



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

KEILA CRISTINA CUNHA E SILVA

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE BIOMIMÉTICOS
DE INTERESSE BIOMÉDICO E NANOTECNOLÓGICO:
PEPTÓIDES E CATECÓIS**

**RECIFE
2016**

KEILA CRISTINA CUNHA E SILVA

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE BIOMIMÉTICOS
DE INTERESSE BIOMÉDICO E NANOTECNOLÓGICO:
PEPTÓIDES E CATECÓIS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutora em Química.

Área de concentração: Química Teórica

Orientador: Prof. Dr. Roberto Dias Lins

RECIFE
2016

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc Leão Salvador CRB 4-572

S586s Silva, Keila Cristina Cunha e.
Simulação computacional de biomiméticos de interesse biomédico e nanotecnológico: Peptídeos e Catecóis / Keila Cristina Cunha e Silva. – 2016.
114 f.: fig., tab.

Orientador: Roberto Dias Lins.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química. Recife, 2016.
Inclui referências.

1. Físico-química. 2. Dinâmica molecular. 3. Peptídeos. 4. Catecóis.
I. Lins, Roberto Dias (Orientador). II. Título.

541.3 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2016-54

KEILA CRISTINA CUNHA E SILVA

***SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE BIOMIMÉTICOS DE INTERESSE
BIOMÉDICO E NANOTECNOLÓGICO: PEPTÓIDES E CATECÓIS***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovada em: 21/10/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^o Roberto Dias Lins Neto,
Departamento de Virologia
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ

Prof^o Luiz Carlos Gomide Freitas
Departamento de Química
Universidade Federal de São Carlos

Prof^o Helcio José Batista
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^o Ernesto Azevedo Torres Marques Junior
University of Pittsburgh
Center for Vaccine Research

Prof^o Alfredo Mayall Simas
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Roberto Dias Lins pela orientação, dedicação e ensinamentos.

Aos meus amigos de laboratório, Carlos, Danilo, Laércio, Matheus e Marjorie pela companhia e amizade.

Aos colaboradores da Fiocruz-PE que me inspiraram no desenvolvimento de parte deste projeto de pesquisa.

Aos demais pesquisadores da Fiocruz-PE cuja companhia é sempre tão agradável.

À Joan, Kollbe e Zach por terem me acolhido tão bem na UCSB, me auxiliado durante minhas pesquisas e pelas oportunidades oferecidas.

Às minhas irmãs Priscila, Ellen e Kelly pelo carinho e apoio.

Aos meus pais pelo esforço que sempre fizeram pela minha educação, por me fornecerem condições de chegar até aqui e pelo amor incondicional.

A todos os meus familiares pelo apoio e incentivo.

Ao CNPq e FACEPE pelo apoio financeiro para realização desse trabalho.

A todos que de alguma forma estiveram presentes em minha jornada e contribuíram para a realização deste trabalho.

“A vida sem ciência é uma espécie de morte.”

(Sócrates)

RESUMO

Materiais bionspirados em peptídeos e proteínas possuem ampla diversidade de aplicações científicas e tecnológicas. Este trabalho se concentrou na descrição de propriedades dinâmicas e conformacionais de dois biomiméticos: peptóides e catecóis. Peptóides são oligômeros de glicinas N-substituídas de interesse biológico devido à resistência a proteases, maior estabilidade térmica, ambiental e facilidade de síntese, em comparação a peptídeos. Todavia, os desafios à aplicação de peptóides são devidos a flexibilidade ocasionada pela perda das ligações de hidrogênio intra-cadeia principal e interconversão cis/trans à temperatura ambiente. A simulação molecular clássica de peptóides tem sido limitada pelos campos de força existentes que não permitem a rotação interna da ligação amida sem o uso de técnicas para melhorar a amostragem. Neste trabalho foi desenvolvido um conjunto de parâmetros para a simulação de peptóides que permitiu descrever corretamente as populações conformacionais cis/trans de unidades monoméricas, em comparação a dados de RMN. As simulações de oligômeros mostraram estruturas bastante flexíveis, não condizentes com conclusões propostas a partir de espectros de dicroísmo circular, que tem atribuído estruturas helicoidais a estes oligômeros. Os resultados sugerem que as transições eletrônicas favorecidas pelas conformações cis são as principais responsáveis pelos espectros obtidos. Adicionalmente, simulações por dinâmica molecular foram utilizadas para caracterizar a adsorção de moléculas catecóis em superfícies minerais. Proteínas de pés de mexilhões inspiraram nossos colaboradores na síntese de dois tipos de moléculas: iniciadores acrilatos para aplicação em resinas odontológicas e surfactantes zwitteriônicos para transistores orgânicos de efeito de campo (OFETs). Dentre as moléculas sintetizadas, os catecóis apresentaram melhores resultados nas aplicações propostas e forte adesão a superfícies minerais. A modelagem molecular permitiu elucidar como mudanças na estrutura molecular de catecóis acrilatos e da superfície mineral afetaram a adsorção. Os nossos resultados mostraram ainda que a automontagem de monocamadas de catecóis zwitteriônicos é governada pelo balanço entre ligações de hidrogênio, interações entre anéis aromáticos e dessolvatação da superfície mineral.

Palavras-chave: Peptóides. Catecóis. Campo de força. Dinâmica molecular.

ABSTRACT

Peptides and proteins bioinspired materials have wide range of scientific and technological applications. This work has focused on the description of dynamic and conformational properties of two biomimetics: peptoids and catechols. Peptoids are N-substituted glycine oligomers of biological interest due proteases resistance, higher thermal and environmental stability and easier synthesis, when compared to peptides. However, the flexibility caused by the lack of intra-backbone hydrogen bonds and cis/trans interconversion at room temperature represents the main challenge for applications based on structure-function relationship. Classical molecular simulation of peptoids has been limited by the existing force fields, which do not allow amide bond internal rotation without the use of enhanced sampling techniques. In this work, the development of a set of parameters for peptoids simulation allowed the correctly description of cis/trans conformational populations in monomeric units, when compared to NMR data. The oligomers simulations showed flexible structures and that are not consistent with the withdrawn conclusions from circular dichroism spectra that has attributed helical structures to these oligomers. The results suggested that electronic transitions favored by cis conformations are mainly responsible by the obtained spectra. In addition, molecular dynamics simulations were used to characterize the adsorption of catechol molecules on mineral surfaces. Mussel foot proteins inspired our coworkers to synthesize two types of molecules: acrylic primers for dental resins and zwitterionic surfactants for organic field effect transistors (OFETs). Among the synthesized molecules, catechols showed best results for the proposed applications and strongest adhesion on mineral surfaces. Molecular modeling allowed elucidating how changes in molecular structure of acrylic catechols and on mineral surface affected adsorption. Our results also showed that the self-assembling of zwitterionic catechol monolayers is governed by the balance between hydrogen bonds, interactions between aromatic rings and desolvation of the mineral surface.

Keywords: Peptoid. Catechol. Force field. Molecular dynamics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Esquema estrutural de a) α -peptídeo e b) α -peptóide.....	17
Figura 1.2 Representação esquemática de uma α -hélice de a) peptídeo e b) peptóide. Em vermelho estão circuladas as ligações de hidrogênio que mantêm a hélice peptídica.....	18
Figura 1.3 Isomerismo conformacional de a) peptídeos e b) peptóides. O diedro ω , cuja rotação origina os diferentes conformeros, está indicado na primeira figura.....	19
Figura 1.4 Representação da molécula de N,N-dimetilacetamida (DMA).....	20
Figura 1.5 a) Representação da interação $n \rightarrow \pi^*_{Am}$ entre grupos carbonilas capaz de estabilizar a trans-amida e b) interação $n \rightarrow \pi^*_{Ar}$ entre grupos carbonila e aromático que podem estabilizar a cis-amida. Retirado de[39].....	20
Figura 1.6 Representação dos parâmetros incluídos no campo de força CHARMM para peptóides. Retirada de [71].....	24
Figura 1.7 a) Mexilhão aderido a uma superfície rochosa através do bisso. b) Representação esquemática de uma placa bissal (base adesiva situada na extremidade de um filamento do bisso) e localização das proteínas mfp-1 a mfp-6.....	25
Figura 1.8 Representação do aminoácido 3,4-dihidroxifenil-L-alanina (Dopa, Y*)...11	
Figura 1.9 Estrutura química dos iniciadores de superfície sintetizados (P ₁ , P ₂ , P ₃ e P ₄) e iniciadores convencionais (MDP e Silano).....	29
Figura 1.10 Surfactante zwitteriônico com grupos funcionais catecol e benzeno (Z-cat-ben) ou benzeno-(CF ₃) ₂ (Z-cat-ben-F).....	31
Figura 3.1 Representação esquemática da implementação de um modelo para acetonitrila baseado nos parâmetros desenvolvidos por Guardia e colaboradores[138]. Os círculos azuis representam as partículas com massa e os círculos brancos os sítios virtuais. CM indica o centro de massa. Os valores descritos em azul representam as massas (em unidades de massa atômica); os valores em preto representam as distâncias (em nanômetros).....	47
Figura 3.2 Representação de a) núcleo amida em estruturas de peptóides b) átomos em cadeia lateral aromática de peptóides.....	51

Figura 3.3 Perfil rotacional do diedro ω para a molécula de DMA em vácuo, obtido por cálculos clássicos e quânticos.....	52
Figura 3.4 Estados de transição decorrentes da rotação interna da ligação amida. Retirada de [37].....	53
Figura 3.5 Evolução temporal do diedro ω para a molécula de DMA, utilizando os parâmetros GROMOS 53A6/54A7. Solvente: água a 298K.....	54
Figura 3.6 Evolução temporal do diedro ω para o DMA, utilizando-se os novos parâmetros torcionais para ω . Solvente: água a 298K.....	56
Figura 3.7 Descrição dos átomos envolvidos na rotação da ligação amida.....	56
Figura 3.8 Distribuição do diedro ω na molécula de DMA para as possíveis definições de diedro ω . O conjunto de parâmetros torcionais foram a) $K_{\omega} = 17 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definidos para um único conjunto de átomos ($C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$) e b) $K_{\omega} = 8.5 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definidos para dois conjuntos de átomos ($C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$ e $O - C - N - C_{\beta}$). Simulação em água a 298K por 200ns.....	58
Figura 3.9 Distribuição dos diedros impróprios $N - C - C_{\alpha} - C_{\beta}$ e $C - C_{\alpha} - O - N$ na molécula de DMA. Em vermelho: resultado a partir do conjunto de parâmetros torcionais $K_{\omega} = 17 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definido para $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$. Em preto: resultado a partir novo conjunto de parâmetros ($K_{\omega} = 8.5 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definido para $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$ e $O - C - N - C_{\beta}$). Simulação em água a 298K por 200ns.....	59
Figura 3.10 Definição dos ângulos diedros φ e ψ para a) peptídeo b) peptóide.....	60
Figura 3.11 Representação das moléculas de peptóides estudadas.....	61
Figura 3.12 Distribuição do ângulo diedro ω ao longo da simulação para as unidades monoméricas a) Nsch-me, b) Nspe-me e c) Npm-me.....	62
Figura 3.13 a) molécula de N,N-dimetilpropilamida b) perfil rotacional quântico e clássico do ângulo diedro φ	63
Figura 3.14 Distribuição temporal do ângulo diedro ω para as moléculas Nsch-dma, Nspe-dma, Nbut-am e Npm-am, representadas a esquerda de cada gráfico.....	65
Figura 3.15 Erro médio relativo ao percentual cis calculado através de cada campo de força, em relação aos valores obtidos por RMN.....	71

Figura 3.16 Gráficos de Ramachandran para as moléculas de peptóide, obtidos por simulações de 200ns a partir do campo de força FF1.....	73
Figura 3.17 Estrutura dos heptâmeros de peptóides a) (Nspe) ₇ b) (Npm) ₇ c) (Npm) ₄ (Nspe) ₃	76
Figura 3.18: Desvio quadrático médio das cadeias principais de heptâmeros peptóides em relação à cadeia principal de uma hélice PPI canônica.....	77
Figura 3.19 Clusters das estruturas obtidas ao longo da simulação com RMSD da cadeia principal dos 5 resíduos centrais em até 0.14nm.....	78
Figura 3.20 Distribuição conformacional do diedro ω em (Nspe) ₇ ; (Npm) ₄ (Nspe) ₃ e (Npm) ₇	79
Figura 3.21 Gráfico de Ramachandran para a) (Nspe) ₇ b) (Npm) ₇ c) (Npm) ₄ (Nspe) ₃	81
Figura 4.1 Perfis de densidade dos iniciadores ao longo do eixo normal à superfície mineral de a) sílica e b) mica. A posição das superfícies minerais (sílica e mica) nos gráficos é mostrada como modelo de esferas CPK, tal como ilustrado na parte inferior da figura.....	88
Figura 4.2 Função de distribuição radial de pares entre o centro de massa dos grupos aromáticos de cada molécula e os oxigênios da superfície mineral.....	89
Figura 4.3 Função de distribuição radial de pares entre: a) os centros de massa das moléculas P; b) os centros de massa formando pelos carbonos de anéis aromáticos.....	91
Figura 4.4 Função de distribuição radial de pares entre o oxigênio de cada hidroxila e os oxigênios da superfície mineral de a) sílica e b) mica. Representação das configurações preferidas por P ₃ adsorvida em c) sílica e d) mica. Os átomos estão apresentados em modelo de esferas CPK (legenda na parte inferior da figura).....	92
Figura 4.5 a) Histograma da distância média mínima <i>D</i> ao longo das simulações de P ₃ . b) Representação da distância <i>D</i> entre o plano formado pelos átomos de oxigênio da superfície mineral e o átomo de carbono C6.....	93
Figura 4.6 Representação esquemática do último <i>frame</i> (<i>t</i> = 1 μ s) obtido na simulação por dinâmica molecular das moléculas Z-Cat-Ben em superfície de sílica. Os átomos estão representados no modelo de esferas CPK (legenda na parte inferior da figura).....	97

Figura 4.7 Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio da superfície da sílica ($O_{\text{sílica}}$) e grupos selecionados: átomos de oxigênio dos grupos hidroxila em catecóis (Cat), átomo de fósforo (P) e átomo de nitrogênio (N). Análise realizada para a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F. A distância r foi definida entre os dois grupos na legenda.....	98
Figura 4.8 Perfil de densidade de a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F ao longo do eixo perpendicular à superfície de sílica. As curvas representam as densidades médias dos centros de massa de cada grupo em função da distância a uma superfície da monocamada de sílica. Cat e Ben representam, respectivamente, os grupos catecóis e benzeno (ou benzeno-(CF_3) ₂); P e N representam os átomos de fósforo e nitrogênio das moléculas zwitteriônicas e $O_{\text{água}}$ os átomos de oxigênio da água. A posição da superfície mineral nos gráficos é mostrada por uma representação da sílica em modelo molecular CPK (Si: amarelo; O: vermelho e H: branco).....	99
Figura 4.9 Número médio de moléculas de água, representadas pelos seus átomos de oxigênio ($O_{\text{água}}$), em torno de grupos selecionados em função da distância entre eles. Os grupos selecionados em moléculas zwitteriônicas foram: Cat: todos os átomos do grupo catecol; Ben: todos átomos do benzeno (ou benzeno-(CF_3) ₂); P: átomos de fósforo; N: átomos de nitrogênio. Análise para: a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F.....	101
Figura 4.10 Evolução temporal da distância média entre o plano formado pelos átomos de Si da superfície de sílica e o centro de massa dos grupos benzenos....	102
Figura 4.11 Distribuição do raio de giro bidimensional (no plano paralelo à superfície mineral) das moléculas a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F.....	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Sequências de aminoácidos das proteínas do bisso de mexilhões do gênero <i>Mytilus</i> [27].....	26
Tabela 3.1 Parâmetros de campo de força para modelos de acetonitrila com três sítios.....	48
Tabela 3.2. Propriedades da acetonitrila líquida obtidas experimentalmente e por dinâmica molecular de modelos com sítios virtuais.....	49
Tabela 3.3. Parâmetros eletrostáticos para o núcleo amida adicionados ao campo de força GROMOS 53A6.....	51
Tabela 3.4 Parâmetros associados ao potencial torcional do diedro ω	55
Tabela 3.5 Parâmetros que diferenciam os campos de força GROMOS 53A6 e GROMOS 54A7.....	60
Tabela 3.6 Percentual de populações conformacionais de unidades monoméricas de peptídeos.....	61
Tabela 3.7 Percentual de populações conformacionais de moléculas peptídeos.....	64
Tabela 3.8 Percentual conformacional cis obtido por 20 ns de metadinâmica (DM _{mt}) e 200 ns de dinâmica molecular (DM).....	67
Tabela 3.9 Conjunto de parâmetros presentes no GROMOS 53A6 e modificações que originaram diferentes campo de força.....	69
Tabela 3.10 Percentual da população conformacional cis a partir dos diferentes campos de força.....	70
Tabela 3.11 Regiões de bandas características em espectro de CD para estruturas secundárias de peptídeos e peptídeos.....	75
Tabela 4.1 Descrição dos sistemas simulados.....	83
Tabela 4.2 Coeficiente de difusão das moléculas P ao longo do eixo z e no plano xy.....	90

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ACN - Acetonitrila

AFM - Microscopia de força atômica

CD - Dicroísmo circular

DM - Dinâmica Molecular

DMA - N,N-dimetilacetamida

Dopa - 3,4-dihidroxifenil-L-alanina

HF - Hartree-Fock

MDP - 10-metacrilóiloxidecil-dihidrogenfosfato

mfp - *Mussel foot proteins*

MP2 - Teoria perturbacional de segunda ordem Møller Plesset

Ns1npe - N-(S)-1-(naftiletil)glicina

Nbut - N-(1-butil)glicina

Npm - N-(1-fenilmetil)glicina

NPT - Número de mols, pressão e temperatura constantes

Nsch - N-(S)-(1-cicloexiletil)glicina

Nspe - N-(S)-(1-feniletil)glicina

Nssb - N-(S)-(sec-butil)glicina

NVT - Número de mols, volume e temperatura constantes

OFETs - *Organic Field Effect Transistor*

PMA - Polimetacrilato

PME - *Particle-mesh Ewald*

PPI - Poliprolina tipo I

QCM-D - Microbalança de cristal de quartzo com dissipação

RMN - Ressonância magnética nuclear

RMSD - Desvio quadrático médio

SAMs - *Self-assembled monolayers*

SFA - Aparato de força de superfície

SPC - *Single point charge*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Peptóides.....	17
1.2 Catecóis adesivos.....	25
1.2.1 Iniciadores para resinas odontológicas.....	28
1.2.2 Monocamadas auto-montáveis.....	30
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	33
2.1 Mecânica molecular.....	34
2.2 Campo de força.....	34
2.2.1 Potencial de ligação.....	35
2.2.2 Potencial Harmônico Angular	35
2.2.3 Potencial Torcional	35
2.2.4 Potencial de Lennard-Jones.....	36
2.2.5 Potencial de Coulomb.....	37
2.3 Dinâmica Molecular.....	38
2.3.1 Algoritmo de integração <i>leap-frog</i>.....	39
2.3.2 Acoplamento de temperatura e pressão.....	39
2.3.3 Campo de reação.....	41
2.4 Metadinâmica	42
3 SIMULAÇÃO DE PEPTÓIDES.....	45
3.1 Modelos de solventes.....	45
3.1.1 Implementação e validação de modelo para acetonitrila.....	46
3.2 Simulações por dinâmica molecular.....	49
3.3 Parâmetros adicionados ao campo de força.....	50
3.4 Rotação interna da ligação amida.....	52
3.5 Rotação interna da ligação amida em monômeros de peptóides.....	59
3.6 Análise de convergência.....	66
3.7 Avaliação de novos parâmetros.....	68
3.8 Influência das cadeias laterais nas distribuições de diedros ϕ e ψ.....	72
3.9 Simulação de oligômeros.....	74

3.10 Conclusão.....	82
4 SIMULAÇÃO DE CATECÓIS EM SUPERFÍCIES MINERAIS.....	83
4.1 Adsorção de iniciadores catecóis acrilatos.....	83
4.1.1 Metodologia.....	83
4.1.1.1 Sistemas iniciais.....	84
4.1.1.2 Produção.....	85
4.1.2 Resultados e Discussão.....	87
4.1.3 Conclusão.....	94
4.2 Monocamadas auto-montáveis de catecóis zwitteriônicos.....	95
4.2.1 Metodologia.....	95
4.2.2 Resultados e Discussão.....	97
4.2.3 Conclusão.....	104
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	105
REFERÊNCIAS.....	106

1 INTRODUÇÃO

O termo biomimético refere-se ao estudo e imitação dos métodos, mecanismos e processos a partir de análogos biológicos[1]. A natureza oferece bons modelos para inspirar o desenvolvimento de novos materiais [2, 3]; dispositivos tecnológicos[1]; reações químicas; algoritmos computacionais e outros. Imitar modelos da natureza auxilia na compressão de diversos fenômenos e oferece um enorme potencial para a otimização de metodologias e desempenho de diversos dispositivos. Além disso, os métodos biomiméticos são frequentemente mais sustentáveis que métodos tradicionais[4-6]. A eficiência dos modelos oferecidos pela natureza deve-se a bilhões de anos de evolução. Todavia, apesar dos avanços obtidos pela biomimese, as tecnologias e materiais bioinspirados geralmente estão muito aquém dos equivalentes naturais[7].

Dentre os inúmeros tipos de miméticos inspirados na natureza, podemos citar o crescimento de minerais em matrizes que imitam sistemas biológicos[8]; nano fabricação de polímeros ativos inspirada pela morfogênese de organismos[9]; reações catalíticas inspiradas em reações metabólicas de seres vivos[5]; vacinas baseadas em epítomos inseridos em uma matriz proteica que mimetizam a estrutura de epítomos virais[10]; os miméticos estruturais de peptídeos[11, 12] e adesivos subaquáticos inspirados em proteínas de pés de mexilhões[13].

Em especial os miméticos de proteínas e peptídeos despertam interesse em diversas áreas, uma vez que estes biopolímeros são fundamentais no desempenho da maioria das funções biológicas. Tais funções são afetadas por fatores que frequentemente envolvem a estrutura secundária proteica[14]. A estabilidade estrutural de peptídeos e proteínas depende de fatores como o ambiente químico e temperatura. Além disso, a aplicação destes biopolímeros como agentes terapêuticos é limitada devido a suscetibilidade à protease enzimática[15]. Neste contexto, biomiméticos estruturais com maior estabilidade, tais como peptídeos, são potenciais alternativas às aplicações clínicas de proteínas.

Os peptídeos constituem uma promissora classe de biomiméticos por apresentarem maior resistência a proteases, estabilidade térmica e ambiental. Peptídeos tem alcançado bons resultados em diversas aplicações terapêuticas, como em anticâncer[16], antimelanogênico[17] e antibióticos de baixa citotoxicidade e alta eficiência, até mesmo contra bactérias multirresistentes[18, 19]. Foi também

demonstrado que a incorporação de unidades peptídicas em sequências peptídicas pode aumentar a eficácia de agentes terapêuticos[20]. Outra aplicação de peptídeos, favorecida pela sua maior resistência a proteases, é a de carreador celular[21, 22]. Estes oligômeros também são utilizados para diagnosticar doenças através da interação com anticorpos[23] ou mesmo como miméticos de anticorpos[24], como catalisadores[25], sensores[26] e diversas outras aplicações.

Outros biomiméticos de crescente demanda são moléculas adesivas catecóis inspiradas em proteínas de pés de mexilhões. Adesivos subaquáticos possuem grande diversidade de aplicações, tais como: biomédicas[27]; eletrônicas[28] e litográficas[29]. Apesar do avanço na síntese de adesivos para ambientes aquáticos, a aplicação destes é limitada ou inexistente para diversas áreas[13] e o desempenho de adesivos sintéticos ainda é muito inferior ao de proteínas de mexilhões[30].

Os desafios para o desenvolvimento e aplicação de biomiméticos são vários e o presente trabalho de tese se concentrou no estudo de dois tipos de materiais bioinspirados: peptídeos e catecóis adesivos, os quais serão descritos em maiores detalhes nas seções a seguir.

1.1 Peptídeos

Peptídeos constituem uma classe sintética de oligômeros cujas unidades monoméricas são glicinas N-substituídas. Deste modo, peptídeos são isômeros posicionais de peptídeos, divergindo pela posição da cadeia lateral, a qual encontra-se ligada ao átomo de nitrogênio em peptídeos e ao carbono- α da cadeia principal em peptídeos[31] (Figura 1.1).

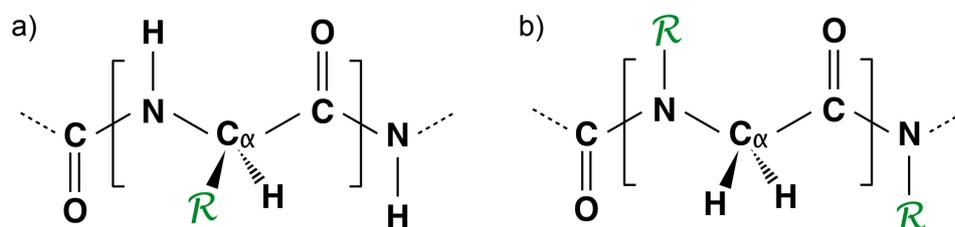


Figura 1.1 Esquema estrutural de a) α -peptídeo e b) α -peptídeo.

A mudança de posição da cadeia lateral para o nitrogênio faz com que o carbono- α deixe de ser um centro estereogênico. A perda de quiralidade na cadeia

principal de peptóides diminui a complexidade de sua síntese e viabiliza a incorporação de uma grande variedade de cadeias laterais. Além disso, as ligações de hidrogênio intra-cadeia principal, que são uma das principais responsáveis pela estabilização de estrutura secundária em peptídeos, estão ausentes em peptóides (Figura 1.2). Tal ausência confere aos mesmos maior resistência a proteases e estabilidade térmica, características responsáveis pelo bom desempenho de peptóides em vários fins terapêuticos[32]. Em contrapartida, a perda das ligações de hidrogênio aumenta a flexibilidade de estruturas de peptóides e também os desafios à sua aplicação.

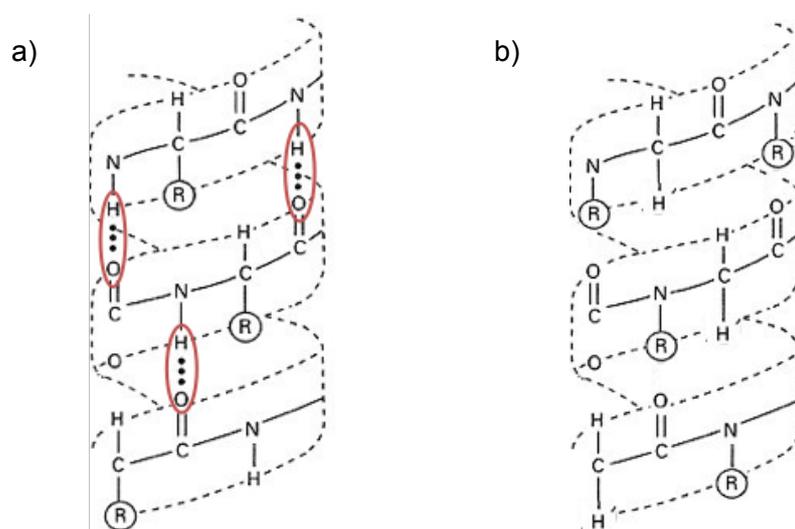


Figura 1.2 Representação esquemática de uma α -hélice de a) peptídeo e b) peptóide. Em vermelho estão circunscritas as ligações de hidrogênio que mantêm a hélice peptídica.

Outro fator que aumenta a flexibilidade de peptóides é a capacidade de rotação interna da ligação amida à temperatura ambiente. Em outras palavras, peptóides podem se interconverter nas conformações cis e trans através da torção do ângulo diedro ω (Figura 1.3a). Por razões estéricas, a cinética de interconversão cis/trans não é favorável em aminoácidos, os quais são encontrados majoritariamente na conformação trans e apresentam elevada barreira energética, em torno de 84 kJ.mol^{-1} [33, 34]. Apenas a prolina, devido ao menor impedimento estérico, pode ser encontrada na conformação cis, em proporções que dependem da sequência peptídica. O isomerismo conformacional da prolina apresenta barreira energética mais baixa, cerca de 54 kJ/mol e, tipicamente, não é favorecido à temperatura ambiente[35]. Em contraste, as conformações cis e trans em peptóides

podem ser significativamente populosas[36] (Figura 1.3), logo, espera-se que as respectivas barreiras energéticas de interconversão sejam menores que a apresentada pela prolina.

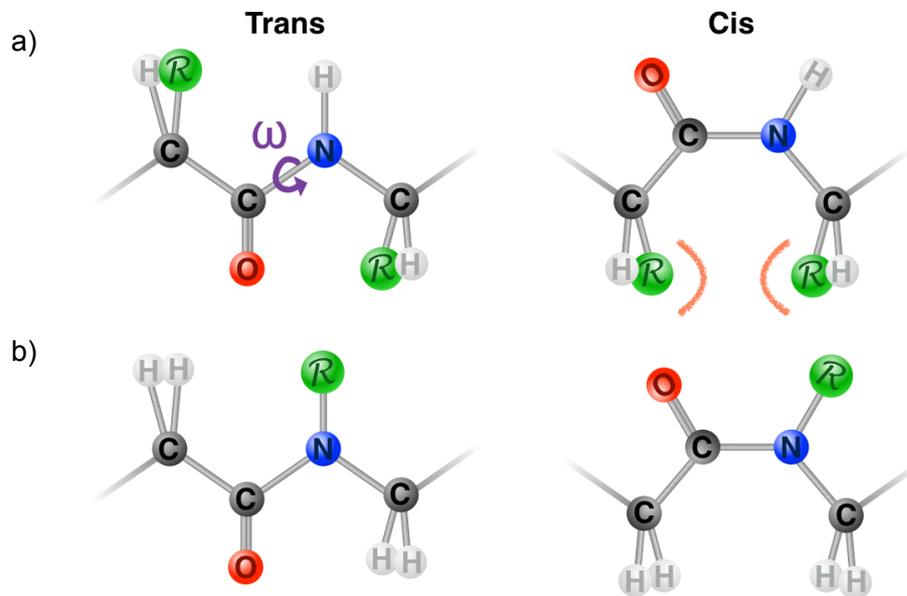


Figura 1.3 Isomerismo conformacional de a) peptídeos e b) peptídes. O diedro ω , cuja rotação origina os diferentes confôrmeros, está indicado na primeira figura.

A molécula de N,N-dimetilacetamida, DMA (Figura 1.4), apresenta barreira energética rotacional para o diedro ω de aproximadamente 75 kJ mol^{-1} , valor próximo aos obtidos para aminoácidos[37]. A rotação interna em torno da ligação amida é desfavorecida pelo caráter de ligação dupla parcial da ligação entre os átomos de nitrogênio e carbono, devido a conjugação dos elétrons do átomo de nitrogênio sp^2 com o sistema π -plano da carbonila (Figura 1.4). Na presença de substituintes, a rotação em torno da ligação amida é governada por efeitos estéricos e eletrônicos[38]. Estudos evidenciaram que interações $n \rightarrow \pi^*$ entre grupos carbonil ou carbonil-aromático são fatores importantes na estabilização conformacional[39] (Figura 1.5). Devido a ausência destas interações em DMA é esperado que sua barreira energética de rotação interna seja diferente da apresentada por peptídes.

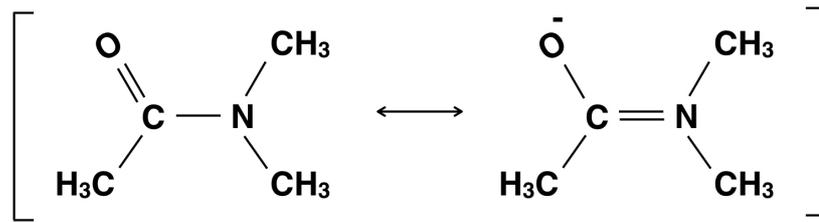


Figura 1.4 Representação da molécula de N,N-dimetilacetamida (DMA).

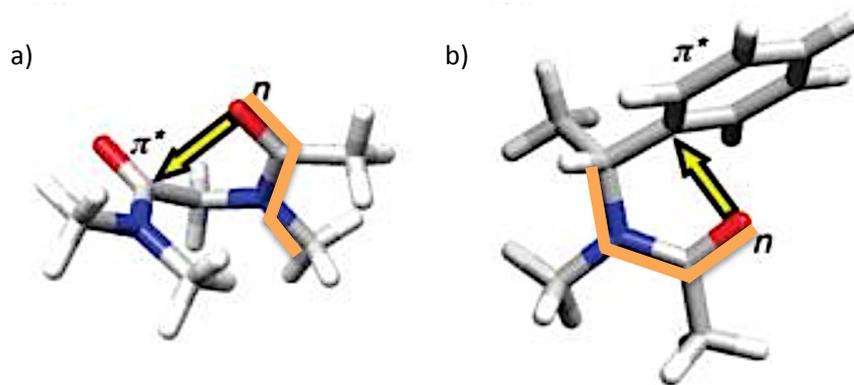


Figura 1.5 a) Representação da interação $n \rightarrow \pi^*_{Am}$ entre grupos carbonílicos capaz de estabilizar a trans-amida e b) interação $n \rightarrow \pi^*_{Ar}$ entre grupos carbonílica e aromático que pode estabilizar a cis-amida. Retirado de [39].

Sabe-se que a conformação exerce um papel fundamental no processo de enovelamento de proteínas[40]. No caso de peptídeos esta influência é ainda mais acentuada, visto que as conformações cis/trans são abundantes. A estabilização de estruturas bem definidas requer menor flexibilidade e maior estabilidade dos monômeros em determinadas conformações. Estruturas secundárias de peptídeos apresentam uma proporção cis/trans característica [41-43].

