste método, de *velocity verlet*, temos que a posição e a velocidade são encontradas em um mesmo intervalo de tempo, ao contrário do método de verlet. Por esta razão o método *velocity Verlet* é melhor quando comparado ao método de Verlet. Neste trabalho usamos o método de *velocity Verlet*.

2.4 Campo de Força CHARMM

O potencial de interação entre as partículas do sistema é dado, em geral, por um somatório dos potenciais de interações ligantes e não ligantes, como na equação

$$U = \sum U_{\text{ligações}} + \sum U_{\text{ângulos}} + \sum U_{\text{diedros}} + \sum U_{\text{interações-não-ligantes}}, \quad (2.14)$$

na qual as interações não ligantes são as interações de Coulomb e de van der Waals, como podemos ver na Figura (2.2).

É importante destacar que estes campos de forças são empíricos, e existindo vários. No entanto, no campo de força CHARMM o somatório do potencial contém o termo que faz parte das ligações internas, o termo que representa a variação dos ângulos, os termos que representam as torções próprias e impróprias, o termo de van der Waals (vdW), o termo do potencial eletrostático, das ligações de hidrogênio, o termo que se

refere aos átomos harmônicos e as restrições diédricas. Esta grande variedade torna este campo de força um dos mais utilizados para tratar sistemas orgânicos.

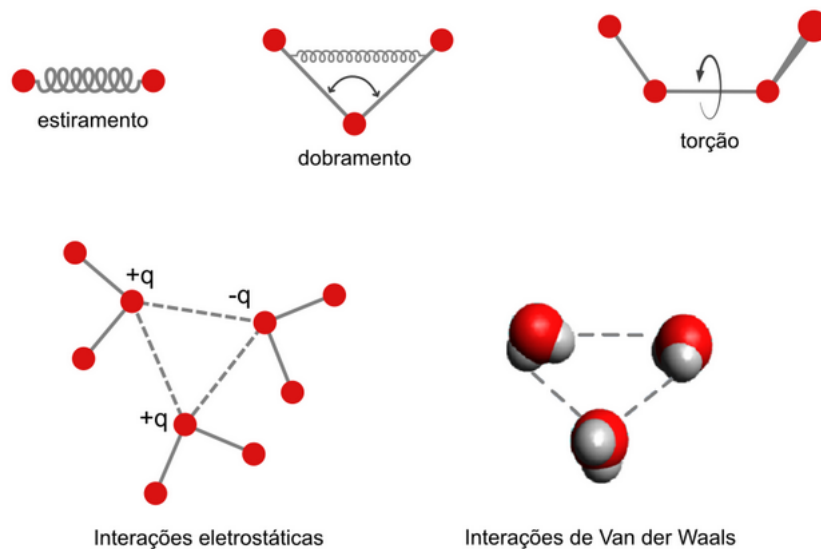


Figura 2.2: Representação esquemática para as interações que compõem um campo de força. Adaptada de Leach [5] e Andrade [6].

No geral, o CHARMM [48, 49] é um programa que usa funções de energias empíricas para estipular parâmetros que modelam as interações para um determinado conjunto de átomos e moléculas de um sistema. A forma geral do campo de força CHARMM36 [49] é descrita por

$$U(R) = U_b + U_\theta + U_{diedros} + U_{impróprios} + U_{UB} + U_{n\tilde{a}o-ligantes} + U_{cmap}. \quad (2.15)$$

Como podemos ver a partir da Eq. (2.15) e da Figura (2.2) o potencial considera cada uma das interações ligadas como um sistema massa mola [48], na qual temos uma constante k associada a cada um dos potenciais ligados.

O primeiro termo da Eq. (2.15), representado na Eq. (2.16), está relacionado as interações de ligações internas e representa o potencial dos pares ligados, modelando o alongamento e encurtamento das ligações entre os átomos. A constante k_r está relacionada à rigidez da ligação, a distância é representada por r e a distância em equilíbrio é dada por r_0 [49]

$$U_b = \sum_{\text{ligação}} k_r (r - r_0)^2. \quad (2.16)$$

O segundo termo da Eq. (2.15), representa o potencial U_θ da Eq. (2.17) se refere às variações entre os ângulos das ligações de uma molécula como mostra a Figura (2.2). O potencial se refere ao dobramento de uma molécula, em que k_θ é o parâmetro que descreve o ângulo, θ é o ângulo e θ_0 é o ângulo em equilíbrio [49]:

$$U_\theta = \sum_{\text{ângulos}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2. \quad (2.17)$$

As Eqs. (2.18) e (2.19), terceiro e quarto termo da Eq. (2.15) estão relacionadas às torsões próprias e impróprias, na qual $k_{\phi,n}$ e k_χ são os parâmetros relacionados aos diedros impróprios [49].

$$U_{\text{diedros}} = \sum_{\text{diedros}} \sum_n k_{\phi,n} (\cos(n\phi + \delta) + 1), \quad (2.18)$$

$$U_{\text{impróprios}} = \sum_{\text{impróprios}} k_\chi (\xi - \chi_0)^2. \quad (2.19)$$

Os termos de vdW, Eq. (2.20) e de Coulomb Eq. (2.21), compõe o somatório das interações não ligadas [49]

$$U_{\text{não-ligados}} = \sum_{\text{não-ligantes}} \left\{ e_{ij}^{\text{min}} \left[\left(\frac{R_{ij}^{\text{min}}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{ij}^{\text{min}}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right. \quad (2.20)$$

$$\left. + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right\}. \quad (2.21)$$

Por fim, temos também o potencial de Urey Bradley [49] que está relacionado à distância entre os átomos não ligados de um conjunto de 3 átomos

$$U_{UB} = \sum_{UB} k_{UB} (r_{ik} - r_0)^2. \quad (2.22)$$

O potencial U_{emap} está relacionado ao termo de correção de ângulo diédrico da estrutura principal. Este termo é muito usado para modelar um cálculo preciso de energias internas de biomoléculas, corrigindo erros sistemáticos na descrição da proteína.

Ressaltamos também que o termo de Coulomb tem uma importante contribuição para a energia potencial do sistema. De fato, essa interação deve ser precisamente

modelada. A modelagem deste termo deve carregar cargas atômicas que possam reproduzir o processo de polarização das moléculas em solução. Nesse sentido, trabalhos anteriores mostram que o campo de forma CHARMM36 apresenta uma excelente modelagem das cargas atômicas de aminoácidos em solução, como pode ser visto em [50–54], que destaca como os efeitos de polarização já estão bem incluídos nos parâmetros atômicos do campo de força CHARMM36 expressando satisfatoriamente o modelo de dipolo, e também as propriedades espectroscópicas dessas moléculas em água. Com essas informações, destacamos que os valores médios das propriedades estudadas neste trabalho são dependentes deste campo de força utilizado.

2.5 Ligações de Hidrogênio

Uma informação importante que a simulação de DM pode nos oferecer são as ligações de hidrogênio (LH), bem como o seu tempo de vida, que é dado de acordo com as teorias de Luzar, Chandler e Van der Spoel [55–57]. Estes cientistas introduzem um operador de população $h(t)$ que, em equilíbrio termodinâmico, descreve a flutuação de LHs por uma função de correlação, dada por:

$$c(t) = \frac{\langle h(0)h(t) \rangle}{\langle h \rangle}, \quad (2.23)$$

em que $c(t)$ é a probabilidade da LH permanecer íntegra no tempo t , $h(t)$ é igual a 1 se o par de moléculas que foi destacado em particular é ligado por hidrogênio e zero caso o par de moléculas não for ligado por hidrogênio, sendo este conjunto de parâmetros o critério para definir a existência da LH em um dado instante de tempo. A evolução temporal de $c(t)$ é dada por

$$\frac{\delta \bar{h}(t)}{\delta \bar{h}(0)} = \frac{c(t) - c(\infty)}{c(0) - c(\infty)} \approx c(t), \quad (2.24)$$

na qual, $\delta \bar{h}(t) = \bar{h}(t) - \langle h \rangle$ indica que quando o sistema está próximo ao equilíbrio não é possível diferenciar entre flutuações espontâneas e desvios do equilíbrio que são constituídos de forma externa.

A taxa de relaxamento pode ser calculada por

$$k(t) = -\frac{dc(t)}{dt} = \frac{\langle \dot{h}(0)[1 - h(t)] \rangle}{\langle h \rangle}, \quad (2.25)$$

em que

$$\dot{h}(0) = \left(\frac{dh(t)}{dt} \right)_{t=0}. \quad (2.26)$$

Esta taxa, para tempos t curtos, leva uma variedade de movimento que conduz a quebra das LHs, sendo calculada a partir da trajetória da simulação computacional. A taxa $dc(t)/dt$ pode ser reescrita em termos de $c(t)$ e a probabilidade $n(t)$, no tempo t , representa uma quantidade de moléculas inicialmente ligadas que estão agora desvinculadas, mas permanecem separadas por menos que uma distância R , onde

$$n(t) = \int_0^{t'} k(t') dt'. \quad (2.27)$$

Assim, a taxa de dc/dt pode ser reescrita como

$$\frac{dc}{dt} = -Ac(t) + Bn(t) \quad (2.28)$$

onde A e B são constantes que representam as taxas de quebra e ocorrência das LHs. O significado físico de $1/A$ representa o tempo de vida médio das LHs [56] que será estudado neste trabalho para sistemas orgânicos nanoestruturados formados a base de peptídeos.

MODELAGEM COMPUTACIONAL

3.1 Arquitetura da Estrutura Membranar

Os aminoácidos arginina (R) e fenilalanina (F) foram continuamente montados formando uma estrutura β -folha na sequência paralela e antiparalela. A terminação dos grupos carboxila e amina foram modeladas com $-\text{COO}^{1-}$ e $-\text{NH}_3^{1+}$, conforme mapeado pelo campo de força CHARMM36 [58]. Dessa forma, cada peptídeo possui uma carga elétrica total de $+4e$ que está espalhada nos átomos do resíduo arginina (R), principalmente no radical que caracteriza o aminoácido.

As estruturas iniciais, em formato de membrana, foram modeladas usando uma combinação de estruturas de peptídeo bola-anfífilos paralelas e antiparalelas. No Modelo-A, como mostra a Figura (3.1), toda a estrutura secundária é do tipo β -folha paralela.

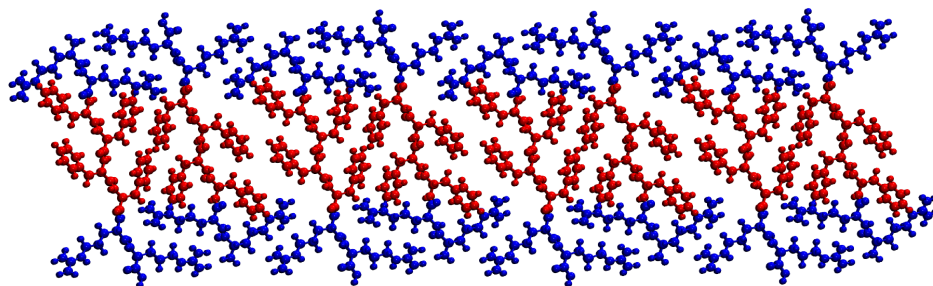


Figura 3.1: Modelo-A de membrana de $R_2F_4R_2$ vista do plano YZ. Arginina (R) representada pela cor azul e fenilalanina (F) representada pela cor vermelha, ambas estão com estrutura secundária do tipo β -folha paralela.

No Modelo-B, como mostra a Figura (3.2), a estrutura secundária das argininas (R) é do tipo β -folha paralela e a estrutura secundária das fenilalaninas (F) é do tipo β -

folha anti-paralelas. No Modelo-C, figura (3.3), há dois resíduos com estruturas diferentes, um deles a fenilalanina (F) está com configuração paralela e no outro em anti-paralela, e ambos com as argininas (R) em paralelo.

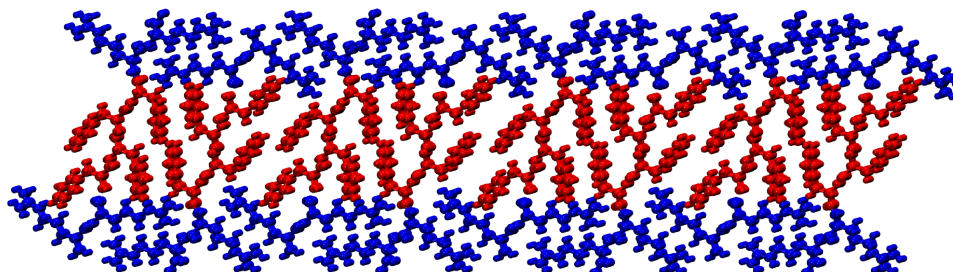


Figura 3.2: Modelo-B de membrana de $R_2F_4R_2$ vista do plano YZ. Arginina (R) representada pela cor azul é do tipo β -folha paralela e fenilalanina (F) representada pela cor vermelha é do tipo β -folha anti-paralela.

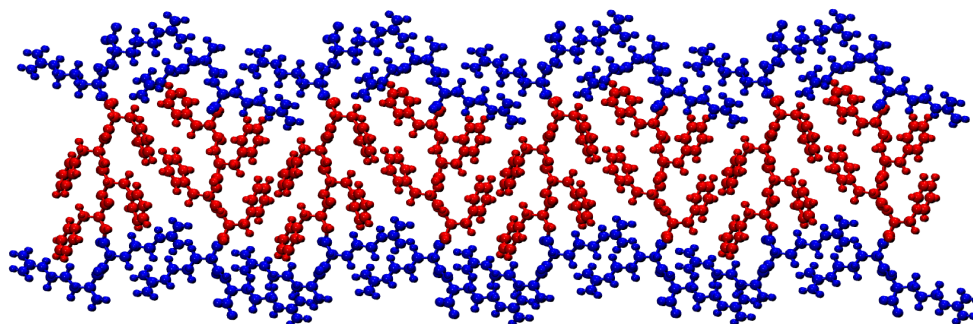


Figura 3.3: Modelo-C de membrana de $R_2F_4R_2$ vista do plano YZ. Arginina (R) e fenilalanina (F) representada pela cor vermelha alternando entre paralela e anti-paralela.

As três estruturas (A, B e C) foram modeladas para que a organização espacial dos peptídeos favorecesse a formação de ligações de hidrogênio (LHs) entre as estruturas β -folha, fator crucial para a manutenção desse tipo de estrutura orgânica, como demonstrado por [34, 39, 45]. Outras estruturas foram elaboradas, algumas não obtiveram sucesso durante o processo de simulação de DM, resultando em configurações sem periodicidade, com rupturas entre as β -folha ou mesmo com desconfiguração completa da estrutura da membrana, caracterizando estruturas solvatadas com aspecto amorfo. Somente as estruturas, (Modelo-A, B e C), foram bem sucedidas durante o processo de simulação.

Assim, estudamos três tipos de estruturas para caracterizar, atomisticamente, o trabalho experimental de L.R. Mello e colaboradores [11], que indica que a bola-anfifílica $R_2F_4R_2$ tem maior propensão a formar nanoestruturas discretas em solução, em comparação com o peptídeo dibloco (R_4F_4). Ainda, há uma possível orientação dos peptídeos

bola-anfifílica na estrutura tipo fita ou membranas. Essas estruturas semelhantes a nanomembranas coexistem com pequenos agregados, mas podem atingir comprimentos na faixa de 11 – 110 nm devido à alinhamentos paralelos entre si. Além disso, há uma persistência no comprimento das fitas devido à ausência de torção ou flexão ao longo da nanoestrutura. Esses resultados experimentais são reforçados por diversos trabalhos que descrevem que o peptídico bola-anfifílico $R_2F_4R_2$ tem alta probabilidade de formar estruturas estáveis, principalmente devido ao pareamento da cadeia de tetrafenilalanina (F) entre os peptídeos, pois a cabeça composta de arginina (R) ficariam expostas em ambas as interfaces das nanomembranas [59–61].

