

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,  
o texto completo desta tese será  
disponibilizado somente a partir  
de 28/01/2024



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Carlos Roberto de Souza Camilo

**Estudo computacional da interação da curcumina com bicamadas de  
fosfatidilcolina (POPC): Efeitos da variação da razão curcumina/lipídios**

São José do Rio Preto  
2022

Carlos Roberto de Souza Camilo

**Estudo computacional da interação da curcumina com bicamadas de fosfatidilcolina (POPC): Efeitos da variação da razão curcumina/lipídios**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo

Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Ruggiero

São José do Rio Preto  
2022

C183e Camilo, Carlos Roberto de Souza  
Estudo computacional da interação da curcumina com bicamadas de fosfatidilcolina (POPC) : efeitos da variação da razão curcumina/lipídios / Carlos Roberto de Souza Camilo. -- São José do Rio Preto, 2022  
156 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto  
Orientador: Alexandre Suman de Araujo  
Coorientador: José Roberto Ruggiero

1. Biofísica Molecular. 2. Dinâmica Molecular. 3. Curcumina. 4. Bicamadas fosfolipídicas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Carlos Roberto de Souza Camilo

**Estudo computacional da interação da curcumina com bicamadas de fosfatidilcolina (POPC): Efeitos da variação da razão curcumina/lipídios**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Alexandre Suman de Araujo  
Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus de S. J. Rio Preto  
Orientador

Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda  
Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus de Botucatu

Prof. Dr. Pedro Geraldo Pascutti  
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Prof. Dr. Ronaldo Júnio de Oliveira  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Thereza Amélia Soares da Silva  
Universidade de São Paulo (USP) – Câmpus de Ribeirão Preto

São José do Rio Preto  
28 de julho de 2022

*À Adriana, Arthur e Yui, minha família.*

## AGRADECIMENTOS

Por trás deste trabalho de conclusão de curso está o apoio de muita gente e sem o qual nada disto teria sido possível.

Começo por agradecer ao professor José Roberto Ruggiero, que me acompanhou durante esses anos, contribuindo para o meu crescimento intelectual, e acima de tudo por sua paciência e amizade.

À meu orientador, professor Alexandre Suman de Araujo, pelo apoio, ensinamentos e motivação para o desenvolvimento deste estudo.

À todos os professores do Departamento de Física do IBILCE/UNESP, que contribuíram em minha formação, em especial ao professor Jorge Chahine.

Aos coordenadores, membros e representantes discentes do Conselho do PPG em Biofísica Molecular, em especial à professora Fátima, e ao professor Sidney Jurado Carvalho, sempre disponível para esclarecer e apoiar.

Ao CENAPAD-SP, e sua sempre prestativa equipe, por disponibilizar os recursos computacionais para o desenvolvimento de grande parte das simulações deste trabalho.

Aos meus colegas Josimar, Miriam e Rafael que estiveram comigo nessa caminhada.

À minha família, minha mãe, e à minha mulher Adriana, pela energia que possibilitou que este trabalho fosse levado à frente.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.