Estudos propõem que peptídeos podem adotar estruturas secundárias em hélices e voltas similares a peptídeos. Estas estruturas foram atribuídas a oligômeros compostos, principalmente, por cadeias laterais α -quirais[43-45]. Estruturas de peptídeos em volta assemelham-se a folhas betas e foram alcançadas por peptídeos cíclicos ou com incorporação de unidades heterocíclicas indutoras. Os monômeros que se encontravam na região de volta apresentaram-se na conformação cis[46]. Estruturas helicoidais de peptídeos foram atribuídas através de espectros de dicroísmo circular e interpretadas como sendo similares a hélices de poliprolina tipo I, também com predominância conformacional cis[47].

Em peptóides, estruturas secundárias não podem ser estabilizadas por ligações de hidrogênio da mesma maneira como em peptídeos. Outros mecanismos contribuem para estabilização destas estruturas, tais como: repulsões estéricas, interações hidrofóbicas e eletrostáticas, provenientes do empacotamento das cadeias laterais, e as interações $n \rightarrow \pi^*$ responsáveis por estabilizar os confôrmeros cis ou trans[14]. Contudo, estudos por espectroscopia de RMN caracterizaram uma estrutura denominada *threaded loop* que é mantida principalmente por ligações de hidrogênio entre amidas secundárias terminais e carbonilas da cadeia principal. Estas ligações não se estendem periodicamente como em aminoácidos e a estrutura é instável em solventes capazes de fazer ligações de hidrogênio[41].

Entender as conformações adotadas por biomoléculas é de fundamental importância, já que a estrutura adotada por uma determinada sequência peptídica esta fortemente correlacionada com sua função. Diversos estudos já mostraram a dependência entre estrutura e atividade biológica, sendo que, para que a proteína seja biologicamente ativa ela precisa estar numa determinada estrutura tridimensional bem definida ou até mesmo estar desenovelada[14].

As principais técnicas experimentais de caracterização estrutural para biomoléculas são ressonância magnética nuclear (RMN)[48] e cristalografia de raios-X[49]. A diferença básica entre estas duas técnicas é a natureza da amostra, enquanto na cristalografia a amostra deve ser um monocristal, em RMN a amostra geralmente encontra-se em solução. O resultado de um refinamento cristalográfico é normalmente apresentado como uma única estrutura espacial, em RMN é apresentado como um conjunto de estruturas compatíveis com os dados obtidos. Um dos desafios para a utilização da cristalografia de raios-X é a obtenção de cristais adequados, o processo de cristalização pode ser muito complexo ou mesmo inviável, e também pode gerar artifícios. Em contraste, RMN dispensa esta etapa, mas os efeitos de mobilidade em dados de RMN são mais diversificados, visto que, proteínas tem maior mobilidade em solução do que em cristais, resultando na representação da estrutura de um conjunto de conformações dentro de limites[48, 50]. Além destes, outros desafios para utilização de RMN é a necessidade de marcação isotópica, coleta e atribuição de dados espectrais lenta. Ao contrário, na cristalografia de raios-X o alto grau de automação permite maior eficácia na obtenção e tratamento dos dados[49]. Algumas vantagens da RMN incluem, a sua capacidade para estimar as escalas de tempo de movimentos intra-moleculares e a

caracterização da estrutura de ligantes. É possível haver divergência nas estruturas caracterizadas para uma mesma proteína por essas duas técnicas, geralmente, a diferença ocorre em resíduos de superfície devido às interações intermoleculares, contudo, esta diferença pode ser biologicamente relevante[48].

Devido a alta flexibilidade da cadeia principal de peptóides, torna-se frequentemente inviável a caracterização estrutural destes biomiméticos tanto por cristalografia quanto por RMN. Por este motivo, a técnica mais utilizada para caracterização de estrutura secundária de peptóides é o dicróismo circular (CD). Esta técnica consiste na absorção da luz plano-polarizada circular devido a transições eletrônicas de excitação. Estruturas secundárias conhecidas em proteínas, como hélice- α , folha- β e volta, originam bandas de CD características, com diferentes magnitudes e em regiões específicas do espectro[51]. Apesar do dicróismo circular permitir resultados mais rápidos que as técnicas mencionadas anteriormente, não se trata de uma técnica eficaz para caracterizar uma estrutura desconhecida, já que interpretação dos dados obtidos depende do conhecimento prévio acerca da estrutura da proteína. A caracterização estrutural é obtida indiretamente através de atribuições de bandas que, geralmente, são justificadas com base em dados de RMN ou cristalografia de raios-X. Outras técnicas que também podem ser utilizadas para o estudo de estruturas de proteínas são: espalhamento de raios-X em ângulos pequenos (SAXS)[52] ou de nêutrons (SANS)[53] e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)[54].

Existe um banco de dados de estruturas de peptóides caracterizadas experimentalmente (*peptoid data bank*) que conta com 35 estruturas. Dentre estas, 18 são estruturas cíclicas que possuem entre 4 a 9 unidades monoméricas, a maioria constituída de hexâmeros. Das 19 estruturas lineares, 8 são dímeros, 6 são trímeros, 2 tetrâmeros e as maiores estruturas são: um pentâmero, um hexâmero e um nonâmero. Estas estruturas foram caracterizadas por técnicas de difração de raios-x, RMN e, muitas vezes, espectros de CD auxiliaram na interpretação dos resultados obtidos. O limitado número e tamanho dos compostos caracterizados no banco de dados revela-nos a dificuldade das técnicas experimentais em desvendar tais estruturas. Contudo, a caracterização estrutural de peptóides com maior número de resíduos tem sido feita através de espectros de CD.

Uma alternativa para entender o comportamento estrutural de biomoléculas, incluindo conformações intrinsecamente desordenadas, são as técnicas computacionais de simulação molecular. O desafio para a simulação do enovelamento de proteínas, por abordagens baseadas em termodinâmica estatística, é devido ao grande número de conformações possíveis. Este desafio é ainda maior para peptídeos, que apresentam um grau de liberdade a mais relacionado à rotação interna da ligação amida. Contudo, o número de estruturas relevantes é reduzido e estudos revelam que a superfície de energia livre do enovelamento de proteínas apresenta-se em forma de um funil frustrado, com muitos pontos de energia elevada. Baseado no fato de que peptídeos também apresentam um número limitado de conformações de baixa energia[55], é possível usar de simulações computacionais para caracterização estrutural destes. Dentre as técnicas de modelagem molecular, a dinâmica molecular[56] tem se destacado para o estudo do enovelamento de proteínas. Em alguns casos, simulações por tal metodologia já obtiveram o enovelamento preciso de peptídeos e pequenas proteínas[57].

A qualidade de uma simulação molecular clássica está relacionada, dentre outros fatores, ao modelo de solvente, bem como à interação soluto-solvente, à eficácia de amostragem e à qualidade do campo de força utilizado[58]. O campo de força descreve as interações entre as partículas do sistema. Ele consiste num conjunto de parâmetros físico-químicos associados a uma função de energia potencial. Diversos campos de força têm sido desenvolvidos para a simulação de biomoléculas, tais como: CHARMM[59], AMBER[60], OPLS[61] e GROMOS[62]. Existe ainda várias versões destes campos de força resultantes de modificações que visam melhorar a simulação de uma determinada classe de compostos. Dentre os principais campos de força utilizados para a simulação de peptídeos, destacamos: GROMOS 53A6[63] e GROMOS 54A7[64], este último é o resultado de algumas modificações do primeiro em potenciais torcionais e de van der Waals. Tais modificações foram desenvolvidas para aumentar a estabilidade de estruturas hélice- α em proteínas e tem demonstrado estabilizar estruturas helicoidais em β -peptídeos [65].

Em relação a simulação de peptídeos, é possível encontrar na literatura estudos através de dinâmica molecular empregando os campos de força: OPLS[66], YASARA2[67] e AMBER[68]. Nestes estudos utilizou-se basicamente os parâmetros

existentes para aminoácidos com algumas adaptações. Como consequência, nenhum deles foi capaz de descrever a rotação interna da ligação amida à temperatura ambiente e, técnicas de amostragem melhorada, como *simulated annealing*[69] e *temperature replica exchange*[70], foram necessárias. Existe apenas um campo de força cujos parâmetros foram desenvolvidos para simular peptóides, o CHARMM[71]. Este foi baseado no CHARMM22[72] para peptídeos. O esquema de parametrização consistiu em identificar as principais diferenças entre peptídeos e peptóides, e então incluir parâmetros que descrevessem o núcleo amida. Os novos parâmetros incluídos foram: carga parcial dos átomos de nitrogênio da cadeia principal (q_N) e carbono da cadeia lateral (q_C), parâmetros de Lennard-Jones do átomo de carbono da carbonila (ϵ_C e $R_{\min C}$) e parâmetros associados ao diedro ω , e ao diedro ρ , representados na Figura 1.6. Este campo de força foi capaz de reproduzir, com precisão razoável, dados experimentais e mecânicos quânticos para pequenos peptóides e a estrutura de um cristal tripeptídeo. Entretanto, a barreira energética para a rotação do diedro ω foi ajustada para a molécula de DMA, logo, as conformações de peptóides não foram amostradas eficientemente. A principal limitação dos campos de força mencionados é decorrente dos parâmetros de diedro utilizados, os quais são imprescindíveis na descrição adequada de estruturas moleculares. Somado a isso, a necessidade de utilizar dinâmica molecular acoplada a técnicas que demandam maior poder computacional diminuem a aplicabilidade dos campos de força.

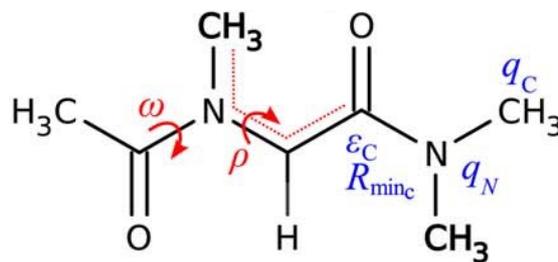


Figura 1.6 Representação dos parâmetros incluídos no campo de força CHARMM para peptóides. Retirada de [71].

Atualmente, a caracterização estrutural de peptóides por dinâmica molecular é ainda muito limitada pelos campos de força existentes. Entender o comportamento destes oligômeros requer um campo de força robusto e eficiente. Simulações de

peptóides em que seja possível acessar as conformações relevantes, exigem um ajuste adequado dos parâmetros, especialmente, o que se refere ao diedro da ligação amida. Com este propósito, o presente trabalho de tese consiste na implementação e validação de parâmetros no campo de força GROMOS. O objetivo principal foi prever adequadamente as conformações cis/trans de moléculas modelo (amidas terciárias com diferentes tipos de cadeias laterais) e analisar as estruturas adotadas por oligômeros que se têm assumido formar estruturas helicoidais.

1.2 Catecóis adesivos

Outros materiais biomiméticos abordados neste trabalho foram inspirados em proteínas de pés de mexilhões. Mexilhões são capazes de aderirem-se muito fortemente a superfícies rochosas graças a proteínas presentes nas extremidades do bisso, um feixe de filamentos secretado por uma glândula situada na base de seus pés[27] (Figura 1.7). Colágeno pré-polimerizado e cerca de mais 7 a 8 proteínas estão presentes nas placas adesivas de mexilhões. A principal proteína da cutícula bissal foi classificada como mfp-1 (mfp – *mussel foot protein*) e apenas cinco proteínas são exclusivas da placa, mfp-2 a mfp-6 (Figura 1.7b), as quais contêm o aminoácido modificado pos-translacionalmente 3,4-dihidroxifenil-L-alanina (Dopa, Y*), representado na Figura 1.8. A sequência de aminoácidos das proteínas mfp-1 a mfp-6, bem como a porcentagem de Dopa estão apresentadas na Tabela 1.1[27].

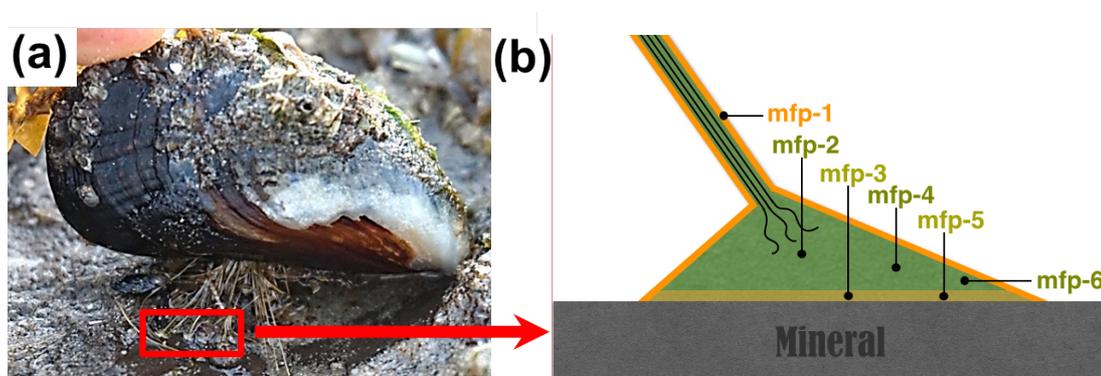


Figura 1.7 a) Mexilhão aderido a uma superfície rochosa através do bisso. b) Representação esquemática de uma placa bissal (base adesiva situada na extremidade de um filamento do bisso) e localização das proteínas mfp-1 a mfp-6.

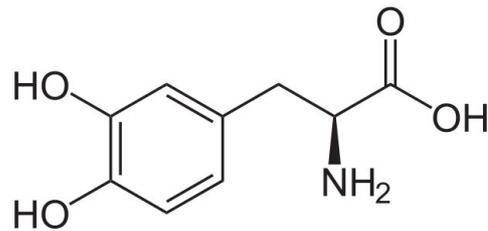


Figura 1.8 Representação do aminoácido 3,4-dihidroxifenil-L-alanina (Dopa, Y*).

Tabela 1.1 Sequências de aminoácidos das proteínas do bisso de mexilhões do gênero *Mytilus*[27].

Proteína	Espécie ^a	Sequência ^b	Dopa (% mol)
Mfp-1	<i>Me</i>	[AKPSY*O* OTY*K] _n	15
	<i>Mc</i>	[PKISY*O* OTY*K] _n	
Mfp-2	<i>Mg</i>	[TDKAY*KPNPCVVSKPCCKNRGKCI WNGKAY*RCKCAY*GY*GGRHC] _n	5
Mfp-3	<i>Me</i>	ADY*Y*GPNY*GPPRRY*GGGN Y*NRY*NRY*GRRY*GGY*KGW NNGWNRGRRGKY*W	20
Mfp-4	<i>Mc</i>	[HVHTHRVLHK] _n	2
		[DDHVNDIAQTA] _n	
Mfp-5	<i>Me</i>	SSEY*KGGY*Y*PGNAY*HY*SGGS Y*HGSGY*HGGY*KGKY*Y*G KAKKY*Y*Y*KY*KNSGKY*KY*L KKARKY*HRKGY*KY*Y*GGSS	28
Mfp-6	<i>Mc</i>	GGGNYRGYCSNKGCRSGYIFYDN GFCKYGSSSYKYDCGNYACLPRN PYGRVKYYCTKKYSCPDDFYYN NKGYYYYNDKDYGCFNCGSYNG CCLRSY	3

^aEspécies: *Mytilus edulis* (*Me*), *Mytilis galloprovincialis* (*Mg*) e *Mytilis californianus* (*Mc*).

^bSímbolos para aminoácidos modificados pos-translacionalmente: *trans*-4-hidroxiprolina (O), *trans*-2,3-*cis*-3,4-dihidroxiprolina (O*), Dopa (Y*), 4-hidroxiarginina (R), and O-fosfoserina (S).

Conforme mostrado na Figura 1.7b, apenas duas proteínas, mfp 3 e 5, estão localizadas na interface da placa bissal. Tais proteínas são usadas como iniciadores

de superfície por criarem uma fina camada que melhora o desempenho das ligações adesivas[13, 27]. As mfps interfaciais contêm elevada abundância de resíduos aromáticos, cerca de 28 a 34% molar, incluindo tirosina (Y), Dopa (Y*) e triptofano (W). Em particular, o aminoácido Dopa nas mfps interfaciais é tido como um dos grupos funcionais fundamentais para adesão mineral subaquática devido à sua ligação bidentada em superfícies de óxido mineral[27].

A crescente demanda por adesivos sintéticos para superfícies polares molhadas e a escassez de materiais eficientes para esta finalidade direcionam as pesquisas atuais a concentrarem seus esforços na busca por miméticos inspirados na adesão de mexilhões[27]. O aminoácido Dopa inspira a tradução de bioadesão a numerosos sistemas sintéticos através da funcionalização com catecol (1,2-dihidroxibenzeno), originando os chamados catecóis[73-75]. Embora estudos anteriores utilizando polímeros funcionalizados com catecol demonstrarem melhorias na adesão[27, 75, 76], o desempenho de adesivos sintéticos[76] e proteínas engenhadadas[77] ainda é muito inferior ao de placas naturais de mexilhões, em termos de energia total necessária para desalojar a placa de uma superfície[30]. Estas diferenças surgiram, provavelmente, devido a tal abordagem não levar em consideração a heterogeneidade das estruturas presentes em placas bissais[78], e seu impacto sobre a transferência de carga no interior do material. Por exemplo, embora proteínas interfaciais sejam altamente enriquecidas com resíduos catecóis (cerca de 20 a 28 mol%), as mpfs internas são pouco abundantes em Dopa, em torno de 2 a 5 mol%. No entanto, a maioria dos esforços à criação de colas bioinspiradas, tem-se centrado na aplicação de funcionalização com catecol e pouco se tem feito para correlacionar estrutura e propriedade a fim de compreender as características químicas que poderiam originar os melhores adesivos. O desenvolvimento de adesivos biomiméticos requer uma abordagem que inclua o balanço entre interações coesivas e adesivas[79].

No intuito de criar materiais adesivos subaquáticos com bom desempenho, um conjunto de colaboradores da Universidade da Califórnia Santa Bárbara (UCSB) tem desenvolvido metodologias de síntese de catecóis para diferentes aplicações, como materiais odontológicos e dispositivos eletrônicos, estratégias que serão descritas nas seções a seguir.

1.2.1 Iniciadores para resinas odontológicas

Mexilhões constroem seus filamentos e placas bissais em etapas, primeiramente os iniciadores de superfície e em seguida os componentes do *bulk* da placa e finalmente a solidificação (por exemplo, através de ligações cruzadas). Este tratamento da superfície por iniciadores aplicados previamente a resinas já é bem conhecido no campo de tecnologias adesivas e, a força da ligação catecol em superfície metálica tem sido demonstrada[80, 81] e utilizada[82]. Entretanto, adesivos sintéticos para superfícies minerais hidratadas ainda são um grande desafio. Iniciadores hidrofílicos para superfícies molhadas podem criar uma espécie de esponja interfacial com a água e assim absorver cada vez mais água e enfraquecer as ligações ao longo do tempo[83, 84]. Agentes de acoplamento baseados em silanos são amplamente empregados no tratamento de superfícies minerais, mas a substituição destes materiais faz-se necessária, uma vez que envolvem processos tóxicos e difíceis de serem utilizados[85].

Baseados na estratégia de iniciadores inspirados em mfp, o professor Kollbe Ahn e colaboradores sintetizaram um conjunto moléculas catecóis iniciadoras capazes de formar uma monocamada de aproximadamente 1 nm de espessura para adesão de resina polimetacrilato (PMA) sobre superfícies minerais. A resina PMA é um copolímero comumente usado em várias aplicações, em particular, em materiais adesivos e restauradores dentários [86, 87] e aplicações médicas de cementação óssea[88]. Os iniciadores mais utilizados com resina PMA são fosfato (10-metacriloiloxidecil-dihidrogenofosfato, chamado 'MDP') e silano (3-trimetoxisililpropilacrilato, chamado 'Silano') (Figura 1.9). Silano é usado como padrão na indústria para adesão de resinas PMA em superfícies de silicatos, apesar da sua baixa cobertura de superfície, alto consumo de energia e uso de produtos químicos tóxicos em sua preparação[85, 89]. Além disso, resinas PMA são tipicamente tratadas com inserção de silano para aumentar a rigidez e a dureza dos compósitos de PMA. Tais compósitos são geralmente usados em sistemas médicos e odontológicos para resistir à tensão de compressão. Outro iniciador usado como padrão na indústria dentária, para adesão da resina PMA sobre o esmalte dentário, é o MDP, apesar da dependência de ligação do fosfato de cálcio e pH[90, 91].

Os iniciadores desenvolvidos por K. Ahn e colaboradores consistiam de pequenas moléculas bifuncionais contendo, respectivamente, grupos aromáticos e

acrilatos em pontas opostas (Figura 1.9). Os grupos funcionais foram escolhidos afim de mimetizar tanto as interações interfaciais de catecóis, quanto as interações coesivas de ligação cruzada com o *bulk* da resina PMA. Os iniciadores acrilatos sintetizados foram funcionalizados com benzeno (P_1), fenol (P_2), e catecol (P_3 e P_4), análogos de W, Y e Y^* , respectivamente. P_4 difere de P_3 pela maior cadeia hidrocarbônica, oito hidrocarbonetos a mais entre os grupos catecol e acrilato.

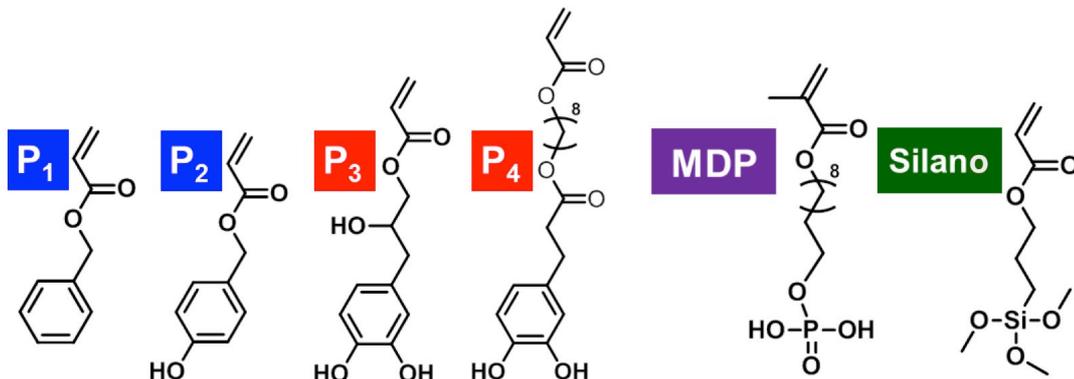


Figura 1.9 Estrutura química dos iniciadores de superfície sintetizados (P_1 , P_2 , P_3 e P_4) e iniciadores convencionais (MDP e Silano).

Os resultados experimentais mostraram que somente os catecóis, P_3 e P_4 se aderiram densamente sobre as superfícies minerais testadas, mica e vidro. Também foi avaliado o desempenho dos iniciadores na adesão de uma resina PMA de ligação cruzada. Cada iniciador foi aplicado sobre vários substratos minerais (mica, vidro, placa de silício e esmalte dental) previamente à aplicação da resina. Os resultados foram comparados com os obtidos através de iniciadores convencionais MDP e silano. Os iniciadores P_3 e P_4 apresentaram resistência ao cisalhamento, em todas as superfícies, comparáveis aos iniciadores convencionais, que são otimizados para uma superfície química específica. Além disso, a resistência ao cisalhamento de P_3 e P_4 foi cerca de duas vezes maior que P_1 , P_2 ou sem iniciador. Em relação à adesão, P_3 e P_4 apresentaram um aumento de cerca de 10 e 4 vezes, respectivamente, comparando-se à superfície tratada com P_1 e P_2 ou não tratada. Quando comparados a MDP e silano, P_3 apresentou o melhor desempenho, um aumento na adesão de 8 e 2 vezes comparado aos respectivos iniciadores convencionais. A adesão medida para P_3 foi comparável com a tensão interfacial obtido por placas reais de mexilhões[30].

Em testes com resinas PMA enxertadas, P_3 aumentou significativamente,

em torno de 50%, a resistência à compressão das resinas PMA em relação a enxertos de silano. Além disso, foi observada uma melhora também nas propriedades de dispersão de energia da resina tratada com P_3 . Complementarmente, foi confirmada a não-toxicidade da superfície mineral tratada com P_3 , sugerindo elevado potencial da molécula para aplicações biomédicas e odontológicas.

1.2.2 Monocamadas auto-montáveis

O termo monocamadas auto-montáveis (SAMs - *Self-assembled monolayers*) refere-se à formação espontânea de *assemblies* orgânicos em superfícies por adsorção de moléculas da fase líquida ou vapor através de interações intermoleculares sinérgicas. SAMs fornecem uma plataforma conveniente e flexível para modelar propriedades físico-químicas de substratos, e tem ganhado atenção significativa nas últimas décadas nas áreas de litografia[92], materiais eletrônicos[93], reconhecimento molecular[94], superfícies não molhantes[95] e sistemas biomiméticos[96]. Todavia, as técnicas atuais de fabricação de SAMs estão longe de serem viáveis devido (a) SAMs baseadas em organossulfurados requerem superfícies livres de óxidos[97]; (b) SAMs baseada em organossilados não são lisas, finas e uniformes porque silanos polimerizam internamente em siloxanos e apenas 10-20% das ligações da cadeia expõem-se à superfície[85, 98]; e (c) enxerto de catecóis sobre óxido de titânio[99], enxerto fosfônico sobre dióxido de silício[100] ou óxido de alumínio[101] e enxerto carboxílico sobre óxido de zinco[102] são SAMs conhecidas, mas ainda precisam ser bem definidas para formarem monocamadas uniformes e reprodutíveis.

A uniformidade de SAMs é um fator crítico para a nanofabricação eletrônica[97, 103]. Defeitos em SAMs, gerados a partir da adsorção não uniforme, podem causar falhas em dispositivos eletrônicos através da mudança nas propriedades de transferência de carga do substrato devido à penetração de impurezas[97] ou danos de uma bicamada através da penetração de polímeros[104], tornando-os não confiáveis para as aplicações desejadas.

Ahn e colaboradores, através de tecnologias bioinspiradas na automontagem de mfps, mostraram a formação de SAMs uniformes e finas sobre

vários substratos óxidos por meio de uma metodologia que envolveu processos ambientalmente viáveis. As monocamadas foram inspirados em mfp-5 e formadas por surfactantes zwitteriônicos. A modificação de um grupo de cauda alquil, de um surfactante zwitteriônico catecol conhecido[13], por um anel de benzeno (Z-Cat-Ben, Figura 1.10) transformou uma "bicamada" adesiva[13] em uma "monocamada" para atender a demanda atual por SAMs em superfícies dielétricas[105, 106]. Também foi realizada uma investigação sobre a relação entre estrutura e função das moléculas, a fim de entender os efeitos de resíduos eletronegativos no grupo benzeno por adição de grupos $-CF_3$ nas posições 3 e 5 do substituinte benzil (Z-Cat-Ben-F, Figura 1.10).

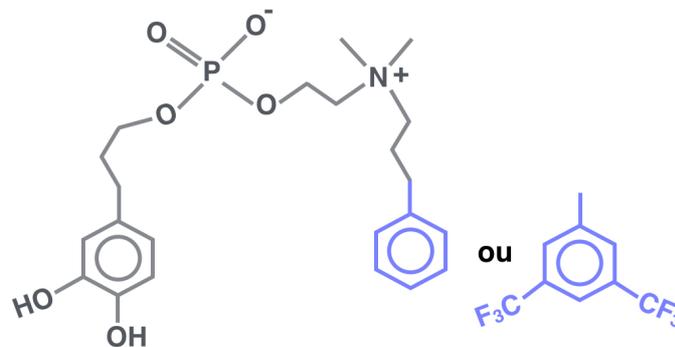


Figura 1.10 Surfactante zwitteriônico com grupos funcionais catecol e benzeno (Z-cat-ben) ou benzeno- $(CF_3)_2$ (Z-cat-ben-F).

As moléculas zwitteriônicas bioinspirados se auto-organizaram rapidamente, em menos de 1 minuto, sobre várias superfícies dielétricas, tais como mica e sílica, formando camadas monomoleculares lisas e uniformemente finas. A adsorção forte, rápida e ambientalmente viável de SAMs representa um avanço promissor para a próxima geração de nanodispositivos em comparação a SAMs baseadas em organossilanos[85, 92], que envolvem produtos químicos tóxicos, longo tempo de processamento (superior a 10 h), e/ou temperaturas geralmente acima de $80^\circ C$ [103, 105], o que é considerado impraticável para aplicações em eletrônica orgânica.

O processo de revestimento por imersão é essencial para a eletrônica orgânica se tornar realidade. SAMs lisas e molecularmente finas na superfície dielétrica são componentes essenciais para dispositivos como transistores orgânicos de efeito de campo (OFETs - *Organic Field Effect Transistor*). Dispositivos contendo

as monocamadas sintetizadas apresentaram bons desempenhos, sendo que Z-Cat-Ben-F apresentou resultado ligeiramente melhor. Em uma avaliação de dispositivos OFETs com fonte de Ni, a monocamada Z-Cat-Ben-F levou ao melhor desempenho já reportado até hoje[103, 107, 108].

O potencial de moléculas zwitteriônicas para o uso em nanodispositivos eletrônicos[109-112] é atribuído à capacidade de fixarem-se a eletrodos através de ligações intermoleculares fortes e permitirem fácil transporte de elétrons através de superfícies[113]. Além disso, as moléculas catecóis zwitteriônicas são mais biocompatível e facilmente solúveis em água[109], tornando-as candidatas adequadas para aplicações em química verde[114]. Desta forma, as SAMs desenvolvidas viabilizam o desenvolvimento de tecnologias de baixo custo de impressão e alto rendimento.

Os estudos realizados por Ahn e colaboradores sugerem o enorme potencial da próxima geração de materiais bioinspirados em mexilhões, os quais poderão substituir materiais que demandam grande consumo de energia e produtos tóxicos em sua preparação. Entretanto, as técnicas experimentais utilizadas se limitaram a avaliar o desempenho da aplicação destes materiais e, apesar do sucesso dos resultados obtidos, pouco se sabe sobre os mecanismos de interação e adsorção destas moléculas. O entendimento destes mecanismos pode fornecer pistas para otimização de desempenho e favorecer o desenvolvimento de outros compostos para as mais variadas aplicações.

Aliada às técnicas experimentais, dinâmica molecular foi utilizada com o objetivo de entender os mecanismos envolvidos na adsorção e avaliar como a mudança estrutural dos compostos e/ou a influência de diferentes superfícies podem afetar a adesão destas moléculas em superfícies minerais.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Os modelos teóricos para simulação computacional de sistemas moleculares são frequentemente baseados em métodos de mecânica quântica ou de mecânica clássica. Tais métodos têm sido utilizados em vários estudos moleculares apresentando boa concordância com dados experimentais. Dependendo das propriedades de interesse opta-se por um dos métodos ou mesmo por métodos que combinam mecânica quântica e mecânica molecular (QM/MM).

Modelos baseados em mecânica quântica obtêm propriedades eletrônicas de sistemas a partir da resolução da equação de Schrödinger com algumas aproximações. A maioria dos métodos quânticos para sistemas moleculares são baseados na aproximação de Born-Oppenheimer, além dessa, outras aproximações podem ser utilizadas, tais como Hartree-Fock, métodos baseados nos funcionais da densidade e diversas aproximações semiempíricas, em que parte significativa das integrais são substituídas por parâmetros ajustados a dados experimentais. O erro apresentado em tais abordagens está associado ao conjunto de bases selecionado e ao nível de tratamento da correlação eletrônica nos resultados. Os métodos de mecânica quântica permitem acesso à função de onda eletrônica. Todavia, isto leva a um maior tempo computacional e necessita de maior capacidade de memória[115].

Métodos baseados em mecânica molecular requerem menor nível de cálculo para sistemas complexos. As principais técnicas clássicas de simulação computacional são Monte Carlo e dinâmica molecular. Estas técnicas permitem obter propriedades termodinâmicas de sistemas e são boas aliadas ao entendimento das interações intermoleculares e do comportamento de diversas moléculas e macromoléculas em solução.

2.1 Mecânica molecular

O método da mecânica molecular baseia-se na visão clássica de estrutura molecular como um conjunto de esferas unidas por molas com constantes de força características. Os movimentos eletrônicos são ignorados e a energia do sistema é calculada somente em função das posições nucleares. Toda a dinâmica dos átomos é tratada através da mecânica newtoniana[115]. Este modelo é adequado para a descrição de sistemas com elevado número de átomos, cuja caracterização por mecânica quântica seria muito dispendiosa computacionalmente.

As técnicas que se utilizam de mecânica molecular necessitam de um conjunto de parâmetros que descrevam a energia potencial do sistema. A este conjunto de parâmetros, associado a uma função empírica da energia potencial, é dado o nome de campo de força.

2.2 Campo de força

Os parâmetros de um campo de força são associados a potenciais para descrever o estiramento e deformação angular em uma molécula e as interações intra e intermoleculares. Os termos que normalmente constituem um campo de força são: potenciais de ligação (V_d); angular (V_θ); torcional (V_ϕ), de Lennard-Jones, ou de van der Waals (V_{LJ}), e o potencial de Coulomb (V_C). A forma do potencial total (V_{total}) inclui termos para tratar as interações entre átomos ligados ou não:

$$V_{total} = V_d + V_\theta + V_\phi + V_{LJ} + V_C \quad (2.1)$$

As expressões que representam cada termo do campo de força GROMOS, utilizado neste trabalho, estão apresentadas a seguir.

2.2.1 Potencial de ligação

O estiramento entre dois átomos covalentemente ligados é descrito pelo potencial, V^{bond} , que descreve a energia associada ao desvio da distância de equilíbrio b_0 :

$$V^{bond}(\mathbf{r}; K_b, b_0) = \sum_{n=1}^{N_b} \frac{1}{4} K_{b_n} [b_n^2 - b_{0_n}^2]^2 \quad (2.2)$$

sendo b a variável comprimento de ligação entre dois átomos; b_0 a distância de equilíbrio e K_b a constante de força[58]. Estas duas constantes compõem os parâmetros do campo de força.