Durante as simulações computacionais das estruturas bem sucedidas, existe uma estrutura que favorece a alternância entre a região amina e carboxila na superfície da membrana, composta pela replicação da estrutura no plano XY. Ou seja, os monômeros são ajustados um invertido em relação ao outro, por isso a alternância entre a região amina e a carboxila na superfície do material.

Observe que em todas as estruturas existe uma região composta por arginina (R) e outra composta por fenilalanina (F), que pode ser caracterizada como região hidrofílica e hidrofóbica, respectivamente. As Figuras (3.4), (3.5) e (3.6)) mostram os três modelos bem sucedidos (Modelo-A, B e C) usados como configurações iniciais em simulações de DM. As três estruturas apresentadas seguem os modelos propostos pelos autores citados [11] e diferem no arranjo inicial do ajuste das tetra-fenilalanina $-(F_4)-$ do peptídeo $R_2F_4R_2$.

Observe que a diferença básica entre os Modelos A, B e C é o posicionamento paralelo/anti-paralelo dos aminoácidos que compõem o peptídeo, de modo que o Modelo-A apresenta uma leve inclinação dos peptídeos em relação ao plano normal da membrana; o Modelo-B apresenta um posicionamento face a face entre os anéis aromáticos dos resíduos de fenilalanina dos peptídeos; e o Modelo-C apresenta um arranjo mais ondulado para a membrana, favorecendo um posicionamento mais justo dos peptídeos. Nas três configurações utilizadas, destacamos que o Modelo-B é o que demonstra uma melhor compactação, não possuindo canais propícios à hidratação da região hidrofóbica da membrana. Os peptídeos foram solvatados em água e íons cloreto foram adicionados aleatoriamente à região hidratada da caixa de simulação usando o programa Packmol [62], um programa que pode ser usado para construir configuração inicial para uma simulação de DM, neste caso ele coloca os íons em regiões definidas do espaço. Este passo é feito para que o sistema todo tenha carga zero. A Tabela (3.1) mostra o número de partículas em

	Monômero	Modelo-A	Modelo-B	Modelo-C
Peptídeos	1	80	80	80
Átomos dos peptídeos	179	14320	14320	14320
Carga Total	4e	320e	320e	320e
Íons na solução	4Cl ⁻	320Cl ⁻	320Cl ⁻	320Cl ⁻
Moléculas de água	2905	13952	14332	13587
Total de átomos	8898	56496	55401	55401
Volume inicial da caixa [nm ³]	91,12	621,62	440,88	438,04

Tabela 3.1: Composição das caixas de simulação para as estruturas simuladas.

cada caixa de simulação. Para análise, foram utilizados programas do pacote Gromacs [63] além do programa SuAVE [7].

3.2 Protocolo de Simulação

Para modelar as interações entre os componentes das estruturas, usamos o modelo TIP3P [64] para moléculas de água, bem como os parâmetros disponíveis no campo de força CHARMM36 [58] para os íons de cloreto e para os peptídeos.

Inicialmente, foram realizadas simulações do Modelo A em vácuo apenas com a membrana e os íons, com o objetivo de ajustar a estrutura principal. Posteriormente, a configuração equilibrada foi solvatada e, em seguida, foram realizadas simulações computacionais com o sistema completo, contendo membrana, íons e o solvente. O sistema completo foi levado ao equilíbrio termodinâmico em simulações computacionais usando uma alternância entre os ensembles NVT e NPT por cerca de 50 ns. Os modelos B e C foram submetidos a simulações para o equilíbrio termodinâmico já solvatadas, sem passar pela simulação em vácuo, pois foi observado que os modelos B e C já possuem uma estrutura bem ajustada e manteve as suas características sem passar pela simulação a vácuo.

Somente após atingir o equilíbrio termodinâmico, os sistemas foram submetidos a uma extensa simulação de DM, de cerca de 100ns, de onde extraímos a trajetória clássica para análise estatística das propriedades estruturais e energéticas dos sistemas. A etapa de produção foi conduzida utilizando variação temporal, entre cada etapa de DM, de 1 fs, enquanto foram empregados 10⁸ passos de dinâmica molecular. Foram salvas 25% das configurações da trajetória para análise estatística. Simulações de DM foram realizadas usando *Particle-mesh Ewald* (PME) [65] para calcular o potencial elétrico, com um raio de corte de 1,2 nm; as energias de van der Waals (vdW) foram calculadas com o esquema *Potential-shift-Verlet*, com raio de corte igual a 1,2 nm; simulações à pressão constante

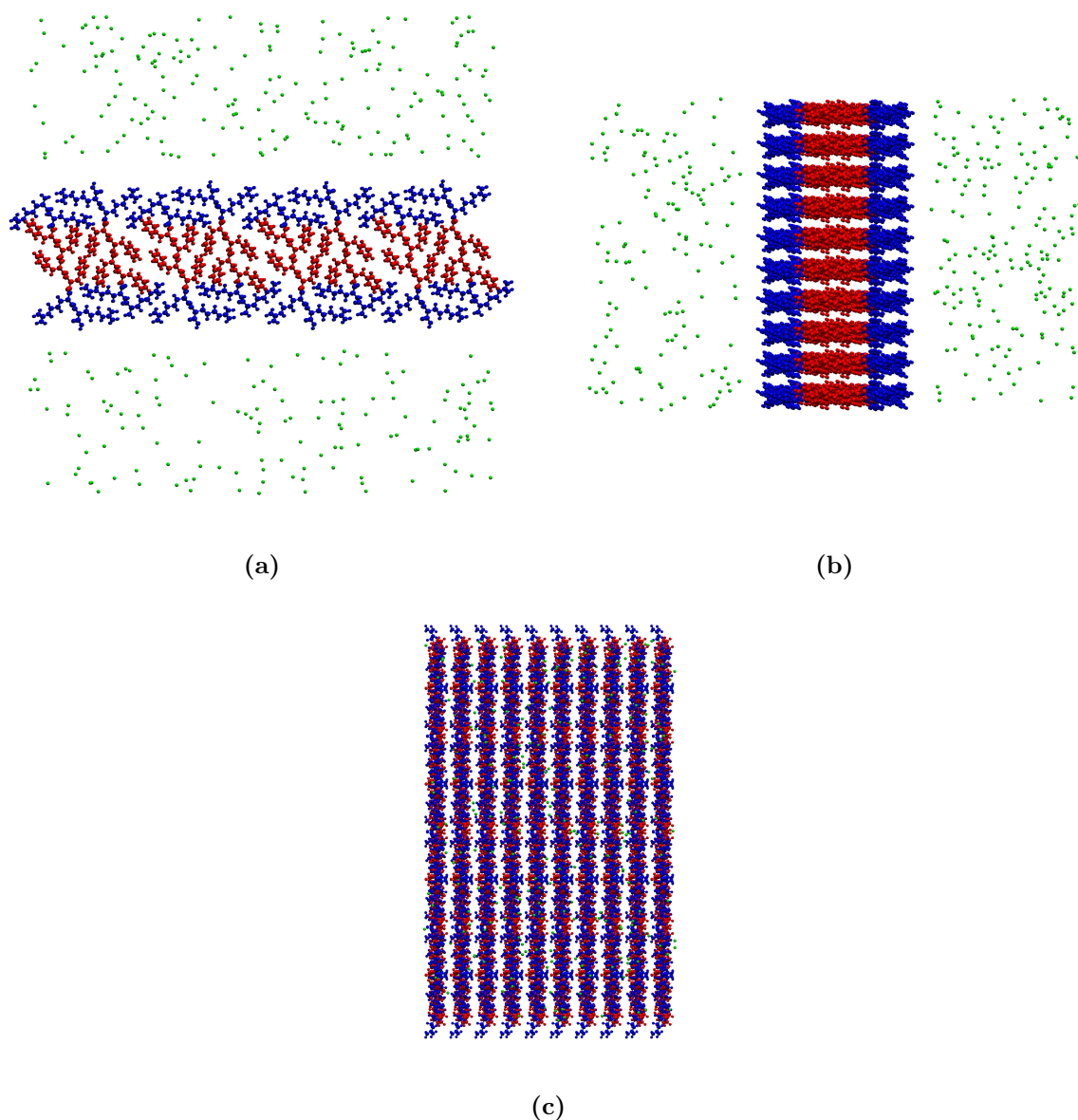


Figura 3.4: Estrutura inicial das nanomembranas peptídicas do Modelo-A. A figura (a) referente ao plano yz, figura (b) referente ao plano xz e figura (c) referente ao plano xy. Azul corresponde a Arginina (R); Vermelho corresponde a fenilalanina (F); Verde corresponde aos íons cloro (Cl).

foram realizadas mantendo a pressão constante em 1,013 bar com acoplamento isotrópico Parrinello-Rahman [66], ajustado a cada 4 ps, e compressibilidade igual a $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$; o algoritmo *v-rescale* [67] foi usado para manter a temperatura constante (300 K) a cada 0,1 ps. Todas as ligações atômicas foram mantidas usando o algoritmo LINCS [68]. Este protocolo para simulações de membrana/fitas está bem estabelecido e o uso dos campos de força, mencionados acima, mostrou excelentes resultados com ótimas comparações com resultados experimentais [29, 31–34, 43, 69]. Todas as simulações de DM foram realizadas com o programa Gromacs [63]. As figuras foram obtidas usando o programa VMD [70].

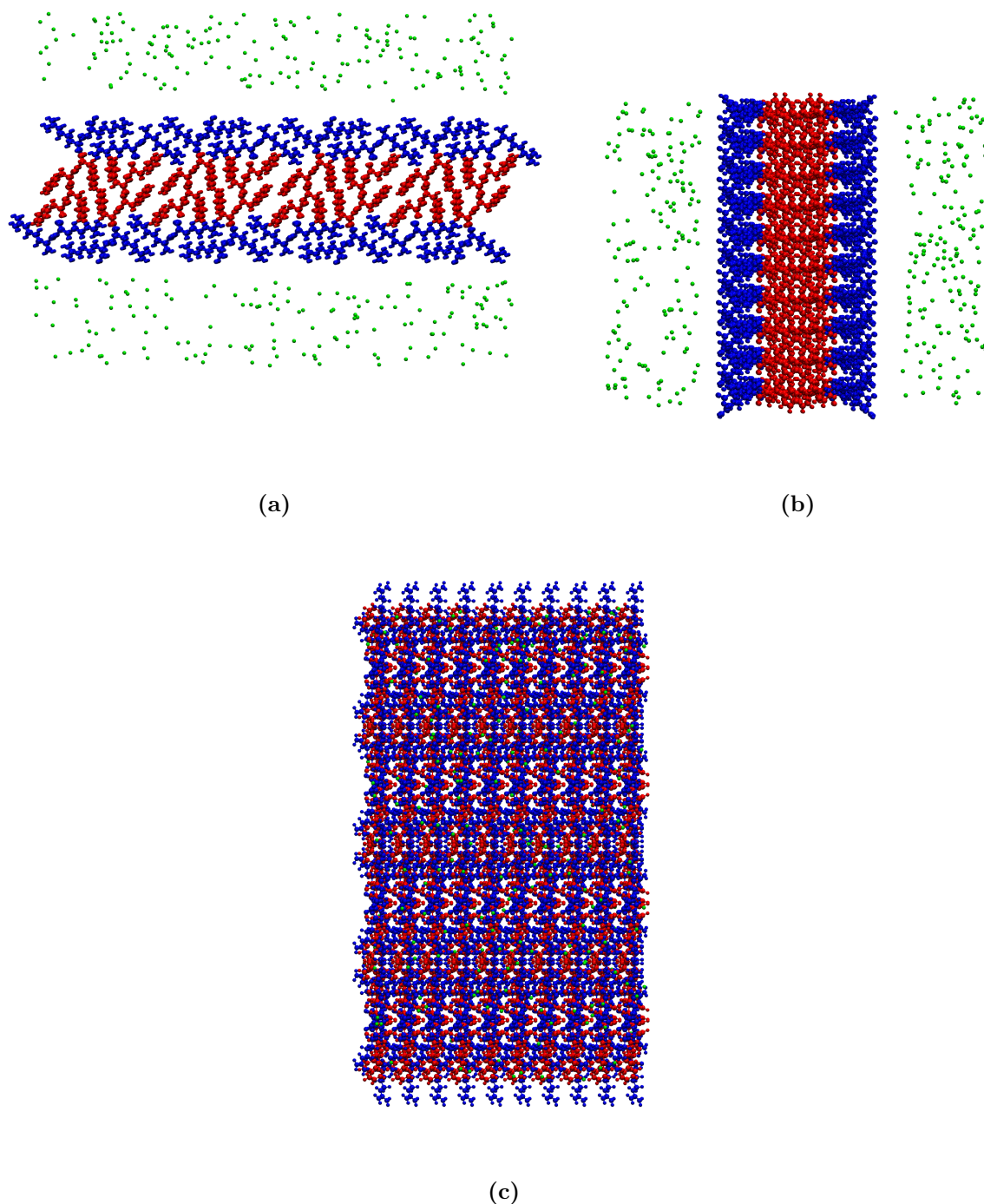


Figura 3.5: Estrutura inicial das nanomembranas peptídicas do Modelo-B. A figura (a) referente ao plano yz, figura (b) referente ao plano xz e figura (c) referente ao plano xy. Azul corresponde a Arginina (R); Vermelho corresponde a fenilalanina (F); Verde corresponde aos íons cloro (Cl).

Para comparação, realizamos a simulação de um único peptídeo de $R_2F_4R_2$ em uma solução aquosa com 4 íons de cloro, Cl^- , nas mesmas condições das nanomembranas. A Figura (3.7) apresenta a caixa de simulação do monômero em solução.

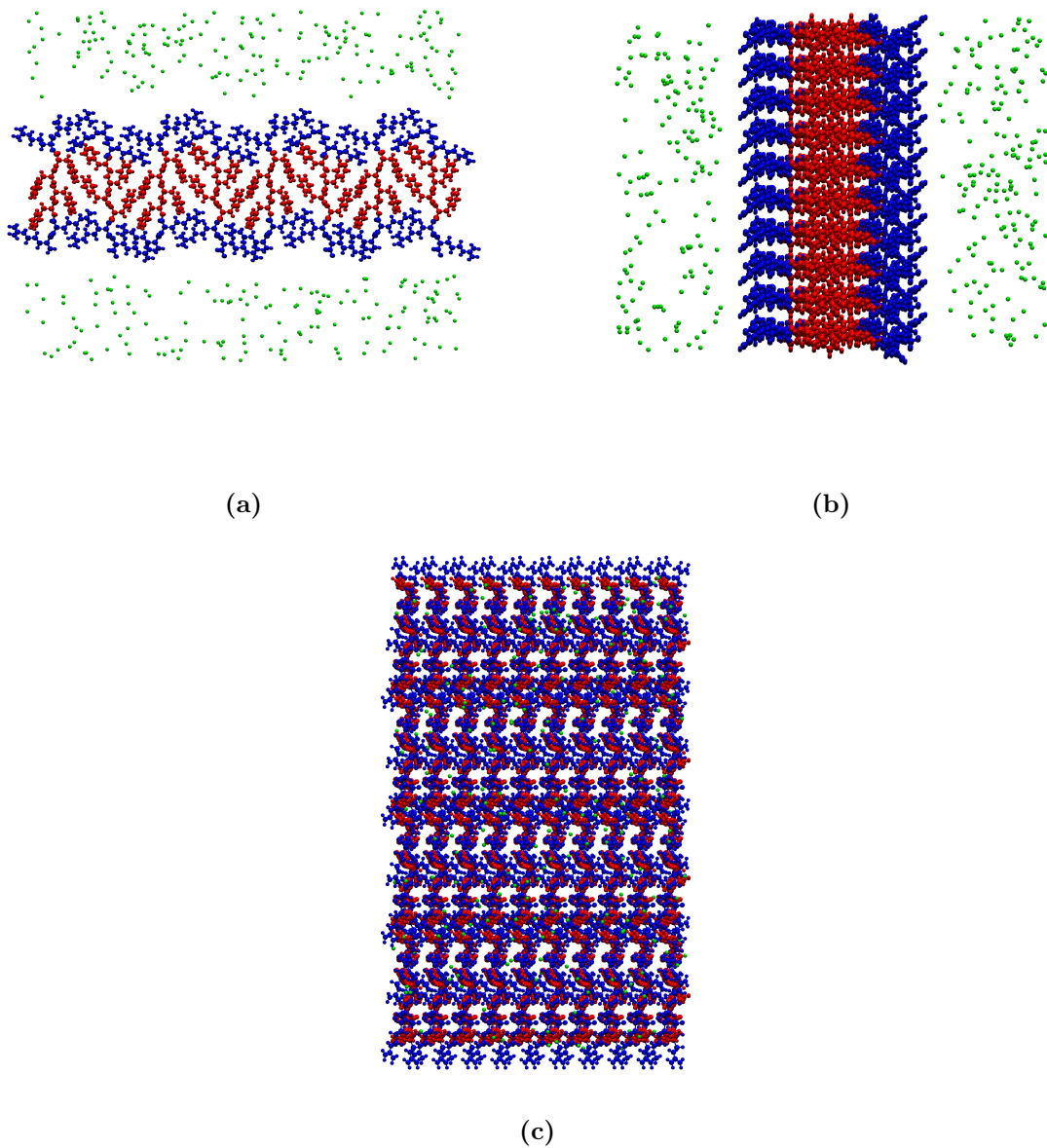


Figura 3.6: Estrutura inicial das nanomembranas peptídicas do Modelo-C. A figura (a) referente ao plano yz, figura (b) referente ao plano xz e figura (c) referente ao plano xy. Azul corresponde a Arginina (R); Vermelho corresponde a fenilalanina (F); Verde corresponde aos íons cloro (Cl).