終

## RESUMO

A curcumina é um composto ativo da *Curcuma longa*, amplamente utilizada na culinária e medicina asiáticas. Seu espectro de ação terapêutica abrange efeitos antioxidantes, atividades anticancerígenas e antimicrobiana, sendo associada também a processos de apoptose celular. O mecanismo de ação molecular entretanto é pouco conhecido, sendo proposto desde a interação superficial com a região hidratada da membrana celular, até o enterramento de suas moléculas no núcleo hidrofóbico, produzindo alterações nas propriedades da estrutura lipídica. Utilizando simulações por dinâmica molecular de bicamadas fosfolipídicas, este trabalho avalia a interação entre moléculas de curcumina e bicamadas compostas por palmitoiloleilfosfatidilcolina (POPC). As simulações, à volume de água constante, revelam que as moléculas de curcumina, inicialmente inseridas dispersas na fase aquosa, a partir de certa razão curcumina/lipídio, se agregam e absorvem na bicamada, avançando sobre o núcleo hidrofóbico e estabelecendo uma estrutura transmembrânica. Numa longa dinâmica de interação, o *cluster* perde moléculas, resultando na dispersão da estrutura para a região definida pelo glicerol dos fosfolipídios, com a estabilização da curcumina ocorrendo na interface entre as regiões hidrofóbica e hidrofílica. Este processo resulta na redistribuição das moléculas de curcumina entre as duas monocamadas da estrutura lipídica. Utilizando um método de construção alternativo, com inserção progressiva e gradual de moléculas, é observado que a adsorção e estabilização da curcumina de fato se dá na condição dispersa, mas a continuação do processo com a inserção de cada vez mais moléculas também leva à formação de uma estrutura transmembrânica. Os dois estados de interação são, portanto, possíveis e a transição entre eles depende da razão curcumina/lipídio e do tamanho do *cluster* que as moléculas de curcumina estabelecem, seja na fase aquosa, antes da adsorção, ou a partir da agregação de moléculas já adsorvidas na membrana com novas moléculas sendo internalizadas do meio. Em ambos os estados, a ação da curcumina resulta na perturbação local da estrutura, com diminuição da espessura da bicamada, alterações no ordenamento das caudas dos fosfolipídios, e aumento da permeabilidade da bicamada à moléculas de água. Tais alterações indicam que a curcumina aumenta a fluidez da bicamada, apresentando uma ação muito mais efetiva enquanto estrutura transmembrânica. A saturação temporária de moléculas na bicamada resulta portanto na formação de um microdomínio onde a curcumina assume uma estruturação transmembrânica que consiste também num mecanismo para redistribuição de moléculas entre as duas monocamadas da membrana.

**Palavras-chave:** Curcumina. POPC. Bicamadas fosfolipídicas. Permeação de moléculas de água. Dinâmica molecular.

## **ABSTRACT**

*Curcumin is an active compound from *Curcuma longa*, an ingredient widely used in Asian cuisine and medicine. Its therapeutic action spectrum includes antioxidant effects, anticancer and antimicrobial activities, and is also associated with cellular apoptosis processes. However, its molecular mechanism of action is poorly known. It has been proposed that curcumin adsorbs onto the hydrated surface of the cytoplasmatic membrane and penetrates its hydrophobic core, causing structural changes. By using molecular dynamics simulations of phospholipid bilayers, in this work, we evaluate the interactions between curcumin and 1-palmitoyl-2-oleoyl-glycero-3-phosphocholine (POPC) bilayers. The simulations reveal that curcumin molecules initially dispersed in the aqueous phase, from a certain curcumin/lipid ratio, form aggregates that adsorb onto the bilayer; then advances through the hydrophobic core to establish a transmembrane structure. Curcumin aggregates reach a stable arrangement at the hydrophobic core and interact with the hydrophilic interface of the bilayer. This process results in the redistribution of the curcumin ratio between the two leaflets of the bilayer. Using an alternative method, with progressive and gradual insertion of molecules, it is observed that the adsorption and stabilization of curcumin aggregate actually take place in the dispersed condition, but the extension of the process with the insertion of additional molecules also induces a transmembrane structure formation. The two structural arrangement are therefore possible and the transition between them depends on the curcumin/lipid ratio, and on the size of the cluster established, either in the aqueous phase, before the adsorption process, but also by the aggregation of molecules already adsorbed with new molecules being internalized from the aqueous phase. In both states, the action of curcumin results in the local disturbance of the bilayer structure, with thinning of the bilayer, changes in the ordering of the phospholipid tails, and the increase in the permeability of the bilayer. Such changes indicate that curcumin increases the fluidity of the bilayer, showing a more effective action as a transmembrane structure. The temporary saturation of molecules in the leaflet, therefore, induces the formation of a microdomain where the curcumin molecules assume a transmembrane orientation which also consists of a mechanism for redistribution of molecules between the membrane leaflets.*

**Keywords:** *Curcumin. POPC. Phospholipid bilayers. Water permeation. Molecular dynamics.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Todas as figuras sem indicação explícita da fonte foram elaboradas pelo próprio autor.