2.2.2 Potencial Harmônico Angular

O desvio angular a um valor de referência, θ_0 , formado entre três átomos covalentemente ligados, é descrito pelo potencial angular, V^{angle} , dado por:

$$V^{angle}(\mathbf{r}; K_\theta, \theta_0) = \sum_{n=1}^{N_\theta} \frac{1}{2} K_{\theta_n} [\cos(\theta_n) - \cos(\theta_{0_n})]^2 \quad (2.3)$$

sendo θ , a variável angular entre as ligações, θ_0 o ângulo de equilíbrio e K_θ a constante elástica da força[58].

2.2.3 Potencial Torcional

O potencial torcional representa a torção própria do ângulo diedro, φ , formado por um conjunto de átomos ligados:

$$V^{trig}(\mathbf{r}; K_\varphi, \delta, m) = \sum_{n=1}^{N_\varphi} K_{\varphi_n} [1 + \cos(\delta_n) \cos(m_n \varphi_n)] \quad (2.4)$$

sendo K_φ a constante que define a altura da barreira de rotação, m o número de mínimos para a torção, φ o ângulo diedro para a ligação central em uma sequência

de quatro átomos e δ a diferença de fase do ângulo diedro φ , que pode ser 0° ou 180° , dependendo se este valor é um ponto máximo ou mínimo[116].

Para manter a planaridade de um grupo de átomos ligados ou para impedir que moléculas deformem em seus enantiômeros, o campo de força GROMOS conta com um potencial harmônico para diedros impróprio:

$$V^{\text{har}}(\mathbf{r}; K_\xi, \xi_0) = \sum_{n=1}^{N_\xi} \frac{1}{2} K_{\xi_n} [\xi_n - \xi_{0_n}]^2 \quad (2.5)$$

sendo K_ξ a constante que define a altura da barreira de rotação e, ξ o ângulo equilíbrio para o diedro[58], no caso de ligações planares este ângulo será 0° .

2.2.4 Potencial de Lennard-Jones

A interação de van der Waals para átomos não ligados covalentemente é descrita pelo potencial de Lennard-Jones. Este potencial para dois átomos i e j não ligados é dado por:

$$V^{\text{LJ}}(\mathbf{r}; C_{12}, C_6) = \sum_{\text{pairs } i,j} \left[\frac{C_{12}(i,j)}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_6(i,j)}{r_{ij}^6} \right] \quad (2.6)$$

sendo r_{ij} a distância entre os átomos i e j . Os termos C_6 e C_{12} correspondem a atração e repulsão entre os átomos, respectivamente[58]. Os parâmetros de Lennard-Jones podem ser obtidos como média geométrica (equações 2.7 e 2.8), onde regras de combinação podem ser aplicadas para os determinados pares atômicos.

$$C_6(i,j) = \sqrt{C_6(i,i) \cdot C_6(j,j)} \quad (2.7)$$

$$C_{12}(i,j) = \sqrt{C_{12}(i,i) \cdot C_{12}(j,j)} \quad (2.8)$$

Vale ressaltar que este potencial é geralmente utilizado para descrever a interação de átomos separados por três ou mais ligações covalentes, bem como para interações intermoleculares.

2.2.5 Potencial de Coulomb

A interação eletrostática entre dois átomos i e j é representada pelo potencial de Coulomb, dado por:

$$V^C(\mathbf{r};q) = \sum_{\text{pairs } ij} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1} \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.9)$$

sendo r_{ij} a distância entre os átomos i e j , q_i e q_j são suas cargas parciais, ϵ_0 a permissividade dielétrica no vácuo e ϵ_1 a constante dielétrica do meio[58].

Usualmente, os parâmetros empregados na definição de cada termo do potencial são determinados a partir de resultados de cálculos de mecânica quântica e/ou por ajustes empíricos a dados de cristalografia de raios-X, espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear, etc.

Os métodos de simulação computacional são capazes de estudar os sistemas e prever suas propriedades através do uso de técnicas que considerem pequenas réplicas do sistema macroscópico, que possuem uma quantidade manuseável de átomos e moléculas. Um grande número de réplicas do sistema que são consideradas simultaneamente é chamado de *ensemble*. Assim, a simulação pode gerar configurações representativas a partir de pequenas réplicas, de tal forma que valores precisos de propriedades estruturais e termodinâmicas podem ser obtidos com menor quantidade de cálculos computacionais[56]. A correlação entre as propriedades microscópicas e as macroscópicas destes *ensembles* é feita pela termodinâmica estatística, desenvolvida por Boltzmann e Gibbs.

Os métodos de Monte Carlo e de dinâmica molecular são as principais técnicas de simulação computacional utilizadas para obter médias termodinâmicas a partir de modelos moleculares. A dinâmica molecular fornece o comportamento dependente do tempo de sistemas atômicos e moleculares, fornecendo detalhes visuais de como o sistema muda de uma configuração para outra.

2.3 Dinâmica Molecular

Em dinâmica molecular são geradas configurações sucessivas do sistema a partir da resolução da equação diferencial da segunda lei de Newton ($F = m a$):

$$\frac{d^2 x_i}{dt^2} = \frac{F_{x_i}}{m_i} \quad (2.10)$$

A equação 2.10 descreve o movimento de uma partícula de massa m_i ao longo da coordenada x_i , sendo F_{x_i} a força da partícula nesta direção. Em um sistema contendo várias partículas, a interação entre elas é descrita pelo potencial obtido através do campo de força (V_{total}). Assim, a força F_{x_i} depende da posição de todos os átomos do sistema e é obtida através do gradiente de potencial.

$$F_{x_i} = -\frac{dV_x}{dx_i} \quad \text{ou} \quad F_i = -\frac{dV}{dr_i} \quad (2.11)$$

A integração numérica da equação de Newton em pequenos intervalos de tempo, geralmente na ordem de femtossegundos ($fs = 10^{-15}$ segundos), permite obter um conjunto de trajetórias que especifica como as posições e as velocidades das partículas do sistema variam com o tempo[56]. As propriedades macroscópicas do sistema são extraídas do conjunto de trajetórias em equilíbrio.

Durante as simulações, a variação de posição de um dos átomos modifica a força exercida sobre ele, essa força também é alterada pela posição dos demais átomos do sistema. Este acoplamento de coordenadas atômicas faz com que as equações de movimento não possam ser resolvidas analiticamente e são, portanto, integradas numericamente.

Os principais algoritmos de integração numérica das equações de movimento são *Velocity Verlet*[117] e o *leap-frog*[118]. Este último foi o algoritmo de integração utilizado nas simulações por dinâmica molecular realizadas neste trabalho e esta descrito na seção 2.3.1.

2.3.1 Algoritmo de integração *leap-frog*

No algoritmo conhecido como *leap-frog* as atualizações de velocidade e posição não são feitas simultaneamente. A velocidade (v) é atualizada no tempo $(t + \frac{1}{2}\Delta t)$ através da força $F(t)$ obtida no tempo t . A partir dessa velocidade as novas posições são atualizadas. As equações utilizadas são:

$$v\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) = v\left(t - \frac{1}{2}\Delta t\right) + \frac{\Delta t}{m}F(t) \quad (2.12)$$

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \Delta t v\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) \quad (2.13)$$

A obtenção da trajetória é dada pela seguinte relação de atualização de posição:

$$r(t + \Delta t) = 2r(t) + r(t - \Delta t) + \frac{1}{m}F(t)\Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (2.14)$$

As equações de movimento finais utilizadas nas simulações também são modificadas por acoplamento de temperatura e pressão.

2.3.2 Acoplamento de temperatura e pressão

O acoplamento de temperatura é feito para a utilização de *ensembles* canônicos, tais como sistemas NVT, onde mantêm-se constante o número de partículas, volume e temperatura; ou sistemas NPT em que o número de partículas, pressão e temperatura são mantidos constantes.

Neste trabalho utilizou-se o termostato de *velocity-rescaling*[119] para o acoplamento de temperatura. O algoritmo produz um conjunto canônico preciso através da equação:

$$dK = (K_0 - K) \frac{dt}{\tau_T} + 2 \sqrt{\frac{KK_0}{N_f}} \frac{dW}{\sqrt{\tau_T}} \quad (2.15)$$

onde, K é a energia cinética, N_f o número de graus de liberdade e dW um processo de *Wiener*. O parâmetro τ_T tem valor próximo à constante de tempo τ para o acoplamento de temperatura:

$$\tau = \frac{2C_V\tau_T}{N_{df}k} \quad (2.16)$$

em que C_V é a capacidade de calor total do sistema, k é a constante de Boltzmann, e N_{df} é o número total de graus de liberdade. A razão para a diferença entre τ_T e τ é a mudança de energia cinética causada pelo escalonamento das velocidades que é parcialmente redistribuída entre a energia cinética e potencial.

O acoplamento de pressão nos sistemas apresentados neste trabalho foi feito pelo barostato de Berendsen[120]. Este algoritmo redimensiona as coordenadas das partículas e os vetores da caixa, a cada passo, pela multiplicação ao fator (assumindo uma caixa cúbica e sistema isotrópico):

$$\mu = 1 - \frac{\beta\Delta t}{3\tau_P} (P - P_0) \quad (2.17)$$

onde, β é a compressibilidade isotérmica do sistema, P_0 é a pressão de referência, τ_P é o tempo de relaxação dado e Δt é o passo de integração da simulação.

A pressão do sistema é dada por:

$$P = \frac{2}{3V} \left(K - \frac{1}{2} \sum_{i < j} r_{ij} \cdot F_{ij} \right) \quad (2.18)$$

em que V é o volume da caixa, K é a energia cinética do sistema, r_{ij} a distância entre as partículas i e j e F_{ij} a força aplicada na partícula i devido à partícula j .

Em dinâmica molecular são adotadas condições periódicas de contorno através da replicação da caixa central de simulação em um arranjo periódico infinito. Esta estratégia é adotada para eliminar efeitos de superfície e obter resultados relativos a um número maior de partículas.

As interações que demandam maior tempo computacional são as interações não ligadas. O tratamento das interações de Lennard-Jones é realizada delimitando-se uma região esférica do espaço e truncando o potencial em um raio de corte esférico. Assim, cada partícula interage somente com as partículas que estão dentro do raio de corte, evitando a interação dos átomos com suas respectivas imagens. A simplificação obtida por tal técnica não compromete muito o resultado, principalmente devido às interações do potencial de Lennard-Jones serem de curto alcance, ou seja, decaem na ordem de r^{-6} ou r^{-12} , com o aumento da distância entre as partículas.

Em contraste, as interações eletrostáticas de longo alcance apresentam potencial que decaem na ordem de r^{-1} . O truncamento do potencial eletrostático poderá induzir a erros significativos em simulações que apresentem espécies carregadas[56]. Dentre os métodos desenvolvidos para descrever as interações de longo alcance estão a soma de Ewald e métodos derivados deste, como PME[121] e *smooth* PME[122], e o campo de reação[123]. Estes métodos utilizam um raio de corte e as correções são realizadas para levar em consideração a contribuição das partículas carregadas fora do raio de corte.

2.3.3 Campo de reação

No campo de reação o ambiente fora do raio de corte é modelado como um contínuo dielétrico. Tal correção gera os seguintes termos adicionais à função de energia potencial do sistema:

$$V^{\text{RF}_c}(\mathbf{r};q) = \sum_{\text{pairs } i,j} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1} \frac{(\frac{1}{2}C_{rf}-1)}{R_{rf}} \quad (2.19)$$

$$V^{\text{RF}}(\mathbf{r};q) = \sum_{\text{pairs } i,j} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1} \frac{(-\frac{1}{2}C_{rf} r_{ij}^2)}{R_{rf}^3} \quad (2.20)$$

em que R_{rf} é a distância do raio de corte, q_i e q_j as cargas parciais de dois átomos i e j , ϵ_0 a permissividade dielétrica no vácuo e ϵ_1 a constante dielétrica do contínuo dielétrico, que está relacionada ao solvente utilizado. O termo C_{rf} é dado por:

$$C_{rf} = \frac{(2\epsilon_1 - 2\epsilon_2)}{(\epsilon_1 + 2\epsilon_2)} \quad (2.21)$$

sendo ϵ_2 a constante dielétrica relativa, geralmente definida como 1.

O potencial eletrostático total do sistema consiste no somatório das equações 2.9, 2.19 e 2.20. As equações 2.9 e 2.19 tratam as forças de curto e longo alcance, respectivamente, já a equação 2.20 é uma constante que é adicionada para anular a interação quando a distância entre os átomos i e j (r_{ij}) for igual a distância do raio de corte, R_{ij} [58, 124, 125].

2.4 Metadinâmica

Apesar de sucesso obtidos em simulações por dinâmica molecular, sua aplicação muitas vezes é limitada pela escala de tempo para explorar eficientemente a superfície de energia. A amostragem eficiente do espaço conformacional é um desafio, especialmente, para sistemas com muitos graus de liberdade. Estes sistemas, geralmente, possuem superfície de energia com muitos mínimos locais separados por barreiras energéticas elevadas. Uma das possibilidades para melhorar a amostragem é pela incorporação de informações sobre a superfície de energia durante a pesquisa, de modo a favorecer que o sistema molecular visite novas áreas de espaço conformacional. Este conceito de memória é a base de alguns métodos, tais como método de deflação[126] o método *local elevation*[127], recentemente chamado metadinâmica[128], e o método de inundação conformacional[129].

Em metadinâmica, ou *local elevation*, utiliza-se de duas estratégias para acelerar a amostragem em dinâmica molecular. A primeira consistem em diminuir os graus de liberdade concentrando sua amostragem em variáveis coletivas escolhidas. A outra, consiste em modificações periódicas na energia com um potencial Gaussiano repulsivo para desencorajar o sistema a visitar o mesmo local e escapar de mínimos locais.

Neste método, apenas um pequeno número (n) de coordenadas coletivas (s_i , onde $i = 1, n$) são consideradas relevantes na variação da energia livre. A exploração da energia livre ($G(s)$) é guiada pela força:

$$F_i^t = -\frac{\partial G}{\partial s_i^t} \quad (2.22)$$

Um conjunto de P réplicas do sistema obedecendo a mesma restrição do número de coordenadas coletivas, $s_i = s_i^t$, e evoluindo independentemente à mesma temperatura T , permitem estimativas mais eficientes de propriedades termodinâmicas. Além disso, a força sobre as restrições é melhorada em relação a avaliação de uma única réplica. As restrições são impostas em cada réplica através de:

$$\sum_{i=1,n} \lambda_i (s_i - s_i^t) \quad (2.23)$$

onde λ_j é um multiplicador de Lagrange.

A dinâmica da evolução para a exploração da superfície de energia é definida pela equação:

$$\sigma_i^{t+1} = \sigma_i^t + \delta\sigma \frac{\phi_i^t}{|\phi^t|} \quad (2.24)$$

Nesta equação, as variáveis σ_i^t e as forças ϕ_i^t são definidas como: $\sigma_i^t = s_i^t / \Delta s_i$ e $\phi_i^t = F_i^t \Delta s_i$, em que Δs_i é o tamanho estimado da superfície de energia livre na direção s_i . O termo $|\phi^t|$ é o módulo do enésimo vetor dimensional ϕ_i^t e $\delta\sigma$ é o tamanho do parâmetro de passo. O index t é usado para rotular os estados. A Equação 2.24 não implica na evolução da dinâmica real do sistema, é usada apenas para avaliar a superfície de energia livre.

Após a atualização das coordenadas coletivas no estado t , um novo conjunto de réplicas do sistema, com valores σ_i^{t+1} , é preparado e novas forças F_i^{t+1} são calculadas para o próximo estado. Ao mesmo tempo, as forças aplicadas as demais coordenadas são dirigidas como da forma padrão em dinâmica molecular. Uma vez que não há continuidade dinâmica entre as réplicas pode-se utilizar valores grandes de $\delta\sigma$ e mover-se mais rapidamente no espaço das coordenadas coletivas.

Para a exploração eficiente da superfície de energia, a cada determinado número de passos, as forças na equação 2.24, são substituídas por outras com termo histórico dependente:

$$\phi_i \rightarrow \phi_i - \frac{\partial G}{\partial s_i^t} W \sum_{t' \leq t} \prod_i e^{\frac{-|\sigma_i - \sigma_i^{t'}|^2}{2\delta\sigma^2}} \quad (2.25)$$

W e $\delta\sigma$ são, respectivamente, a altura e largura da Gaussiana. Estes valores são escolhidos de forma a garantir precisão e eficiência na exploração da superfície de energia.

As forças corrigidas pela Gaussiana irão desencorajar o sistema a revisitar o mesmo local e permitirão explorar outras regiões no espaço conformacional. A medida que a simulação avança, os potenciais Gaussianos se acumulam e preenchem um poço de energia mínima, o que permite ao sistema migrar para outro

mínimo e assim acontece o preenchimento gradativo dos mínimos de energia.

A energia potencial resultante é descrita por:

$$-\sum_{t' \leq t} W e^{-\frac{|\sigma_i - \sigma_i^{t'}|^2}{2\delta\sigma^2}} \rightarrow V(s) \quad (2.26)$$

Para um número suficientemente grande de estados, a energia livre também pode ser estimada pela equação 2.26[128].

3 SIMULAÇÃO DE PEPTÓIDES

3.1 Modelos de solventes

Simulações por dinâmica molecular são majoritariamente realizadas em solvente aquoso e existem diversos modelos para moléculas de água solvente, tais como, SPC[130], SPC/E[131], TIP3P, TIP4P[132] e TIP5P[133]. Estes modelos estão bem consolidados e disponíveis para serem utilizados na maioria dos campos de força. O modelo de solvente aquoso utilizado neste trabalho foi o de carga pontual (SPC)[130]. No entanto, uma grande variedade de dados experimentais para peptóides, especialmente a caracterização de estruturas secundárias, foi realizada em solução de acetonitrila[41, 42, 47], o que sugere a necessidade de outro modelo de solvente.

Existem alguns modelos de solvente acetonitrila compostos de três sítios de interação, um para o grupo metil e outros dois para os átomos de carbono e nitrogênio. Estes modelos formados por três partículas ligadas colinearmente exigem uma constante angular elevada para manter a linearidade das partículas, como por exemplo, a constante angular no modelo ANL[134] é de $401243.9 \text{ kJ mol}^{-1}$, valor mil vezes maior que a maioria das constantes angulares do campo de força GROMOS. Para realizar as simulações por dinâmica molecular pelo *software* GROMACS 4[135] a partir desses parâmetros seria necessário um intervalo de integração muito abaixo de 1 fs, o que torna inviável o uso desses modelos. Portanto, a simulação de uma molécula linear requer alguns artifícios, como utilizar sítios atômicos virtuais. Neste caso, o procedimento para criar uma molécula linear consiste na criação de dois tipos de partículas: os chamados sítios virtuais, que não possuem massa, mas possuem carga e interações por van der Waals; e as partículas que possuem massa, mas não possuem interações não ligadas. As posições das partículas com massa devem ser definidas levando em consideração o centro de massa e o momento de inércia da molécula. Desta forma, mantem-se adequadamente a descrição da massa do sistema e as regiões de interação.

A descrição do modelo desenvolvido para acetonitrila com sítios virtuais encontra-se na seção 3.1.1.

3.1.1 Implementação e validação de modelo para acetonitrila

Foram implementados e avaliados três modelos para a molécula de acetonitrila. Os parâmetros para cada modelo foram baseados em modelos de três sítios: ANL[136]; Edwards[137] e Guardia[138]. Cada modelo implementado é composto por duas partículas de massa e três sítios virtuais (Figura 3.1). Duas partículas com massas iguais foram utilizadas para descrever a massa total da molécula. A massa de cada partícula foi de 20.52635 u (unidades de massa atômica) para representar a massa total da acetonitrila, 41.0527 u de acordo com as massas atômicas estabelecidas no campo de força GROMOS.

A distribuição de massa na molécula manteve o centro de massa e o momento de inércia em relação aos modelos referenciais de três sítios. A distância (R) entre as partículas de massa foi obtida pela equação 3.1, em que se levou em consideração o centro de massa dos modelos referência para que o momento de inércia no modelo criado, com duas partículas de massa, fosse o mesmo que no modelo referência, com três sítios:

$$R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^3 m_i \cdot r_i^2}{2M}} \quad (3.1)$$

Na equação 3.1, R representa a distância entre as partículas com massa M (20.52635 u) nos modelos desenvolvidos. Os valores m_i e r_i provém dos modelos de três sítios usados como referência, onde m_i representa a massa de cada partícula com distância r_i ao centro de massa.

As duas partículas de massa foram posicionadas de forma que o centro de massa coincidisse com o respectivo modelo referência, como as partículas tinham massas iguais, logo, estavam equidistantes ao centro de massa. A posição de cada sítio virtual correspondia às posições atômicas dos modelos referência. Um exemplo de modelo desenvolvido e seu respectivo referencial estão esquematizados na Figura 3.1.

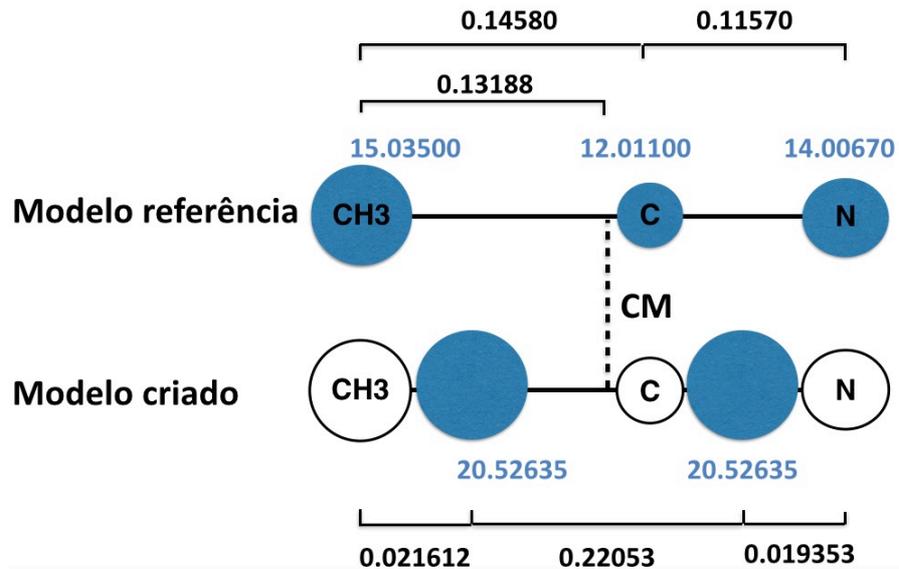


Figura 3.1 Representação esquemática da implementação de um modelo para acetonitrila baseado nos parâmetros desenvolvidos por Guardia e colaboradores[138]. Os círculos azuis representam as partículas com massa e os círculos brancos os sítios virtuais. CM indica o centro de massa. Os valores descritos em azul representam as massas (em unidades de massa atômica); os valores em preto representam as distâncias (em nanômetros).

A posição das partículas e os potenciais não ligados (eletrostático e van der Waals) foram derivados de modelos referenciais de três sítios, cujos parâmetros estão apresentados na Tabela 3.1. Vale lembrar que apenas os sítios virtuais apresentavam parâmetros de carga e van der Waals.

Tabela 3.1 Parâmetros de campo de força para modelos de acetonitrila com três sítios.

Parâmetros	Átomos envolvidos	ANL[136]	Edwards[137]	Guardia[138]	Unidade
Distância					
b_0	CH ₃ -C	0.146	0.146	0.1458	nm
b_0	C-N	0.117	0.117	0.1157	nm
Cargas parciais					
q_{CH_3}	CH ₃	0.2870	0.269	0.206	e
q_C	C	0.1376	0.129	0.247	e
q_N	N	-0.4246	-0.398	-0.453	e
van der Waals					
C_6	CH ₃	9.491654	13.84	9.057	$10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^6$
C_{12}		1.68584	3.012	2.621	$10^{-5} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{12}$
C_6	C	1.765738	2.571	5.145	$10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^6$
C_{12}		0.222702	0.3971	1.217	$10^{-5} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{12}$
C_6	N	1.475272	2.149	2.696	$10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^6$
C_{12}		0.155459	0.2775	0.2894	$10^{-5} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{12}$

A fim de avaliar os parâmetros de cada modelo, foram realizadas simulações por 25 ns de dinâmica molecular de caixas contendo 512 moléculas de acetonitrila. Para garantir a integridade dos modelos criados foi necessário restringir o comprimento das ligações e o movimento de estiramento linear através do algoritmo LINCS[139]. A descrição completa das condições empregadas durante a simulação foram detalhadas na seção 3.2.

Com o objetivo de validar as implementações dos modelos, as seguintes propriedades foram calculadas: energia interna do sistema (U), entalpia de vaporização (ΔH_{vap}), densidade (ρ), capacidade calorífica isobárica (C_p), coeficiente de difusão (D) e viscosidade (η). Os resultados obtidos e a comparação com dados experimentais, estão apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Propriedades da acetonitrila líquida obtidas experimentalmente e por dinâmica molecular de modelos com sítios virtuais.

Propriedade	Unidade	ANL[136]	Edwards[137]	Guardia[138]	Exp
Ensemble					
N	-	512	512	512	-
T	K	298	298	298	-
Termodinâmica					
-U	10^4 J mol^{-1}	1.82	1.78	1.56	-
ΔH_{vap}	kJ mol^{-1}	37.5	36.8	32.4	33.5[140]
ρ	kg m^{-3}	880.9	817.4	746.7	777[141]
C_p	$10^{-2} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$	6.65	6.77	6.47	8.16[142]
Transporte					
D	$10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	2.39	2.38	3.29	4.04[143]
η	cP	0.43	0.50	0.36	0.34[144]

O modelo desenvolvido com sítios virtuais a partir dos parâmetros de Guardia e colaboradores[138] apresentaram resultados mais próximos aos dados experimentais e, portanto, foram utilizados nas simulações de peptídeos.

3.2 Simulações por dinâmica molecular

Todas as simulações por dinâmica molecular analisadas neste capítulo foram realizadas utilizando o software GROMACS 4.6.7[135]. Previamente à simulação, cada sistema teve sua energia minimizada através de 10.000 passos, utilizando o algoritmo *steepest descent*.

Para simulações por dinâmica molecular foi utilizado o algoritmo *leap-frog*[145] com o passo de integração de 2 fs e o tempo total de simulação variou entre 20 a 400 ns, dependendo do sistema. Todas as simulações foram realizadas em um *ensemble* isotérmico-isobárico (NPT). As coordenadas de todos os átomos do sistema foram coletadas a cada 5 ps para a realização das análises. A temperatura foi mantida em 298 K acoplando os solutos e os solventes

separadamente a termostatos *velocity rescale*[119] com um tempo de relaxação de 0,2 ps. A pressão foi mantida em 1 bar pelo acoplamento do barostato de Berendsen[120] com um tratamento isotrópico e tempo de relaxação de 0,5 ps. A compressibilidade e permissividade dielétrica dependiam do solvente. Sistemas em acetonitrila utilizaram compressibilidade de $9,6 \cdot 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ e constante dielétrica de 35.84. Simulações em água foram feitas a partir do modelo de solvente SPC[130], com compressibilidade de $4,5 \cdot 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ e constante dielétrica de 66.

Durante a simulação, a cada novo passo de integração as velocidades referentes a translação e rotação do centro de massa foram removidas. O comprimento de ligação, bem como o movimento de estiramento foram restringidos utilizando o algoritmo LINCS[139]. Na descrição das interações eletrostáticas e de van der Waals de curto alcance, foi utilizado um raio de corte de 1,4 nm, e as contribuições eletrostáticas de longo alcance foram tratadas pelo método do campo de reação[123].

3.3 Parâmetros adicionados ao campo de força

Para realizar as simulações de peptóides por dinâmica molecular foi necessário a inclusão de parâmetros no campo de força. O campo de força utilizado foi uma adaptação do GROMOS 53A6[146, 147]. Os parâmetros utilizados foram, em sua maioria, os mesmo para aminoácidos, mas alguns parâmetros precisaram ser modificados ou adicionados. Os parâmetros relativos aos potenciais de ligação e angular foram todos derivados de parâmetros existentes.

As cargas parciais atômicas foram derivadas de grupos atômicos similares ou ajustadas empiricamente a partir de cálculos quântico, Hartree-Fock com funções de base 6-31G*, seguido de ajuste RESP com o programa NWChem 6.1[148] e um segundo ajuste manual para manter a filosofia de grupos de carga utilizados no campo de força GROMOS. Os primeiros parâmetros adicionados ao campo de força de peptóides foram as cargas parciais para os átomos envolvidos no núcleo amida (Figura 3.2a e Tabela 3.3).

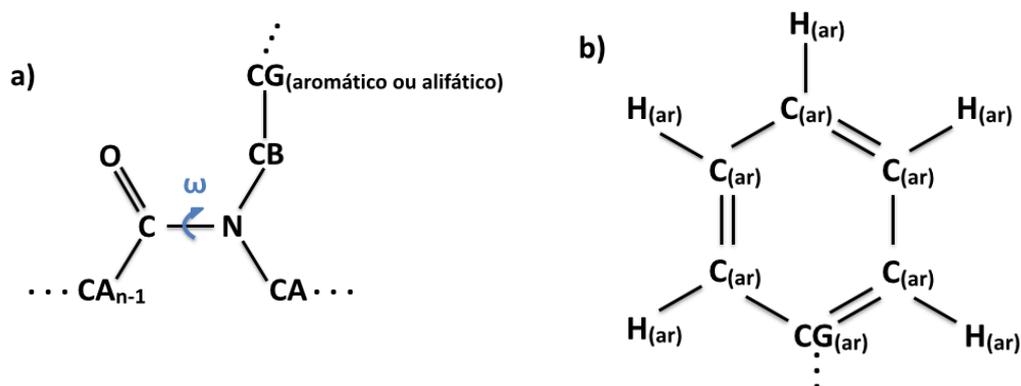


Figura 3.2 Representação de a) núcleo amida em estruturas de peptóides b) átomos em cadeia lateral aromática de peptóides.

Tabela 3.3. Parâmetros eletrostáticos para o núcleo amida adicionados ao campo de força GROMOS 53A6.

Tipo de potencial	Átomos envolvidos	Parâmetro	Valor	Unidade
cargas parciais	N	q_N	-0.310	e
	CA	q_{CA}	0.155	e
	CB	q_{CB}	0.155	e

Inicialmente, foram utilizados os parâmetros de Lennard Jones padrões existentes no GROMOS 53A6. Adicionalmente, alguns testes foram realizados, na tentativa de reproduzir melhor os dados experimentais, com modificações em cargas e interações de van der Waals para compostos com cadeia laterais aromáticas (Figura 3.2b) (seção 3.7).

O diedro da ligação amida também recebeu novos parâmetros que serão apresentados na seção subsequente. Para os demais diedros foram utilizados os parâmetros existentes no GROMOS 53A6.

3.4 Rotação interna da ligação amida

Conforme mencionado anteriormente, a rotação interna da ligação amida exerce um papel fundamental em estruturas de peptóides. Ademais, sua descrição é a grande limitação dos campos de força existentes. Por este motivo, iniciamos a investigação sobre o perfil rotacional da ligação amida na molécula de N,N-dimetilacetamida, DMA. O diedro ω , que caracteriza tal isomerização, foi definido entre os átomos $C_{A(n-1)} - C - N - C_A$ (Figura 3.2a).

Inicialmente foram realizados cálculos quânticos *ab initio* para a molécula de DMA, utilizando o pacote computacional SPARTAN[149]. As estruturas para o diedro ω foram otimizadas em intervalos de 30° através do método de *Pulay DIIS* por 60 ciclos e tiveram suas energias calculadas ao nível MP2/6-31G* (teoria perturbacional de segunda ordem Møller Plesset). Também foram realizados cálculos clássicos de energia em intervalos de 30° no diedro ω utilizando o algoritmo *steepest descent* por 10.000 passos. Os valores de energia relacionados ao perfil rotacional do diedro ω obtidos por cálculos clássicos e quânticos e estão representados na Figura 3.3.

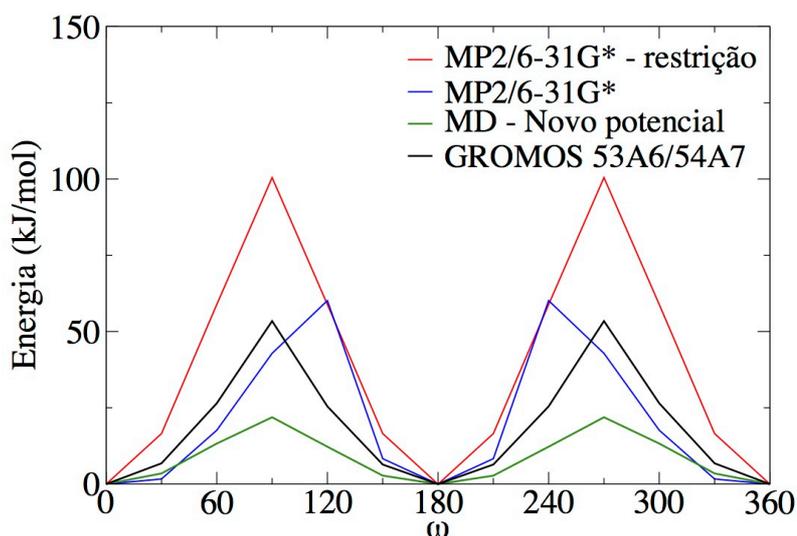


Figura 3.3 Perfil rotacional do diedro ω para a molécula de DMA em vácuo, obtido por cálculos clássicos e quânticos.

É possível perceber dois perfis diferentes em cálculos MP2, em um deles (MP2/6-31G* - restrição) as ligações envolvendo o átomo de nitrogênio foram

mantidas em geometria trigonal planar e no outro não houve restrição. Os cálculos *ab initio* para obtenção dos perfis rotacionais, apresentados na Figura 3.3, foram obtidos a partir de estruturas variando-se o diedro ω a cada 30° e mantendo-o no valor desejado, seguido de otimização previamente ao cálculo MP2. A distorção da planaridade do nitrogênio desloca os máximos de energia para valores de 120° e 60° . Este efeito é decorrente do mecanismo de rotação interna da molécula de DMA, onde dois estados de transição são possíveis, TS1 e TS2 (Figura 3.4). No estado TS1 o par de elétrons livres do nitrogênio aponta na direção anti ao oxigênio da carbonila e em TS2 na direção *syn*. O diedro ω é aproximadamente 120° em TS1 e 60° em TS2. O estado de transição TS2, em consequência da maior repulsão eletrônica, possui maior energia e não foi amostrado devido à otimização de estrutura previamente ao cálculo MP2, que permitiu ao par de elétrons se rearranjar para diminuir a repulsão. Por este motivo, nos cálculos MP2 sem restrição os máximos de energia estão deslocados para 120° , correspondente ao estado de transição TS1. Em cálculos *ab initio* restringindo-se a planaridade das ligações o máximo corresponde ao diedro ω em 90° e, devido às repulsões estereoeletrônicas, a barreira energética (100 kJ mol^{-1}) foi maior que a barreira para a rotação livre de restrição (aproximadamente 60 kJ mol^{-1}) [150-152].