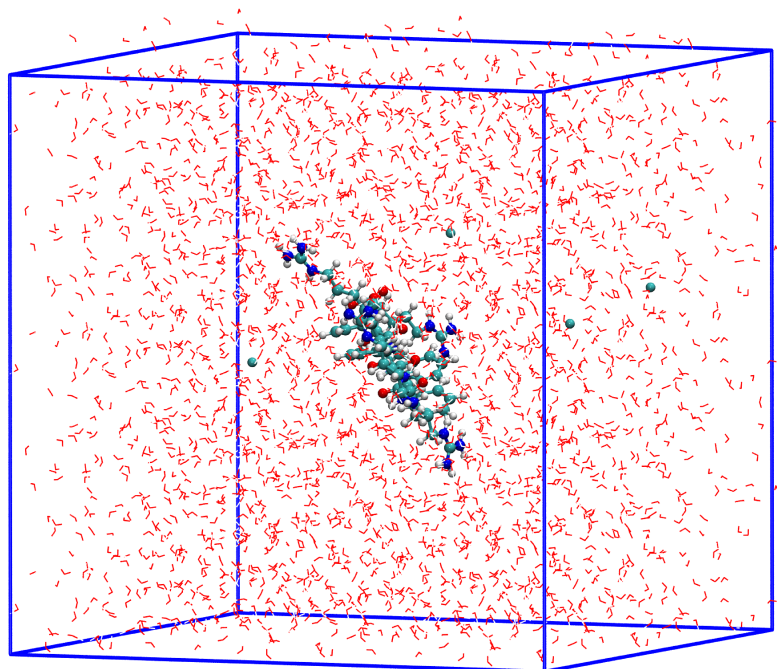


Figura 3.7: Monômero de $R_2F_4R_2$ em solução. Moléculas de água em vermelho e em verde íons de cloreto.

RESULTADOS

A seguir apresentaremos os principais resultados obtidos a partir das simulações de DM. Os resultados acerca da análise estrutural objetiva mostrar a compactação da estrutura ao final de simulação conduzindo uma análise sobre a espessura da membrana. Os resultados das energias de Coulomb e Lennard Jones apresentará as interações entre os peptídeos e as moléculas de água. O perfil de densidade destaca uma possível estimativa da espessura e também será apresentado a estrutura e dinâmica das ligações de hidrogênio.

4.1 Análise Estrutural

A Figura (4.1) mostra que após 100 ns de simulação de DM, todas as nanomembranas propostas possuem pouca hidratação na região composta por fenilalaninas (F) e uma separação do meio aquoso devido à interação hidrofílica da superfície e da região hidrofóbica na nanoestrutura. Uma análise quantitativa dos modelos simulados mostra que a compactação final dos peptídeos é, em média, igual a 1,11; 1,04 e 1,08 peptídeo/nm², respectivamente para os Modelos-A, B e C.

Esse resultado mostra que o Modelo-B possui um maior espaçamento entre os peptídeos, o que pode caracterizar uma possibilidade de criação de canais de hidratação e causar uma possível ruptura da nanomembrana. Por outro lado, o Modelo-A possui uma estrutura mais compacta e, conseqüentemente, a região hidrofóbica composta pela rede de fenilalanina (F) é visualmente menos hidratada. Uma comparação com outros trabalhos mostra que nanomembranas peptídicas compostas por A_6D , A_6K ou A_6R apresentam uma compactação próxima de 1,96 pep/nm², dependendo da temperatura da estrutura em solução [39], enquanto estruturas formadas por A_6H apresentam uma compactação

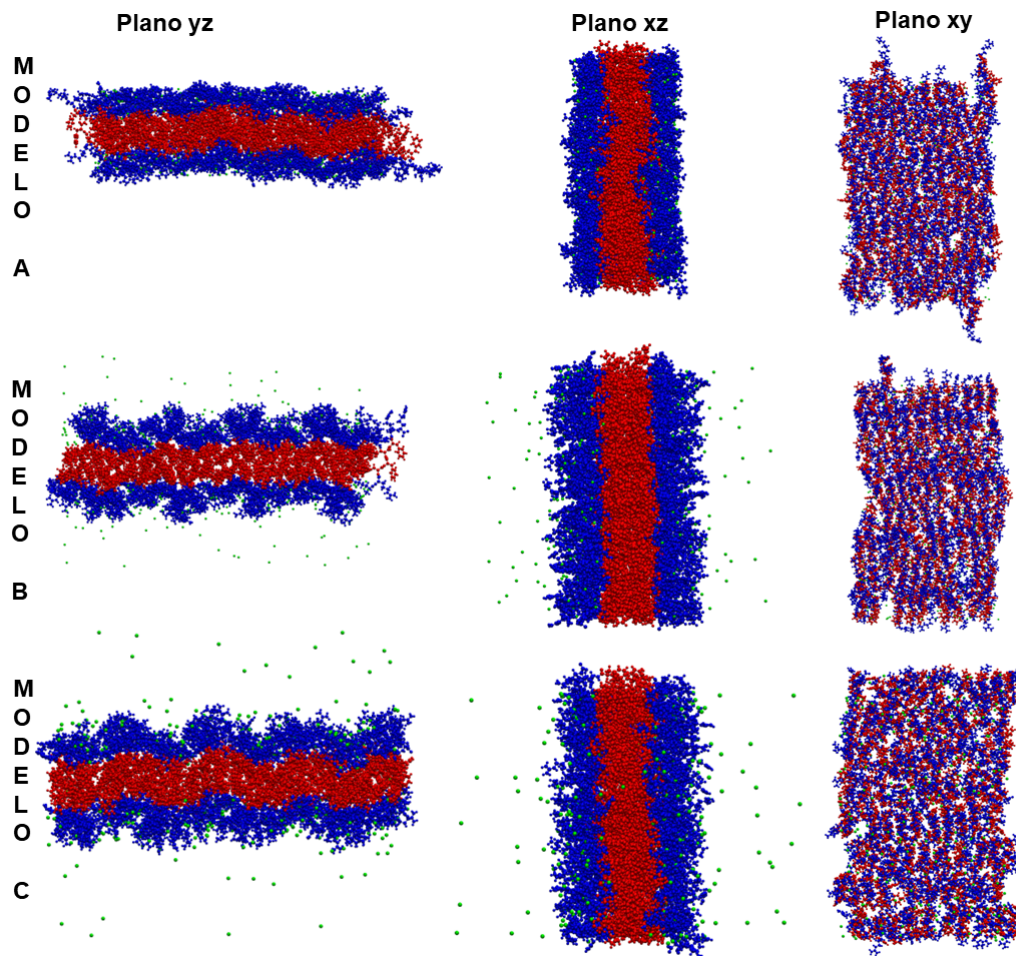


Figura 4.1: Modelos equilibrados das membranas peptídicas estudadas. Azul representa a arginina (R). Vermelho representa a fenilalanina (F). Esferas verdes representam os íons de cloro

de $3,45 \text{ pep/nm}^2$ [28]. Para as nanoestruturas formadas pelos peptídeos $I_3V_3A_3G_3K_3$ e $K_3G_3A_3V_3I_3$ as compactações são próximas de $1,41$ e $1,86 \text{ pep/nm}^2$ [31]. Além disso, para nanomembranas formadas por EFL_4FR , por exemplo, esses valores estão na faixa de $1,47 - 1,56 \text{ pep/nm}^2$ [32]. Tais resultados mostram que a compactação das estruturas semelhantes a nanomembranas estudadas neste trabalho é mais intensa e pode demonstrar uma dependência com a formação da sequência de aminoácidos do peptídeo como já reportado na literatura e descrito na introdução deste trabalho. Uma comparação com a compactação de lipídeos em bicamadas lipídicas também pode ser realizada, resultados obtidos por E. D. Alves e colaboradores mostram que as membranas DOPC, com e sem colesterol, apresentam empacotamento de cerca de $0,501 - 0,686 \text{ lipídeos/nm}^2$ [71] ou conforme apresentado no trabalho de C. Bouquiaux e colaboradores [72], que investigaram membranas de DOPC/colesterol relatam $(74,3 \pm 1,5) \text{ \AA}^2$ por lipídeo para uma membrana

lipídica com 20% de colesterol. Esses resultados podem corresponder a cerca de 0,685 e 0,765 lipídeos/nm² para cada monocamada.

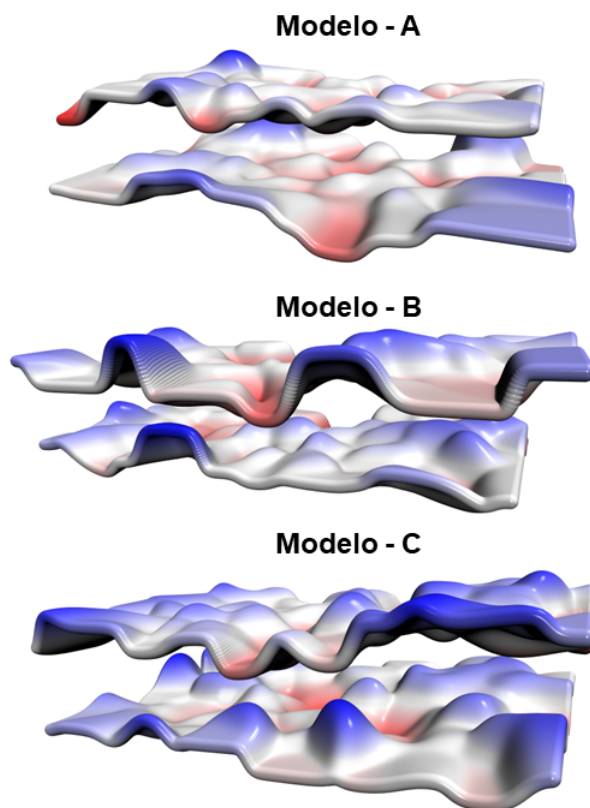


Figura 4.2: Avaliação da espessura da nanomembrana e do comportamento de sua superfície hidrofílica composta pelo resíduo de arginina (R). Análise realizada usando o programa SuAVE [7].

Utilizando o programa SuAVE [7] estimamos a espessura das nanomembranas de forma mais precisa. A Figura (4.2) mostra um mapa de superfície para cada modelo proposto. Como pode ser visto, o Modelo-C [Modelo-A] tem uma maior [menor] rugosidade em comparação com os outros modelos, indicando uma menor [maior] agregação das cabeças polares peptídicas. A espessura das nanoestruturas pode ser inferida a partir da distância entre as duas superfícies mostradas na Figura (4.2), que descrevem a posição do átomo N do resíduo $-NH_2$ de arginina (R) presente mais externamente na molécula peptídica. Nossos resultados indicam uma espessura média de 2,28; 2,25 e 2,32 nm para os Modelos A, B e C, respectivamente.

Esses achados indicam que as estruturas de octa-peptídeos bola-anfifílicos constituídos por monocamadas não reproduzem os modelos encontrados experimentalmente que apresentam espessura entre 3,2 - 4,5 nm [11]. Destacamos que o descolamento vertical dos peptídeos para que a estrutura seja mais alongada na direção z também não é con-

sistente com um procedimento de modelagem para esses materiais, pois poderia resultar em uma estrutura instável, uma vez que haveria perdas no encaixe entre os peptídeos, bem como entre as β -folhas que formam a monocamada, como mostrado em trabalhos anteriores [69], desfavorecendo as LHs que mantêm a estrutura íntegra.

Assim, uma possível hipótese é a ocorrência de bicamadas sobrepostas ao invés de monocamadas, à semelhança do que foi relatado nos trabalhos de Andrade e colaboradores [29]. Portanto, a estrutura observada experimentalmente pode representar camadas duplas sobrepostas. Consequentemente, nossos resultados teóricos (considerando uma espessura de dupla camada) estariam no limite superior relatado experimentalmente.

4.2 Energia de Coulomb e de Lennard-Jones

A Tabela (4.1) apresenta os resultados para as energia Coulombianas e de vdW para as interações entre peptídeos (Pep-Pep), entre peptídeos e moléculas de água (Pep-água) e entre peptídeos e íons (Pep-íons), em kJ/mol (por peptídeo), para os três modelos estudados neste trabalho. Nossos resultados mostram que a energia de interação de Coulomb E_c é igual a 871,28; 483,28 e 487,41 kJ/mol por peptídeo, respectivamente para os Modelos A, B e C, mostrando que existe uma repulsão elétrica entre os peptídeos de um mesmo modelos. Em comparação com os resultados obtidos para o monômero $R_2F_4R_2$ em solução, há uma diferença de cerca de 149,85; 83,17 e 83,88 % no valor de E_c (Pep-Pep) quando a estrutura tipo membrana é consolidada.

Para as energias de interação de vdW os resultados mostram valores médios de $-324,22$; $-307,86$ e $-309,01$ kJ/mol por peptídeo, respectivamente para os Modelos A, B e C. Como pode ser visto, os valores de E_{LJ} são cerca de 1195,50; 791,14 e 796,42 kJ/mol inferiores aos de E_c , mostrando a importância da energia de Coulomb para a manutenção da estrutura. Não podemos deixar de descartar a interação elétrica e LJ para o par peptídeo-íon, como pode ser visto, as energias de interação de Coulomb para o par estão entre -690 e -638 kJ/mol por peptídeo, enquanto a contribuição de LJ está entre 27 e 33 kJ/mol por peptídeo, destacando que a interação predominante para a manutenção da fita é elétrica, sendo essencial a presença de íons no processo de estabilidade da nanomembrana. Esta força iônica já foi ressaltada em outros trabalhos [73].

Quando a energia total de interação ($E_c + E_{LJ}$) é considerada, observamos que a estrutura composta pelo Modelo-A pode ser considerado menos estável quando com-

parado aos Modelos B e C. No entanto, a diferença de energia, principalmente devido à distribuição espacial dos peptídeos e íons na nanoestrutura representa uma variação de cerca de 74% entre Modelos A e B, 72% entre os Modelos A e C e de 1% entre os Modelos B e C.