Figura 1.1 – Modelos propostos para a interação da curcumina com membranas.	17
Figura 2.2 – Estrutura das moléculas de curcumina e POPC.	18
Figura 2.1 – Potenciais harmônicos, potencial torcional e potencial diedral impróprio.	26
Figura 2.2 – Representação de uma molécula de POPC.	27
Figura 2.3 – Esquematização do método <i>leap-frog</i> .	31
Figura 2.4 – Condições periódicas de contorno.	34
Figura 2.5 – Modelos de representação para a molécula de água.	37
Figura 2.6 – Representação de uma molécula de curcumina.	46
Figura 3.1 – Definição dos limites e centro geométrico da bicamada	50
Figura 3.2 – Interação entre curcumina e bicamada - simulações 1, 2, 4 e 8 curcuminas.	51
Figura 3.3 – Distância média da curcumina ao centro bicamada.	52
Figura 3.4 – Interação curcumina-bicamada (16Curc).	53
Figura 3.5 – <i>Frames</i> extraídos da simulação 16Curc.	55
Figura 3.6 – Perfis de densidade (16Curc).	56
Figura 3.7 – Interação curcumina-bicamada (16Curc_R1 e 16Curc_R2).	58
Figura 3.8 – Perfis de densidade (16Curc_R1 e 16Curc_R2).	60
Figura 3.9 – Representação do método de inserção progressiva de moléculas.	63
Figura 3.10 – Interação curcumina-bicamada - 1~16 moléculas (inserção progressiva).	64
Figura 3.11 – Interação curcumina-bicamada (P16).	66
Figura 3.12 – Evolução temporal dos ângulos $\theta$ e $\varphi$ .	67
Figura 3.13 – Perfis de densidade (P16).	68
Figura 3.14 – Energia de interação (VdW).	69
Figura 3.15 – Energia de interação (Coulomb).	70

Figura 3.16 – Ligações de hidrogênio estabelecidas pela curcumina.	72
Figura 4.1 – Energia de interação na bicamada (Vdw e Coulomb).	75
Figura 4.2 – Função $g(r)$ de grupos característicos dos fosfolipídios.	78
Figura 4.3 – Área por lipídio e espessura da bicamada.	80
Figura 4.4 – Parâmetro de ordem.	85
Figura 4.5 – Espessura bidimensional da bicamada pura.	89
Figura 4.6 – Espessura bidimensional (1, 2, 4 e 8Curc).	90
Figura 4.7 – Espessura bidimensional (16Curc).	91
Figura 4.8 – Espessura bidimensional (P16).	95
Figura 4.9 – Espessura bidimensional (16Curc_R1 e 16Curc_R2).	96
Figura 4.10 – Distribuição da curcumina na bicamada 16Curc e afinamento da espessura.	97
Figura 4.11 – Distribuição da curcumina na bicamada (16Curc_R1 e 16Curc_R2).	100
Figura 4.12 – Enterramento da curcumina em função do tamanho do <i>cluster</i> .	103
Figura 4.13 – Inserção progressiva (32 moléculas).	106
Figura 4.14 – Inserção progressiva com adsorção pela mesma monocamada (16 moléculas)..	108
Figura 4.15 – Distribuição da curcumina na bicamada (P24 e P32).	111
Figura 4.16 – Dimensões do cluster em função do número de moléculas de curcumina.	112
Figura 4.17 – Histograma dos ângulos $\theta$ e $\varphi$ em relação à $z$ .	112
Figura 4.18 – Espessura bidimensional (P24, P32, P32-NaCl, P32-320K).	114
Figura 4.19 – Interação e distribuição da curcumina na simulação 16Curc-NaCl.	115
Figura 4.20 – Distribuição da curcumina na bicamada (P32-NaCl e P32-320K).	117
Figura 5.1 – Mapeamento de eventos de permeação de água (bicamada pura e 16Curc).	120
Figura 5.2 – Número acumulado de eventos de permeação.	122
Figura 5.3 – Passagem de moléculas de água por meio da estrutura transmembrânica.	124
Figura 5.4 – Comparação de eventos de permeação e sua projeção sobre o <i>heatmap</i> .	125