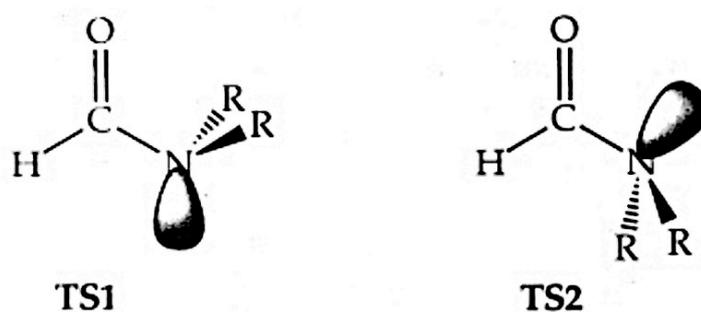


Figura 3.4 Estados de transição decorrentes da rotação interna da ligação amida. Retirada de [37].

Para obter o perfil do diedro ω pelo campo de força GROMOS 53A6 foram realizadas minimizações de energia e a barreira energética de interconversão foi similar a obtida ao nível MP2 sem restrições. Isto sugere que a descrição do GROMOS 53A6 para este diedro na molécula de DMA é adequada. Em cálculos clássicos a planaridade do N é mantida, por este motivo observou-se um perfil

simétrico. Esta restrição é característica do método clássico, onde não é possível mudar o potencial torcional durante a rotação a fim de mudar a geometria de trigonal plana a piramidal. Entretanto, em se tratando de dinâmica molecular o interesse é a amostragem dos estados de menor energia, que são as estruturas relevantes ao *ensemble* conformacional a ser analisado.

A rotação interna da ligação amida obtida através do campo de força GROMOS 53A6 apresentou uma barreira energética elevada para permitir a interconversão do DMA durante uma simulação em água a 298K (Figura 3.5). Cada ponto na Figura 3.5 representa o valor medido do diedro ω para a conformação da molécula num dado instante de simulação. Desta forma, é possível perceber que a população conformacional da molécula de DMA ficou restrita ao diedro ω em 180° . Este resultado era esperado, pois os parâmetros para o diedro ω neste campo de força foram desenvolvidos para simular aminoácidos, os quais não apresentam rotação interna da ligação amida a baixas temperaturas.

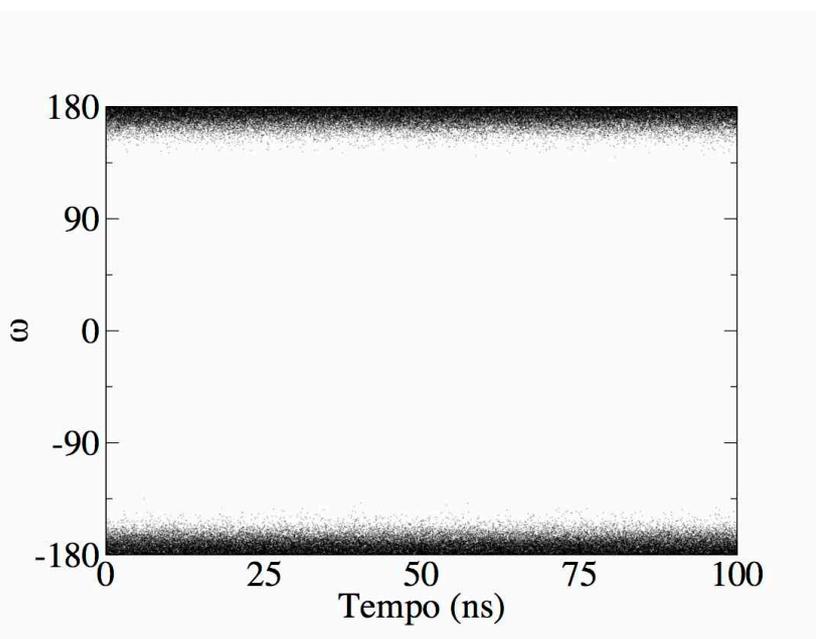


Figura 3.5 Evolução temporal do diedro ω para a molécula de DMA, utilizando os parâmetros GROMOS 53A6/54A7. Solvente: água a 298K.

Ainda na Figura 3.3 podemos observar um perfil rotacional da ligação amida com menor barreira energética (22 kJ mol^{-1}). Este perfil foi obtido através de minimizações utilizando uma adaptação do campo de força GROMOS 53A6, onde o potencial torcional do diedro ω foi empiricamente modificado a fim de diminuir a

barreira energética de rotação e permitir a interconversão cis/trans à temperatura de 298K. Uma comparação entre os novos e antigos parâmetros associados ao potencial torcional do diedro ω pode ser vista na Tabela 3.4. A diminuição da barreira energética de rotação objetivou amostrar eficientemente as conformações em peptóides, que são capazes de interconverterem-se à temperatura ambiente.

Tabela 3.4 Parâmetros associados ao potencial torcional do diedro ω .

	$K\omega$ (kJ mol^{-1})	δ ($^\circ$)	m
GROMOS 53A6/54A7	33.5	180	2
Novo	17	180	2

A interconversão cis/trans ocorre devido a efeitos esteroeletrônicos locais em amidas substituídas. O átomo de oxigênio em amidas polariza a ligação C-O, de modo que é possível uma interação entre a carbonila e o nitrogênio, quanto maior for esta interação maior será a estabilidade dos estados padrões frente aos intermediários. Esta interação é relativamente elevada no DMA e repercute em uma elevada barreira rotacional. Em amidas terciárias maiores que o DMA, outras interações podem ocorrer e diminuir a interação entre a carbonila e o par de elétrons do nitrogênio. A diminuição desta interação diminui a energia da rotação interna [150-152]. No caso dos peptóides foi observado que interações do tipo $n \rightarrow \pi^*$ estão ocorrendo [39]. Estas interações não só diminuem a barreira de rotação como podem favorecer o confôrmero cis ou trans. Não existem dados experimentais a respeito da barreira energética de rotação em peptóide, além do mais, a energia envolvida na rotação da ligação amida depende de um conjunto de fatores e pode variar muito de uma estrutura para outra.

Simulações por dinâmica molecular da molécula de DMA em água e temperatura de 298K demonstraram a maior eficiência dos novos parâmetros torcionais de ω na amostragem conformacional (Figura 3.6). As Figuras 3.5 e 3.6, foram obtidas a partir de simulações nas mesmas condições físico-químicas e pelo mesmo campo de força GROMOS 53A6, porém na Figura 3.6 foi utilizado uma adaptação do campo de força com os novos parâmetros de potencial torcional para o diedro ω (apresentados na Tabela 3.4). As populações conformacionais da molécula foram próximas de 50:50 para o diedro ω em 0 e 180°.

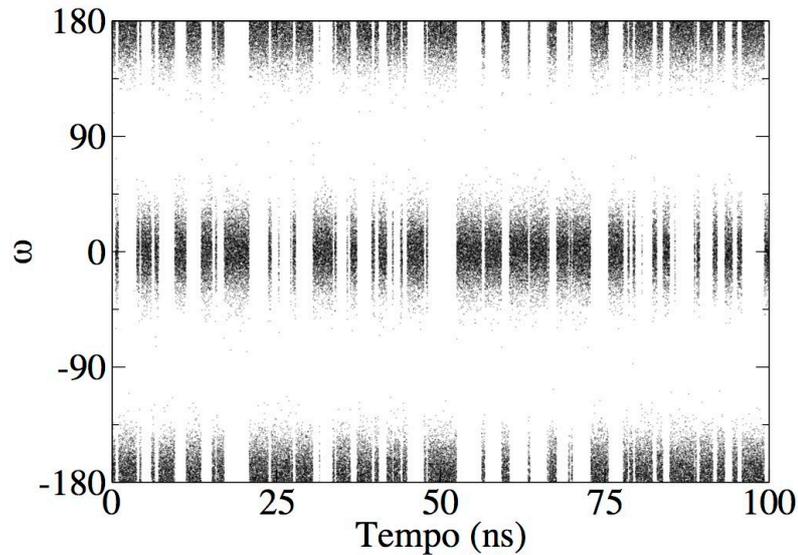


Figura 3.6 Evolução temporal do diedro ω para o DMA, utilizando-se os novos parâmetros torcionais para ω . Solvente: água a 298K.

Nas simulações descritas anteriormente o diedro da ligação amida foi definido para os átomos da cadeia principal $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$, da mesma forma como definido nos campos de força GROMOS. Além dessa, existe ainda mais três definições possíveis para este diedro: $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\beta}$; $O - C - N - C_{\beta}$ e $O - C - N - C_{\alpha}$, como descrito na Figura 3.7.

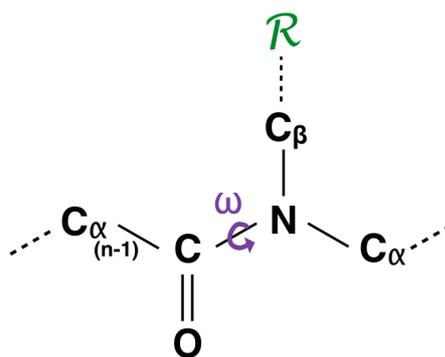


Figura 3.7 Descrição dos átomos envolvidos na rotação da ligação amida.

Em uma análise mais cautelosa sobre a repercussão das diferentes definições do diedro ω na molécula de DMA, foram obtidos perfis de distribuição conformacional para a simulação a partir do novo potencial torcional ω definido para

$C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$ (Figura 3.8a). A molécula de DMA, devido a sua simetria em relação à rotação da ligação amida, deve apresentar um perfil rotacional semelhante para as diferentes definições de diedro. Entretanto, a atribuição dos parâmetros torcionais através de uma única definição de diedro ω permitiu maior restrição conformacional para o diedro definido no campo de força ($C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$), enquanto que para as demais definições os valores obtidos apresentaram-se mais dispersos (Figura 3.8a). Este fenômeno foi consequência dos maiores desvios à planaridade apresentados pelos átomos C_{β} e O em relação a C_{α} .

Na tentativa de minimizar os efeitos de distorções causados na molécula de DMA, e conseqüentemente em outras moléculas, o diedro ω foi definido no campo de força para dois conjuntos de átomos ($C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$ e $O - C - N - C_{\beta}$). A constante de força, K_{ω} , do potencial torcional foi alterada para metade do valor, ou seja para 8.5, e os demais parâmetros (δ e m) foram mantidos como constam na Tabela 3.4. Desta maneira, a barreira energética para a rotação da ligação amida na molécula de DMA foi a mesma obtida no ajuste anterior, aproximadamente 22 kJ mol^{-1} (linha verde na Figura 3.3).

O novo conjunto de parâmetros ($K_{\omega} = 8.5 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$) atribuído a duas diferentes definições de diedro, permitiu uma distribuição conformacional de ω mais uniforme (Figura 3.8b). Além disso, a dupla definição do potencial torcional de ω manteve maior restrição dos diedros impróprios definidos para $N - C - C_{\alpha} - C_{\beta}$ e $C - C_{\alpha} - O - N$ (Figura 3.9), responsáveis por manter a planaridade da amida e carbonila, respectivamente. Por este motivo os resultados descritos a seguir foram obtidos a partir deste conjunto de parâmetros.

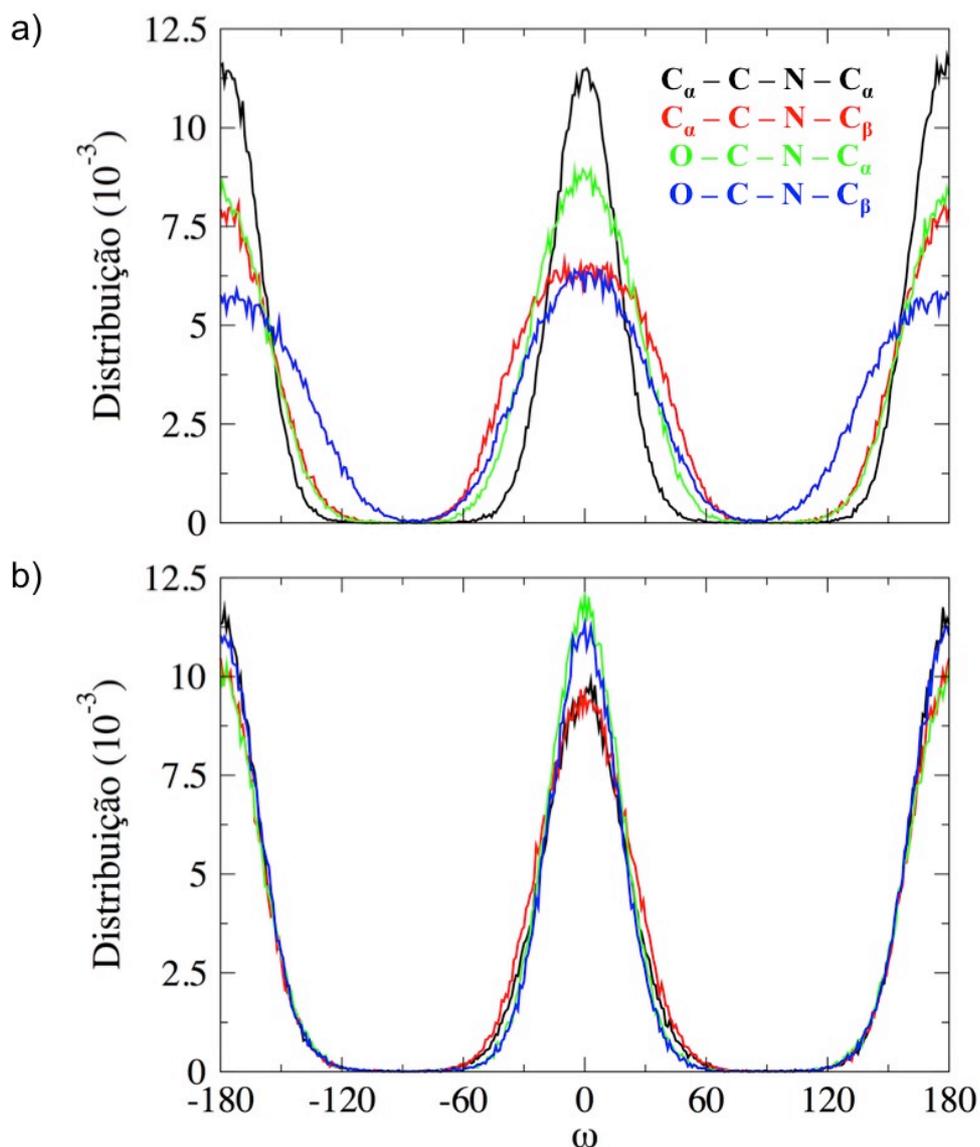


Figura 3.8 Distribuição do diedro ω na molécula de DMA para as possíveis definições de diedro ω . O conjunto de parâmetros torcionais foram **a)** $K_{\omega} = 17 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definidos para um único conjunto de átomos ($C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$) e **b)** $K_{\omega} = 8.5 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definidos para dois conjuntos de átomos ($C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$ e $O - C - N - C_{\beta}$). Simulação em água a 298K por 200ns.

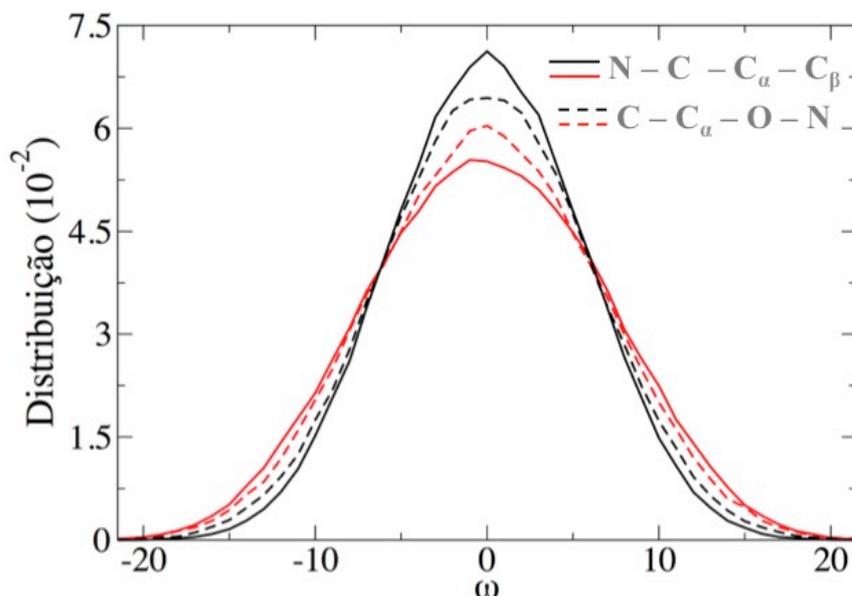


Figura 3.9 Distribuição dos diedros impróprios $N - C - C_{\alpha} - C_{\beta}$ e $C - C_{\alpha} - O - N$ na molécula de DMA. Em vermelho: resultado a partir do conjunto de parâmetros torcionais $K_{\omega} = 17 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definido para $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$. Em preto: resultado a partir novo conjunto de parâmetros ($K_{\omega} = 8.5 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definido para $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$ e $O - C - N - C_{\beta}$). Simulações em água a 298K por 200ns.

3.5 Rotação interna da ligação amida em monômeros de peptídeos

Dentre os campos de força mais utilizados para simular peptídeos estão o GROMOS 53A6 e o GROMOS 54A7. Este último, uma versão mais recente do GROMOS 53A6, foi obtido a partir de algumas modificações, das quais as únicas relevantes no estudo em questão são: parâmetros referentes aos ângulos diedros φ e ψ (Figura 3.10); e o termo de Lennard-Jones repulsivo, para interações diferentes de 1-4, entre átomos de oxigênio de carbonilas e nitrogênio de amidas ou aminas primárias (Tabela 3.5). O campo de força GROMOS atribui parâmetros Lennard-Jones para todas as possíveis combinações de pares atômicos e distingue os parâmetros de interações 1-4 dos demais parâmetros não ligados. Os parâmetros Lennard-Jones para as interações 1-4 nos campos de força GROMOS 53A6 e 54A7 são iguais. As alterações que originaram o GROMOS 54A7 foram realizadas no intuito de melhorar a amostragem de estruturas helicoidais[65].

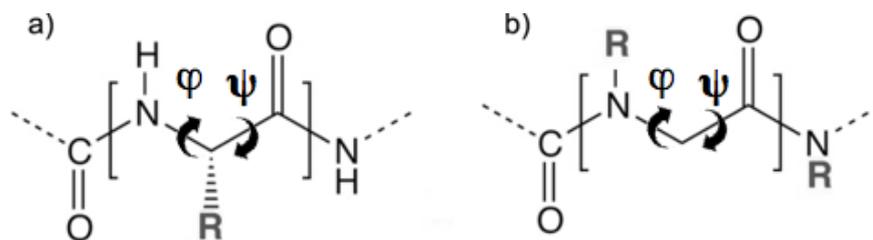


Figura 3.10 Definição dos ângulos diedros φ e ψ para a) peptídeo b) peptídeo.

Tabela 3.5 Parâmetros que diferenciam os campos de força GROMOS 53A6 e GROMOS 54A7.

Tipo de potencial		Átomos envolvidos	Parâmetro	GROMOS 53A6	GROMOS 54A7
diedro	φ	C _{n-1} -N-Cα-C	$K_{\varphi}^{(m=6,\delta=180^{\circ})}$ (kJ mol ⁻¹)	1	0.7
			$K_{\varphi}^{(m=3,\delta=0^{\circ})}$ (kJ mol ⁻¹)	-	2.8
	ψ	N-Cα-C-N _{n+1}	$K_{\psi}^{(m=6,\delta=0^{\circ})}$ (kJ mol ⁻¹)	1	0.4
			$K_{\psi}^{(m=2,\delta=180^{\circ})}$ (kJ mol ⁻¹)	-	3.5
Lennard-Jones*		N ... O	C ₁₂ (10 ⁻⁶ kJmol ⁻¹ nm ¹²)	2.19559	1.94300

* para interações diferentes de 1-4

As moléculas de peptídeos utilizadas neste estudo estão apresentadas na Figura 3.11. Dentre essas, Nsch-me, Nspe-me e Npm-me não apresentam ângulos diedros φ e ψ , e interação de van der Waals entre nitrogênio e oxigênio. Logo, os resultados para estas três moléculas independem do campo de força utilizado.

Simulações por 200 ns de dinâmica molecular foram realizadas para os monômeros em acetonitrila. A análise conformacional de Nsch-me, Nspe-me e Npm-me esta apresentada na Tabela 3.6 e Figura 3.12. Os dados na Tabela populacional foram obtidos a partir da contagem, durante cada instante da trajetória, dos valores de diedro ω no intervalos: $\{-90^{\circ} < \omega < 90^{\circ}\}$ para cis e $\{90^{\circ} > \omega$ ou $\omega < -90^{\circ}\}$ para trans. As trajetórias foram gerados a cada 500 passos de simulação, ou seja, a cada picossegundo.

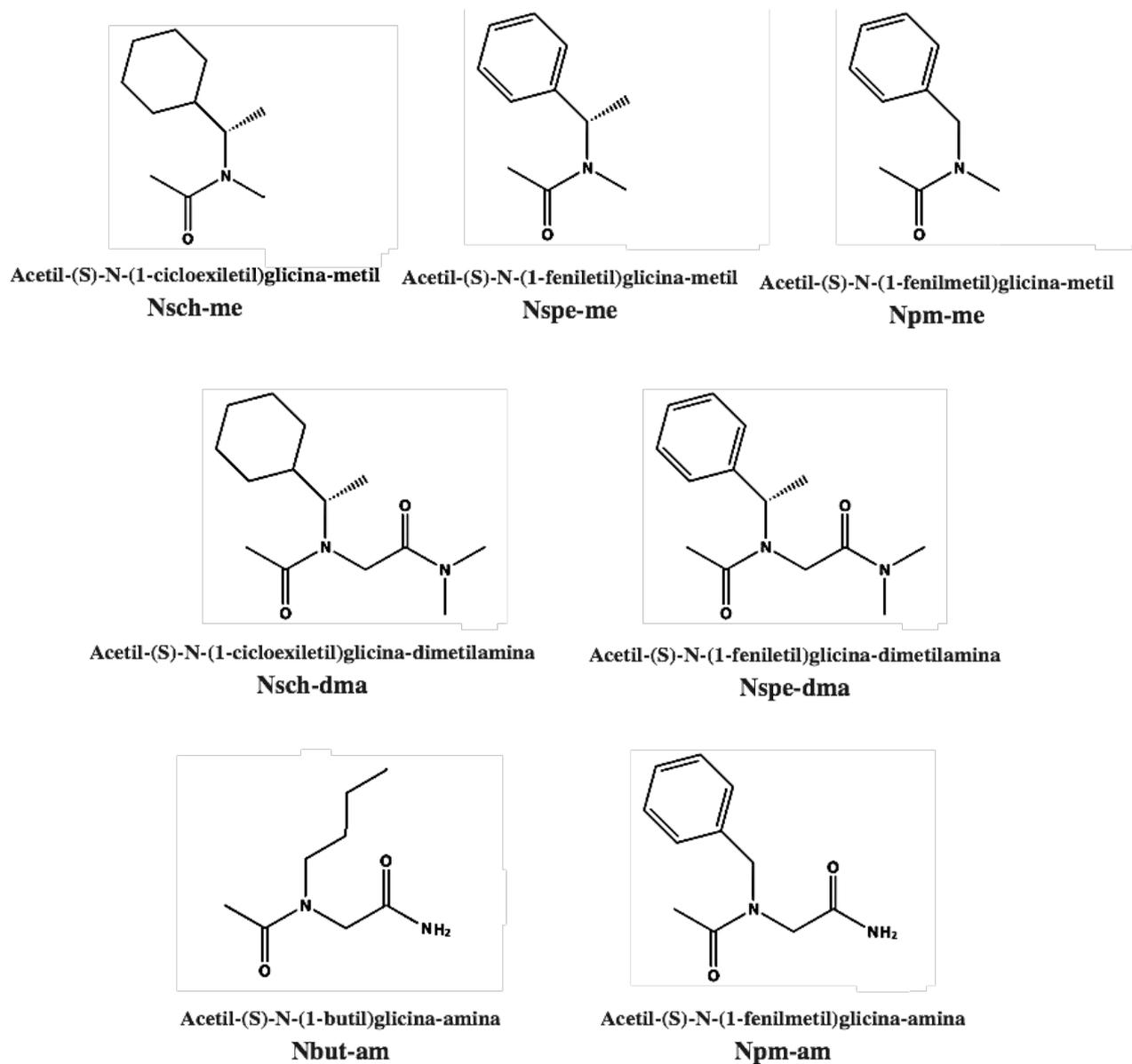


Figura 3.11 Representação das moléculas de peptóides estudadas.

Tabela 3.6 Percentual de populações conformacionais de unidades monoméricas de peptóides.

Sistema		Cis (%)		Trans (%)	
Peptóide	Solvente	MD ^a	RMN[39, 153]	MD ^a	RMN[39, 153]
Nsch-me	ACN^b	77	56.5	23	43.5
Nspe-me	ACN	57	67.9	43	32.1
Npm-me	ACN	63	62.7	37	37.3

^a GROMOS 53A6 + novo potencial torcional para ω

^b Acentonitrila

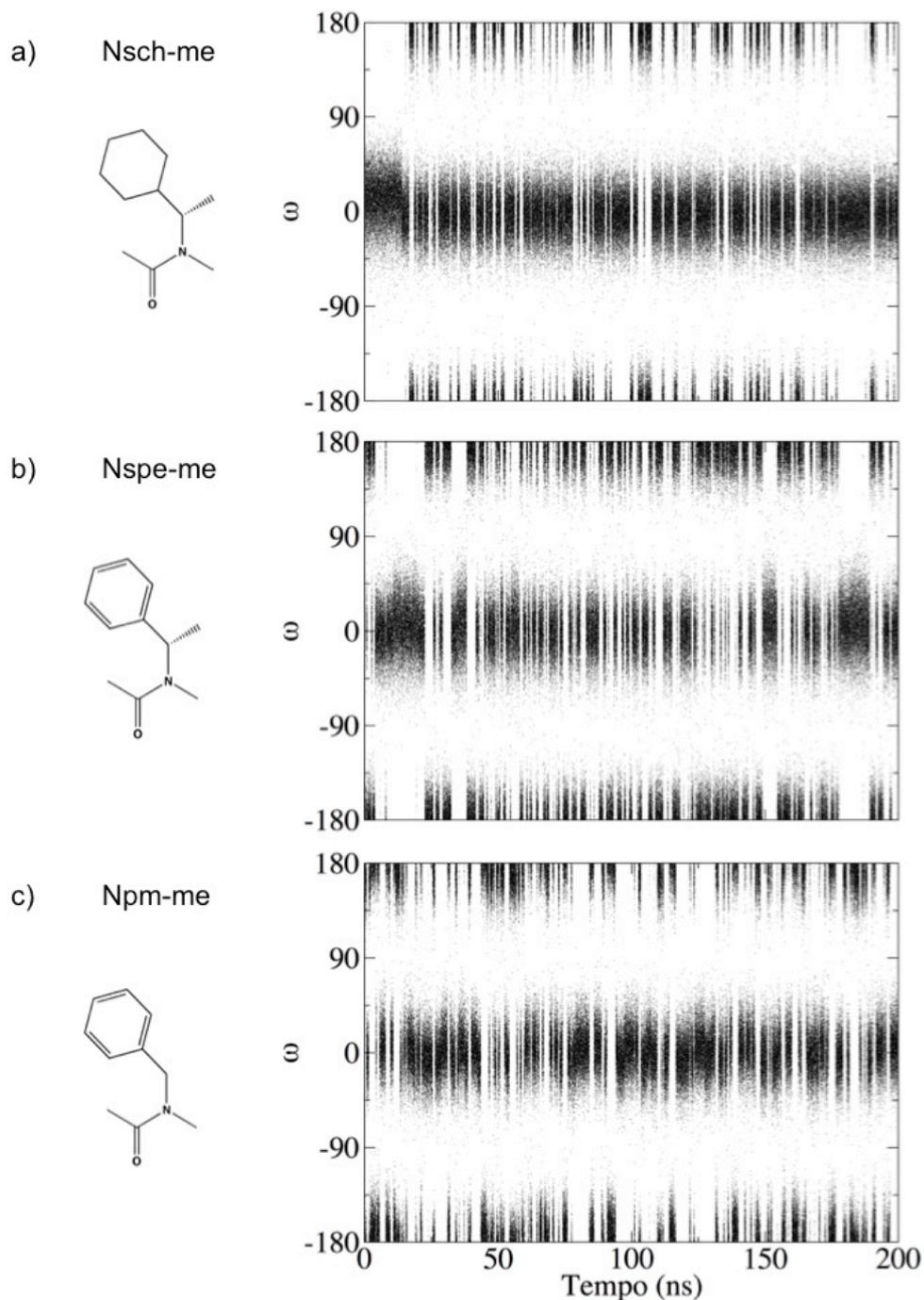


Figura 3.12 Distribuição do ângulo diedro ω ao longo da simulação para as unidades monoméricas a) Nsch-me, b) Nspe-me e c) Npm-me.

Os cálculos computacionais realizados para os monômeros Nsch-me, Npm-me e Nspe-me foram capazes de prever a preferência conformacional em cis obtida por RMN.

Para as demais moléculas presentes na Figura 3.11, os campos de força GROMOS 53A6 e GROMOS 54A7 influenciavam nos resultados. Portanto, foram

realizadas várias simulações teste com cada conjunto de parâmetro. Tais resultados não são relevantes ao entendimento do texto e não foram incluídos. Os dados obtidos para uma mesma molécula através de cada campo de força apresentaram diferenças significativas nas populações conformacionais, contudo, ambos previam sempre a mesma preferência conformacional, não necessariamente a correta. A escolha do campo de força a ser utilizado foi feita com base nos parâmetros de diedro. Perfis para o ângulo φ na molécula N,N-dimetilpropilamida (Figura 3.13a), em vácuo, foram calculados através de otimizações em intervalos de 30° por métodos clássico e quântico. Os cálculos *ab initio* foram obtidos pelo método de *Pulay DIIS* por 60 ciclos e tiveram suas energias calculadas ao nível HF/6-31G*. O resultado quântico foi comparado aos cálculos clássicos a partir de diferentes campos de força através do algoritmo *steepest descent* a 10000 passos. A comparação dos resultados está apresentada na Figura 3.13b.

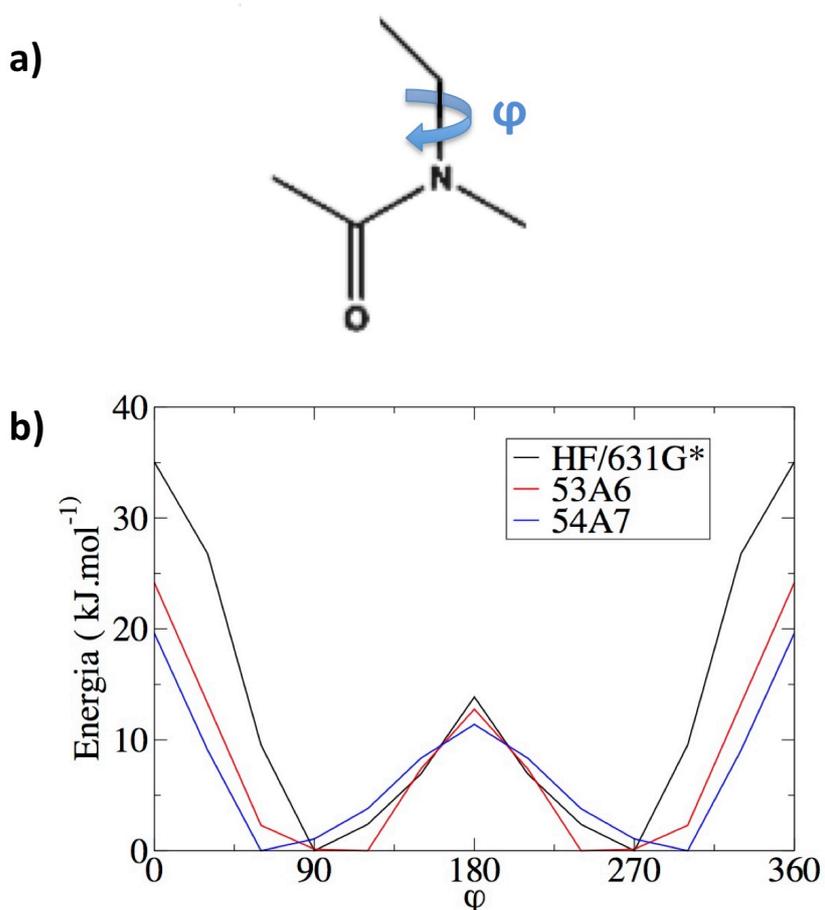


Figura 3.13 a) molécula de N,N-dimetilpropilamida b) perfil rotacional quântico e clássico do ângulo diedro φ .

O perfil rotacional obtido a partir do GROMOS 53A6 descreveu melhor os mínimos se comparado aos cálculos *ab initio* e foi escolhido para as simulações, cujos os resultados são apresentados a seguir. O mesmo procedimento não foi realizado para o diedro ψ devido as complicações em modelá-lo quanticamente. A menor estrutura para a descrição adequada de tal diedro apresentava muitos graus de liberdade.