Tabela 4.1: Energias de interação de Coulomb e vdW (usando o CHARMM36) entre peptídeos, entre peptídeo e íons e entre peptídeo e moléculas de água (em kJ/mol) para os Modelos A, B e C. Para comparação, mostramos as energias de interação de Coulomb e vdW para 1 peptídeo em solução aquosa. Os resultados são mostrados por peptídeo.

Interação	Monômero	Modelo-A	Modelo-B	Modelo-C
Interação Coulombiana				
Pep-Pep	$581,06 \pm 67,54$	$871,28 \pm 6,11$	$483,28 \pm 8,82$	$487,41 \pm 7,37$
Pep-água	$-1832,02 \pm 131,32$	$-743,85 \pm 20,51$	$-1028,58 \pm 37,49$	$-1001,44 \pm 44,44$
Pep-íons	$-37,13 \pm 63,66$	$-638,47 \pm 17,74$	$-673,09 \pm 32,32$	$-692,14 \pm 37,74$
Interação de van der Waals				
Pep-Pep	$-148,57 \pm 17,99$	$-324,22 \pm 3,17$	$-307,86 \pm 4,88$	$-309,01 \pm 6,76$
Pep-água	$-230,30 \pm 38,93$	$-89,66 \pm 5,01$	$-66,76 \pm 6,75$	$-64,50 \pm 8,31$
Pep-íons	$1,50 \pm 6,10$	$27,82 \pm 2,32$	$31,72 \pm 2,85$	$33,21 \pm 3,42$
Valores totais				
	-1665,46	-897,10	-1561,29	-1546,46

Como mencionado anteriormente, há uma clara separação da nanoestrutura em uma região de superfície, que é eletricamente carregada e hidrofílica, e uma região interna que é hidrofóbica. Na Tabela (4.2), apresentados os valores médios das interações energéticas (E_c e E_{LJ}) entre os resíduos que compõem o peptídeo ($R_2F_4R_2$) e as moléculas de água e os íons em solução. O objetivo é avaliar qual dos modelos apresenta maior interação entre os componentes individuais do sistema, bem como a estabilidade desses modelos com base nas interações entre os resíduos.

Os resultados obtidos para $E_c(R-R)$ mostram a interação entre os resíduos da camada superficial da estrutura e apontam para os valores médios próximos a 2199,57; 1808,96 e 1807,73 kJ/mol por peptídeo, respectivamente, para os Modelos A, B e C. Pode-se observar que há uma variação de $-17,76\%$ [$-0,07\%$] entre o Modelo-A e o Modelo-B [C], indicando que a estrutura do Modelo-A possui uma superfície mais interagente, sendo mais repulsiva nessa região. Para as interações $E_c(R-F)$, que também podem ser observadas no limite da região hidrofílica e hidrofóbica da nanomembrana, as diferenças entre os Modelos A e B [C] podem chegar a $-7,32\%$ [$-5,24\%$], favorecendo uma maior interação energética na superfície da nanoestrutura Modelo-A. A interação entre F-F apresenta um aspecto diferente do R-R e R-F, pois não inclui um resíduo eletricamente carregado. Nossos resultados para as interações $E_c(F-F)$ estão próximos de $-910,36$;

Tabela 4.2: Média das energias de interação de Coulomb e vdW entre os resíduos e íons e entre os resíduos e moléculas de água (em kJ/mol) para Modelos A, B e C. Para comparação, mostramos as energias de interação de Coulomb e vdW para 1 peptídeo em solução aquosa. Os resultados são mostrados por peptídeo na caixa de simulação.

Interação	Monômero	Modelo-A	Modelo-B	Modelo-C
Interação Coulombiana				
R-R	$1855,55 \pm 61,16$	$2199,57 \pm 5,73$	$1808,96 \pm 8,18$	$1807,73 \pm 7,23$
R-F	$-399,37 \pm 26,46$	$-410,88 \pm 2,46$	$-380,79 \pm 2,64$	$-389,36 \pm 1,87$
F-F	$-875,25 \pm 22,80$	$-910,36 \pm 1,90$	$-934,94 \pm 2,20$	$-930,57 \pm 2,42$
R - água	$-1587,36 \pm 123,48$	$-627,51 \pm 18,65$	$-911,91 \pm 36,78$	$-879,73 \pm 41,33$
F - água	$-244,58 \pm 41,10$	$-116,30 \pm 4,77$	$-116,63 \pm 2,98$	$-121,72 \pm 4,48$
R - íons	$-36,38 \pm 63,40$	$-625,28 \pm 17,89$	$-661,48 \pm 33,51$	$-679,73 \pm 38,92$
F - íons	$-0,89 \pm 3,70$	$-13,22 \pm 1,48$	$-11,61 \pm 1,84$	$-12,39 \pm 1,64$
Interação de van der Waals				
R-R	$-34,38 \pm 7,94$	$-98,80 \pm 1,74$	$-88,08 \pm 3,63$	$-87,66 \pm 3,60$
R-F	$-58,59 \pm 15,61$	$-81,92 \pm 1,26$	$-76,03 \pm 2,61$	$-76,91 \pm 1,23$
F-F	$-55,16 \pm 8,55$	$-143,50 \pm 1,92$	$-143,75 \pm 3,49$	$-144,43 \pm 4,04$
R - água	$-56,95 \pm 33,66$	$-43,70 \pm 3,25$	$-16,07 \pm 3,78$	$-17,28 \pm 3,79$
F - água	$-173,45 \pm 17,37$	$-45,97 \pm 3,06$	$-50,68 \pm 4,26$	$-47,22 \pm 5,56$
R - íons	$1,90 \pm 6,31$	$32,66 \pm 2,34$	$36,55 \pm 2,76$	$37,92 \pm 3,38$
F - íons	$-0,35 \pm 0,78$	$-4,84 \pm 0,30$	$-4,83 \pm 0,33$	$-4,71 \pm 0,25$
Valores totais				
	$-1665,66$	$-890,05$	$-1551,29$	$-1546,46$

$-934,94$ e $-930,57$ kJ/mol , por peptídeo, respectivamente, para Modelo A, B e C. Esses valores para os Modelos-B e C diferem em cerca de 2,70% e 2,22% dos obtidos para o Modelo-A, o que pode indicar que o Modelo-B apresenta uma maior integração entre os resíduos de fenilalanina, sugerindo uma formação estrutural mais compacta.

A energia de interação E_c entre os resíduos R e F e as moléculas de água também mostram a afinidade de cada parte da nanoestrutura com o meio solvente e oferece indicações da porosidade de cada modelo proposto em relação a infiltração de moléculas de água dentro da nanomembrana. Os resultados obtidos para $E_c(\text{R-água})$ [$E_c(\text{F-água})$] são iguais a $-627,51$; $-911,91$ e $-879,73$ [$-116,30$; $-116,63$ e $-121,72$] kJ/mol por peptídeo, respectivamente para os Modelos A, B e C. Assim, observamos que o Modelo-B tem uma maior interação elétrica com moléculas de água em sua superfície hidrofílica e o Modelo-A tem uma menor interação elétrica com moléculas de água em sua região hidrofóbica.

As interações $E_c(\text{R-íons})$ e $E_c(\text{F-íons})$ mostram como os íons são energeticamente distribuídos na caixa de simulação e nos oferece indicações de como eles interagem com cada parte da membrana. Como pode ser visto, a maior interação elétrica é com a região da superfície da membrana, independente do modelo proposto. Além disso, no Modelo-

C há uma maior interação iônica entre os resíduos R e os íons, enquanto no Modelo-A observa-se a menor interação iônica. De fato, os resultados mostram que a energia de interação peptídeo-íon é fundamental para verificar a estabilidade das membranas. Resultados anteriores já mostraram que essa influência vai além da estabilidade estrutural e pode até interferir na morfologia das nanoestruturas [74]. Assim, a absorção de íons por estruturas peptídicas é elevada e, em muitos casos, a necessidade dessa força iônica para a estabilidade da estrutura orgânica não pode ser descartada.

Considerando agora as interações vdW (E_{LJ}) obtidas para os resíduos R-R, encontramos valores iguais a $-98,80$; $-88,08$ e $-87,66$ kJ/mol por peptídeo. Para a interação R-F [F-F], nossos resultados são iguais a $-81,92$ [$-143,50$]; $-76,03$ [$-143,75$] e $-76,91$ [$-144,43$] kJ/mol por peptídeo, respectivamente, para os Modelos A, B e C. Esses resultados mostram que as interações descritas por E_{LJ} estão entre $-4,5\%$ e $20,0\%$ das intensidades de interações obtidas para E_c . Quando analisamos as interações entre os resíduos e as moléculas de água [íons], os valores obtidos confirmam que as três estruturas possuem regiões bem definidas com interações preferenciais maiores e menores com o meio solvente e os íons solvatados. No entanto, o Modelo-A [Modelo-C] mostra uma maior afinidade entre as interações R-água [R-íons].

Assim, em geral, essa maior afinidade entre as interações de pares nos mostra que o Modelo-A pode representar melhor a nanoestrutura auto-organizada para o peptídeo $R_2F_4R_2$. Também indica que a estrutura tem uma considerável interação (E_c e E_{LJ}) hidrofílica (R-água) e baixa interação hidrofóbica (F-água), além de uma alta interação superficial entre os íons solvatados e a estrutura. Esses conjuntos de valores podem indicar que as interações desta nanomembrana podem ser preferencialmente induzidas por regiões eletricamente carregadas podendo ser utilizadas para capturar íons em solução.

4.3 Perfil de Densidade

4.3.1 Densidade superficial de carga elétrica

Uma avaliação da densidade de carga superficial nas estruturas também é relevante. Nossos resultados mostram que os Modelos-A, B e C propõem uma carga elétrica superficial igual a $3,56$; $3,33$ e $3,46 \times 10^{-13} \mu C/nm^2$, respectivamente, em ambas as superfícies da membrana. Essa elevada densidade superficial de carga elétrica pode ser

responsável pela elevada captação de íons da estrutura na superfície da nanomembrana e aponta para uma funcionalidade da estrutura, que é a captura de íons em solução.

O valor notável da densidade superficial de carga elétrica também está relacionado à presença de uma superfície composta pelo duplo resíduo de arginina (R) na cabeça polar do peptídeo. Nesse sentido, o valor do momento dipolo das estruturas foi calculado considerando como referência o centro da caixa de simulação (e origem do sistema cartesiano) posicionado no centro de massa da membrana peptídica. Assim, toda a trajetória de DM foi ajustada para que a comparação do valor do momento dipolo possa ser realizada entre cada uma das nanoestruturas. Para os Modelos A, B e C, os resultados dos momentos de dipolo são $34,57 \pm 14,65$; $104,01 \pm 19,74$ e $95,94 \pm 20,60$ Debye, respectivamente. O momento de dipolo pode ser reduzido devido a presença de íons que estão localizados exatamente na região carregada da nanoestrutura, resultando em um valor igual a $6,91 \pm 15,30$; $20,80 \pm 42,53$ e $19,19 \pm 39,47$ Debye, respectivamente, para os Modelos A, B e C.

Como pode ser visto, os momentos de dipolo médios das estruturas B e C são muito semelhantes em ambos os cálculos. No entanto, devido à alta mobilidade dos íons em solução, o desvio padrão observado para o valor médio do momento de dipolo calculado é relativamente muito grande, sendo, em geral, duas vezes maior que o valor médio da propriedade, fato que não ocorre para momento de dipolo médio calculado sem contribuição dos íons de Cl^- . Esta informação é muito relevante, por destacar o comportamento elétrico do sistema frente à mobilidade iônica, caracterizando a não ocorrência de uma captura total de íons, mas uma espécie de depósito de íons na estrutura. Essas características são fundamentais durante o processo de avaliação e aplicação da nanoestrutura em nanotecnologia.

4.3.2 Densidade de Massa

O perfil de densidade de massa ao longo do eixo perpendicular à membrana pode nos oferecer uma comparação mais qualitativa da presença de água dentro da nanoestrutura. Assim, a Figura (4.3) indica o perfil de densidade de massa para as três nanomembranas peptídicas estudadas (Modelo A, B e C). Como pode ser visto as três estruturas proporcionam uma separação no perfil de massa das moléculas de água. Porém, existem modelos que mostram a presença de massa de água na região interna da nanomembrana. Isso pode ser observado para o Modelo-A, Fig. (4.3), onde é possível

ver que há presença de água na região entre 2,60 e 5,07 nm, correspondendo à região interna da nanomembrana. A comparação entre os três modelos também destaca uma estimativa da espessura da nanomembrana, que pode ser obtida a partir da distância entre as interseções do perfil de densidade de massa dos peptídeos e das moléculas de água, onde a região externa a esses dois pontos destaca a região da superfície da nanomembrana que é consideravelmente hidratada.

Para a espessura das membranas, encontramos valores próximos a 2,47; 2,14 e 2,22 nm que são cerca de 4,3 – 7,7% diferentes dos valores encontrados anteriormente utilizando o programa SuAVE [7]. Essa diferença se justifica, pois o SuAVE é mais preciso que o método a partir do perfil de densidade, mas podemos observar que estão de acordo com os dados já destacados. Um resumo desses dados estruturais, obtidos neste trabalho, em comparação com os dados experimentais, presentes na literatura, estão sistematizados na Tabela (4.3). A espessura destacada neste estudo refere-se à estrutura para uma monocamada composta pelo octapeptídeo e a comparação com resultados experimentais indicam que a modelagem computacional reproduz resultados que expressam aproximadamente metade dessa espessura. Nesse sentido, e apoiados por trabalhos anteriores [29, 69], nossos resultados apontam novamente que a modelagem de uma nanomembrana peptídica com dupla camada pode ser viável e os resultados experimentais (entre 3,2 – 4,5 nm [11]) podem estar expressando esse comportamento, conforme indicado na Figura (4.4).

Assim, para demonstrar nossa hipótese, realizamos uma simulação computacional de dinâmica molecular da estrutura de bicamada solvatada em água Fig. (4.4a). A simulação de DM foi realizada seguindo o mesmo protocolo usado para as membranas com monocamada e por um tempo de simulação de 30 ns. Nossos resultados para a espessura da membrana multilaminar também são apresentados na Figura (4.4b) e estão totalmente de acordo com os resultados experimentais, confirmando nossa hipótese. É importante destacar que essa característica multilaminar, conforme idealizada, resulta em uma estrutura que apresenta alguns poros, não sendo totalmente rígida devido à interação entre resíduos de arginina (R) de diferentes camadas, o que proporciona a possibilidade de hidratação da estrutura, como pode ser visto na Figura (4.4c), onde a região entre as camadas peptídicas possui maior concentração de água e conseqüentemente íons.

Nossos resultados para esta simulação também mostram uma distribuição de massa que indica a deposição de uma monocamada sobre a outra, destacando regiões na

distribuição de massa que caracterizam cada uma das monocamadas. É importante notar que a espessura estimada para esta dupla camada laminar é de cerca de 3,95 nm, o que indica bom acordo com resultados experimentais que relatam uma espessura de cerca de 3,2 – 4,5 nm [11].

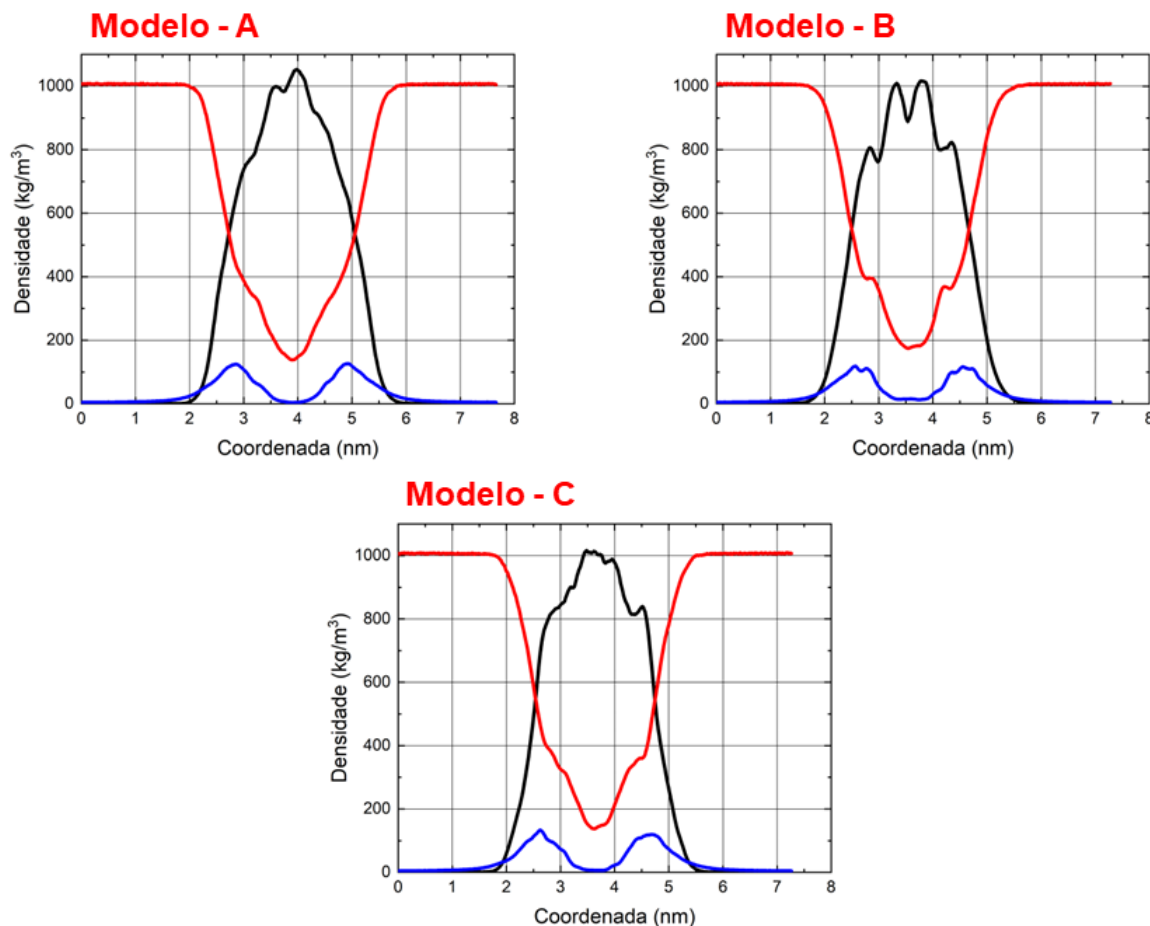


Figura 4.3: Média do perfil de densidade de massa de peptídeos e moléculas de água para membranas Modelos A, B e C [em kg/m^3]. A densidade de íons também é mostrada. (direção z). Em vermelho a densidade de massa da água, em azul a densidade de massa dos íons e em preto a densidade de massa da membrana.

Outro resultado importante é obtido partir do perfil de densidade de massa nas direções X e Y conforme mostrado na Figura (4.5). Nestes resultados, podemos observar como ocorre o arranjo molecular nas diferentes nanoestruturas modeladas. Nesta análise, observe que existem estruturas com melhor alinhamento da β -folha que se empilham para formar a nanomembrana e a ordenação, em forma de pilha, é mais visível nas nanoestruturas resultantes dos Modelos A e C. A distância (D) entre cada pico da densidade de massa nas direções X e Y pode estimar a separação laminar da nanoestrutura. Assim, para o Modelo A temos valores médios de D_x e D_y iguais a $0,77 \pm 0,13$ e $0,84 \pm 0,20$ nm; para o Modelo-B, esses resultados são iguais a $0,89 \pm 0,15$ e

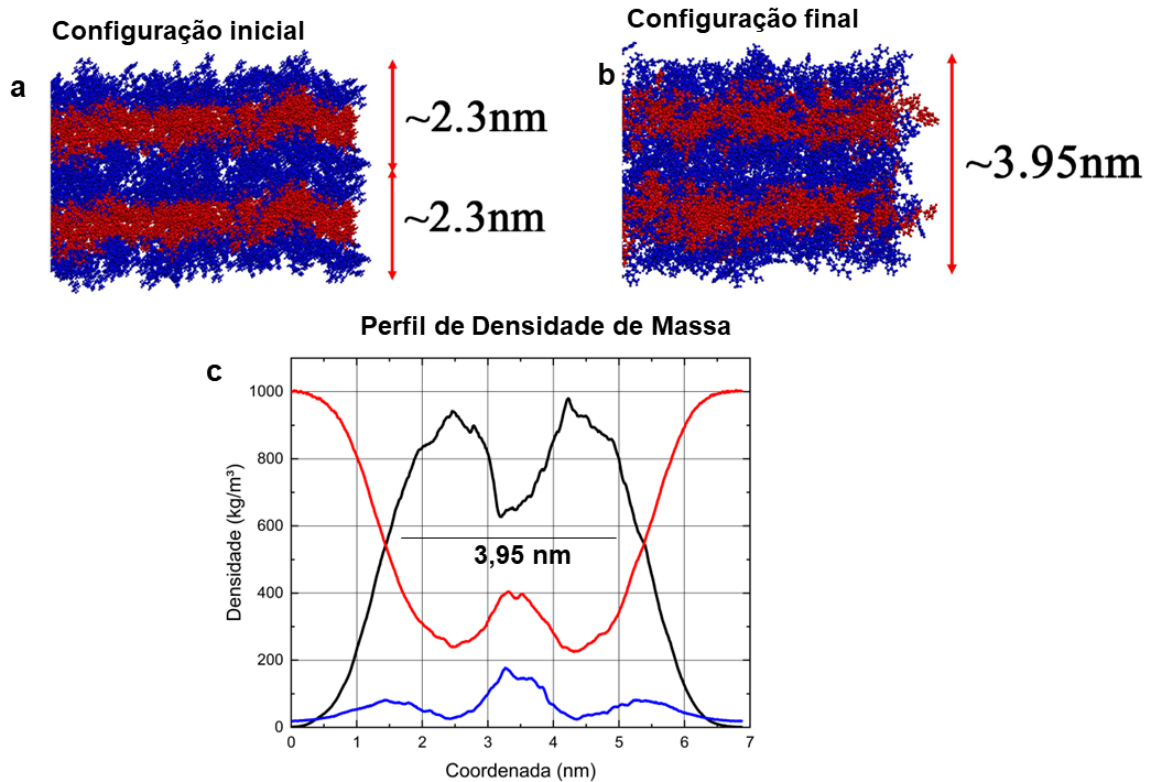


Figura 4.4: Modelo de bicamada proposto. Nas figuras (a) e (b) as argininas (R) estão representadas em azul e em vermelho as fenilalaninas (F). Na figura (c) a densidade de massa da membrana é mostrada em preto, em vermelho a densidade de massa da água e em azul a densidade de massa dos íons.

Tabela 4.3: Espessura para monocamada (em nm) e área de ocupação de cada peptídeo (em pep/nm^2) nos modelos de membrana A, B e C. Resultados obtidos a partir do perfil de densidade de massa (e_{mass}), do programa de mapa de superfície construído com o programa SuAVE (e_{map}) e de resultados experimentais (e_{exp}). Os valores % correspondem à diferença entre os resultados obtidos com o perfil de densidade de massa (e_{mass}) e a superfície gerada pelo programa SuAVE (e_{map}).

	e_{mass}	e_{map}	Δ	e_{exp}	pep/nm^2
Modelo-A	2,28	2,47	7,7%	3,2-4,5	1,11
Modelo-B	2,25	2,14	5,1%	3,2-4,5	1,04
Modelo-C	2,22	2,32	4,3%	3,2-4,5	1,47
Média	2,25	2,31	2,6%	3,2-4,5	1,21

$1,16 \pm 0,19$ nm e para o Modelo-C esses resultados são iguais a $0,93 \pm 0,21$ e $0,85 \pm 0,19$ nm. Essa ordenação está de acordo com o relatado por L.R. Mello e colaboradores [11], que enfatizam que a atração hidrofóbica promove uma associação lateral entre as cadeias peptídicas (chamadas interações $\pi - stack$) e que ocorre principalmente entre as cadeias laterais da fenilalanina (F), desempenhando um papel relevante no direcionamento da estrutura ao longo do eixo longitudinal da nanoestrutura [11].

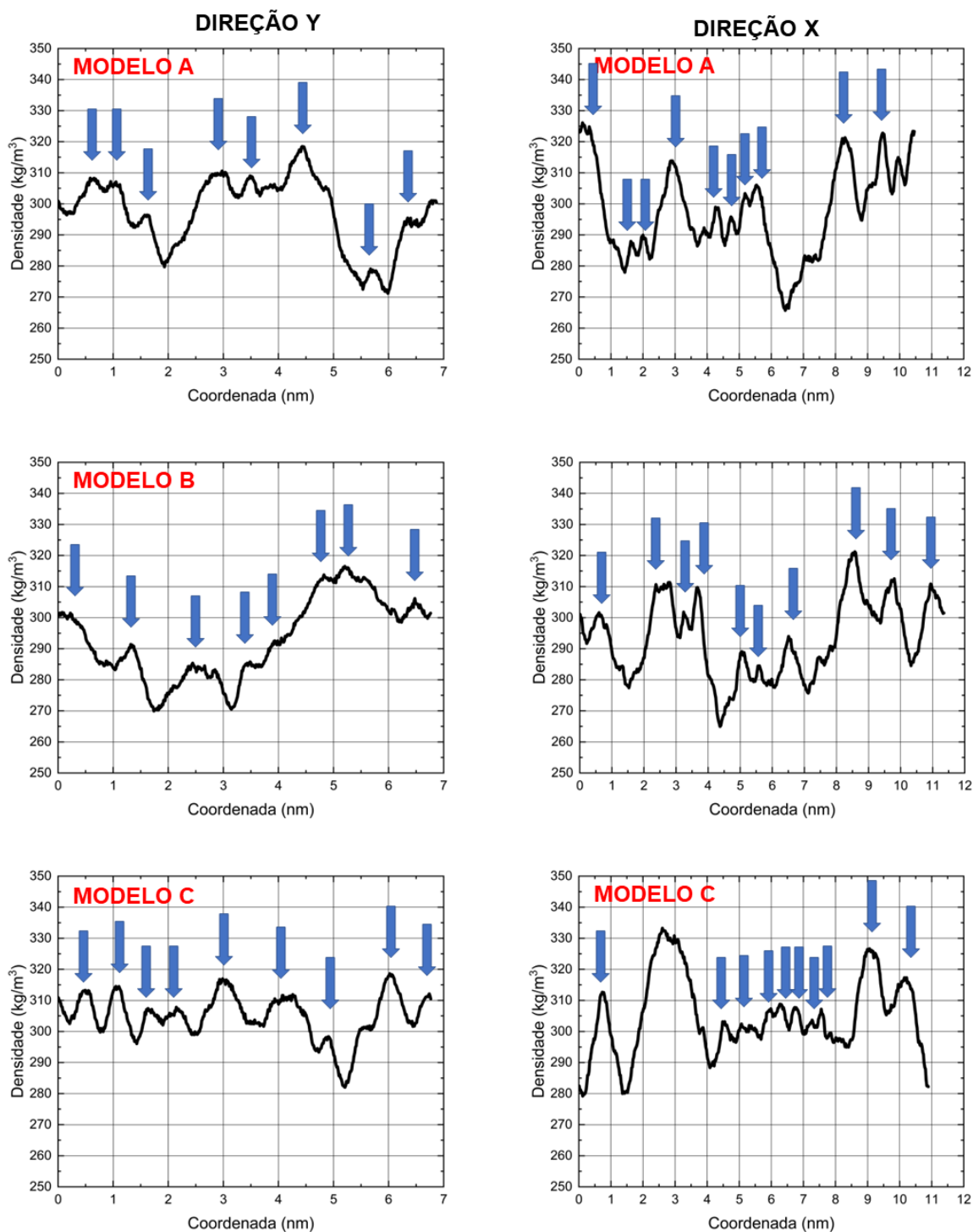


Figura 4.5: Média do perfil de densidade de massa [em kg/m^3] das moléculas peptídicas para as membranas dos Modelos A, B e C (direção X e Y). As setas azuis indicam os picos utilizados para calcular as distâncias entre as lâminas peptídicas (β -folhas).

4.4 Deslocamento Quadrático Médio

O MSD (do inglês *Mean square displacement*) é uma propriedade dinâmica que representa a medida da dispersão de uma partícula de um sistema, esta medida está relacionada a média dos quadrados do deslocamento em relação a uma posição anterior. Esta propriedade é um importante componente para avaliar a mobilidade das estruturas dos peptídeos que a compõem. Nesse sentido, o coeficiente de difusão de Einstein pode dar indicações de como o peptídeo se comporta durante a simulação computacional. Para calcular, usa-se a relação de Einstein que determina o coeficiente de difusão D_A para partículas do tipo A [75]:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \langle ||\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(0)||^2 \rangle_{i \in A} = 6D_A t. \quad (4.1)$$

Os resultados para os Modelos-A, B e C foram obtidos considerando a região com o melhor ajuste para a curva de desvio quadrado médio (MSD), conforme descrito pelo software Gromacs [63]. Nossos resultados são iguais a 0,1080; 0,0321 e 0,0149 $\times 10^{-5}$ cm/s para os peptídeos dos Modelos A, B e C. Como pode ser visto, o Modelo-C tem o menor valor do MSD, o que indica que esta estrutura apresenta um melhor emaranhamento dos peptídeos, garantindo assim uma estrutura mais coesa, enquanto o Modelo-A apresenta uma característica oposta. A comparação com os resultados estruturais e energéticos, percebe-se que o MSD aponta para as mesmas conclusões em relação aos modelos estudados. Assim, destacamos que o aumento da mobilidade molecular da nanoestrutura pode ser uma consequência do processo de hidratação do interior da membrana.

4.5 Estrutura e Dinâmica das Ligações de Hidrogênio

Em trabalhos envolvendo análise de nanoestruturas formadas a partir de peptídeos, um ponto crucial em sua arquitetura é a interação direta entre alguns aminoácidos que compõem o corpo peptídico, principalmente as interações por ligações de hidrogênio (LHs). Trabalhos recentes mostraram que essas interações têm grande importância para a manutenção, estabilidade e ordenação da nanoestrutura em baixas e altas temperaturas [39, 45], influenciam na construção de zíperes polares [29], bem como determinam a forma do arranjo estrutural dos peptídeos imersos em solução aquosa [32–34, 69] ou em líquidos iônicos [43].

No entanto, estruturas como a proposta de L. R. Mello e colaboradores [11], para as nanomembranas formadas por $R_2F_4R_2$, destacam-se por apresentar uma provável interdigitação dos peptídeos com dificuldade de alinhamento dos resíduos de fenilalaninas (F), implicando também em um rearranjo estrutural das argininas (R) terminais, que pode enfraquecer a formação de LHs entre as fitas peptídicas adjacentes. Nesse sentido, avaliamos o número médio de LHs para os modelos de nanomembranas propostos neste trabalho (Modelo-A, B e C) bem como o tempo de vida das interações de acordo com teoria de Luzar, Chandler e Van der Spoel [55–57].

Os resultados foram obtidos a partir da trajetória clássica da DM e foram computados com os seguintes parâmetros geométricos, com base na Fig. (4.6), para a caracterização de LHs: $\theta \leq 30^\circ$ e $R \leq 0,35\text{nm}$. Os resultados estão apresentados na Tabela (4.4).