Após definido o conjunto de parâmetros, conforme descrito anteriormente, as estruturas Nsch-dma, Nspe-dma foram simuladas em acetonitrila. Nbut-am e Npm-am tiveram água como solvente. Os resultados sobre a análise conformacional destas estruturas estão apresentados na Tabela 3.7 e Figura 3.14.

Tabela 3.7 Percentual de populações conformacionais de moléculas peptóides

Sistema		Cis (%)		Trans (%)	
Peptóide	Solvente	MD ^a	RMN[36, 39]	MD ^a	RMN[36, 39]
Nsch-dma	ACN ^b	22	36.7	78	63.3
Nspe-dma	ACN	29	62.8	71	37.2
Nbut-am	Água	44	28.6	56	71.4
Npm-am	Água	47	37.7	53	62.3

^a GROMOS 53A6 + novo potencial torcinal para ω .

^b Acentonitrila

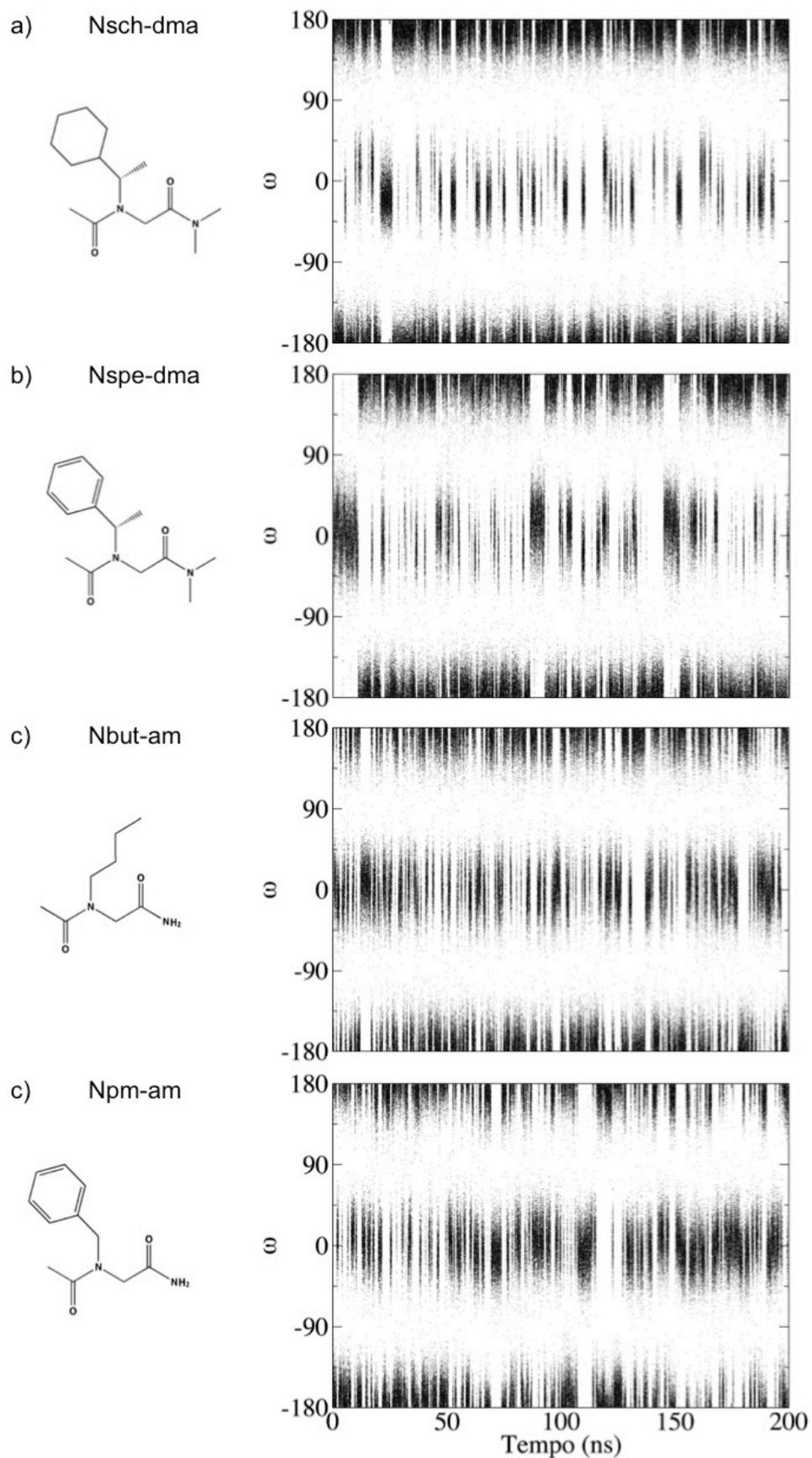


Figura 3.14 Distribuição temporal do ângulo diedro ω para as moléculas Nsch-dma, Nspe-dma, Nbut-am e Npm-am, representadas a esquerda de cada gráfico.

É possível perceber que a molécula Nspe-dma (de cadeia lateral aromática quiral) não apresentou resultado satisfatório e para as demais estruturas a conformação preferencial foi prevista corretamente. Além disso, as simulações das outras moléculas aromáticas, Nspe-me e moléculas aquirais, Npm-am e Npm-me, apresentaram boa concordância com os resultados de RMN. A dificuldade em se reproduzir adequadamente a preferência conformacional de Nspe-dma é entendida em termos da limitação do campo de força em descrever corretamente o balanço das interações $n \rightarrow \pi^*$ entre grupos carbonila ou entre carbonila e carbono aromático (Figura 1.5). As interações estereoeletrônicas têm um papel importante na estabilização de conformações cis/trans em peptóides e, no caso de Nspe-dma, a interação $n \rightarrow \pi^*$ entre o oxigênio da carbonila e o carbono aromático é considerada a principal responsável por estabilizar o confôrmero cis[39]. Vale ressaltar que o solvente também possui grande efeito sobre as populações conformacionais, principalmente solventes próticos que podem fazer ligações de hidrogênio com grupos terminais, como é o caso de Npm-am. Porém, os resultados para a molécula Nspe-dma foram obtidos em acetonitrila e a ausência de ligações de hidrogênio com o solvente reforça-nos a atribuir a discrepância do resultado a interações eletrônicas.

3.6 Análise de convergência

A avaliação de convergência foi feita a partir de simulações por 20 ns de metadinâmica, realizada pelo *plugin* PLUMED 2[154]. As simulações foram realizadas nas mesmas condições descritas na seção 3.2 e as variáveis coletivas de interesse, nesse caso, foram associadas à torsão do diedro ω . O potencial corrigido pela Gaussiana foi adicionado a cada 500 passos de simulação. A altura da Gaussiana foi de 1.2 radianos e a largura de 0.35 kJ/mol. A frequência de armazenamento de dados para análise foi de 25 passos.

A variação de energia livre para interconversão cis/trans das moléculas foi monitorada a cada instante de simulação e os sistemas foram considerados convergidos quando a variação de energia livre não divergiu significativamente. O tempo de convergência de cada sistema foi diferente e 20 ns foram suficientes para que todos os sistemas convergissem. A partir da variação de energia livre média dos

sistemas convergidos foram obtidos os percentuais conformacionais através da equação:

$$\Delta G = -R T \ln(K_{cis/trans}) \quad 5.1$$

Onde ΔG é a energia livre de Gibbs; T a temperatura em Kelvins; R a constante de Boltzman e $K_{cis/trans}$ é a constante de equilíbrio cis/trans, dada pela razão entre o número de confôrmeros cis/trans.

Os percentuais cis dos sistemas avaliados por metadinâmica foram comparados aos obtidos por 200ns de dinâmica molecular (sem melhoramento de amostragem) (Tabela 3.8). As simulações apresentadas na seção 3.5 apresentaram boa concordância com as simulações por metadinâmica, pois ambas descreveram a mesma conformação preferencial em cis ou trans. Desta forma, os sistemas foram considerados convergidos em 200ns de dinâmica molecular. Este resultado demonstra a eficiência de amostragem em simulações com a técnica de metadinâmica, que foi utilizada nos testes feitos na seção 3.7.

Tabela 3.8 Percentual conformacional cis obtido por 20 ns de metadinâmica (DM_{mt}) e 200 ns de dinâmica molecular (DM).

Peptóide	Solvente	DM _{mt} (%)	DM (%)	RMN (%)
nsch-dma	ACN	20	22	37
nspe-dma	ACN	42	29	63
npm-me	ACN	61	63	63
nsch-me	ACN	71	77	57
nspe-me	ACN	56	57	68
nbut-am	Água	43	44	29
npm-am	Água	48	47	38

3.7 Avaliação de novos parâmetros

Como visto na seção 3.5, o resíduo de Nspe-dma não apresentou resultado satisfatório devido à limitação do campo de força em descrever a interação $n \rightarrow \pi^*$ entre o oxigênio da carbonila e o carbono aromático, considerada neste caso a principal responsável por estabilizar o conformero cis. Por este motivo, parâmetros eletrostáticos e de van der Waals foram ajustados empiricamente a fim de favorecer esta interação.

As modificações a partir do campo de força GROMOS 53A6 ocorreram, basicamente, com um aumento de carga no carbono deficiente em elétrons do anel aromático (CG, Figura 3.2b) e/ou aumento no termo atrativo de Lennard-Jones apenas para o par atômico: carbono CG e oxigênio de carbonila ($C_{6(CG...O)}$), como representado pelos campos de força FF2 a FF6 na Tabela 3.9. Resumidamente, no campo de força FF2 houve um aumento na carga do átomo de carbono CG para 0.06 e; em FF3, além da mudança eletrostática mencionada, houve também um aumento no termo $C_{6(CG...O)}$; em FF4 a carga de CG foi alterada para 0.1 e; em FF5, além da mudança de carga realizada em FF4, houve também um aumento no termo $C_{6(CG...O)}$ e em FF6 somente o termo $C_{6(CG...O)}$ foi modificado. O termo de Lennard-Jones $C_{6(CG...O)}$ escolhido já existia no campo de força GROMOS 53A6/54A7 para a interação entre carbono de compostos aromáticos heterocíclicos e oxigênio de carbonila. Também foi avaliado o campo de força GROMOS 53A6 com os termos de van der Waals do GROMOS 54A7 (FF7), cuja diferença está no parâmetro repulsivo (C_{12}) de Lennard-Jones entre átomos de oxigênio de carbonilas e nitrogênio de amidas ou aminas primárias. Todas as alterações nos termos de Lennard-Jones foram feitas para interações que não fossem do tipo 1-4. Os parâmetros existentes no campo de força GROMOS 53A6 e as modificações realizadas estão apresentadas na Tabela 3.9. Vale lembrar que em todos os campos de força descritos, FF1 a FF7, foi utilizado o novo potencial torcional para o diedro ω ($K\omega = 8.5 \text{ kJ, mol}^{-1}$ $\delta = 180^\circ$ e $m = 2$ definido para dois conjuntos de átomos: $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_\alpha$ e $O - C - N - C_\beta$).

Tabela 3.9 Conjunto de parâmetros presentes no GROMOS 53A6 e modificações que originaram diferentes campo de força

Campo de força		Tipo de potencial	Átomos envolvidos	Parâmetro	Valor	Unidade
GROMOS 53A6 FF1		cargas parciais	$CG_{(ar)}$	$q_{CG(ar)}$	0	e
			$C_{(ar)}$	$q_{C(ar)}$	-0.14	e
			$H_{(ar)}$	$q_{H(ar)}$	0.14	e
		van der Waals	$CG_{(ar)} \dots O$	C_6	$2.3009528 \cdot 10^{-3}$	$\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^6$
			$N \dots O$	C_6	$2,19559 \cdot 10^{-12}$	$\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^{12}$
FF3	FF2	cargas parciais	$CG_{(ar)}$	$q_{CG(ar)}$	0.06	e
			$C_{(ar)}$	$q_{C(ar)}$	-0.140	e
			$H_{(ar)}$	$q_{H(ar)}$	0.128	e
		van der Waals	$CG_{(ar)} \dots O$	C_6	$3.53133 \cdot 10^{-3}$	$\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^6$
FF5	FF4	cargas parciais	$CG_{(ar)}$	$q_{CG(ar)}$	0.10	e
			$C_{(ar)}$	$q_{C(ar)}$	-0.14	e
			$H_{(ar)}$	$q_{H(ar)}$	0.12	e
	FF6	van der Waals	$CG_{(ar)} \dots O$	C_6	$3.53133 \cdot 10^{-3}$	$\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^6$
FF7		van der Waals	$N \dots O$	C_{12}	$1.943 \cdot 10^{-6}$	$\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^{12}$

A avaliação dos parâmetros descritos na Tabela 3.9 foi feita a partir de simulações por metadinâmica, da mesma forma como descrito na seção 3.6, para as moléculas monoméricas de peptóides (Figura 3.11) em água e acetonitrila. Os resultados obtidos constam na Tabela 3.10.

Tabela 3.10 Percentual da população conformacional cis a partir dos diferentes campos de força.

Peptóide	Solvente	FF1	FF2	FF3	FF4	FF5	FF6	FF7	RMN
nsch-dma	ACN	0.2	0.19	0.2	0.23	0.19	-	0.22	0.37
nsch-dma	Água	0.19	0.19	-	0.22	0.26	0.2	0.13	-
nspe-dma	ACN	0.42	0.4	0.45	0.63	0.4	0.43	0.19	0.63
nspe-dma	Água	0.33	0.38	0.42	0.5	0.32	0.27	0.48	-
npm-me	ACN	0.61	0.67	0.69	0.71	0.77	0.69	0.62	0.63
npm-me	Água	0.69	0.71	0.72	0.72	0.81	0.7	0.61	-
nsch-me	ACN	0.71	0.7	0.65	0.64	0.6	0.67	0.71	0.57
nsch-me	Água	0.7	0.69	0.73	0.68	0.69	0.67	0.73	-
nspe-me	ACN	0.56	0.62	0.66	0.71	0.71	0.64	0.57	0.68
nspe-me	Água	0.78	0.59	0.82	0.67	0.83	0.7	0.6	-
nbut-am	ACN	0.49	0.49	0.48	0.52	0.43	0.51	0.48	-
nbut-am	Água	0.43	0.48	0.43	0.39	0.49	0.48	0.48	0.29
npm-am	ACN	0.52	0.61	0.56	0.6	0.56	0.55	0.48	-
npm-am	Água	0.48	0.51	0.6	0.59	0.53	0.56	0.57	0.38

A análise conformacional das simulações, a partir dos novos conjuntos de parâmetros, mostraram que apenas um aumento na carga do átomo CG para 0.1 e (FF4) foi capaz de aumentar consideravelmente a população cis em nspe-dma. Porém, este aumento na conformação cis também foi observado para npm-am, ocasionando numa preferência conformacional diferente da predita por dados de RMN. Para as estruturas não aromáticas não havia diferença entre os campos de força FF2 a FF6, logo, as diferenças observadas nos percentuais foram devidas ao erro associado ao método. O conjunto de parâmetros que apresentou menores desvios dos valores experimentais foram FF1 e FF4 (Figura 3.15). FF4 apresentou menor valor médio para o erro relativo em relação aos dados experimentais, no entanto, esse conjunto de parâmetros também apresentou um dos maiores desvios

padrão do erro relativo obtido. O campo de força FF1 apresentou o segundo menor valor médio ao erro relativo e menor desvio padrão. Uma combinação dos campos de força FF1 e FF4, onde a carga 0.1 e foi aplicada aos átomos CG de compostos aromáticos quirais (Nspe), melhorou consideravelmente os resultados calculados em relação aos experimentais. O erro relativo médio a partir dessa combinação foi de 0.167 e desvio padrão de 0.158. Em virtude da melhor reprodução dos dados conformacionais de RMN, a recém mencionada combinação de parâmetros foi utilizada na simulação de oligômeros (seção 3.9)

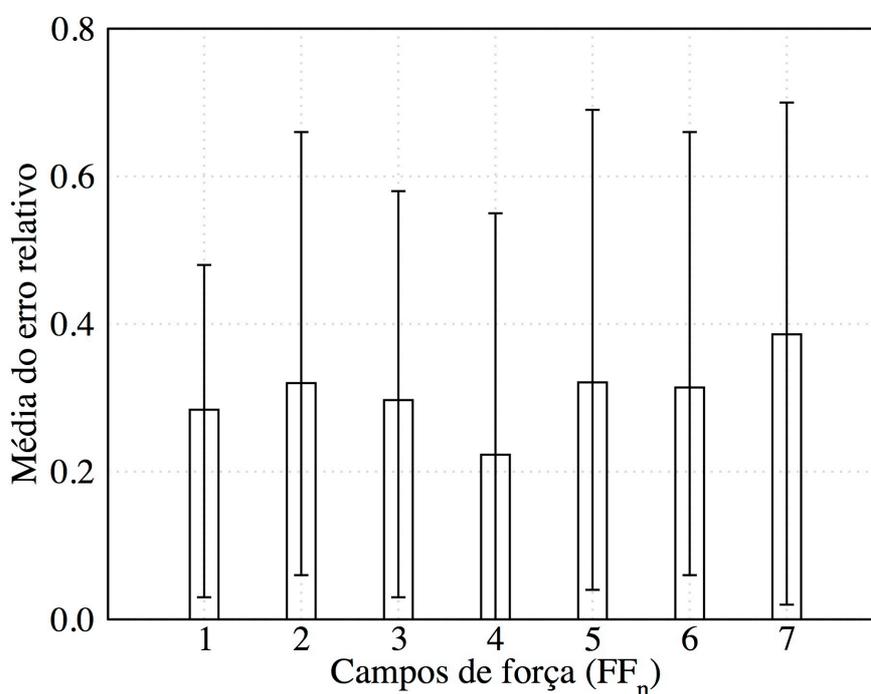


Figura 3.15 Erro médio relativo ao percentual cis calculado através de cada campo de força, em relação aos valores obtidos por RMN.

3.8 Influência das cadeias laterais nas distribuições de diedros φ e ψ

O gráfico de Ramachandran é a distribuição dos diedros da cadeia principal (φ , ψ) e foi estabelecido para interpretar a estrutura de proteínas, uma vez que essas torções são os graus de liberdade dominantes nas cadeias principais de peptídeos. Em peptídeos, há um grau de liberdade a mais, o diedro ω , que exerce grande influência para a formação de estruturas, além disso, entender como as cadeias laterais influenciam na distribuição dos diedros φ e ψ fornece importantes pistas sobre as possíveis estruturas secundárias.

Para entender melhor as preferências dos diedros na cadeia principal de peptídeos, foram analisados os gráficos de Ramachandran das moléculas Nsch-dma, Nspe-dma, Nbut-am e Npm-am (Figura 3.16). As regiões acessíveis nas distribuições dos diedros φ e ψ foram similares em todos os casos, indicando que o perfil Ramachandran de peptídeos é relativamente consistente para uma variedade de cadeias laterais, o que concorda com estudos prévios[55, 68, 155]. Sobretudo, dependendo da cadeia lateral, as regiões do gráfico podem ser mais ou menos populosas e dispersas. O perfil do gráfico de Ramachandran para Nspe-dma foi similar ao obtido pelo método B3LYP/6-311+G(2d,p)//HF/6-31G*[55], onde as regiões de mínima energia calculadas foram compatíveis com as regiões mais acessadas na Figura 3.16b.

A alteração induzida pela cadeia lateral, mesmo que com variações sutis nos perfis Ramachandran, são potencialmente significativas nas propensões de possíveis estruturas secundárias. Devido ao menor volume das cadeias laterais de moléculas Nbut-am, Npm-am, comparadas a Nspe-dma e Nsch-dma, as distribuições dos ângulos diedros foram muito mais dispersas. Isto concorda com as observações de que o volume de cadeias laterais α -quirais restringem o espaço conformacional. Além disso, comparando-se as duas moléculas aromáticas, as regiões mais acessadas são diferentes, em torno de (100°, 140°) para Npm-am e (-140°, 90°) para Nspe-dma.

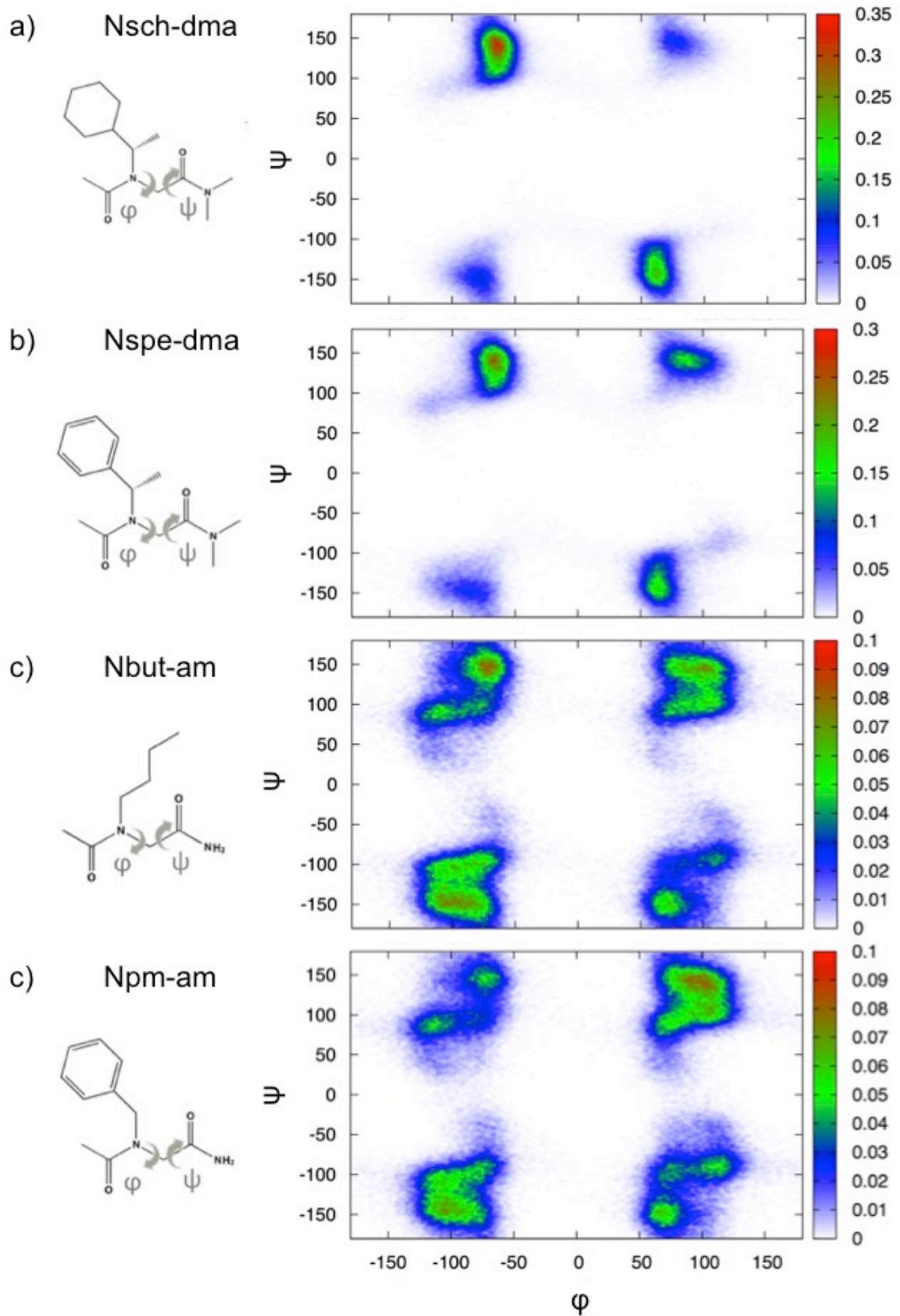


Figura 3.16 Gráficos de Ramachandran para as moléculas de peptídeo, obtidos por simulações de 200ns a partir do campo de força FF1.

3.9 Simulação de oligômeros

Acredita-se que peptóides podem assumir estruturas secundárias helicoidais similares à hélice de poliprolina tipo I (PPI), com 3 resíduos por volta e predominância conformacional cis, assim como em poliprolinas PPI, cujas ligações amida estão completamente em conformação cis. Estas estruturas em hélice foram atribuídas a peptóides constituídos de monômeros com cadeias laterais quirais, tais como N-(S)-(1-feniletil)glicina (Nspe)[44], N-(S)-(sec-butil)glicina (Nssb)[47], N-(S)-(1-ciclohexiletil)glicina (Nsch)[47], N-(S)-1-(nafiletil)glicina (Ns1npe)[45] e seus respectivos enântiômeros.

Inicialmente, estruturas oligoméricas com cadeia lateral aromática α -quiral de N-(S)-(1-feniletil)glicina (Nspe) foram consideradas hélices α devido ao seu espectro de CD similar a peptídeos em hélice α , com pico máximo em 192 nm e mínimos em 202 e 218 nm [156, 157]. No início dos anos 2000, Wu e colaboradores instituíram um conjunto de regras preditivas para a estabilização de hélices em oligômeros de peptóides, em que estabelecia a proporção mínima de unidades α -quirais, posição favorável de resíduos aromáticos e comprimento do oligômeros capazes de gerar espectros de CD com picos mais intensos[43, 158]. A partir de 2003, as estruturas de oligômeros de Nspe foram interpretadas como sendo hélices de poliprolina tipo I, pois estudos realizados pelo mesmo grupo indicaram a existência de estruturas de peptóides em hélice PPI[47].

O reconhecimento de hélice PPI em peptóides foi realizada para um pentâmero de N-(R)-(1-ciclohexiletil)glicina (Nrch) por cristalografia de raios-X, em que a cadeia principal do oligômero apresentou diedros similares à hélice PPI. Baseado neste estudo e em espectros de CD bem definidos com máximo em 210 nm e mínimo em 225 nm, relativamente similar à poliprolina (Tabela 3.11), oligômeros de Nsch e Nssb em acetonitrila também foram considerados hélices. Apesar do espectro de CD diferente de Nsch, as estruturas formadas por Nspe também foram consideradas hélices PPI e a diferença entre os espectros foi atribuída às diferentes cadeias laterais. De acordo com estudos de Wu, acredita-se que Nspe favoreça ainda mais estruturas em hélice PPI devido à repulsão estérica entre cadeias laterais aromáticas e entre o par de elétrons do oxigênio da carbonila e elétrons π aromáticos. Além disso, oligômeros Nspe apresentaram maior proporção de resíduos em cis quando comparados aos oligômeros de Nsch, fator

importante para estabilizar a estrutura helicoidal PPI que é encontrada na conformação cis. Através destas justificativas, Wu e colaboradores atribuíram os diferentes espectros de CD de Nspe e Nsch à mesma estrutura helicoidal[47]. A partir destes estudos, o padrão de espectro de CD tem sido amplamente empregado no diagnóstico de estruturas em hélice PPI para peptóides de Nspe[44, 47].

Tabela 3.11 Regiões de bandas características em espectro de CD para estruturas secundárias de peptídeos e peptóides.

	Máximo(nm)	Mínimo (nm)		Referência
		Menos Intenso	Mais Intenso	
Hélice α	193	206	222	[159]
(Nspe) ₇	192	202	218	[44]
Hélice PPI	214 - 215	231 – 232	198 - 200	[160]
(Nsch) ₁₃	210	195	225	[47]

Todavia, várias contradições são encontradas na interpretação mencionada anteriormente, como por exemplo, o alto grau de degenerescência dos picos observados por RMN indicaram oligômeros desestruturados. Além disso, a existência de populações significativas de confôrmeros em cis e trans, obtida por RMN, revela alta flexibilidade destes oligômeros, não condizente com estruturas secundária bem definidas. Mesmo assim, a predominância conformacional cis e os espectros de CD similares à hélices foram considerados conclusivos para a caracterização de estrutura helicoidal para Nsch e Nspe[47].

Investigação acerca da estrutura de peptóides foi realizada a partir de heptâmeros com cadeias laterais aromáticas quirais (Nspe)₇ e não quirais (Npm)₇ e com a combinação de ambas (Npm)₄(Nspe)₃ (Figura 3.17), as quais atribuem-se a formação de estrutura helicoidal, não helicoidal e moderadamente helicoidal, respectivamente[44]. Simulações por dinâmica molecular para os oligômeros foram realizadas por 400ns em acetonitrila e condições normais de temperatura e pressão. O conjunto de parâmetros utilizado foi o campo de força 53A6 com o potencial torcional de ω : $K_{\omega} = 8.5 \text{ kJ, mol}^{-1}$ $\delta = 180^{\circ}$ e $m = 2$ definido para: $C_{\alpha(n-1)} - C - N - C_{\alpha}$

e O – C – N – C_β e carga de 0.1 e para o carbono CG do anel aromático de Nspe. Inicialmente os heptâmeros estavam com cadeia principal linearmente estendida e ligações amida na conformação trans.

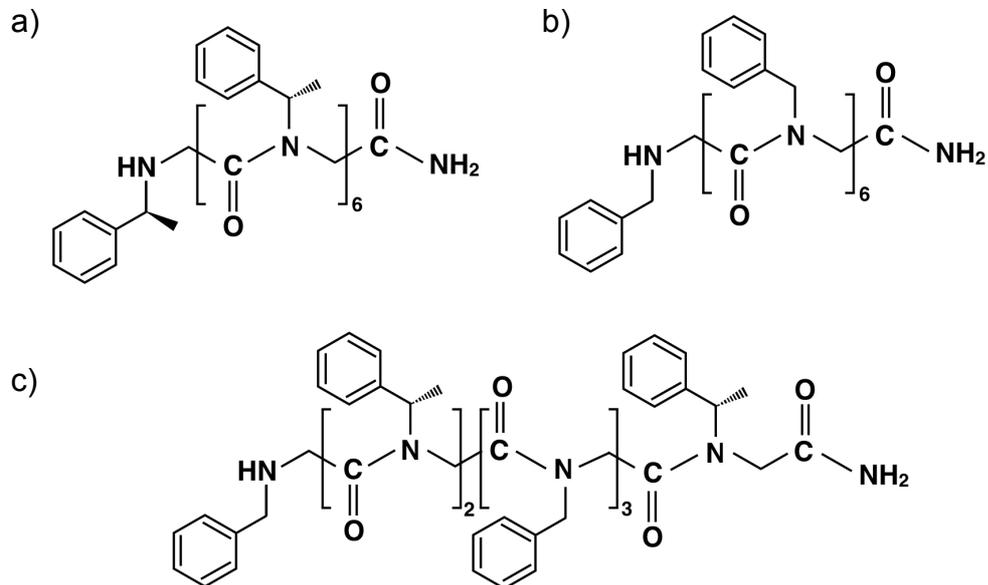


Figura 3.17 Estrutura dos heptâmeros de peptóides a) (Nspe)₇ b) (Npm)₇ c) (Npm)₄(Nspe)₃

Os resultados obtidos a partir das simulações não mostraram estruturas em hélice PPI, como pode ser observado pelo desvio quadrático médio (RMSD) das cadeias principais dos oligômeros em relação à cadeia principal de uma hélice PPI canônica (Figura 3.18). Os heptâmeros apresentaram valores elevados de RMSD, com variações equidistantes entre 0.2 e 0.4 nm, indicando estruturas bastantes flexíveis.

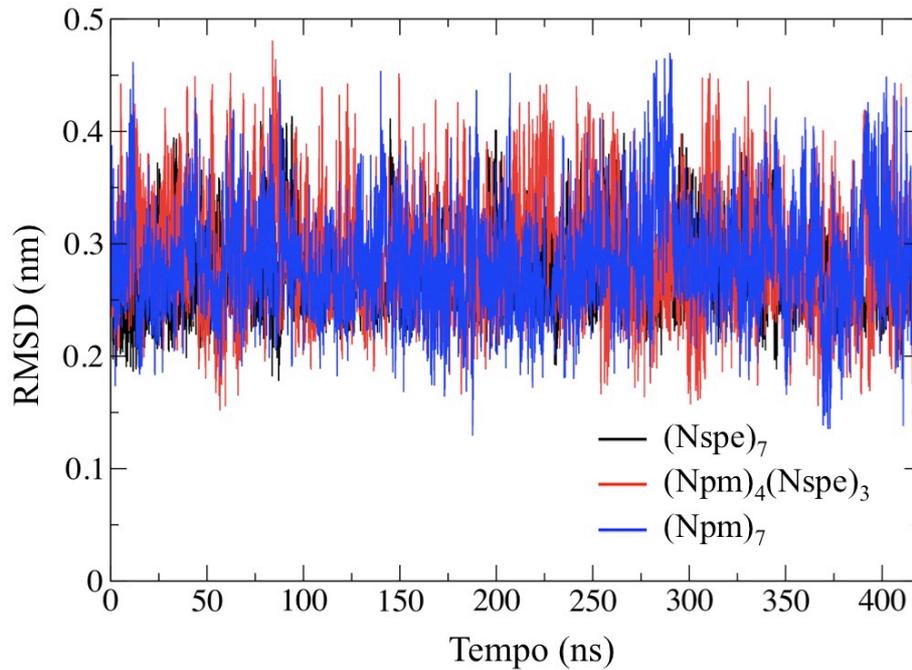


Figura 3.18: Desvio quadrático médio das cadeias principais de heptâmeros peptídicos em relação à cadeia principal de uma hélice PPI canônica.

A flexibilidade dos oligômeros também foi comprovada pelo agrupamento de estruturas semelhantes obtidas ao longo da simulação. As estruturas adotadas pelos heptâmeros foram agrupadas em *clusters* conformacionais com RMSD, da cadeia principal dos 5 resíduos centrais, em até 0.14nm e método GROMOS (Figura 3.19). O oligômero de Nspe apresentou estruturas mais representativas se comparado aos demais oligômeros. Enquanto (Nspe)₇ se agrupou em 148 *clusters* estruturais, os oligômeros (Npm)₄(Nspe)₃ e (Npm)₇ se agruparam em 190 e 214, respectivamente.