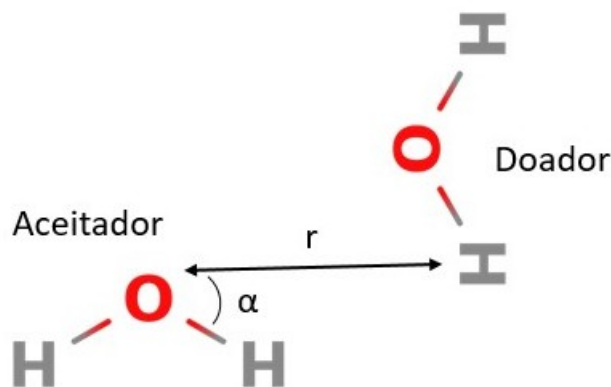


Figura 4.6: Modelo que descreve uma ligação de hidrogênio

Na Fig. (4.7) podemos ver, em preto, as LHs de cada um dos modelos estudados, podemos observar a grande quantidade de LHs no interior da estrutura da membrana, mostrando sua importância para manter a estrutura. O número médio de LHs para a interação peptídeo-peptídeo é de cerca de 3,06; 4,33 e 4,38 ligações de hidrogênio (por número de peptídeos) para o Modelo-A, B e C, respectivamente. Considerando a interação peptídeo-água, os valores são 21,71; 25,24 e 24,68 ligações de hidrogênio (por peptídeo) para os Modelos-A, B e C mostrando que o Modelo-B faz mais interações com a água, o que pode indicar maior hidratação da membrana.

O número médio de LHs (por peptídeo) entre os resíduos também foi analisada. Para interação R-R temos um número médio de LHs (por peptídeo) igual a 1,22; 2,17 e 2,31; para a interação R-F o número médio de LHs encontrado é de 0,79; 0,71 e 0,70 por peptídeo; entre F-F o número médio de LHs (por peptídeo) são 1,05; 1,45 e

Tabela 4.4: Número médio de ligações de hidrogênio (LHs) estabelecidas entre peptídeos, peptídeo-água, entre resíduos e moléculas de resíduos-água. O tempo de vida das LH dessas interações também é destacado (em ps e ns) para os modelos de membrana A, B e C. Para comparação, mostramos as LHs médio e o tempo de vida das LHs para o monômero do peptídeo em solução aquosa. Os resultados médios para as LHs são mostrados por peptídeo. Parâmetros usados para obter o LH médio: $\theta \leq 30^\circ$ e $R \leq 0,35nm$. O tempo de vida e o ΔG para quebrar a LH foi obtido a partir da autocorrelação de acordo com a teoria de Luzar, Chandler e Van der Spoel [57]

Interação	Monômero	Modelo-A	Modelo-B	Modelo-C
LHs				
Pep-Pep	0,78	3,06	4,33	4,38
Pep-água	40,08	21,71	25,24	24,68
R-R	0,38	1,22	2,17	2,31
R-F	0,30	0,79	0,71	0,70
F-F	0,05	1,05	1,45	1,37
R-água	32,34	17,87	21,29	20,68
F-água	7,23	3,84	3,94	4,00
Tempo de vida para as LHs				
Pep-Pep	0,22 ns	2,26 ns	2,20 ns	2,55 ns
Pep-água	4,72 ps	54,70 ps	39,12 ps	27,69 ps
R-R	0,25 ns	1,81 ns	2,09 ns	2,46 ns
R-F	0,32 ns	3,83 ns	2,74 ns	3,48 ns
F-F	1,08 ns	1,73 ns	2,11 ns	1,59 ns
R-água	5,04 ps	17,36 ps	31,54 ps	13,13 ps
F-água	3,22 ps	0,17 ns	0,13 ns	0,16 ns
ΔG [kJ/mol]				
Pep-Pep	17,89	23,68	23,61	23,97
Pep-água	8,37	14,45	13,62	12,76
R-R	18,23	23,12	23,48	23,84
R-F	18,83	24,98	24,15	24,74
F-F	21,85	23,01	23,50	22,80
R-água	8,54	11,60	13,08	10,91
F-água	7,42	17,24	16,58	17,19

1,37 mostrando que as ligações de hidrogênio mantêm as estruturas com um número considerável de LHs. Para a interação R-água os resultados médios são 17,87; 21,29 e 20,68 LHs/peptídeo e entre a interação F-água o número médio de LHs (por peptídeo) são 3,84; 3,94 e 4,00 para Modelo-A, B e C, respectivamente, mostrando maior possibilidade de canais de hidratação nos Modelos-B e C.

O tempo de vida para as LHs entre os peptídeos é de 2,26; 2,20 e 2,55 ns indicando que as LHs tem papel fundamental por manter a estrutura com característica membranar; o tempo de vida entre as LHs dos peptídeos e a água é de 54,70; 39,12 e

27, 69 ps. O tempo de vida das interações entre os resíduos também foi analisado. Entre os resíduos R-R o tempo de vida é de 1, 81; 2, 09 e 2, 46 ns, entre os resíduos R-F: 3, 83; 2, 74 e 3, 48 ns e entre F-F: 1, 73; 2, 11 e 1, 59 ns o que nos mostra que as LHs têm um alto tempo de vida indicando sua importância na manutenção da estrutura, todos os valores para Modelo-A, B e C, respectivamente. Também foi analisada a interação entre os resíduos e a água, para a interação R-água os valores encontrados foram de 17, 36; 31, 54 e 13, 13 ps e para a interação F-água os valores encontrados foram de 0, 17; 0, 13 e 0, 16 ns, todos os valores para Modelo-A, B e C respectivamente.

A energia característica de LHs, entre os peptídeos, tem um valor de corte de cerca de 23, 68; 23, 61 e 23, 97 kJ/mol , respectivamente, para os Modelos-A, B e C; entre a interação peptídeo-água o valor de corte é de cerca de 14, 45; 13, 62 e 12, 76 kJ/mol . A energia de corte também foi obtida para a interação entre os resíduos; entre os resíduos R-R, os valores obtidos foram de 23, 12; 23, 48 e 23, 84 kJ/mol ; entre a interação R-F os valores de corte são de 24, 98; 24, 15 e 24, 74 kJ/mol ; entre a interação F-F os valores são de 23, 01; 23, 50 e 22, 80 kJ/mol ; entre a interação R-água os valores são 11, 60; 13, 08 e 10, 91 kJ/mol e entre a interação F-água os valores de corte são 17, 24; 16, 58 e 17, 90 kJ/mol . Estudos pioneiros relacionados ao corte de energia (ΔG) foram realizados por van der Spoel e colaboradores [57] e mostraram que o valor de corte de energia (ΔG) para a interação da água TIP3P obtido de uma simulação DM é de 3, 99 kJ/mol , o valor de corte de energia ΔG para um LH em solução de PrOH é de 4, 70 kJ/mol , e o valor de corte de energia (ΔG) para um LH em uma proteína foi de cerca de 24 kJ/mol . Estudos mais recentes de A. de Almeida e colaboradores [73] mostraram que para uma nanoestrutura auto-organizada formada por peptídeos o valor obtido para a energia de corte (ΔG) para LH é de aproximadamente 23 kJ/mol . Este resultado mostra que as LHs têm grande contribuição na estabilidade da nanoestruturas compostas por aminoácidos e peptídeos. Quando comparado aos resultados obtidos por van der Spoel e colaboradores [57], nossos resultados mostraram uma redução da energia de corte de 0, 1% – 1, 6% do ΔG entre os peptídeos e uma redução de 39% – 47% quando comparados com a energia de corte para a interação entre o peptídeo e a água. Também podemos fazer uma comparação com o trabalho de A. de Almeida e colaboradores [73], nossos resultados mostraram um aumento de 2% – 4% quando comparados com a energia de corte entre os peptídeos e para os resultados entre os peptídeos e a água podemos ver uma redução de 37% – 45%. Os valores obtidos para energia de corte de uma LH entre seus peptídeos mostram excelente

acordo com os resultados obtidos anteriormente.

Uma estimativa do número médio de HBs, tempo de vida das LHs e o valor de ΔG para os sistemas estudados considerando $\theta \leq 40^\circ$ e $R \leq 0,35 \text{ nm}$ podem ser vistos na Tabela (4.5). Para a interação entre os peptídeos foi obtido um número médio de 3,50; 4,95 e 4,62 LHs por peptídeo, o que nos mostra que o Modelo-A faz mais interações entre seus peptídeos e quando comparados com os resultados obtidos para $\theta \leq 30^\circ$, o número médio de LHs cresce $\sim 11\%$ para os Modelos-A, B e C. Da mesma forma, o número médio de LHs por peptídeo entre a interação peptídeo e água foi de 24,74; 29,45 e 27,54, mostrando que o Modelo-B faz mais interações com a água, o que indica a abertura de canais de hidratação na membrana. E comparando com os resultados obtidos para $\theta \leq 30^\circ$ temos um aumento de $\sim 14\%$; para a interação R-R o número médio de LHs foi de 1,42; 2,63 e 2,82, representando um aumento de $\sim 20\%$. Para a interação R-F o número médio de LHs foi de 0,93; 0,81 e 0,81 representando um aumento de $\sim 16\%$. Para a interação F-F o número médio de LHs foi de 1,18; 1,51 e 1,50 que representa um aumento de $\sim 9\%$. Podemos também analisar o número médio de LHs para interações entre o resíduo e a água, para a interação R-água os valores obtidos foram de 21,86; 25,00 e 24,34 LHs, por peptídeo representando um aumento de $\sim 19\%$. Por fim, para a interação F-água o valor médio obtido foi de 4,30; 4,45 e 4,43, mostrando que os Modelos-B e C tem canais de hidratação que fazem entrar moléculas de água dentro da membrana, comparando com os resultados para $\theta \leq 30^\circ$, representa um aumento de $\sim 12\%$.

O tempo de vida da LH para a interação entre os peptídeos foi de 3,27; 3,02 e 4,17 ns. Podemos fazer uma comparação para os resultados obtidos com $\theta \leq 30^\circ$, temos um aumento de 31%. Para a interação entre o peptídeo e a água o tempo de vida da LH foi de 0,18; 0,23 e 0,26 ns o que representa um aumento de 518,68%. Para a interação R-R o tempo de vida foi de 3,27; 2,74 e 3,44 ns representando um aumento de 50%. Para a interação R-F o tempo de vida foi 6,90; 3,82 e 4,74 ns que representa um aumento de 51%. Para a interação F-F temos um tempo de vida de 5,30; 2,80 e 1,66 ns que representa um aumento de 81%. Da mesma forma, podemos analisar o tempo de vida da interação entre os resíduos com a água. Para a interação R-água temos 82,68 ps; 0,15 ns e 0,18 ns representando um aumento de 674% e para a interação F-água, o tempo de vida foi de 0,73; 0,69 e 0,83 ns, um aumento de 393%. Podemos notar que, aumentando o ângulo de corte para o cálculo das LHs entre os resíduos e a água, temos aumentos significativos de até 674%. O tempo de vida fica na ordem de ns, da mesma ordem do

tempo de simulação, indicando uma maior durabilidade e manutenção das LHs, o que contribui para manter a estrutura da membrana.

O valor crítico da energia para a quebra das LHs obtidos para a interação entre os peptídeos foi de 24,59; 24,39 e 25,19 kJ/mol . Ao compararmos com os valores obtidos por van der Spoel e colaboradores [57] observamos um aumento de 1,6% – 5% e ao compararmos com os valores obtidos por A. Almeida e colaboradores [73] temos um aumento de 6% – 9%. Podemos também comparar estes resultados com os obtidos para $\theta \leq 30^\circ$, onde temos um aumento de $\sim 4\%$. Para a interação entre o peptídeo e a água o valor de ΔG foi de 17,33; 18,05 e 18,30 kJ/mol , que ao compararmos com os resultados obtidos por van der Spoel e colaboradores [57] vemos uma redução de 23% – 28% e ao compararmos com os resultados obtidos por A. Almeida e colaboradores [73], temos uma redução de 20% – 25%, podemos também comparar com os resultados obtidos para $\theta \leq 30^\circ$, mostrando um aumento de $\sim 31,9\%$. Para a interação R-R o valor da energia foi de 24,59; 24,15 e 24,91 kJ/mol e comparando obtemos um aumento de $\sim 4,5\%$, para a interação R-F obtemos 26,44; 24,97 e 25,51 kJ/mol e comparando temos um aumento de $\sim 4,1\%$, para a interação F-F obtemos uma energia de 25,78; 24,20 e 22,91 kJ/mol e comparando temos um aumento de $\sim 5,1\%$. Temos também energia para a interação entre os resíduos e a água. Para a interação R-água temos uma energia de 15,47; 16,92 e 22,91 kJ/mol e comparando para os resultados obtidos a partir de $\theta \leq 30^\circ$ os valores representam um aumento de $\sim 40,6\%$ e para a interação F-água os valores obtidos para a energia foram de 28,88; 20,73 e 21,18 kJ/mol o que representa um aumento de $\sim 23\%$.

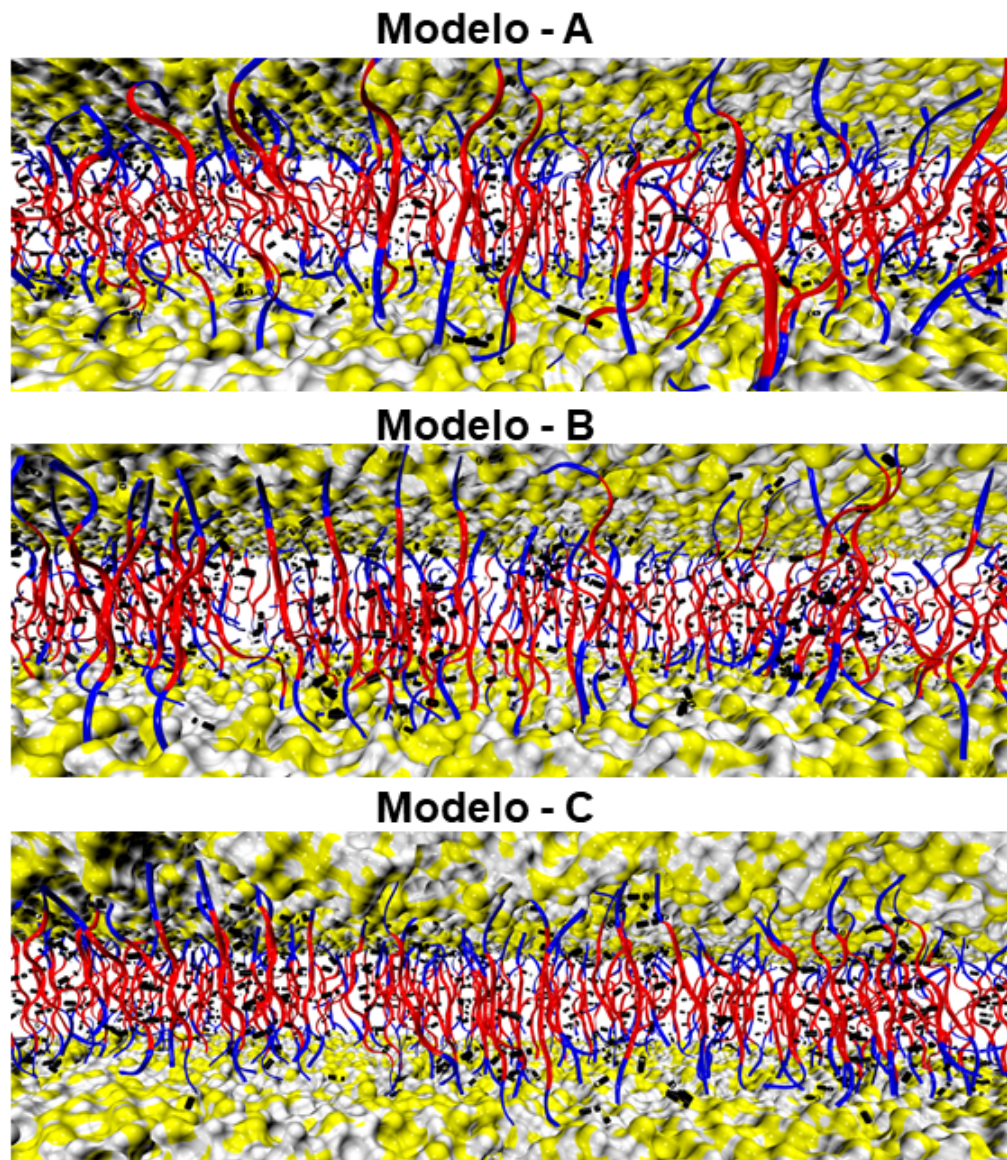


Figura 4.7: Representação das ligações de hidrogênio para cada modelo de membrana. Arginina (R) representada pela cor azul, fenilalanina (F) pela cor vermelha, água pelas cores branca e amarela e ligações de hidrogênio pelas linhas de cor preta.

Tabela 4.5: Número médio de ligações de hidrogênio (LHs) estabelecidas entre peptídeos, peptídeo-água, entre resíduos e moléculas de resíduos-água. O tempo de vida das LHs dessas interações também é destacado (em ps e ns) para os modelos de membrana A, B e C. Para comparação, mostramos as LHs médio e o tempo de vida das LHs para o monômero do peptídeo em solução aquosa. Os resultados médios para LHs são mostrados por peptídeo. Parâmetros usados para obter o LH médio: $\theta \leq 40^\circ$ e $R \leq 0.35nm$. O tempo de vida e o ΔG para quebrar a LH foi obtido fazendo autocorrelação de acordo com a teoria de Luzar, Chandler e Van der Spoel [57]

Interação	Monômero	Modelo-A	Modelo-B	Modelo-C
LHs				
Pep-Pep	0,88	3,50	4,95	4,62
Pep-água	46,90	24,74	29,45	27,54
R-R	0,46	1,42	2,63	2,82
R-F	0,36	0,93	0,81	0,81
F-F	0,07	1,18	1,51	1,50
R-água	38,13	21,86	25,00	24,34
F-água	8,74	4,30	4,45	4,43
Tempo de vida para as HBs				
Pep-Pep	0,48 ns	3,27 ns	3,02 ns	4,17 ns
Pep-água	11,23 ps	0,18 ns	0,23 ns	0,26 ns
R-R	0,49 ns	3,27 ns	2,74 ns	3,44 ns
R-F	0,47 ns	6,90 ns	3,82 ns	4,74 ns
F-F	1,76 ns	5,30 ns	2,80 ns	1,66 ns
R-água	10,67 ps	82,68 ps	0,15 ns	0,18 ns
F-água	13,49 ps	0,73 ns	0,69 ns	0,83 ns
ΔG [kJ/mol]				
Pep-Pep	19,86	24,59	24,39	25,19
Pep-água	10,52	17,33	18,05	18,30
R-R	19,87	24,59	24,15	24,91
R-F	19,75	26,44	24,97	25,51
F-F	23,06	25,78	24,20	22,91
R-água	10,40	15,47	16,92	17,36
F-água	10,98	20,88	20,73	21,18

CONCLUSÕES

Neste trabalho estudamos três modelos de membranas peptídicas formadas a partir de uma sequência de $R_2F_4R_2$ mostrando que os três processos levam a estruturas semelhantes. Realizamos simulações de DM de 100 *ns* e analisamos propriedades estruturais e energéticas das membranas e a estrutura e dinâmica das ligações de hidrogênio.

Os resultados mostraram que os modelos simulados possuem uma compactação final de 1,11; 1,04 e 1,08 peptídeo/nm² para os Modelos-A, B e C. Podemos observar que o Modelo-A possui uma estrutura mais compacta e assim menos hidratada enquanto o Modelo-B possui um maior espaçamento entre seus peptídeos, o que facilita a hidratação do material.

A partir do programa SuAVE fizemos uma análise da superfície da membrana, possibilitando uma estimativa da espessura dos modelos estudados, a partir desta análise foi possível concluir que o Modelo-C tem uma maior rugosidade superficial enquanto o Modelo-A apresenta uma menor rugosidade. Nossos resultados para a espessura foram de 2,28; 2,25 e 2,32 *nm* para os Modelos-A, B e C, que mostraram desacordo com os resultados experimentais de 3,2 – 4,5 *nm*. A partir deste resultado é possível questionar que o experimento observa uma membrana em forma de bicamadas.

Para a energia de interação, destaca-se o valor médio obtido para a energia de Coulomb, principalmente entre peptídeos e íons. Em relação à energia total, o Modelo-A possui maior energia enquanto os Modelos-B e C apresentam a menor energia, destacando-se como estruturas energeticamente mais favoráveis. A interação entre as argininas (R) mostram que o Modelo-A possuem uma superfície mais compacta e maior interação entre as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, além de apresentar menor interação com a água (menos hidratada). Por outro lado, o Modelo-B apresenta mais interações com a água e

entre as fenilalaninas (F) do que os demais, facilitando a abertura dos canais de hidratação.

O perfil de densidade também foi analisado, observamos inicialmente a densidade superficial de carga elétrica, que mostraram resultados iguais a 3,56; 3,33 e 3,46 $\times 10^{-13}C/nm^2$ na superfície da membrana. Os resultados obtidos para o momento de dipolo mostraram que o valor médio da propriedade pode ser reduzido devido a presença de íons.

A partir do perfil de densidade de massa também foi possível analisar a espessura da membrana, obtendo valores próximos a 2,47; 2,14 e 2,22 *nm*, que são em até 7,7% diferentes do encontrado a partir do programa SuAVE. A partir destes resultados para a espessura foi proposto o modelo de bicamada que foi simulado e encontrada uma espessura de cerca de 3,95 *nm*. Outro resultado obtido usando o perfil de densidade de massa, nas direções X e Y, mostram como é o arranjo molecular das estruturas, uma estimativa da separação laminar no eixo X da estrutura está em torno de 0,77 para o Modelo A e vai até 0,93 para o modelo C e para a separação laminar no eixo Y temos valores que vão de 0,84 para o Modelo A e 1,16 para o Modelo B, o que mostra que os resultados estão de acordo com o relatado no artigo de referência [11].

Estudamos também o MSD que nos mostra a mobilidade dos peptídeos que compõem a membrana. Foram encontrados valores de 0,1080; 0,0321 e 0,0149 $\times 10^{-5}$ *cm/s* para os Modelos-A, B e C, mostrando que o Modelo-C tem o menor valor do MSD e assim tem uma estrutura mais coesa.

Os resultados para as ligações de hidrogênio mostram que o Modelo-A é a nanoestrutura com menos interação com a água, pois são formadas 21,71 ligações de hidrogênio (por peptídeo) entre os peptídeos e a água em comparação com os outros Modelos-B e C. O Modelo-A também é a estrutura com menos número de LHs entre fenilalanina (F) e água, destacando-se por ser o modelo com menor hidratação. Por outro lado, o Modelo-B apresenta maior interação entre peptídeos e água, o que indica que este modelo possui mais ligações de hidrogênio entre as fenilalaninas. O tempo de vida e o valor da energia de corte das LHs são de grande importância para a estabilidade da nanoestrutura e apresentam valores entre 2,2 e 2,5 ns para os peptídeos e em torno de 23 *kJ/mol*, mostrando que as LHs são importantes na manutenção da nanoestrutura mantendo sua estabilidade. Para as ligações de hidrogênio para ângulos até 40° os resultados mostraram que para as interações peptídeo-peptídeo e peptídeo-água houve um aumento no número médio de HBs e também para o tempo de vida da HB.


Este trabalho teve início na graduação através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação - PIBITI, sendo reconhecido como o 2º melhor trabalho no Prêmio UFG de iniciação a pesquisa. No mestrado o assunto foi aprofundado e gerou um artigo na *Journal of Molecular Liquids* [76], disponível no Apêndice A.

APÊNDICES

TRABALHO DESENVOLVIDO

Neste apêndice está apresentado o trabalho que foi desenvolvido durante o mestrado e está relacionado à essa dissertação. O artigo denominado *Modeling, energetic and structural analysis of peptide membranes formed by arginine and phenylalanine ($R_2F_4R_2$) using fully atomistic molecular dynamics* tem como autores Karinna Mendanha, Leonardo Bruno Assis Oliveira e Guilherme Colherinhas.


Journal of Molecular Liquids 367 (2022) 120498




Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Molecular Liquids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/molliq



Modeling, energetic and structural analysis of peptide membranes formed by arginine and phenylalanine ($R_2F_4R_2$) using fully atomistic molecular dynamics 

Karinna Mendanha^a, Leonardo Bruno Assis Oliveira^b, Guilherme Colherinhas^{a,*}

^aInstituto de Física, Universidade Federal de Goiás, 74690-900 Goiânia, GO, Brazil
^bDepartamento de Física, CEPAE, Universidade Federal de Goiás, 74690-900 Goiânia, GO, Brazil

<p>ARTICLE INFO</p> <p><i>Article history:</i> Received 6 July 2022 Revised 23 September 2022 Accepted 27 September 2022 Available online 3 October 2022</p> <p><i>Keywords:</i> Molecular Dynamics Peptide Hydrophilicity H-bond HB-Lifetime</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>The use of computational resources for modeling organic nanostructures from peptides has an incredible potential to elucidate fundamental characteristics that guide molecular interactions and that collaborate with the understanding of the self-assembly process of these materials. In this work we describe a structural and energetic study of a membrane formed by the sequence $R_2F_4R_2$ using molecular dynamics. Our simulations were carried out exploring three forms of juxtaposition between the peptides that shape the organic nanostructure. They also show that the three forms of organization are viable during the self-assembly process leading to similar structures. Our results reinforce the importance of hydrogen bonds and the correct characterization of the hydrophobic and hydrophilic structure of the peptide in the nanomembrane idealization process (especially bola-amphiphile peptides). Our results obtained by molecular dynamics indicate that the thickness of the peptide sheets observed experimentally may be related to the superposition of monolayer membranes with thicknesses close to 2.3 nm, characterizing multilaminar membranes with thicknesses close to 4 nm in full agreement with experimental data.</p> <p style="text-align: right;">© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.</p>
---	---

Figura A.1: Primeira página do artigo *Modeling, energetic and structural analysis of peptide membranes formed by arginine and phenylalanine ($R_2F_4R_2$) using fully atomistic molecular dynamics*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] SOUSA, E. R. de; ANDRADE, D. X. de; COLHERINHAS, G. EF₄K bola-amphiphilic peptide nanomembrane: structural, energetic and dynamic properties using molecular dynamics. **Journal of Molecular Liquids**, v. 368, p. 120651, 2022. ISSN 0167-7322. Citado 3 vezes nas páginas 7, 15 e 16.
- [2] ANDRADE, D.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Design and analysis of polypeptide nanofiber using full atomistic molecular dynamic. **Journal of Molecular Liquids**, v. 302, p. 112610, 2020. ISSN 0167-7322. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 15.
- [3] NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. [S.l.]: Artmed Editora, 2018. Citado 11 vezes nas páginas 7, 12, 13, 14 e 16.
- [4] VERLI, H. Dinâmica molecular. **Bioinformática: da biologia à flexibilidade molecular. Cap. 8, p. 173-187**, 2014. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 22.
- [5] LEACH, A. R.; LEACH, A. R. **Molecular modelling: principles and applications**. [S.l.]: Pearson education, 2001. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 25.
- [6] ANDRADE, D. X. d. et al. **Versatilidade estrutural de aminoácidos agregados: design de nanomateriais orgânicos via dinâmica molecular**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Goiás, 2022. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 25.
- [7] SANTOS, D. E. S.; PONTES, F. J. S.; LINS, R. D.; COUTINHO, K.; SOARES, T. A. Suave: A tool for analyzing curvature-dependent properties in chemical interfaces. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 2, p. 473–484, 2020. Citado 5 vezes nas páginas 8, 32, 39 e 45.
- [8] MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. [S.l.: s.n.], 1999. Citado 3 vezes nas páginas 12 e 13.
- [9] REIS, R. C. N. dos. **Síntese de Surfactantes Derivados da D-ribonolactona**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Juiz de Fora, 2007. Citado na página 16.
- [10] EDWARDS-GAYLE, C. J.; CASTELLETTO, V.; HAMLEY, I. W.; BARRETT, G.; GRECO, F.; HERMIDA-MERINO, D.; RAMBO, R. P.; SEITSONEN, J.; RUOKOLAINEN, J. Self-assembly, antimicrobial activity, and membrane interactions of arginine-capped peptide bola-amphiphiles. **ACS applied bio materials**, ACS Publications, v. 2, n. 5, p. 2208–2218, 2019. Citado na página 16.
- [11] MELLO, L. R.; AGUIAR, R. B.; YAMADA, R. Y.; MORAES, J. Z.; HAMLEY, I. W.; ALVES, W. A.; REZA, M.; RUOKOLAINEN, J.; SILVA, E. R. Amphipathic design dictates self-assembly, cytotoxicity and cell uptake of arginine-rich surfactant-like

- peptides. **J. Mater. Chem. B**, The Royal Society of Chemistry, v. 8, p. 2495–2507, 2020. Citado 13 vezes nas páginas 17, 19, 30, 31, 39, 45, 46, 47, 50 e 58.
- [12] WANG, Y.; KAUR, K.; SCANNELLI, S. J.; BITTON, R.; MATSON, J. B. Self-assembled nanostructures regulate h2s release from constitutionally isomeric peptides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 140, n. 44, p. 14945–14951, 2018. PMID: 30369241. Citado na página 17.
- [13] CUI, H.; CHEETHAM, A. G.; PASHUCK, E. T.; STUPP, S. I. Amino acid sequence in constitutionally isomeric tetrapeptide amphiphiles dictates architecture of one-dimensional nanostructures. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 35, p. 12461–12468, 2014. Citado na página 17.
- [14] CHMIELEWSKI, R.; FRANK, J. Biofilm formation and control in food processing facilities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, n. 1, p. 22–32. Citado na página 17.
- [15] KIRMUSAOĞLU, S. Staphylococcal biofilms: Pathogenicity, mechanism and regulation of biofilm formation by quorum-sensing system and antibiotic resistance mechanisms of biofilm-embedded microorganisms. In: DHANASEKARAN, D.; THAJUDDIN, N. (Ed.). **Microbial Biofilms**. Rijeka: IntechOpen, 2016. cap. 10. Citado na página 17.
- [16] BJARNSHOLT, T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. **APMIS**, v. 121, n. s136, p. 1–58. Citado na página 17.
- [17] EDWARDS-GAYLE, C. J. C.; BARRETT, G.; ROY, S.; CASTELLETTO, V.; SEITSONEN, J.; RUOKOLAINEN, J.; HAMLEY, I. W. Selective antibacterial activity and lipid membrane interactions of arginine-rich amphiphilic peptides. **ACS Applied Bio Materials**, v. 3, n. 2, p. 1165–1175, 2020. Citado na página 17.
- [18] MALASPINA, T.; COLHERINHAS, G.; OUTI, F. de O.; FILETI, E. E. Assessing the interaction between surfactant-like peptides and lipid membranes. **RSC Adv.**, The Royal Society of Chemistry, v. 7, p. 35973–35981, 2017. Citado na página 17.
- [19] RAMOS-MARTÍN, F.; HERRERA-LEÓN, C.; ANTONIETTI, V.; SONNET, P.; SARAZIN, C.; D'AMELIO, N. Antimicrobial peptide K11 selectively recognizes bacterial biomimetic membranes and acts by twisting their bilayers. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 1, 2021. Citado na página 17.
- [20] KHURSHID, Z. Human oral defensins antimicrobial peptides: A future promising antimicrobial drug. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 10, p. 1130–1137, 2018. Citado na página 17.
- [21] COLHERINHAS, G.; MALASPINA, T.; FILETI, E. E. Storing energy in biodegradable electrochemical supercapacitors. **ACS Omega**, v. 3, n. 10, p. 13869–13875, 2018. Citado na página 17.
- [22] CASTELLETTO, V.; EDWARDS-GAYLE, C. J. C.; HAMLEY, I. W.; BARRETT, G.; SEITSONEN, J.; RUOKOLAINEN, J. Peptide-stabilized emulsions and gels from an arginine-rich surfactant-like peptide with antimicrobial activity. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 11, n. 10, p. 9893–9903, 2019. Citado na página 17.