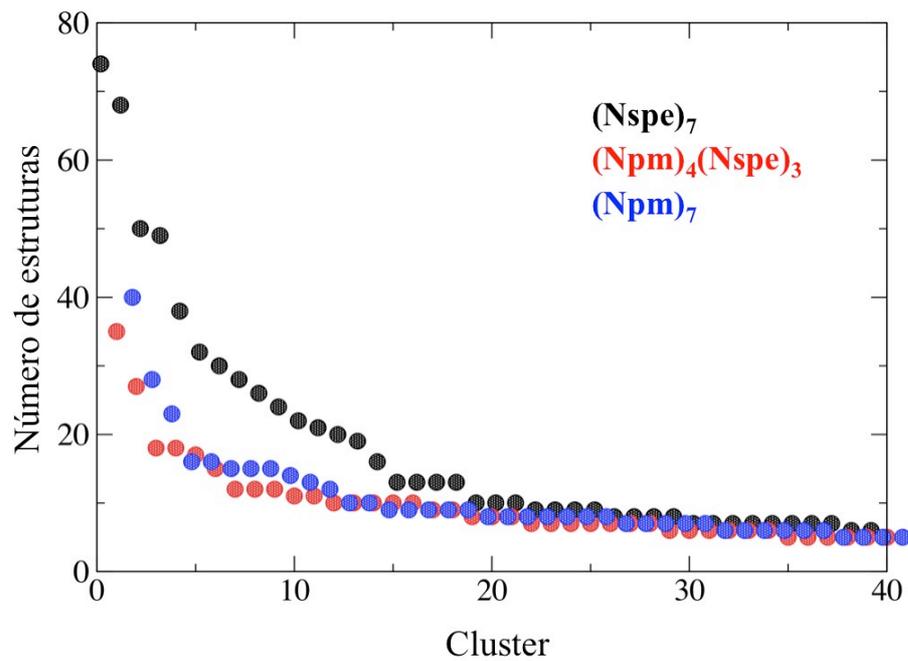


Figura 3.19 Clusters das estruturas obtidas ao longo da simulação com RMSD da cadeia principal dos 5 resíduos centrais em até 0.14nm.

As distribuições conformacionais do diedro ω foram analisadas para todas as ligações amida dos heptâmeros no decorrer da simulação (Figura 3.20). Foi possível notar a predominância conformacional cis para (Nspe)₇, e (Npm)₄(Nspe)₃, enquanto que a razão cis:trans para (Npm)₇ foi próxima a 1:1. A distribuição da conformação trans em (Npm)₇ foi quase o dobro da apresentada por (Nspe)₇, o qual apresentou a maior razão cis:trans, de aproximadamente 2:1.

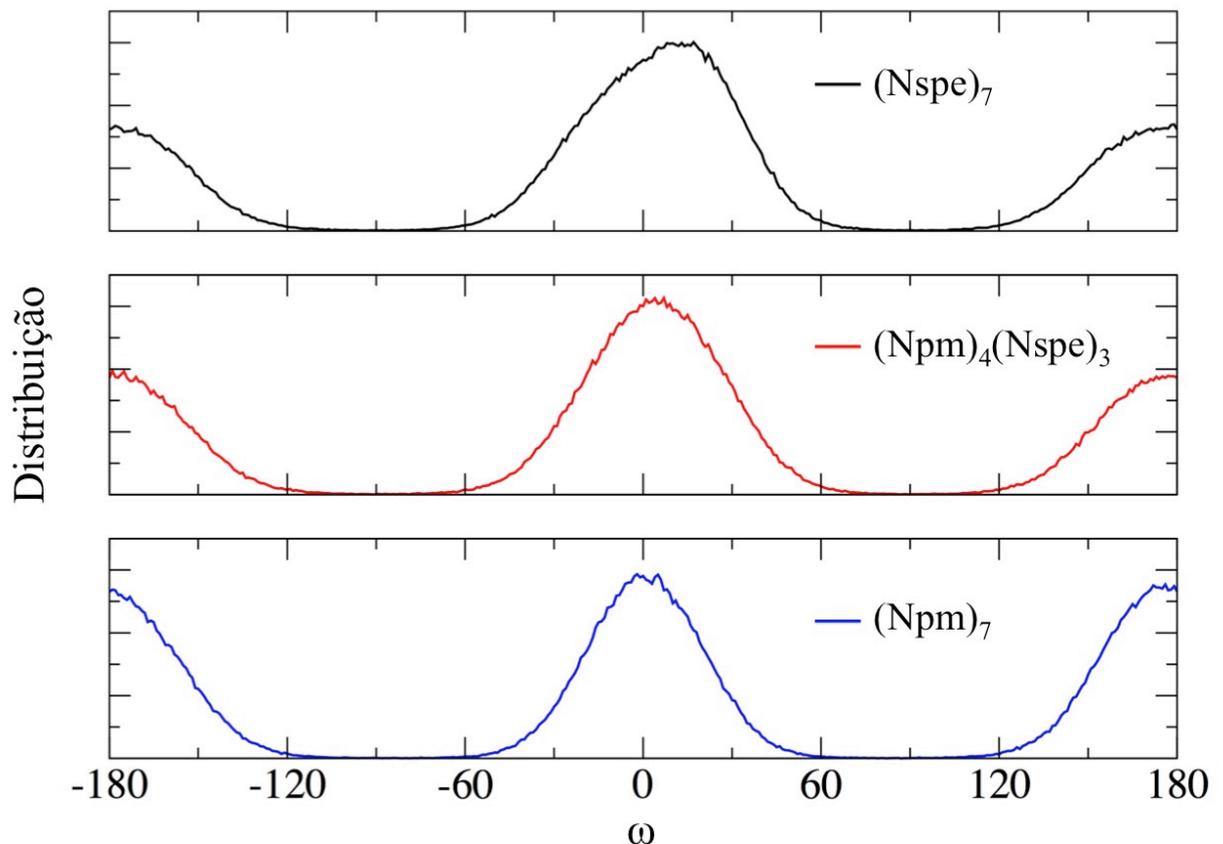


Figura 3.20 Distribuição conformacional do diedro ω em $(Nspe)_7$; $(Npm)_4(Nspe)_3$ e $(Npm)_7$.

Os resultados obtidos sugerem que os espectros de CD para os heptâmeros são influenciados pelas transições eletrônicas favorecidas pelas conformações cis. Os espectros de CD de $(Nspe)_7$ e $(Npm)_4(Nspe)_3$ foram similares, variando apenas na intensidade das bandas de absorção, já o heptâmero $(Npm)_7$ não apresentou bandas de absorção de CD na região 190 a 260 nm[44]. Comparativamente ao $(Nspe)_7$, em $(Npm)_4(Nspe)_3$ o desfavorecimento conformacional de cis ocorreu pela presença de resíduos com cadeias laterais aromáticas aquirais, e conseqüentemente diminuição de intensidade das bandas no espectro de CD. Para o oligômero $(Npm)_7$, em que não foi observada a predominância de conformação cis, o espectro de CD não apresentou regiões de absorção. O mesmo fenômeno foi observado para oligômeros de Nsch e Nssb, em que as estruturas com preferência conformacional cis, $(Nsch)_{15}$ e $(Nssb)_{15}$, apresentaram espectro de CD característico de hélice, já o hexâmero $(Nsch)_6$, cuja proporção cis:trans foi 1:1, não apresentou espectro de CD correspondente à estrutura helicoidal.

Os gráficos de Ramachandran para os oligômeros confirmaram as observações de que $(\text{Nspe})_7$ é conformacionalmente mais estável comparado aos demais heptâmeros. A maior restrição do espaço conformacional em $(\text{Nspe})_7$ foi observada em termos da distribuição mais densa e restrita de φ e ψ (Figura 3.21). Da mesma forma, a distribuição mais dispersa de φ e ψ foi observada para $(\text{Npm})_7$, como consequência da sua maior flexibilidade. Ademais, a região de distribuição mais acessada por $(\text{Nspe})_7$ foi observada em torno de $\varphi = -70^\circ$ e $\psi = 140^\circ$, diferentemente de $(\text{Npm})_4(\text{Nspe})_3$ e $(\text{Npm})_7$, que apresentaram maior distribuição dos diedros em $\varphi = 100^\circ$ e $\psi = 140^\circ$. A semelhança na distribuição de φ e ψ para $(\text{Npm})_4(\text{Nspe})_3$ e $(\text{Npm})_7$, não repercutiu em bandas de absorção de CD similares e, apesar de $(\text{Nspe})_7$ e $(\text{Npm})_4(\text{Nspe})_3$ apresentarem regiões preferenciais distintas para a distribuição de φ e ψ , os espectros de CD apresentaram as mesmas bandas de absorção. Tais observações corroboram com a hipótese de que a prevalência conformacional cis e menor flexibilidade de $(\text{Nspe})_7$ e $(\text{Npm})_4(\text{Nspe})_3$ sejam os principais responsáveis pelos espectros de CD similares ao obtidos por hélices.

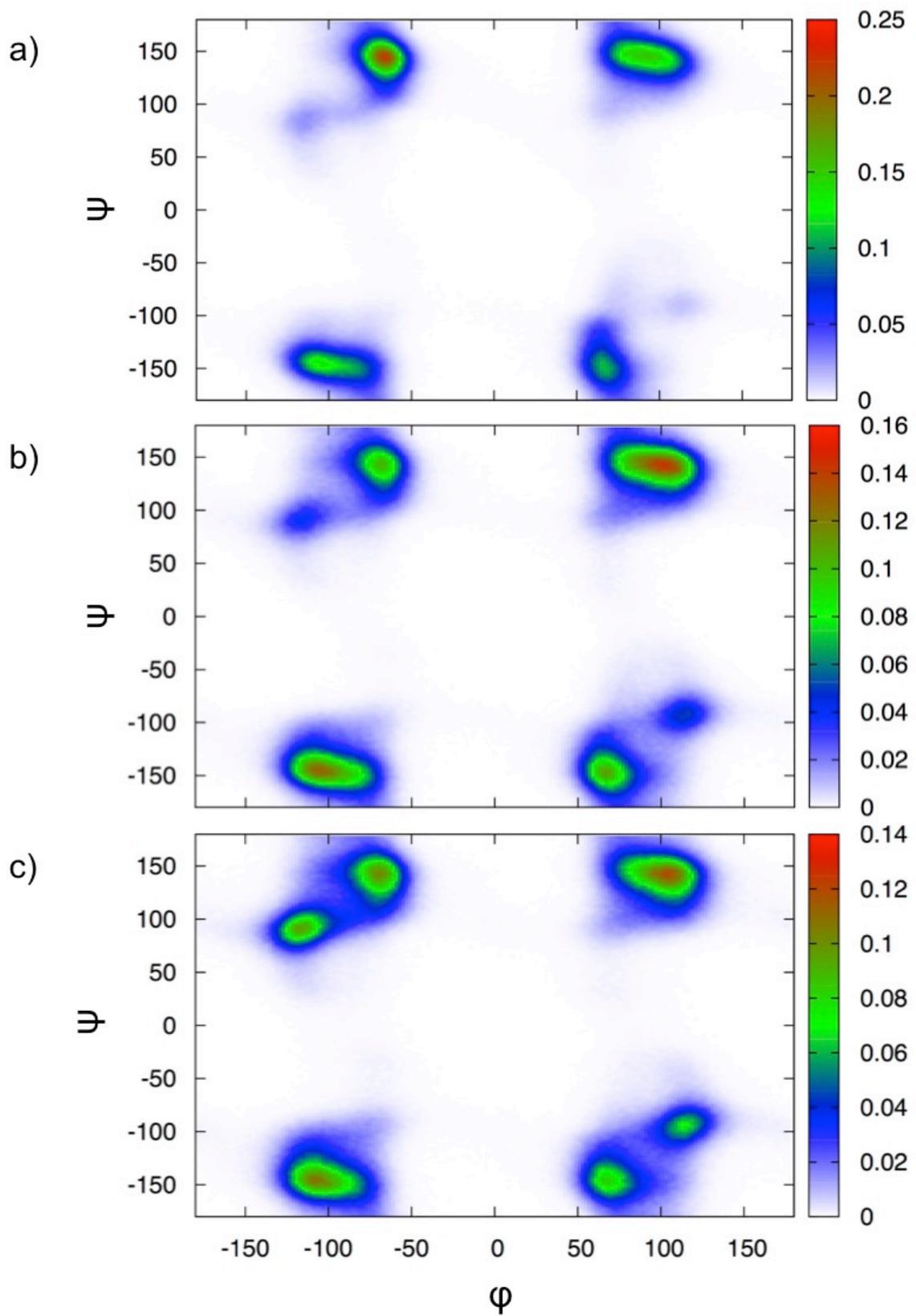


Figura 3.21 Gráficos de Ramachandran para a) $(Nspe)_7$ b) $(Npm)_4(Nspe)_3$ c) $(Npm)_7$.

3.10 Conclusão

O modelo de acetonitrila solvente desenvolvido para realizar as simulações por dinâmica molecular apresentou boa concordância com dados experimentais e permitiu simulações mais eficientes, em termos de tempo computacional, que modelos existentes sem sítios virtuais.

Os parâmetros implementados no campo de força GROMOS 53A6 para peptóides permitiram amostrar a interconversão cis/trans da ligação amida à temperatura ambiente. O potencial torcional para o diedro ω foi ajustado através da diminuição de sua barreira energética de rotação, além disso, a atribuição destes parâmetros para dois conjuntos de átomos diminuiu as distorções causadas na molécula de DMA. O conjunto de parâmetros de campo de força utilizado, descreveu adequadamente as preferências conformacionais de 6 das 7 moléculas estudadas. A convergência dos resultados foi avaliada por simulações de metadinâmica. Para a molécula de Nspe-dma um aumento na carga parcial, do átomo de carbono aromático deficiente em elétrons, permitiu amostrar adequadamente as proporções cis/trans, em comparação à dados de RMN. Os perfis de Ramachandran dos monômeros mostraram a maior restrição do espaço conformacional para moléculas quirais, em concordância com estudos quânticos prévios.

Simulações de dois heptâmeros peptóides que possuíam cadeias laterais aromáticas quirais (Nspe) mostraram estruturas bastantes flexíveis, não condizentes com interpretações obtidas a partir de espectros de dicroísmo circular, que têm atribuído a estes oligômeros estruturas em hélice de poliprolina tipo I. O heptâmero de Npm, com ausência de quiralidade, apresentou maior flexibilidade e razão conformacional cis:trans de 1:1. No oligômero composto por unidades monoméricas de Nspe observou-se uma maior restrição do espaço conformacional e maior percentual cis, mesma preferência observada para o oligômero $(Npm)_4(Nspe)_3$. Os resultados obtidos sugerem que os espectros de CD destes oligômeros estão relacionados a transições eletrônicas favorecidas pelas conformações cis e não por estruturas helicoidais.

4 SIMULAÇÃO DE CATECÓIS EM SUPERFÍCIES MINERAIS

4.1 Adsorção de iniciadores catecóis acrilatos

4.1.1 Metodologia

A caixa de simulação construída para o estudo da adsorção de catecóis acrilatos continha uma camada de mica ou sílica cristalina e uma camada de moléculas iniciadoras (Figura 1.9) em metanol. A composição de cada sistema e o tamanho final caixa é mostrado na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Descrição dos sistemas simulados

Moléculas P		Superfície mineral		Solvente		Tamanho da caixa (nm)		
tipo	n _{moléculas}	tipo	n _{átomos}	tipo	n _{moléculas}	x	y	z
P ₁	180	Sílica	7820	Metanol[161]	6990	8.10780	8.84410	10.46244
P ₂	180	Sílica	7820	Metanol[161]	6996	8.10780	8.84410	10.44390
P ₃	180	Sílica	7820	Metanol[161]	6786	8.10780	8.84410	10.37626
P ₃	151	Mica[162, 163]	1504	Metanol[161]	5675	8.32320	7.21920	11.29101

As simulações foram realizadas através do campo de força GROMOS 53A6[63]. Os parâmetros para as moléculas de iniciadores foram derivados de parâmetros existentes no campo de força GROMOS 53A6[63]. As cargas das hidroxilas no grupo catecol foram estimados por um ajuste RESP[164] em nível quântico MP2/6-31G** com o programa NWChem 6.1[148]. As cargas obtidas, 0,203 e para átomos de carbono; -0,626 e para oxigênio e 0,423 e para hidrogênio, foram semelhantes às cargas presentes para a tirosina no campo de força.

Para construir o modelo de sílica cristalina, uma célula unitária foi replicada preenchendo um cubo com tamanho aproximado de (8,1 x 8,8 x 3,1 nm). A superfície de sílica estava completamente hidroxilada. As seguintes cargas atômicas foram utilizados para a sílica:

- átomos de Si: 2,1 e;

- átomos de O do *bulk*: -1,05 e;
- átomos de O da superfície: -0,950 e;
- átomos de H da superfície: 0,425 e.

O modelo de mica utilizado foi *muscovite-2M₁*, com a fórmula $KAl_2(Si_3Al)O_{10}(OH)_2$ [162]. A célula unitária de mica foi replicada 16, 8 e 2 vezes ao longo dos vetores *a*, *b* e *c*, respectivamente. O tamanho do cristal foi aproximadamente (8,3 x 7,2 x 4,0 nm) e em cada superfície havia uma camada de íons K^+ , contendo a metade do número de íons em relação a uma superfície saturada em íons K^+ . Os parâmetros utilizados para este modelo de cristal foram obtidos a partir do campo de força CLAYFF[163], que foi parametrizado para o modelo de água SPC[130], assim como todo o campo de força GROMOS 53A6, utilizado nas simulações.

Para estas simulações, as superfícies minerais foram mantidas rígidas e replicadas infinitamente ao longo do plano x-y.

4.1.1.1 Sistemas iniciais

Devido ao volume das moléculas de metanol, quando se adicionou o solvente na caixa de simulação houveram espaços vazios que comprometiam a densidade do sistema. Isto não seria um problema para simulações NPT, onde o volume da caixa varia para reproduzir a pressão desejada, contudo, nas simulações com os modelos minerais o volume da caixa tem que ser mantido fixo para manter a rigidez do mineral periódico. A estratégia utilizada, para atingir a densidade apropriada dos sistemas, consistiu na criação de uma caixa contendo apenas as moléculas catecóis e o solvente. Esta caixa foi equilibrada por 1 ns de simulação em condições NPT e tratamento semi-isotrópico, onde as dimensões da caixa no plano x-y foram mantidas com o mesmo tamanho x-y da superfície mineral. Desta forma, a caixa resultante da simulação poderia ser colocada sobre o mineral para originar um novo sistema. O protocolo para a construção desta caixa de simulação esta descrito abaixo.

As moléculas catecóis foram distribuídas aleatoriamente em uma camada densa (2,5 moléculas por nm^2) de moléculas em configuração estendida com seus grupos aromáticos ao longo do plano x-y. Esta distribuição foi feita de forma a garantir que os grupos catecóis estariam orientados em direção à superfície do mineral na próxima simulação. As moléculas P também foram colocadas a uma

distância de cerca de 1,5 nm da borda da caixa onde posteriormente seria colocado o cristal. As caixas construídas tinham as dimensões em x e y equivalentes às dimensões do modelo mineral e o comprimento inicial da caixa no eixo z foi de 7,8 nm. O modelo de solvente utilizado foi o metanol[161].

A otimização de energia inicial foi obtida através de 10.000 passos do algoritmo *steepest descent*. As simulações foram realizadas por 1 ns em um conjunto NPT usando condições semi-isotrópicas. A pressão de referência utilizada foi de 1 bar e acoplamento a cada 0,5 ps via barostato de Berendsen[120]. O acoplamento de pressão foi isotrópico nas direções x e y com compressibilidade definida como zero, enquanto que na direção z a compressibilidade foi ajustado a $7,5 \times 10^{-4} \text{ bar}^{-1}$. O algoritmo LINCS[139] foi usada para restringir o comprimento de todas as ligações dos sistemas. As integrações foram realizadas pelo algoritmo *leapfrog*[145] com passo de integração de 2 fs. Condições periódicas de contorno em x, y e z foram aplicados a todos os sistemas. O raio de corte de 1,4 nm foi utilizada para calcular a eletrostática de curto alcance e de *van der Waals*, atualizando a lista vizinho cada cinco passos. Interações eletrostáticas fora do raio de corte foram tratadas usando o método do campo de reação[123] com $\epsilon = 32,63$ para o metanol. O esquema *velocity rescale*[119] manteve a temperatura a 300 K, com um tempo de acoplamento de 0,1 ps. As velocidades iniciais foram gerados aleatoriamente de acordo com a distribuição de Maxwell a 300 K. O centro de massa de translação foi removido a cada passo. As simulações foram realizadas utilizando o pacote de simulação GROMACS 4.6.x[135].

Após as simulações dos sistemas contendo catecóis e solvente, as caixas resultantes foram colocados sobre a respectiva superfície mineral. Os tamanhos finais da caixa foram mostrados na Tabela 4.1. Em seguida, foi realizada uma nova otimização de energia pelo algoritmo *steepest descent* a 10.000 passos.

4.1.1.2 Produção

As simulações dos sistemas em superfície mineral foram realizadas por 500 ns com *ensemble* NVT. Condições periódicas de contorno foram usadas em todas as direções. A posição dos átomos do mineral foi restringida nas direções x, y e z, com exceção aos átomos de hidrogênio da superfície de sílica e íons K^+ da superfície de mica. O método LINCS[139] foi usada para restringir o estiramento das

ligações e foi utilizado um intervalo de integração de 2 fs. As integrações foram realizadas pelo algoritmo *leapfrog*[145]. Um raio de corte de 1,4 nm foi utilizado para calcular a eletrostática de curto alcance e de *van der Waals*, atualizando a lista vizinho a cada cinco passos. Interações eletrostáticas fora do raio de corte de 1,4 nm foram tratadas pelo método *Particle-mesh Ewald* (PME)[122].

O esquema *velocity rescale*[119] manteve a temperatura a 300 K, com um tempo de acoplamento de 0,1 ps. As velocidades iniciais foram geradas aleatoriamente de acordo com a distribuição de Maxwell a 300 K. O centro de massa de translação foi removido a cada passo. As simulações foram realizadas utilizando o pacote de simulação GROMACS 4.6.x[135].

4.1.2 Resultados e Discussão

Simulações por dinâmica molecular foram realizadas para caracterizar a adsorção molecular dos iniciadores (catecóis acrilatos) em modelos cristalinos de superfície de sílica e mica. Para este estudo as moléculas P_1 , P_2 e P_3 (Figura 1.9) foram selecionadas no intuito de avaliar a influência de seus grupos aromáticos na adsorção em superfície mineral. A escolha das moléculas se deu pela semelhança entre suas estruturas e comprimentos que permitiram comparações mais convenientes em simulações de dinâmica molecular. Nos sistemas iniciais, uma camada densa dos iniciadores, aproximadamente $2.5 \text{ moléculas/nm}^2$, foi colocada cerca de 1.5 nm acima da superfície mineral. Todos os três iniciadores foram simulados em superfície de sílica, e apenas P_3 foi simulado também em mica, para aferir sobre a adsorção mineral universal de P_3 . O tempo de simulação em todos os casos foi de 500 ns e as análises apresentadas a seguir foram feitas para os últimos 100 ns de simulação.

Investigações por AFM (Microscopia de força atômica) e a adsorção quantitativa dos iniciadores em superfícies de SiO_2 avaliada por QCM-D (microbalança de cristal de quartzo com dissipação) confirmaram a adsorção de monocamadas dos iniciadores catecóis em superfícies de vidro e mica, enquanto que P_1 não mostrou nenhuma adsorção e P_2 mostrou algumas pequenas regiões de adsorção na forma de agregados. Os resultados das simulações por dinâmica molecular concordaram com as observações citadas, conforme pode ser observado na Figura 4.1, onde estão apresentados os perfis de densidade dos iniciadores ao longo do eixo normal à superfície mineral. As curvas representam as densidades médias em relação ao centro de massa das moléculas de cada sistema, em função da distância ao longo do eixo z . Dada a periodicidade dos sistemas ao longo do eixo analisado, havia duas faces minerais de adsorção para as moléculas. A fim de facilitar a visualização gráfica foi realizado o somatório das densidades equidistantes às faces opostas do mineral. É possível perceber pela Figura 4.1 que as moléculas P_3 foram densamente adsorvidas em superfícies tanto de mica quanto de sílica, enquanto que P_1 não se adsorveu. Também pode-se notar adsorção mais densa de P_3 na superfície de sílica se comparada à mica.

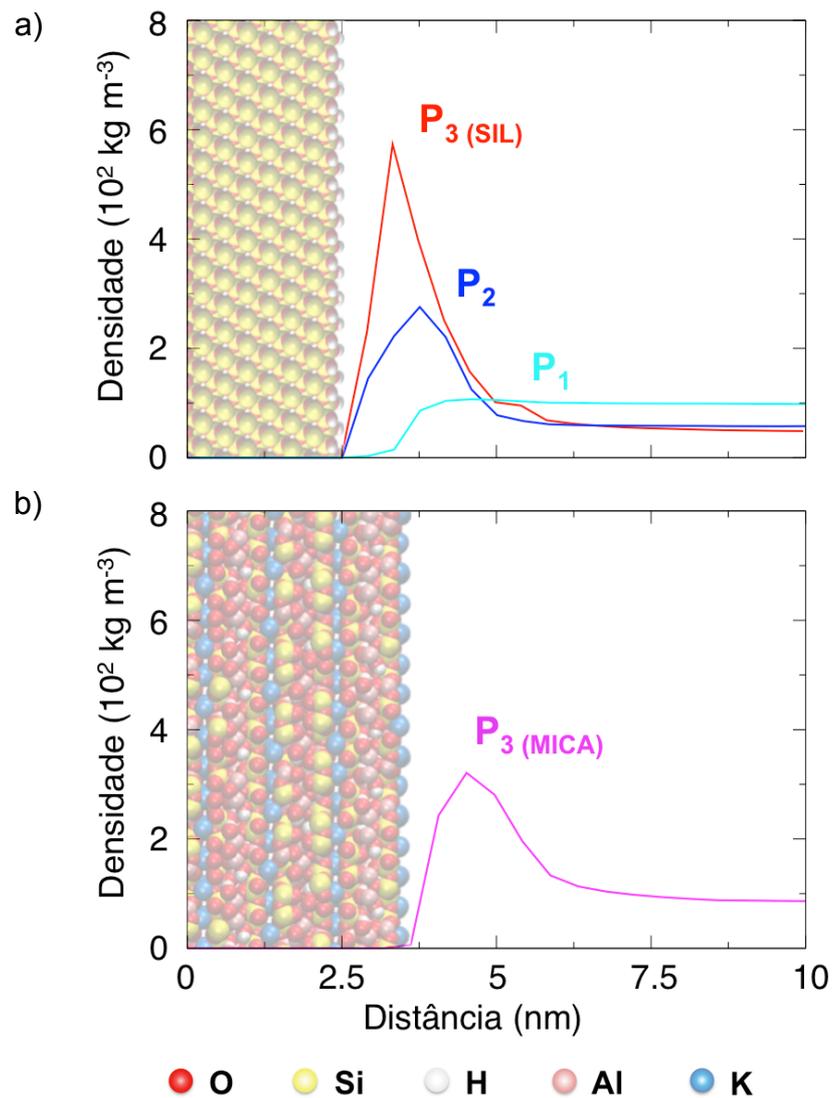


Figura 4.1 Perfis de densidade dos iniciadores ao longo do eixo normal à superfície mineral de a) sílica e b) mica. A posição das superfícies minerais (sílica e mica) nos gráficos é mostrada como modelo de esferas CPK, tal como ilustrado na parte inferior da figura.

O resultado acima também foi confirmado pela função de distribuição radial de pares entre o centro de massa dos grupos aromáticos de cada molécula e os oxigênios da superfície mineral (Figura 4.2), onde podemos notar a maior distribuição de moléculas P₂ e P₃ nas proximidades do mineral.

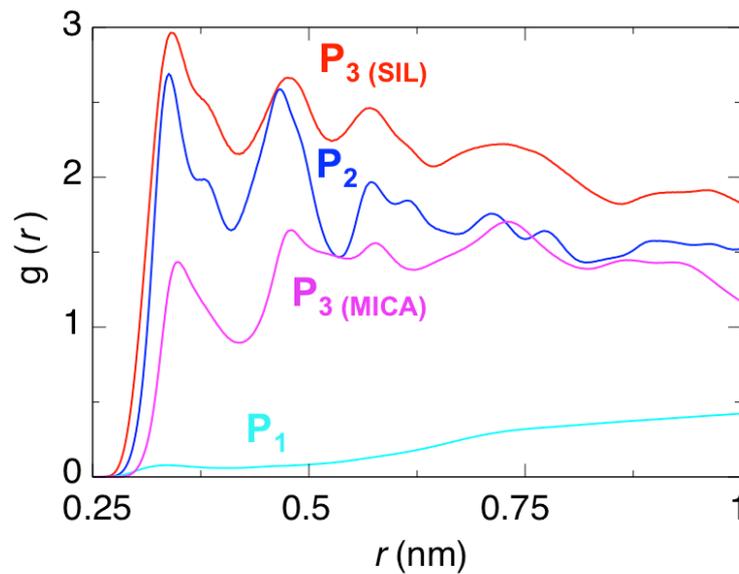


Figura 4.2 Função de distribuição radial de pares entre o centro de massa dos grupos aromáticos de cada molécula e os oxigênios da superfície mineral.

Embora P_2 tenha apresentado uma considerável distribuição de moléculas sobre a superfície de sílica (Figura 4.2), uma análise sobre a efetividade de sua adsorção indicou menor propensão para a aderência eficaz. Moléculas P_2 apresentaram maior coeficiente de difusão no plano da superfície mineral (x-y), em comparação às moléculas P_3 (Tabela 4.2). Além disso, o coeficiente de difusão mais elevado para P_2 ao longo de z (eixo perpendicular à superfície mineral) indicou que múltiplos eventos de adesão e dessorção estão ocorrendo, resultando numa camada de ligação menos densa que a apresentada P_3 (Figura 4.1), em concordância com as observações experimentais. Este resultado também concorda com estudos anteriores[27] que mostraram que dois ou mais grupos hidroxila vicinais são cruciais para a adsorção eficaz, na forma bidentada, de moléculas Dopa. A menor mobilidade de moléculas P_1 na direção z (normal ao mineral) e alta mobilidade translacional no plano x-y foi interpretada como consequência do confinamento entre as superfícies com as quais P_1 apresentou fraca afinidade.

Tabela 4.2 Coeficiente de difusão das moléculas P ao longo do eixo z e no plano xy

	Eixo z ($10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)	Plano xy ($10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)
P₁	0.01855	1.7497
P₂	2.19	0.6463
P₃ (sílica)	1.74	0.0174
P₃ (mica)	1.63	0.3374

Moléculas P₂ também mostraram uma maior interação entre anéis aromáticos de moléculas vizinhas, conduzindo à formação de agregados (Figura 4.3), em concordância com os estudos por AFM e QCM-D. Através da função de distribuição radial de pares entre as moléculas P foi possível perceber uma maior interação entre P₂ (Figura 4.3a) e que os anéis aromáticos foram os principais responsáveis por esta afinidade (Figura 4.3b), devido às interações π - π *stacking* características entre anéis aromáticos.

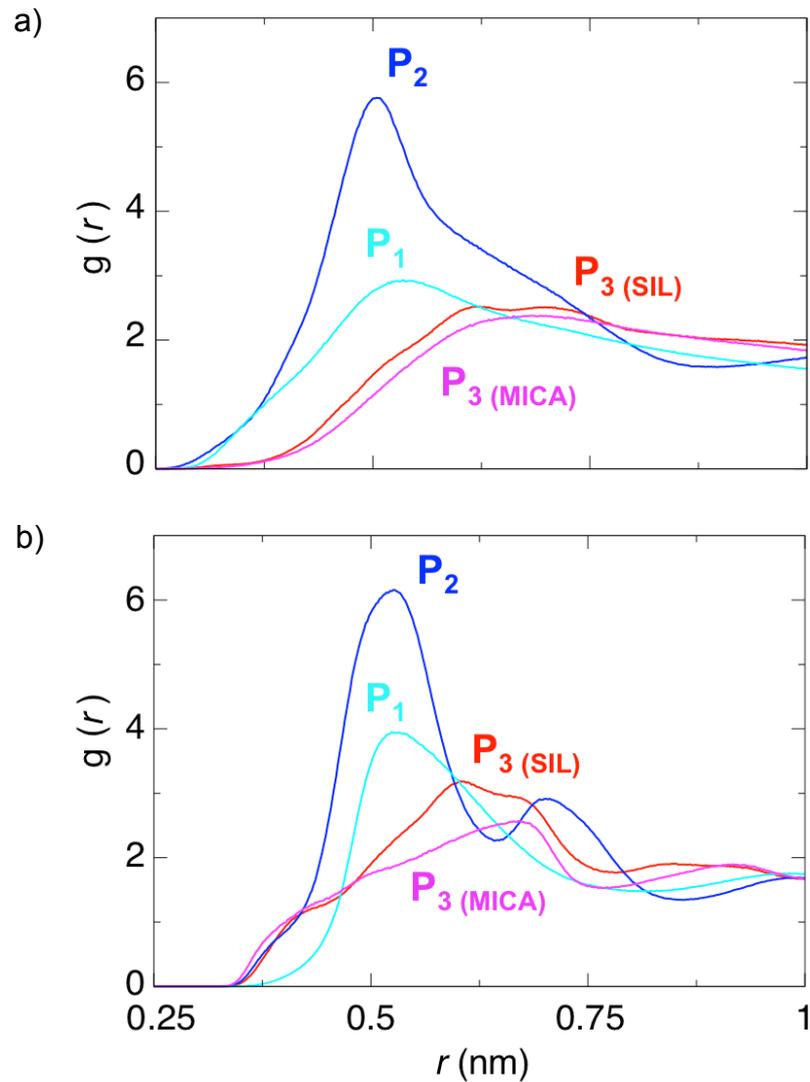


Figura 4.3 Função de distribuição radial de pares entre: a) os centros de massa das moléculas P; b) os centros de massa formando pelos carbonos de anéis aromáticos.

Além disso, as simulações por dinâmica molecular permitiram uma avaliação mais detalhada das diferentes interações responsáveis pela adsorção. Tanto P_2 quanto P_3 aderiram à superfície de óxido através da formação de ligações de hidrogênio. Contudo, dependendo da superfície mineral, cada hidroxila de P_3 contribuiu diferentemente na adesão. Notavelmente, todos os três grupos hidroxilas de P_3 contribuíram significativamente para as ligações de hidrogênio com a superfície da sílica (Figura 4.4a), enquanto que só as hidroxilas do grupo catecol interagiram com a mica de forma eficaz e, majoritariamente, uma hidroxila foi responsável pela adesão (Figura 4.4b). Como consequência, observou-se uma área de contato maior entre cada molécula de P_3 e a sílica, o que repercutiu na menor espessura da camada molecular P_3 aderida à superfície de sílica, quando

comparada à mica (Figura 4.5). Para ilustrar o efeito das superfícies minerais na adsorção de P_3 e auxiliar a compreensão de como isso acarreta na mudança de espessura da camada adsorvida, a Figura 4.4c,d traz um *snapshot* representativo das configurações preferidas por P_3 adsorvida nas diferentes superfícies.

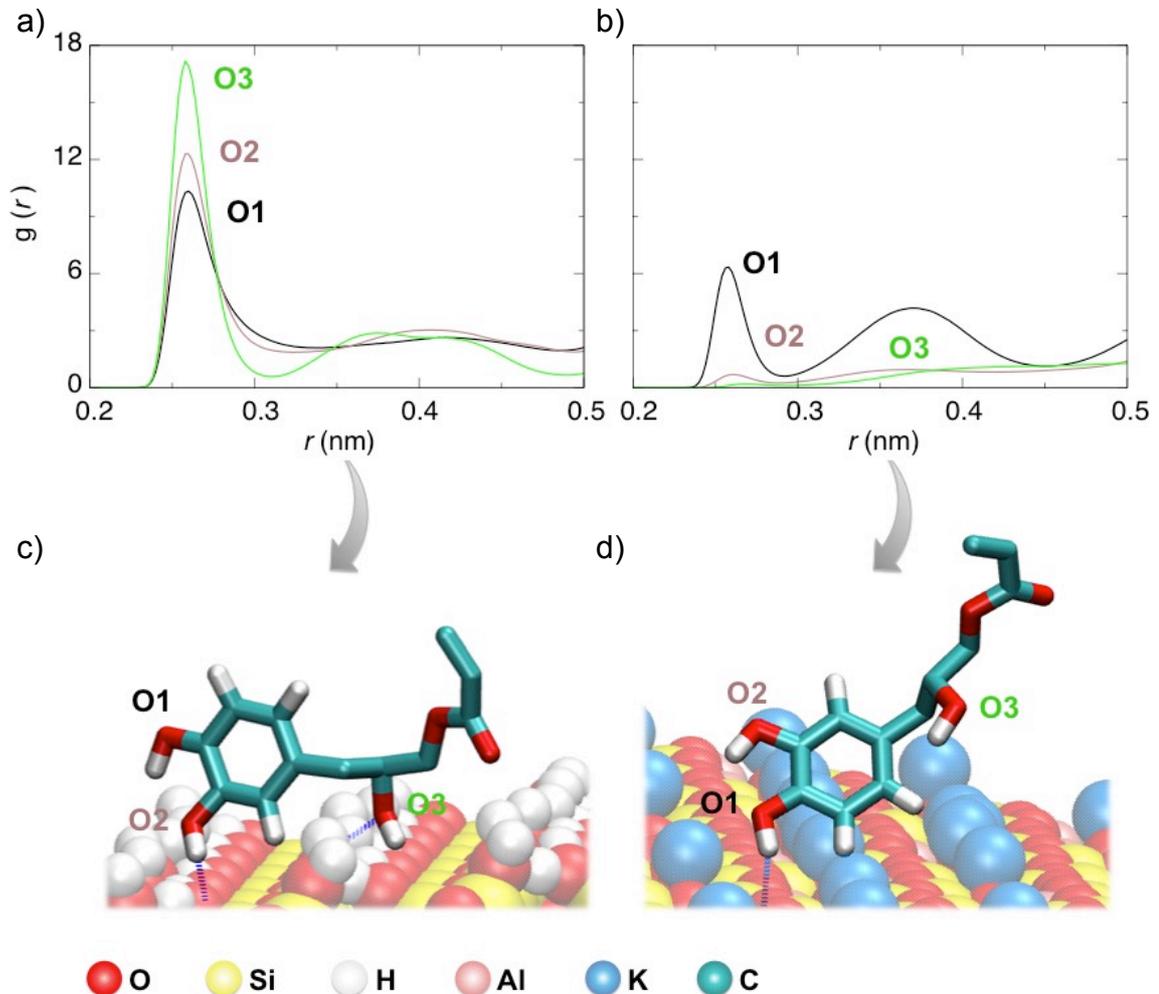


Figura 4.4 Função de distribuição radial de pares entre o oxigênio de cada hidroxila e os oxigênios da superfície mineral de a) sílica e b) mica. Representação das configurações preferidas por P_3 adsorvida em c) sílica e d) mica. Os átomos estão apresentados em modelo de esferas CPK (legenda na parte inferior da figura).

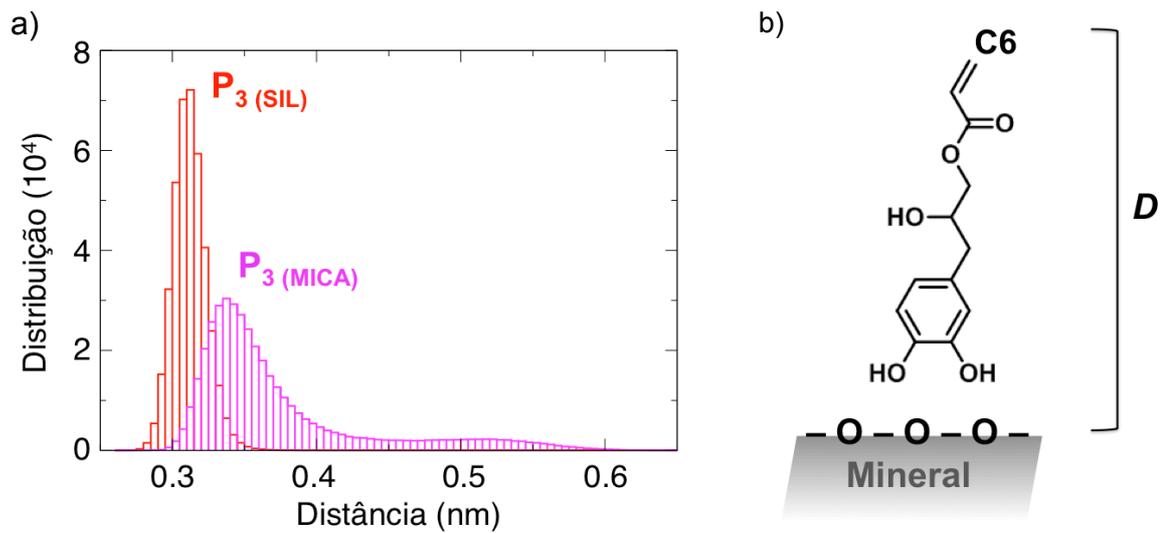


Figura 4.5 a) Histograma da distância média mínima D ao longo das simulações de P_3 . b) Representação da distância D entre o plano formado pelos átomos de oxigênio da superfície mineral e o átomo de carbono C6.

4.1.3 Conclusão

As simulações por dinâmica molecular de catecóis acrilatos em superfícies minerais mostraram que as moléculas P_3 foram densamente adsorvidas em superfícies de sílica e mica, enquanto que P_1 não se adsorveu, em concordância com as observações experimentais por AFM e QCM-D. A adsorção de P_2 e P_3 em superfície de óxido ocorreu através de ligações de hidrogênio.

Moléculas P_3 apresentaram diferentes mecanismos de adesão dependendo da superfície mineral. Em mica, apenas as hidroxilas do grupo catecol interagiram com o mineral de forma eficaz. Em sílica, todos os três grupos hidroxilas de P_3 contribuíram significativamente para a adsorção, o que resultou numa maior área de contato entre as moléculas P_3 e a superfície, como consequência, a espessura da camada molecular aderida em sílica foi menor que em mica.

Embora P_2 tenha apresentado uma considerável distribuição de moléculas sobre a superfície de sílica, apresentou também menor eficácia na adesão, devido a múltiplos eventos de adesão e dessorção, e menor densidade da camada adsorvida comparada a P_3 . Este resultado corroborou com estudos anteriores que mostraram que dois ou mais grupos hidroxilas vicinais são cruciais para a adsorção eficaz de resíduos Dopa. Além disso, moléculas P_2 mostraram uma maior interação entre anéis aromáticos de moléculas vizinhas e formação de agregados, em conformidade com as observações por técnicas de AFM e QCM-D.

4.2 Monocamadas automontáveis de catecóis zwitteriônicos

4.2.1 Metodologia

Dois sistemas iniciais foram utilizados para as análises descritas nesta seção. Cada sistema foi composto por um modelo monocamada de sílica cristalina e 18 unidades de Z-Cat-Ben ou Z-Cat-Ben-F (Figura 1.10) em água. Neste modelo, a sílica estava completamente hidroxilada e foi tratada como periódica, a partir de um múltiplo exato de unidades de cela em dois eixos (x-y), originando um cristal infinito. Para assegurar a integridade dos parâmetros cristalinos, a posição dos átomos da sílica, exceto hidrogênios, foi restringida nas direções x, y e z durante as simulações. A configuração inicial das moléculas Z-Cat-ben ou Z-Cat-Ben-F vieram de estruturas geradas de simulações anteriores por 300 ns. Múltiplas moléculas de Z-Cat-ben ou Z-Cat-Ben-F foram colocadas de forma aleatória sobre a superfície da sílica, a uma distância de 0,5 nm com metade dos grupos hidroxila orientados para cima e para baixo. Os sistemas foram inseridos numa caixa de simulação retangular (5,0000, 4,48020, 4,16880 nm) e solvatados com moléculas de água SPC[130]. O modelo de sílica foi composto por 756 átomos e um total de 2.252 e 2.232 moléculas de solvente foram adicionados para as simulações de Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F, respectivamente.

Inicialmente os sistemas tiveram a energia otimizada pelo algoritmo *steepest descent* a 10.000 passos. Simulações foram realizadas por 1 μ s a partir do campo de força GROMOS 53A6. As cargas pontuais atômicas para os grupos hidroxilas do catecol e para os átomos da célula unitária de sílica cristalina foram estimados por um ajuste RESP[164] com cálculos MP2/6-31G** realizados pelo programa NWChem 6.1[148]. As cargas obtidas não foram significativamente diferentes das disponíveis em versões anteriores do campo de força. Cargas pontuais de 0,203 e; -0,626 e e 0,423 e foram atribuídas aos átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, respectivamente, de grupos hidroxilas em catecol. As seguintes cargas atômicas foram utilizados para a sílica:

- átomos de Si do *bulk*: 0,90 e;
- átomos de O do *bulk*: -0.45 e;
- átomos de Si da superfície: 0,717 e;

- átomos de O da superfície: -0,675 e;
- átomos de H: 0.408 e.

Condições periódicas de contorno foram usadas nas direções x, y e z, juntamente com um *ensemble* NVT. O método LINCS[139] foi usada para restringir o estiramento das ligações durante a simulação. O algoritmo *leapfrog*[145] realizou a integração das equações de movimento a um passo de integração de 2 fs. O potencial eletrostático de curto alcance e de van der Waals foram computados dentro de um raio de corte de 1,4 nm e a lista de vizinhos foi atualizada a cada passo. As interações eletrostáticas de longo alcance foram tratadas pelo método do campo reação[123] com constante dielétrica igual a 66 fora do raio de corte de 1,4 nm. A temperatura foi mantida a 300 K através do esquema *velocity rescale*[119] com tempo de relaxação de 1,0 ps. O centro de massa de movimento foi removido a cada passo. As simulações foram realizadas utilizando o software GROMACS 4.6.7[135].

4.2.2 Resultados e Discussão

Para as simulações realizadas, a densidade inicial de moléculas de Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F (Figura 1.10) sobre a superfície de sílica cristalina foi de 1 molécula por nm^2 , que corresponde ao valor experimental medido da densidade molecular de Z-Cat-Ben adsorvido sobre a sílica (1.07 moléculas por nm^2). Após $1 \mu\text{s}$ de simulação, as moléculas Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F adsorveram-se densamente sobre a superfície do mineral formando uma monocamada, conforme representado na Figura 4.6. Os resultados obtidos por dinâmica molecular apresentaram boa concordância com os resultados experimentais, como será apresentado a seguir. Todos os gráficos mostrados, em que o tempo não foi explicitado, foram obtidos a partir da análise dos últimos 200 ns de simulação.

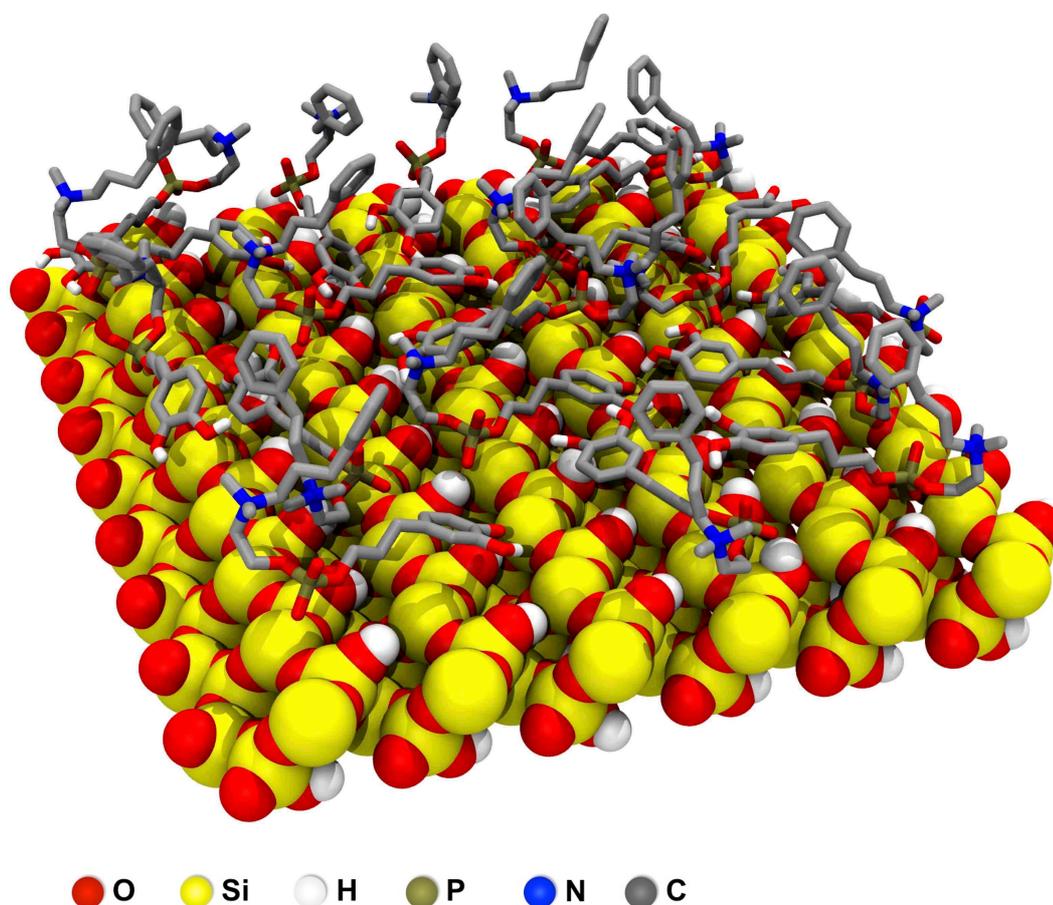


Figura 4.6 Representação esquemática do último *frame* ($t = 1 \mu\text{s}$) obtido na simulação por dinâmica molecular das moléculas Z-Cat-Ben em superfície de sílica. Os átomos estão representados no modelo de esferas CPK (legenda na parte inferior da figura).

As ligações de hidrogênio foram as principais responsáveis pela adsorção das moléculas zwitteriônicas, repercutindo no recrutamento dos grupos catecóis sobre a superfície de sílica (Figuras 4.7 e 4.8). Os grupos carregados, com fosfato e nitrogênio tetravalente, não apresentaram interações significativas com a superfície mineral, ao passo que as hidroxilas do catecol apresentaram forte interação com a sílica, como pode ser observado pela função de distribuição radial de pares entre os grupos mencionados (Figura 4.7). Os grupos benzenos tenderam a se manter mais afastados da superfície mineral, como mostrado pelo perfil de densidade desses grupos ao longo do eixo perpendicular ao plano da sílica (Figura 4.8.).

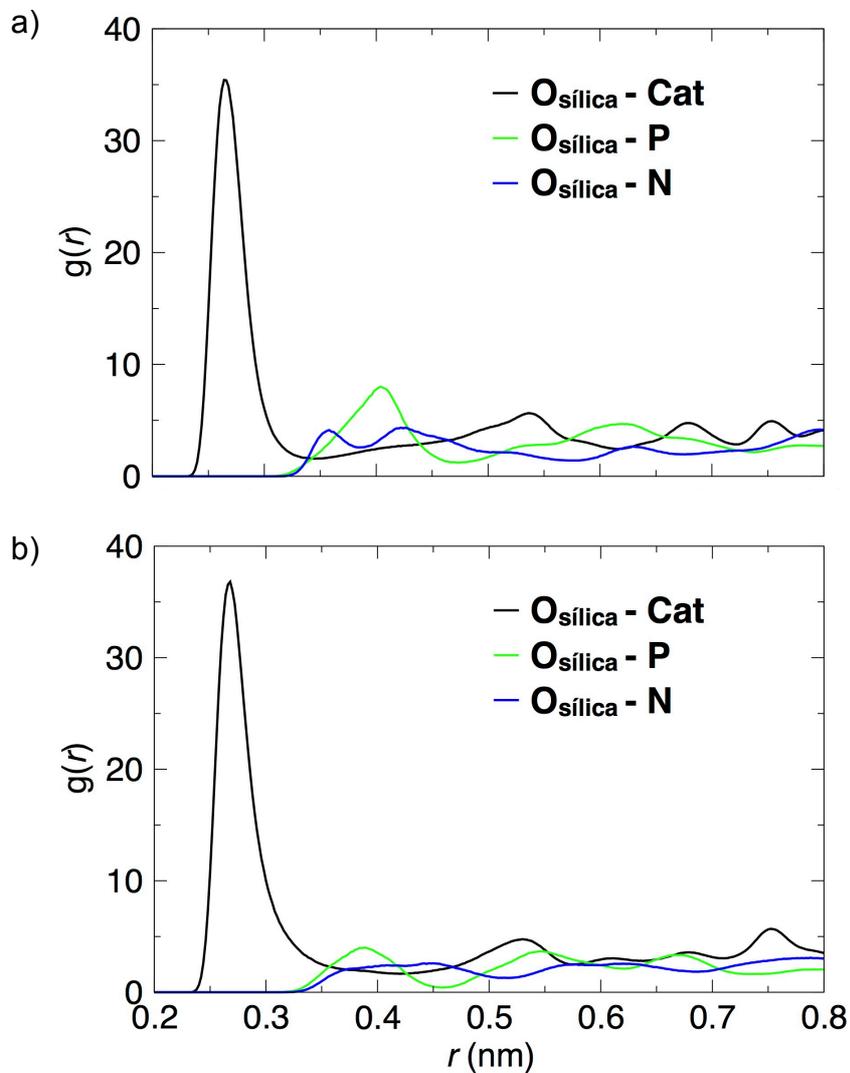


Figura 4.7 Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio da superfície da sílica ($O_{\text{sílica}}$) e grupos selecionados: átomos de oxigênio dos grupos hidroxila em catecóis (Cat), átomo de fósforo (P) e átomo de nitrogênio (N). Análise

realizada para a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F. A distância r foi definida entre os dois grupos na legenda.

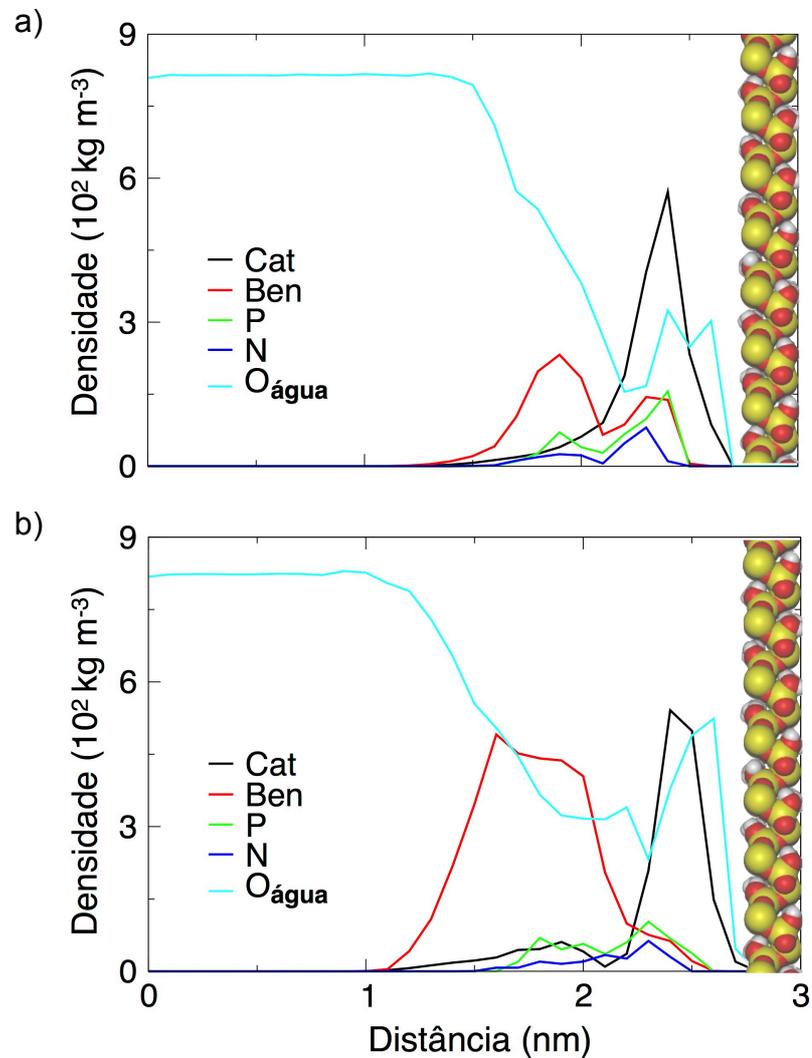


Figura 4.8 Perfil de densidade de a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F ao longo do eixo perpendicular à superfície de sílica. As curvas representam as densidades médias dos centros de massa de cada grupo em função da distância a uma superfície da monocamada de sílica. Cat e Ben representam, respectivamente, os grupos catecóis e benzeno (ou benzeno-(CF₃)₂); P e N representam os átomos de fósforo e nitrogênio das moléculas zwitteriônicas e O_{água} os átomos de oxigênio da água. A posição da superfície mineral nos gráficos é mostrada por uma representação da sílica em modelo molecular CPK (Si: amarelo; O: vermelho e H: branco).

Apesar dos perfis de densidade (Figura 4.8) mostrarem algum conteúdo de água próximo à superfície de sílica, na mesma região ocupada por grupos catecóis,

as funções de distribuição radial entre os grupos hidroxilas de catecol e a superfície da sílica (Figura 4.7) mostraram um pico de interação em aproximadamente 0.275 nm. Nesta distância, a quantidade total de moléculas de água nas proximidades de qualquer átomo do grupo catecol é negligenciável (Figura 4.9). Em distâncias maiores que 0.4 nm, os grupos catecol (Cat) e fosfato (P) permaneceram menos solvatados que os grupos amina (N) e anéis aromáticos (Ben). Vale notar que os grupos catecóis também são consideravelmente mais blindado da água, mesmo sendo mais hidrofílicos que grupos benzeno (Figuras 4.8 e 4.9).

Estes resultados sugerem que a adsorção do soluto ocorre à custa de uma dessolvatação significativa da superfície do mineral. Isto é consistente com as medidas de voltametria cíclica que mostraram que ambas as moléculas, Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F, são estáveis à oxidação (longo prazo de validade) em água, devido à blindagem dos resíduos catecóis por grupos vizinhos hidrofóbico ou eletrofilicos[13, 76]. Também pode ser visto que o nível de dessolvatação é mais pronunciado para Z-Cat-Ben do que para Z-Cat-Ben-F.

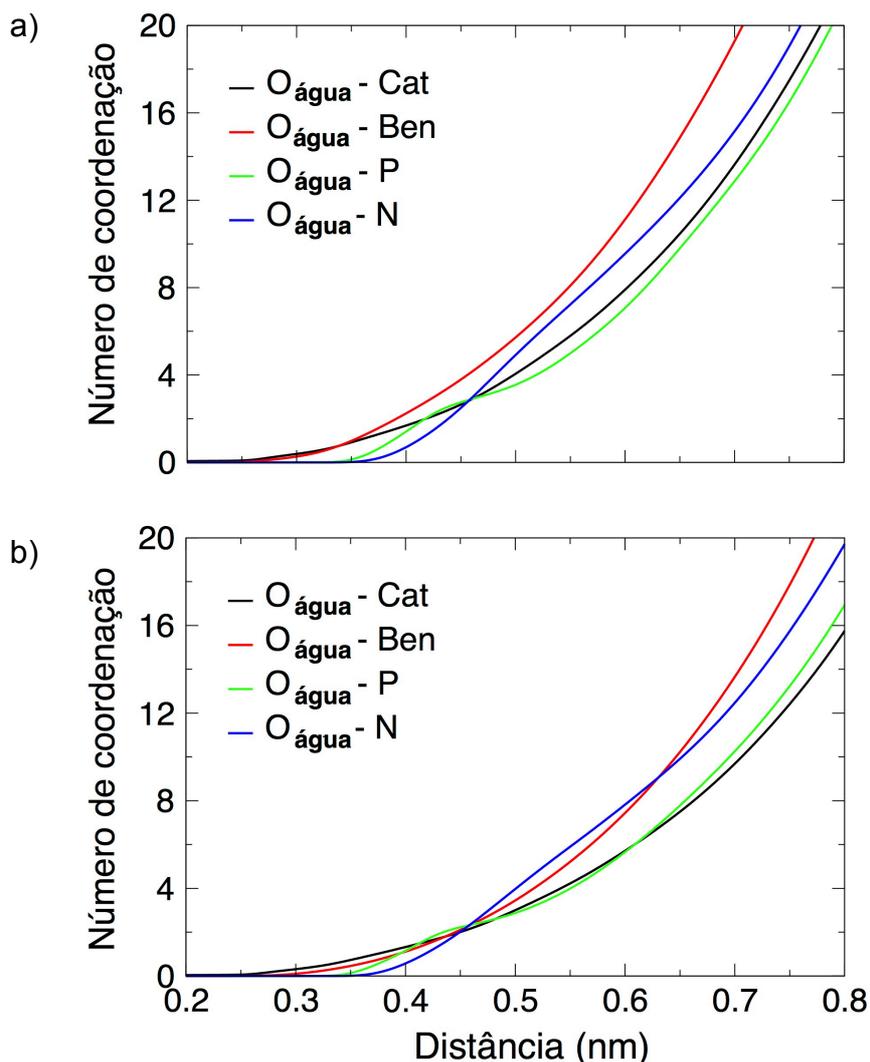


Figura 4.9 Número médio de moléculas de água, representadas pelos seus átomos de oxigênio ($O_{\text{água}}$), em torno de grupos selecionados em função da distância entre eles. Os grupos selecionados em moléculas zwitteriônicas foram: Cat: todos os átomos do grupo catecol; Ben: todos átomos do benzeno (ou benzeno- $(CF_3)_2$); P: átomos de fósforo; N: átomos de nitrogênio. Análise para: a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F.

A distância média entre o plano formado pelos átomos de silício da superfície de sílica e o centro de massa dos grupos aromáticos: benzeno em Z-Cat-Ben e benzeno- $(CF_3)_2$ em Z-Cat-Ben-F, permitiu estimar a espessura da camada monomolecular formada. A espessura obtida a partir das simulações foi de 0.65 e 1.05 nm para as moléculas Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F, respectivamente (Figura 4.10), em estreita concordância com as estimativas por SFA (aparato de força de superfície), cerca de 0,5 e 1,3 nm respectivamente.

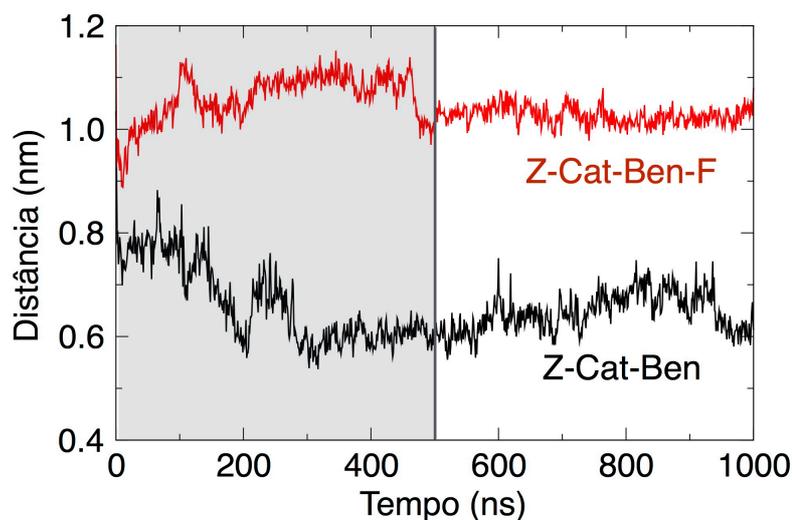


Figura 4.10 Evolução temporal da distância média entre o plano formado pelos átomos de Si da superfície de sílica e o centro de massa dos grupos benzenos.

Cada molécula Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F adsorvida causa um raio de influência estérica, que impede que outras moléculas se adsorvam ao sítio imediato na interface de água e mineral. Experimentos de espalhamento de raios-X mediram o raio de influência estérica em monocamadas de Z-Cat-Ben. Os valores medidos, 0,34 nm e 0,41 nm, indicaram dois espaçamentos característicos com orientação preferencial em 0,34 nm. Tais valores foram atribuídos às interações π - π *stacking* entre anéis aromáticos, o menor valor correspondeu às interações π - π *stacking* em paralelo e o maior valor às interações em forma de T.

A obtenção do raio de influência estérica por dinâmica molecular foi feita a partir do raio de giro no plano paralelo à superfície mineral, para cada molécula Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F, o que equivaleria ao espaçamento molecular ao longo do eixo perpendicular à sílica. O raio de giro médio bidimensional para Z-Cat-Ben mostrou dois picos em 0,31 e 0,47 nm, sendo que o pico em 0,31 nm apresentou maior intensidade (Figura 4.11a), compatível com os resultados obtidos por espalhamento de raios-X. Z-Cat-Ben-F apresentou picos mais deslocados para valores maiores e três picos foram observados: 0,37, 0,43 e 0,54 nm (Figura 4.11b). O empacotamento menos confinado de Z-Cat-Ben-F, devido à adição dos dois grupos $-CF_3$, permitiu uma maior penetração de moléculas de água que a monocamada de Z-Cat-Ben e, conseqüentemente, maior solvatação da superfície mineral, como mostrado na Figura 4.8.

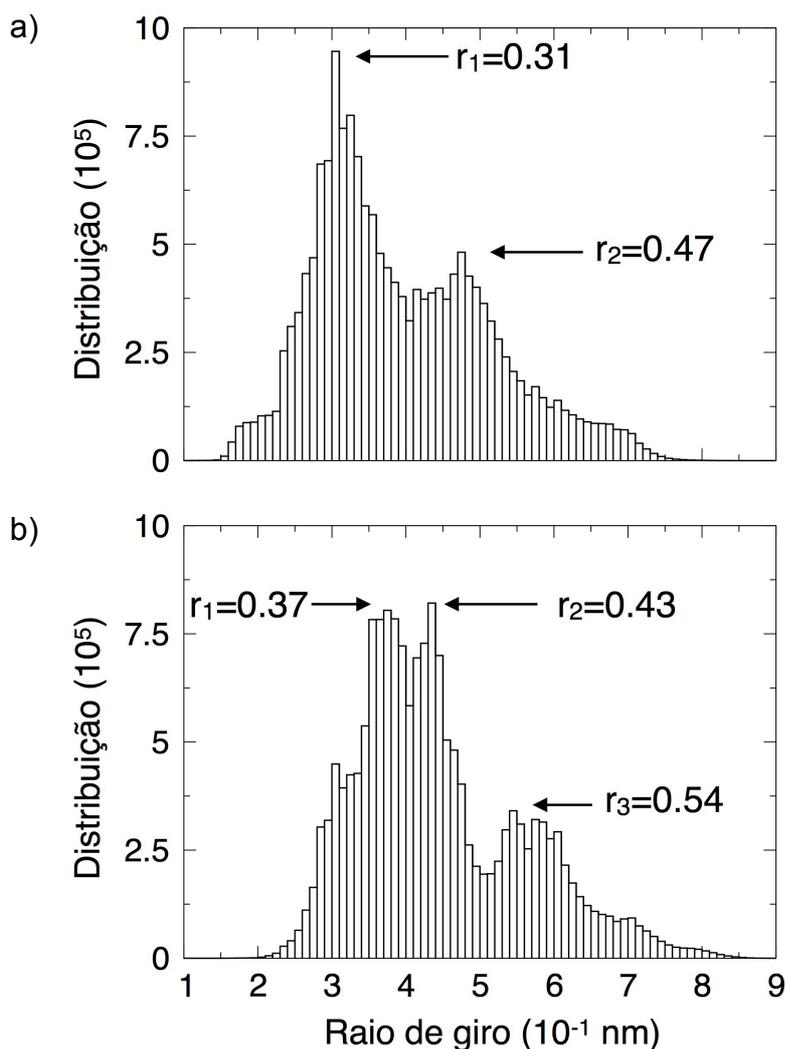


Figura 4.11 Distribuição do raio de giro bidimensional (no plano paralelo à superfície mineral) das moléculas a) Z-Cat-Ben e b) Z-Cat-Ben-F.