- [23] CASTELLETTO, V.; BARNES, R. H.; KARATZAS, K.-A.; EDWARDS-GAYLE, C. J. C.; GRECO, F.; HAMLEY, I. W.; RAMBO, R.; SEITSONEN, J.; RUOKOLAINEN, J. Arginine-containing surfactant-like peptides: Interaction with lipid membranes and antimicrobial activity. **Biomacromolecules**, v. 19, n. 7, p. 2782–2794, 2018. Citado na página 17.
- [24] RISHI, P.; VASHIST, T.; SHARMA, A.; KAUR, A.; KAUR, A.; KAUR, N.; KAUR, I. P.; TEWARI, R. Efficacy of designer K11 antimicrobial peptide (a hybrid of melittin, cecropin A1 and magainin 2) against *Acinetobacter baumannii*-infected wounds. **Pathogens and Disease**, v. 76, n. 7, 09 2018. Citado na página 17.
- [25] GERBELLI, B. B.; OLIVEIRA, C. L. P.; SILVA, E. R.; HAMLEY, I. W.; ALVES, W. A. Amyloid formation by short peptides in the presence of dipalmitoylphosphatidylcholine membranes. **Langmuir**, v. 36, n. 48, p. 14793–14801, 2020. Citado 2 vezes nas páginas 17 e 18.
- [26] SILVA, E. R.; LISTIK, E.; HAN, S. W.; ALVES, W. A.; SOARES, B. M.; REZA, M.; RUOKOLAINEN, J.; HAMLEY, I. W. Sequence length dependence in arginine/phenylalanine oligopeptides: Implications for self-assembly and cytotoxicity. **Biophysical Chemistry**, v. 233, p. 1–12, 2018. ISSN 0301-4622. Citado na página 18.
- [27] ANDRADE, D.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Design and analysis of polypeptide nanofiber using full atomistic molecular dynamic. **Journal of Molecular Liquids**, v. 302, p. 112610, 2020. ISSN 0167-7322. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 19.
- [28] ANDRADE, D.; COLHERINHAS, G. A6h polypeptide membranes: Molecular dynamics simulation, GIAO-DFT-NMR and TD-DFT spectroscopy analysis. **Journal of Molecular Liquids**, v. 316, p. 113850, 2020. ISSN 0167-7322. Citado 3 vezes nas páginas 18, 19 e 38.
- [29] ANDRADE, D.; COLHERINHAS, G. The influence of polar and non-polar interactions on the self-assembly of peptide nanomembranes and their applications: An atomistic study using classical molecular dynamics. **Journal of Molecular Liquids**, v. 318, p. 114263, 2020. ISSN 0167-7322. Citado 6 vezes nas páginas 18, 19, 33, 40, 45 e 49.
- [30] DILIP, H.; CHAKRABORTY, D. Structural and dynamical properties of water in surfactant-like peptide-based nanotubes: Effect of pore size, tube length and charge. **Journal of Molecular Liquids**, v. 323, p. 115033, 2021. ISSN 0167-7322. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 19.
- [31] ANDRADE, D.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Elucidating NH₂-I3V3A3G3K3-COOH and NH₂-K3G3A3V3I3-COOH polypeptide membranes: A classical molecular dynamics study. **Journal of Molecular Liquids**, v. 279, p. 740–749, 2019. ISSN 0167-7322. Citado 4 vezes nas páginas 18, 19, 33 e 38.
- [32] MALASPINA, T.; FILETI, E. E.; COLHERINHAS, G. Elucidating the stability of bolaamphiphilic polypeptide nanosheets using atomistic molecular dynamics. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, The Royal Society of Chemistry, v. 19, p. 31921–31928, 2017. Citado 4 vezes nas páginas 18, 33, 38 e 49.

- [33] COLHERINHAS, G.; FILETI, E. Molecular dynamics study of surfactant-like peptide based nanostructures. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 42, p. 12215–12222, 2014. Citado 4 vezes nas páginas 18, 19, 33 e 49.
- [34] 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 6 vezes nas páginas 18, 19, 30, 33 e 49.
- [35] CHEVROT, G.; FILETI, E. E.; CHABAN, V. V. Enhanced stability of the model mini-protein in amino acid ionic liquids and their aqueous solutions. **Journal of Computational Chemistry**, Wiley Online Library, v. 36, n. 27, p. 2044–2051, 2015. Citado na página 18.
- [36] NIKOOFARD, N.; MAGHSOODI, F. Dynamic stability of nano-fibers self-assembled from short amphiphilic A₆D peptides. **The Journal of Chemical Physics**, v. 148, n. 13, p. 134903, 2018. Citado na página 18.
- [37] HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. O. Molecular dynamics simulation for all. **Neuron**, Elsevier, v. 99, n. 6, p. 1129–1143, 2018. Citado na página 18.
- [38] ANDRADE, D. X. de; ALVES, E. D.; ALMEIDA, A. R. de; COLHERINHAS, G. Laminar peptide structure: Energetic and structural evaluation using molecular dynamics. **Journal of Molecular Liquids**, v. 341, p. 117261, 2021. ISSN 0167-7322. Citado na página 19.
- [39] ALVES, E. D.; de Andrade, D. X.; de Almeida, A. R.; COLHERINHAS, G. Atomistic molecular dynamics study on the influence of high temperatures on the structure of peptide nanomembranes candidates for organic supercapacitor electrode. **Journal of Molecular Liquids**, v. 334, p. 116126, 2021. ISSN 0167-7322. Citado 5 vezes nas páginas 19, 30, 37 e 49.
- [40] EDWARDS-GAYLE, C. J. C.; BARRETT, G.; ROY, S.; CASTELLETTO, V.; SEITSONEN, J.; RUOKOLAINEN, J.; HAMLEY, I. W. Selective antibacterial activity and lipid membrane interactions of arginine-rich amphiphilic peptides. **ACS Applied Bio Materials**, v. 3, n. 2, p. 1165–1175, 2020. Citado na página 19.
- [41] TAKANO, K.; SCHOLTZ, J. M.; SACCHETTINI, J. C.; PACE, C. N. The contribution of polar group burial to protein stability is strongly context-dependent. **Journal of Biological Chemistry**, ASBMB, v. 278, n. 34, p. 31790–31795, 2003. Citado na página 19.
- [42] MOORE, A. N.; HARTGERINK, J. D. Self-assembling multidomain peptide nanofibers for delivery of bioactive molecules and tissue regeneration. **Accounts of Chemical Research**, v. 50, n. 4, p. 714–722, 2017. Citado na página 19.
- [43] ALVES, E. D.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Understanding the stability of polypeptide membranes in ionic liquids: a theoretical molecular dynamics study. **New J. Chem.**, The Royal Society of Chemistry, v. 43, p. 10151–10161, 2019. Citado 3 vezes nas páginas 19, 33 e 49.

- [44] PRADO, R. C.; COLHERINHAS, G.; OLIVEIRA, L. B. A. Spectroscopic properties and solute–solvent structural analyses for ANR polypeptides in water solution: a sequential monte carlo/quantum mechanics (S-MC/QM) theoretical study. **New J. Chem.**, The Royal Society of Chemistry, v. 42, p. 19692–19700, 2018. Citado na página 19.
- [45] ALVES, E. D.; ANDRADE, D. X. de; ALMEIDA, A. R. de; COLHERINHAS, G. Molecular dynamics study of hydrogen bond in peptide membrane at 150–300 K. **Journal of Molecular Liquids**, v. 349, p. 118165, 2022. ISSN 0167-7322. Citado 3 vezes nas páginas 19, 30 e 49.
- [46] VERLET, L. Computer "experiments" on classical fluids. i. thermodynamical properties of lennard-jones molecules. **Phys. Rev.**, American Physical Society, v. 159, p. 98–103, Jul 1967. Citado 3 vezes nas páginas 21 e 22.
- [47] SWOPE, W. C.; ANDERSEN, H. C.; BERENS, P. H.; WILSON, K. R. A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters. **The Journal of Chemical Physics**, v. 76, n. 1, p. 637–649, 1982. Citado na página 21.
- [48] BROOKS, B. R.; BRUCCOLERI, R. E.; OLAFSON, B. D.; STATES, D. J.; SWAMINATHAN, S. a.; KARPLUS, M. CHARMM: a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. **Journal of computational chemistry**, Wiley Online Library, v. 4, n. 2, p. 187–217, 1983. Citado na página 25.
- [49] BROOKS, B. R.; III, C. L. B.; JR, A. D. M.; NILSSON, L.; PETRELLA, R. J.; ROUX, B.; WON, Y.; ARCHONTIS, G.; BARTELS, C.; BORESCH, S. CHARMM: the biomolecular simulation program. **Journal of computational chemistry**, Wiley Online Library, v. 30, n. 10, p. 1545–1614, 2009. Citado 7 vezes nas páginas 25 e 26.
- [50] COLHERINHAS, G. Updating atomic charge parameters of aliphatic amino acids: a quest to improve the performance of molecular modeling via sequential molecular dynamics and DFT-GIAO-NMR calculations. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, The Royal Society of Chemistry, v. 23, p. 8413–8425, 2021. Citado na página 27.
- [51] COLHERINHAS, G. Update of CHARMM36's atomic charges for aromatic amino acids in water solution simulations and spectroscopy analysis via sequential molecular dynamics and DFT calculations. **Journal of Molecular Liquids**, v. 321, p. 114739, 2021. ISSN 0167-7322. Citado na página 27.
- [52] HUANG, J.; JR, A. D. M. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data. **Journal of Computational Chemistry**, v. 34, n. 25, p. 2135–2145. Citado na página 27.
- [53] OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Can CHARMM36 atomic charges described correctly the interaction between amino acid and water molecules by molecular dynamics simulations? **Journal of Molecular Liquids**, v. 317, p. 113919, 2020. ISSN 0167-7322. Citado na página 27.
- [54] HUANG, J.; RAUSCHER, S.; NAWROCKI, G.; RAN, T.; FEIG, M.; GROOT, B. L. D.; GRUBMÜLLER, H.; MACKERELL, A. D. CHARMM36m: an improved force

field for folded and intrinsically disordered proteins. **Nature methods**, Nature Publishing Group, v. 14, n. 1, p. 71–73, 2017. Citado na página 27.

[55] LUZAR, A. Resolving the hydrogen bond dynamics conundrum. **The Journal of Chemical Physics**, v. 113, n. 23, p. 10663–10675, 2000. Citado 2 vezes nas páginas 27 e 50.

[56] LUZAR, A.; CHANDLER, D. Hydrogen-bond kinetics in liquid water. **Nature**, Nature Publishing Group, v. 379, n. 6560, p. 55–57, 1996. Citado 3 vezes nas páginas 27, 28 e 50.

[57] SPOEL, D. van der; MAAREN, P. J. van; LARSSON, P.; TİMNEANU, N. Thermodynamics of hydrogen bonding in hydrophilic and hydrophobic media. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 9, p. 4393–4398, 2006. Citado 8 vezes nas páginas 27, 50, 51, 52, 54 e 56.

[58] BEST, R. B.; ZHU, X.; SHIM, J.; LOPES, P. E. M.; MITTAL, J.; FEIG, M.; MACKERELL, A. D. 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**, v. 8, n. 9, p. 3257–3273, 2012. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 32.

[59] FUHRHOP, J.-H.; WANG, T. Bolaamphiphiles. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 6, p. 2901–2938, 2004. Citado na página 31.

[60] SILVA, E. R. da; WALTER, M. N. M.; REZA, M.; CASTELLETTO, V.; RUOKOLAINEN, J.; CONNOR, C. J.; ALVES, W. A.; HAMLEY, I. W. Self-assembled arginine-capped peptide bolaamphiphile nanosheets for cell culture and controlled wettability surfaces. **Biomacromolecules**, v. 16, n. 10, p. 3180–3190, 2015. Citado na página 31.

[61] HAMLEY, I. W.; BURHOLT, S.; HUTCHINSON, J.; CASTELLETTO, V.; SILVA, E. R. da; ALVES, W.; GUTFREUND, P.; PORCAR, L.; DATTANI, R.; HERMIDA-MERINO, D.; NEWBY, G.; REZA, M.; RUOKOLAINEN, J.; STASIAK, J. Shear alignment of bola-amphiphilic arginine-coated peptide nanotubes. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 1, p. 141–149, 2017. Citado na página 31.

[62] MARTÍNEZ, L.; ANDRADE, R.; BIRGIN, E. G.; MARTÍNEZ, J. M. Packmol: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 13, p. 2157–2164. Citado na página 31.

[63] ABRAHAM, M. J.; MURTOLA, T.; SCHULZ, R.; PÁLL, S.; SMITH, J. C.; HESS, B.; LINDAHL, E. Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1-2, p. 19–25, 2015. ISSN 2352-7110. Citado 3 vezes nas páginas 32, 33 e 49.

[64] JORGENSEN, W. L.; CHANDRASEKHAR, J.; MADURA, J. D.; IMPEY, R. W.; KLEIN, M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983. Citado na página 32.

[65] DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh ewald: An $n\log(n)$ method for ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993. Citado na página 32.

- [66] PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics**, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, 1981. Citado na página 33.
- [67] BUSSI, G.; DONADIO, D.; PARRINELLO, M. Canonical sampling through velocity rescaling. **The Journal of Chemical Physics**, v. 126, n. 1, p. 014101, 2007. Citado na página 33.
- [68] HESS, B.; BEKKER, H.; BERENDSEN, H. J. C.; FRAAIJE, J. G. E. M. Lincs: A linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 1463–1472. Citado na página 33.
- [69] 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**, v. 122, n. 42, p. 24445–24453, 2018. Citado 4 vezes nas páginas 33, 40, 45 e 49.
- [70] VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. ISSN 0263-7855. Citado na página 33.
- [71] 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, v. 315, p. 113698, 2020. Citado na página 38.
- [72] BOUQUIAUX, C.; CASTET, F.; CHAMPAGNE, B. Unravelling the effects of cholesterol on the second-order nonlinear optical responses of di-8-anepps dye embedded in phosphatidylcholine lipid bilayers. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 125, n. 36, p. 10195–10212, 2021. Citado na página 38.
- [73] ALMEIDA, A. R. de; ANDRADE, D. X. de; COLHERINHAS, G. Statistical and energetic analysis of hydrogen bonds in short and long peptide nanotapes/nanofibers using molecular dynamics simulations. **Journal of Molecular Liquids**, v. 359, p. 119308, 2022. ISSN 0167-7322. Citado 5 vezes nas páginas 40, 52 e 54.
- [74] MARTINS, T. D.; SOUZA, M. I. de; CUNHA, B. B.; TAKAHASHI, P. M.; FERREIRA, F. F.; SOUZA, J. A.; FILETI, E. E.; ALVES, W. A. Influence of pH and pyrenyl on the structural and morphological control of peptide nanotubes. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 16, p. 7906–7913, 2011. Citado na página 43.
- [75] ALLEN, M.; TILDESLEY, D. **Computer Simulation of Liquids**. [S.l.]: Clarendon Press, 1987. Citado na página 49.
- [76] MENDANHA, K.; OLIVEIRA, L. B. A.; COLHERINHAS, G. Modeling, energetic and structural analysis of peptide membranes formed by arginine and phenylalanine (R2F4R2) using fully atomistic molecular dynamics. **Journal of Molecular Liquids**, v. 367, p. 120498, 2022. Citado na página 59.