O comprimento das moléculas Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F estendidas foi cerca de 2 nm, logo, os raios de influência estérica indicaram a tendência das moléculas em se manterem dobradas sobre a sílica, como consequência dos grupos de cargas opostas adjacentes. Tal resultado também foi evidenciado pelas medidas de espessura das monocamadas, que apresentaram valores menores que o comprimento das moléculas (Figura 4.10).

Para este estudo, a combinação de técnicas experimentais (SFA, AFM, QCM-D e espalhamento de raios-x) e computacional (simulações por dinâmica molecular) constituíram a automontagem monomolecular de moléculas catecóis sobre a superfície mineral de sílica. O trabalho apresentado nessa seção encontra-

se publicado em[165], onde pode-se encontrar também o detalhamento das técnicas experimentais descritas.

4.2.3 Conclusão

A modelagem molecular dos sistemas Z-Cat-Ben e Z-Cat-Ben-F em sílica confirmaram a densa adsorção dessas moléculas, em forma de monomacada, sobre a superfície mineral. As ligações de hidrogênio foram as principais responsáveis pela adesão das moléculas zwitteriônicas, repercutindo no recrutamento dos grupos catecóis sobre a superfície de sílica. Os grupos carregados de fosfato e nitrogênio tetravalente não apresentaram interação significativa com a superfície mineral.

Os grupos aromáticos não hidroxilados mantiveram-se mais afastados da superfície mineral e blindaram os grupos catecóis que, em geral, permaneceram menos solvatados que outros grupos. Este efeito foi mais pronunciado para o sistema contendo Z-Cat-Ben. A estabilidade à oxidação destas monocamadas, observada por medidas de voltametria cíclica, foi entendida em termos da dessolvatação da superfície mineral e dos grupos catecóis devido aos grupos vizinhos hidrofóbicos.

Durante a adsorção em sílica, as moléculas tenderam a manterem-se dobradas e a espessura das monocamadas obtidas pelas simulações foram consistentes com as estimativas por SFA. Além disso, o raio de influência estérica mostrou a tendência ao empacotamento menos confinado de Z-Cat-Ben-F e o valor obtido para Z-Cat-Ben apresentou boa concordância com os valores medidos por espalhamento de raios-X.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A limitação das técnicas experimentais na descrição de propriedades conformacionais e dinâmicas de diversos sistemas reforça sobre a importância da simulação clássica. A modelagem molecular dos biomiméticos peptóides e catecóis mostrou-se uma poderosa ferramenta para o estudo de propriedades que não podem ser obtidas experimentalmente e permitiu a caracterização dos mecanismos envolvidos na adsorção de catecóis e elucidar características estruturais de peptóides.

A simulação computacional foi uma importante aliada na descrição das interações de compostos sintetizados para adesão em superfície mineral. Foi possível entender como diferentes minerais influenciam na adsorção de uma mesma molécula e ainda analisar fatores estruturais que favorecem a adesão.

Em relação a peptóides, pouco se tem feito para a descrição detalhada de suas propriedades estruturais. Devido à flexibilidade intrínseca destes promissores biomiméticos, as técnicas computacionais são as alternativas mais viáveis para o estudo de tais estruturas. No entanto, o trabalho aqui apresentado mostra apenas o começo de um caminho que deve ser percorrido na busca de mais respostas sobre a estrutura de peptóides.

REFERÊNCIAS

1. Bar-Cohen, Y., *Biomimetics--using nature to inspire human innovation*. Bioinspir Biomim, 2006. **1**(1): p. P1-P12.
2. Anselmo, A.C., et al., *Platelet-like nanoparticles: mimicking shape, flexibility, and surface biology of platelets to target vascular injuries*. ACS Nano, 2014. **8**(11): p. 11243-53.
3. Hirai, G., *Mimicking/extracting structure and functions of natural products: synthetic approaches that address unexplored needs in chemical biology*. Chem Rec, 2015. **15**(2): p. 445-56.
4. Shu, L.H., et al., *Biologically inspired design*. CIRP Annals - Manufacturing Technology, 2011. **60**(2): p. 673-693.
5. Murahashi, S. and D. Zhang, *Ruthenium catalyzed biomimetic oxidation in organic synthesis inspired by cytochrome P-450*. Chem Soc Rev, 2008. **37**(8): p. 1490-501.
6. Cha, J.N., et al., *Biomimetic synthesis of ordered silica structures mediated by block copolypeptides*. Nature, 2000. **403**(6767): p. 289-92.
7. Bar-Cohen, Y. *Biomimetics: mimicking and inspired-by biology*. 2005.
8. Giraud-Guille, M.-M., E. Belamie, and G. Mosser, *Organic and mineral networks in carapaces, bones and biomimetic materials*. Comptes Rendus Palevol, 2004. **3**(6-7): p. 503-513.
9. Ross, B.M., L.Y. Wu, and L.P. Lee. *Plasmonic nanoflowers: bioinspired manipulation of plasmonic architectures via active polymers*. 2009.
10. Correia, B.E., et al., *Proof of principle for epitope-focused vaccine design*. Nature, 2014. **507**(7491): p. 201-6.
11. Chongsiriwatana, N.P., et al., *Peptoids that mimic the structure, function, and mechanism of helical antimicrobial peptides*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(8): p. 2794-9.
12. Ross, N.T., W.P. Katt, and A.D. Hamilton, *Synthetic mimetics of protein secondary structure domains*. Philos Trans A Math Phys Eng Sci, 2010. **368**(1914): p. 989-1008.
13. Ahn, B.K., et al., *High-performance mussel-inspired adhesives of reduced complexity*. Nat Commun, 2015. **6**: p. 8663.
14. Fowler, S.A. and H.E. Blackwell, *Structure-function relationships in peptoids: Recent advances toward deciphering the structural requirements for biological function*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2009. **7**(8): p. 1508-1524.
15. Bernkop-Schnürch, A., *The use of inhibitory agents to overcome the enzymatic barrier to perorally administered therapeutic peptides and proteins*. Journal of Controlled Release, 1998. **52**(1-2): p. 1-16.
16. Huang, W., et al., *Learning from Host-Defense Peptides: Cationic, Amphipathic Peptoids with Potent Anticancer Activity*. Plos One, 2014. **9**(2).
17. Lee, M., et al., *Novel anti-melanogenic hexapeptoids, PAL-10 and PAL-12*. Archives of Dermatological Research, 2015. **307**(3): p. 249-257.
18. Ghosh, C., et al., *Small molecular antibacterial peptoid mimics: the simpler the better!* J Med Chem, 2014. **57**(4): p. 1428-36.
19. Kim, J.K., et al., *Structural flexibility and the positive charges are the key factors in bacterial cell selectivity and membrane penetration of peptoid-substituted analog of Piscidin I*. Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes, 2010. **1798**(10): p. 1913-1925.
20. Park, M., et al., *A Readily Applicable Strategy to Convert Peptides to Peptoid-based Therapeutics*. Plos One, 2013. **8**(3).

21. Huang, W., et al., *Peptoid transporters: effects of cationic, amphipathic structure on their cellular uptake*. Molecular Biosystems, 2012. **8**(10): p. 2626-2628.
22. Murphy, J.E., et al., *A combinatorial approach to the discovery of efficient cationic peptoid reagents for gene delivery*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(4): p. 1517-22.
23. Raveendra, B.L., et al., *Discovery of Peptoid Ligands for Anti-Aquaporin 4 Antibodies*. Chemistry & Biology, 2013. **20**(3): p. 351-359.
24. Olivier, G.K., et al., *Antibody-Mimetic Peptoid Nanosheets for Molecular Recognition*. ACS Nano, 2013. **7**(10): p. 9276-9286.
25. de la Torre, A.F., et al., *Multicomponent Combinatorial Development and Conformational Analysis of Prolyl Peptide-Peptoid Hybrid Catalysts: Application in the Direct Asymmetric Michael Addition*. Journal of Organic Chemistry, 2013. **78**(20): p. 10221-10232.
26. Fuller, A.A., C.A. Holmes, and F.J. Seidl, *A Fluorescent Peptoid pH-Sensor*. Biopolymers, 2013. **100**(4): p. 380-386.
27. Lee, B.P., et al., *Mussel-Inspired Adhesives and Coatings*. Annual Review of Materials Research, 2011. **41**(1): p. 99-132.
28. Hirakata, H., T. Kitamura, and Y. Yamamoto, *Direct Measurement of Interface Strength between Copper Submicron-Dot and Silicon Dioxide Substrate*. JSME International Journal Series A Solid Mechanics and Material Engineering, 2004. **47**(3): p. 324-330.
29. Jeong, J.W., et al., *High-resolution nanotransfer printing applicable to diverse surfaces via interface-targeted adhesion switching*. Nat Commun, 2014. **5**: p. 5387.
30. Desmond, K.W., et al., *Dynamics of mussel plaque detachment*. Soft Matter, 2015. **11**(34): p. 6832-6839.
31. Goodman, C.M., et al., *Foldamers as versatile frameworks for the design and evolution of function*. Nature Chemical Biology, 2007. **3**(5): p. 252-262.
32. Zuckermann, R.N., *Peptoid origins*. Peptide Science, 2011. **96**(5): p. 545-555.
33. Wampler, D.E.S.A.S.J.E., *Occurrence and Role of Cis Peptide Bonds in Protein Structures* J. Mol. Biol., 1990. **214**(1): p. 253-260
34. FORSI, T.D.S., *The Barrier to Internal Rotation in Monosubstituted Amides* Chemical Communications, 1971: p. 1404-1405.
35. Jiangning Song, K.B., Zheng Yuan and Thomas Huber, *Prediction of cis/trans isomerization in proteins using PSI-BLAST profiles and secondary structure information*. BMC Bioinformatics, 2006. **7**(124).
36. Sui, Q., D. Borchardt, and D.L. Rabenstein, *Kinetics and equilibria of cis/trans isomerization of backbone amide bonds in peptoids*. J Am Chem Soc, 2007. **129**(39): p. 12042-8.
37. Wiberg, K.B., et al., *Amides .3. Experimental and Theoretical-Studies of the Effect of the Medium on the Rotational Barriers for N,N-Dimethylformamide and N,N-Dimethylacetamide*. Journal of the American Chemical Society, 1995. **117**(15): p. 4261-4270.
38. Dugave, C. and L. Demange, *Cis-trans isomerization of organic molecules and biomolecules: implications and applications*. Chem Rev, 2003. **103**(7): p. 2475-532.
39. Benjamin C. Gorske, B.L.B., Grant D. Geske, and Helen E. Blackwell, *Local and Tunable n- π^* Interactions Regulate Amide Isomerism in the Peptoid Backbone*. J. Am. Chem. Soc., 2007. **129**(29): p. 8928-8929.
40. Weiss, M.S., A. Jabs, and R. Hilgenfeld, *Peptide bonds revisited*. Nat Struct Biol, 1998. **5**(8): p. 676.

41. Huang, K., et al., *A threaded loop conformation adopted by a family of peptoid nonamers*. J Am Chem Soc, 2006. **128**(5): p. 1733-8.
42. Armand, P., et al., *NMR determination of the major solution conformation of a peptoid pentamer with chiral side chains*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(8): p. 4309-14.
43. Wu, C.W., et al., *Peptoid oligomers with alpha-chiral, aromatic side chains: sequence requirements for the formation of stable peptoid helices*. J Am Chem Soc, 2001. **123**(28): p. 6778-84.
44. Shin, H.M., et al., *Peptoid helicity modulation: precise control of peptoid secondary structures via position-specific placement of chiral monomers*. Chem Commun (Camb), 2014. **50**(34): p. 4465-8.
45. Stringer, J.R., et al., *Extraordinarily robust polyproline type I peptoid helices generated via the incorporation of alpha-chiral aromatic N-1-naphthylethyl side chains*. J Am Chem Soc, 2011. **133**(39): p. 15559-67.
46. Kirshenbaum, S.B.Y.S.B.Y.L.J.T.a.K., *Cyclic Peptoids*. J. Am. Chem. Soc., 2007. **129**(11): p. 3218–3225.
47. Wu, C.W., et al., *Structural and spectroscopic studies of peptoid oligomers with alpha-chiral aliphatic side chains*. J Am Chem Soc, 2003. **125**(44): p. 13525-30.
48. Wagner, G., S.G. Hyberts, and T.F. Havel, *NMR structure determination in solution: a critique and comparison with X-ray crystallography*. Annu Rev Biophys Biomol Struct, 1992. **21**: p. 167-98.
49. Rose, J.P.N., G.; Wang, B., *Protein crystallography and x-ray diffraction*, in *Imaging Life: Biological Systems from Atoms to Tissues*, O.U. Press, Editor. 2014: New York, NY. p. 15-50.
50. Schneider, M., X.R. Fu, and A.E. Keating, *X-ray vs. NMR structures as templates for computational protein design*. Proteins-Structure Function and Bioinformatics, 2009. **77**(1): p. 97-110.
51. Bulheller, B.M., A. Rodger, and J.D. Hirst, *Circular and linear dichroism of proteins*. Phys Chem Chem Phys, 2007. **9**(17): p. 2020-35.
52. Yang, S.C., *Methods for SAXS-Based Structure Determination of Biomolecular Complexes*. Advanced Materials, 2014. **26**(46): p. 7902-7910.
53. Mikula, P., P. Lukas, and F. Eichhorn, *A New Version of a Medium-Resolution Double-Crystal Diffractometer for the Study of Small-Angle Neutron-Scattering (SANS)*. Journal of Applied Crystallography, 1988. **21**: p. 33-37.
54. Jackson, M. and H.H. Mantsch, *The Use and Misuse of Ftir Spectroscopy in the Determination of Protein-Structure*. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 1995. **30**(2): p. 95-120.
55. Butterfoss, G.L., et al., *A Preliminary Survey of the Peptoid Folding Landscape*. Journal of the American Chemical Society, 2009. **131**(46): p. 16798-16807.
56. LEACH, A.R., *Molecular Modelling. Principles and Applications*. 2nd ed. 2001: Addison Wesley Longman Limited.
57. Dill, K.A. and J.L. MacCallum, *The Protein-Folding Problem, 50 Years On*. Science, 2012. **338**(6110): p. 1042-1046.
58. van Gunsteren, W.F., et al., *Biomolecular modeling: Goals, problems, perspectives*. Angewandte Chemie-International Edition, 2006. **45**(25): p. 4064-4092.
59. MacKerell, A.D., N. Banavali, and N. Foloppe, *Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids*. Biopolymers, 2001. **56**(4): p. 257-265.
60. Weiner, S.J., et al., *A New Force-Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic-Acids and Proteins*. Journal of the American Chemical Society, 1984. **106**(3): p. 765-784.

61. Jorgensen, W.L. and J. Tirado-Rives, *Development of the OPLS-AA force field for organic and biomolecular systems*. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 1998. **216**: p. U696-U696.
62. Soares, T.A., et al., *An improved nucleic acid parameter set for the GROMOS force field*. Journal of Computational Chemistry, 2005. **26**(7): p. 725-737.
63. Oostenbrink, C., et al., *A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6*. Journal of Computational Chemistry, 2004. **25**(13): p. 1656-1676.
64. Lin, Z.X. and W.F. Gunsteren, *Refinement of the Application of the GROMOS 54A7 Force Field to beta-Peptides*. Journal of Computational Chemistry, 2013. **34**(32): p. 2796-2805.
65. Huang, W., Z.X. Lin, and W.F. van Gunsteren, *Validation of the GROMOS 54A7 Force Field with Respect to beta-Peptide Folding*. Journal of Chemical Theory and Computation, 2011. **7**(5): p. 1237-1243.
66. Park, S.H. and I. Szleifer, *Structural and Dynamical Characteristics of Peptoid Oligomers with Achiral Aliphatic Side Chains Studied by Molecular Dynamics Simulation*. Journal of Physical Chemistry B, 2011. **115**(37): p. 10967-10975.
67. Brandt, W., T. Herberg, and L. Wessjohann, *Systematic Conformational Investigations of Peptoids and Peptoid-Peptide Chimeras*. Biopolymers, 2011. **96**(5): p. 651-668.
68. Voelz, V.A., K.A. Dill, and I. Chorny, *Peptoid Conformational Free Energy landscapes From Implicit-Solvent Molecular Simulations in AMBER*. Biopolymers, 2011. **96**(5): p. 639-650.
69. Morales, L.B., R. Gardunojuarez, and D. Romero, *Applications of Simulated Annealing to the Multiple-Minima Problem in Small Peptides*. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 1991. **8**(4): p. 721-735.
70. Sugita, Y. and Y. Okamoto, *Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding*. Chemical Physics Letters, 1999. **314**(1-2): p. 141-151.
71. Mirijanjan, D.T., et al., *Development and Use of an Atomistic CHARMM-Based Forcefield for Peptoid Simulation*. Journal of Computational Chemistry, 2014. **35**(5): p. 360-370.
72. Mackerell, A.D., M. Feig, and C.L. Brooks, *Extending the treatment of backbone energetics in protein force fields: Limitations of gas-phase quantum mechanics in reproducing protein conformational distributions in molecular dynamics simulations*. Journal of Computational Chemistry, 2004. **25**(11): p. 1400-1415.
73. Lee, H., B.P. Lee, and P.B. Messersmith, *A reversible wet/dry adhesive inspired by mussels and geckos*. Nature, 2007. **448**(7151): p. 338-341.
74. Ye, Q., F. Zhou, and W. Liu, *Bioinspired catecholic chemistry for surface modification*. Chemical Society Reviews, 2011. **40**(7): p. 4244-4258.
75. Faure, E., et al., *Catechols as versatile platforms in polymer chemistry*. Progress in Polymer Science, 2013. **38**(1): p. 236-270.
76. Seo, S., et al., *Microphase Behavior and Enhanced Wet-Cohesion of Synthetic Copolyampholytes Inspired by a Mussel Foot Protein*. Journal of the American Chemical Society, 2015. **137**(29): p. 9214-9217.
77. Zhong, C., et al., *Strong underwater adhesives made by self-assembling multi-protein nanofibres*. Nat Nano, 2014. **9**(10): p. 858-866.
78. Filippidi, E., et al., *The microscopic network structure of mussel (Mytilus) adhesive plaques*. Journal of The Royal Society Interface, 2015. **12**(113).
79. Matos-Pérez, C.R., J.D. White, and J.J. Wilker, *Polymer Composition and Substrate Influences on the Adhesive Bonding of a Biomimetic, Cross-Linking Polymer*. Journal of the American Chemical Society, 2012. **134**(22): p. 9498-9505.

80. Lee, H., N.F. Scherer, and P.B. Messersmith, *Single-molecule mechanics of mussel adhesion*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006. **103**(35): p. 12999-13003.
81. Lee, H., N. Scherer, and P. Messersmith, *Single-molecule mechanics of mussel adhesion*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**: p. 12999 - 13003.
82. Stepuk, A., et al., *Mussel-inspired load bearing metal-polymer glues*. Chemical Communications, 2012. **48**(50): p. 6238-6240.
83. Franklin R. Tay, D.H.P., *Have Dentin Adhesives Become Too Hydrophilic?* J Can Dent Assoc, 2003. **69**(11): p. 726-731.
84. Tay, F.R. and D.H. Pashley, *Have Dentin Adhesives Become Too Hydrophilic?* Journal of the Canadian Dental Association, 2003. **69**(11): p. 726-731.
85. Gooding, J.J. and S. Ciampi, *The molecular level modification of surfaces: from self-assembled monolayers to complex molecular assemblies*. Chemical Society Reviews, 2011. **40**(5): p. 2704-2718.
86. Kuehn, K.-D., W. Ege, and U. Gopp, *Acrylic bone cements: composition and properties*. Orthopedic Clinics, 2005. **36**(1): p. 17-28.
87. Roeters, J.J.M., A.C.C. Shortall, and N.J.M. Opdam, *Can a single composite resin serve all purposes?* Br Dent J, 2005. **199**(2): p. 73-79.
88. Ahn, B.K., et al., *Surface-initiated self-healing of polymers in aqueous media*. Nat Mater, 2014. **13**(9): p. 867-872.
89. Dupraz, A.M.P., et al., *Biocompatibility screening of silane-treated hydroxyapatite powders, for use as filler in resorbable composites*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1996. **7**(12): p. 731-738.
90. Emmett, M., *A comparison of clinically useful phosphorus binders for patients with chronic kidney failure*. Kidney International, 2004. **66**(90): p. S25-S32.
91. Van Landuyt, K.L., et al., *Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives*. Biomaterials, 2007. **28**(26): p. 3757-3785.
92. Love, J.C., et al., *Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology*. Chem Rev, 2005. **105**(4): p. 1103-69.
93. Sugawara, T. and M.M. Matsushita, *Spintronics in organic π -electronic systems*. Journal of Materials Chemistry, 2009. **19**(12): p. 1738-1753.
94. Levicky, R., et al., *Using self-assembly to control the structure of DNA monolayers on gold: a neutron reflectivity study*. Journal of the American Chemical Society, 1998. **120**(38): p. 9787-9792.
95. Abbott, N.L., C.B. Gorman, and G.M. Whitesides, *Active control of wetting using applied electrical potentials and self-assembled monolayers*. Langmuir, 1995. **11**(1): p. 16-18.
96. Sarikaya, M., et al., *Molecular biomimetics: nanotechnology through biology*. Nature materials, 2003. **2**(9): p. 577-585.
97. Vericat, C., et al., *Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: new challenges for a well-known system*. Chemical Society Reviews, 2010. **39**(5): p. 1805-1834.
98. Naik, V.V., et al., *Multiple Transmission-Reflection IR Spectroscopy Shows that Surface Hydroxyls Play Only a Minor Role in Alkylsilane Monolayer Formation on Silica*. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2013. **4**(16): p. 2745-2751.
99. Li, S.-C., et al., *Correlation between Bonding Geometry and Band Gap States at Organic-Inorganic Interfaces: Catechol on Rutile TiO₂ (110)*. Journal of the American Chemical Society, 2009. **131**(3): p. 980-984.

100. Hanson, E.L., et al., *Bonding self-assembled, compact organophosphonate monolayers to the native oxide surface of silicon*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(51): p. 16074-16080.
101. Klauk, H., et al., *Ultralow-power organic complementary circuits*. Nature, 2007. **445**(7129): p. 745-748.
102. Yip, H.L., et al., *Polymer solar cells that use self-assembled-monolayer-modified ZnO/Metals as cathodes*. Advanced Materials, 2008. **20**(12): p. 2376-2382.
103. Luo, C., et al., *General strategy for self-assembly of highly oriented nanocrystalline semiconducting polymers with high mobility*. Nano letters, 2014. **14**(5): p. 2764-2771.
104. Das, S., et al., *Interaction of adsorbed polymers with supported cationic bilayers*. RSC Advances, 2013. **3**(43): p. 20405-20411.
105. Ito, Y., et al., *Crystalline ultrasoft self-assembled monolayers of alkylsilanes for organic field-effect transistors*. Journal of the American Chemical Society, 2009. **131**(26): p. 9396-9404.
106. Ikawa, M., et al., *Simple push coating of polymer thin-film transistors*. Nature communications, 2012. **3**: p. 1176.
107. Kim, G., et al., *A Thienoisindigo-Naphthalene Polymer with Ultrahigh Mobility of $14.4 \text{ cm}^2/\text{V}\cdot\text{s}$ That Substantially Exceeds Benchmark Values for Amorphous Silicon Semiconductors*. Journal of the American Chemical Society, 2014. **136**(26): p. 9477-9483.
108. Lee, B.H., G.C. Bazan, and A.J. Heeger, *Doping-Induced Carrier Density Modulation in Polymer Field-Effect Transistors*. Advanced Materials, 2016. **28**(1): p. 57-62.
109. Schmuck, C. and W. Wienand, *Highly stable self-assembly in water: ion pair driven dimerization of a guanidiniocarbonyl pyrrole carboxylate zwitterion*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(2): p. 452-459.
110. Ulman, A., *Formation and structure of self-assembled monolayers*. Chemical reviews, 1996. **96**(4): p. 1533-1554.
111. Joachim, C., J. Gimzewski, and A. Aviram, *Electronics using hybrid-molecular and mono-molecular devices*. Nature, 2000. **408**(6812): p. 541-548.
112. Aviram, A. and M.A. Ratner, *Molecular rectifiers*. Chemical Physics Letters, 1974. **29**(2): p. 277-283.
113. Metzger, R.M., et al., *Is Ashwell's zwitterion a molecular diode?* Synthetic metals, 1997. **85**(1): p. 1359-1360.
114. Swisher, R.D., *Surfactant biodegradation*. Vol. 18. 1986: CRC Press.
115. Levine, I.N., *Quantum Chemistry*. 4 ed. 1991, New York: Prentice-Hall.
116. Vangunsteren, W.F. and H.J.C. Berendsen, *Algorithms for Macromolecular Dynamics and Constraint Dynamics*. Molecular Physics, 1977. **34**(5): p. 1311-1327.
117. Swope, W.C., et al., *A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters*. The Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(1): p. 637-649.
118. Hockney, R.W., S.P. Goel, and J.W. Eastwood, *Quiet high-resolution computer models of a plasma*. Journal of Computational Physics, 1974. **14**(2): p. 148-158.
119. Bussi, G., D. Donadio, and M. Parrinello, *Canonical sampling through velocity rescaling*. The Journal of Chemical Physics, 2007. **126**(1): p. 014101.
120. Berendsen, H.J.C., et al., *Molecular dynamics with coupling to an external bath*. The Journal of Chemical Physics, 1984. **81**(8): p. 3684-3690.
121. Darden, T., D. York, and L. Pedersen, *Particle mesh Ewald: An $N\text{-log}(N)$ method for Ewald sums in large systems*. The Journal of Chemical Physics, 1993. **98**(12): p. 10089-10092.

122. ESSMANN, U., et al., *A SMOOTH PARTICLE MESH EWALD METHOD*. Journal of Chemical Physics, 1995. **103**(19): p. 8577-8593.
123. Tironi, I.G., et al., *A generalized reaction field method for molecular dynamics simulations*. The Journal of Chemical Physics, 1995. **102**(13): p. 5451-5459.
124. Gargallo, R., et al., *Molecular dynamics simulation of highly charged proteins: Comparison of the particle-particle particle-mesh and reaction field methods for the calculation of electrostatic interactions*. Protein Science, 2003. **12**(10): p. 2161-2172.
125. Gargallo, R., et al., *Effect of the reaction field electrostatic term on the molecular dynamics simulation of the activation domain of procarboxypeptidase B*. Protein Engineering, 2000. **13**(1): p. 21-26.
126. Crippen, G.M. and H.A. Scheraga, *Minimization of polypeptide energy. 8. Application of the deflation technique to a dipeptide*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1969. **64**(1): p. 42-9.
127. Huber, T., A.E. Torda, and W.F. van Gunsteren, *Local elevation: a method for improving the searching properties of molecular dynamics simulation*. J Comput Aided Mol Des, 1994. **8**(6): p. 695-708.
128. Laio, A. and M. Parrinello, *Escaping free-energy minima*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(20): p. 12562-6.
129. Grubmuller, H., *Predicting slow structural transitions in macromolecular systems: Conformational flooding*. Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics, 1995. **52**(3): p. 2893-2906.
130. Berendsen, H.J.C., Postma, J. P. M., van Gunsteren, W. F., Hermans, J. , *Interaction models for water in relation to protein hydration*, in *Intermolecular Forces*, B. Pullman, Editor. 1981. p. 331-342.
131. Berendsen, H.J.C., J.R. Grigera, and T.P. Straatsma, *The Missing Term in Effective Pair Potentials*. Journal of Physical Chemistry, 1987. **91**(24): p. 6269-6271.
132. Jorgensen, W.L., et al., *Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water*. Journal of Chemical Physics, 1983. **79**(2): p. 926-935.
133. Mahoney, M.W. and W.L. Jorgensen, *A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions*. Journal of Chemical Physics, 2000. **112**(20): p. 8910-8922.
134. Gee, P.J. and W.F. van Gunsteren, *Acetonitrile revisited: a molecular dynamics study of the liquid phase*. Molecular Physics, 2006. **104**(3): p. 477-483.
135. Hess, B., et al., *GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation*. Journal of Chemical Theory and Computation, 2008. **4**(3): p. 435-447.
136. By: Gee, P.V.G., WF, *Acetonitrile revisited: a molecular dynamics study of the liquid phase*. Molecular Physics, 2006. **104**(3): p. 477-483.
137. EDWARDS, D.M., PA; MCDONALD, IR, *A COMPUTER-SIMULATION STUDY OF THE DIELECTRIC-PROPERTIES OF A MODEL OF METHYL CYANIDE .I. THE RIGID DIPOLE CASE*. Molecular Physics, 1984. **51**(5): p. 1141-1161.
138. E. Guardia, R.P., J. Casulleras, M. Orozco, F.J. Luque. Mol. Simulation, *Comparison of different three-site interaction potentials for liquid acetonitrile*. Mol. Simulation, 2001. **26**(4): p. 287-306.
139. Hess, B., et al., *LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations*. Journal of Computational Chemistry, 1997. **18**(12): p. 1463-1472.
140. AN, X.M., M, *ENTHALPIES OF COMBUSTION AND FORMATION OF ACETONITRILE*. JOURNAL OF CHEMICAL THERMODYNAMICS, 1983. **15**(3): p. 287-293.

141. GALLANT, R., *PHYSICAL PROPERTIES OF HYDROCARBONS .40. TOLUENE AND XYLENE*. HYDROCARBON PROCESSING, 1969. **48**(12): p. 113.
142. WAGMAN, D.E., WH; PARKER, VB; et al., *THE NBS TABLES OF CHEMICAL THERMODYNAMIC PROPERTIES - SELECTED VALUES FOR INORGANIC AND C-1 AND C-2 ORGANIC-SUBSTANCES IN SI UNITS*. JOURNAL OF PHYSICAL AND CHEMICAL REFERENCE 1982. **11**.
143. KOVACS, H.K., J; MALINIAK, A; et al., *MULTINUCLEAR RELAXATION AND NMR SELF-DIFFUSION STUDY OF THE MOLECULAR-DYNAMICS IN ACETONITRILE CHLOROFORM LIQUID-MIXTURES*. JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY 1989. **93**(2): p. 962-969.
144. Mountain, R.D., *Shear viscosity and dielectric constant of liquid acetonitrile*. Journal of Chemical Physics, 1997. **107**(10): p. 3921-3923.
145. Hockney, R.W., *The potential calculation and some applications*. Methods Comput Phys, 1970. **9**: p. 136-211.
146. Lins, R.D. and P.H. Hunenberger, *A new GROMOS force field for hexopyranose-based carbohydrates*. Journal of Computational Chemistry, 2005. **26**(13): p. 1400-1412.
147. Franca, E., et al., *Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution*. Journal of Chemical Theory and Computation, 2008. **4**(12): p. 2141-2149.
148. Valiev, M., et al., *NWChem: A comprehensive and scalable open-source solution for large scale molecular simulations*. Computer Physics Communications, 2010. **181**(9): p. 1477-1489.
149. Hehre, W.J.H., W. W.; Klunzinger, P. E.; Deppmeier, B. J.; Driessen, *Spartan 5.0: Program for molecular mechanics and quantum chemical calculations*. 1997: University of California, USA.
150. Kang, Y.P., HS, *Internal rotation about the C-N bond of amides*. JOURNAL OF MOLECULAR STRUCTURE-THEOCHEM, 2004. **676**(1-3): p. 171-176.
151. Rablen, P.R., *Computational analysis of the solvent effect on the barrier to rotation about the conjugated C-N bond in methyl N,N-dimethylcarbamate*. JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, 2000. **65**(23): p. 7930-7937.
152. Rablen, P.R.M., D. A.; Bullock, V. R.; et al., *Solvent effects on the barrier to C-N bond rotation in N,N-dimethylaminoacrylonitrile*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(1): p. 218-226.
153. Gorske, B.C., et al., *New strategies for the design of folded peptoids revealed by a survey of noncovalent interactions in model systems*. J Am Chem Soc, 2009. **131**(45): p. 16555-67.
154. Tribello, G.A., et al., *PLUMED 2: New feathers for an old bird*. Computer Physics Communications, 2014. **185**(2): p. 604-613.
155. Renfrew, P.D.C., Timothy W.; Butterfoss, Glenn L.; et al., *A Rotamer Library to Enable Modeling and Design of Peptoid Foldamers*. Journal of the American Chemical Society, 2014. **136**(24): p. 8772-8782.
156. Sanborn, T.J., et al., *Extreme stability of helices formed by water-soluble poly-N-substituted glycines (polypeptoids) with alpha-chiral side chains*. Biopolymers, 2002. **63**(1): p. 12-20.
157. Armand, P., et al., *Chiral N-substituted glycines can form stable helical conformations*. Folding and Design, 1997. **2**(6): p. 369-375.
158. Wu, C.W., et al., *Peptoid oligomers with alpha-chiral, aromatic side chains: effects of chain length on secondary structure*. J Am Chem Soc, 2001. **123**(13): p. 2958-63.

159. Holzwarth, G. and P. Doty, *The Ultraviolet Circular Dichroism of Polypeptides*. J Am Chem Soc, 1965. **87**: p. 218-28.
160. Kakinoki, S., Y. Hirano, and M. Oka, *On the Stability of Polyproline-I and II Structures of Proline Oligopeptides*. Polymer Bulletin, 2005. **53**(2): p. 109-115.
161. Walser, R., et al., *The effect of force-field parameters on properties of liquids: Parametrization of a simple three-site model for methanol*. Journal of Chemical Physics, 2000. **112**(23): p. 10450-10459.
162. Dequidt, A., J. Devemy, and P. Malfreyt, *Confined KCl Solution between Two Mica Surfaces: Equilibrium and Frictional Properties*. Journal of Physical Chemistry C, 2015. **119**(38): p. 22080-22085.
163. Cygan, R., J. Liang, and A. Kalinichev, *Molecular models of hydroxide, oxyhydroxide, and clay phases and the development of a general force field*. Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(4): p. 1255-1266.
164. Bayly, C.I., et al., *A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model*. The Journal of Physical Chemistry, 1993. **97**(40): p. 10269-10280.
165. Das, S., et al., *Molecularly Smooth Self-Assembled Monolayer for High-Mobility Organic Field-Effect Transistors*. Nano Letters, 2016. **16**(10): p. 6709-6715.