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Quadro resumo do primeiro conjunto de simulações.	41
Tabela 2.2 – Quadro resumo do segundo conjunto de simulações.	42
Tabela 3.1 – Número médio de ligações de hidrogênio estabelecidas pela curcumina.	71
Tabela 5.1 – Estatísticas dos eventos de permeação e coef. de permeabilidade da bicamada.	120

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>APL</b>	Área por lipídio
<b>ATB</b>	<i>Automated Topology Builder and Repository</i>
<b>COM</b>	<i>Center of mass</i> (Centro de massa)
<b>Coul.</b>	Potencial de Coulomb
<b>Curc.</b>	Curcumina
<b>GROMACS</b>	<i>Groningen Machine for Chemical Simulations</i>
<b>GROMOS</b>	<i>Groningen Molecular Simulation computer program package</i>
<b>DMPC</b>	Dimiristoilfosfatidilcolina
<b>DOPC</b>	Dioleoilfosfatidilcolina
<b>DPPC</b>	Dipalmitoilfosfatidilcolina
<b>DPPE</b>	Dipalmitoilfosfatidiletanolamina
<b>DSPC</b>	Diestearoilfosfatidilcolina
<b>P<sub>c</sub></b>	Coefficiente de permeabilidade
<b>MD</b>	<i>Molecular dynamics</i> (Dinâmica molecular)
<b>PMF</b>	<i>Potential of mean force</i> (Potencial de força média)
<b>POPC</b>	Palmitoilfosfatidilcolina
<b>POPE</b>	Palmitoilfosfatidiletanolamina
<b>POPG</b>	Palmitoilfosfatidilglicerol
<b>P<sub>ref</sub></b>	Pressão de referência
<b>RDF</b>	<i>Radial distribution function</i> (Função de distribuição radial de pares)
<b>SPC</b>	<i>Simple Point Charge water model</i>
<b>T<sub>m</sub></b>	Temperatura de transição de fase
<b>T<sub>ref</sub></b>	Temperatura de referência

**VdW**      Potencial de van der Waals

**VMD**      Visual Molecular Dynamics

## LISTA DE SÍMBOLOS

Å	Angstrom
<b>bar</b>	bar
<b>C</b>	Carbono
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Íon ferro
<b>fs</b>	femtosegundo
<b>H</b>	Hidrogênio
<b>J</b>	Joule
<b>k</b>	kilo
<b>K</b>	Kelvin
<b>kg</b>	quilograma
<b>O</b>	Oxigênio
<b>P</b>	Fósforo
<b>m</b>	Metro
<b>mol</b>	mol
<b>N</b>	Nitrogênio
<b>nm</b>	nanômetro
<b>ns</b>	nanosegundo
<b>s</b>	segundo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	16
<b>1.1</b>	<b>Objetivos</b>	22
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA</b>	23
<b>2.1</b>	<b>Simulações por Dinâmica Molecular</b>	23
2.1.1	Campo de forças	24
2.1.2	Equações de movimento e integração numérica	29
2.1.3	Condições iniciais, minimização e equilibração	31
2.1.4	<i>Ensemble</i> e controle de temperatura e pressão	32
2.1.5	Caixa de simulação e condições periódicas de contorno	33
2.1.6	Mínima imagem, raio de corte e interações de curto e longo alcance	35
2.1.7	Solvatação e modelos para a molécula de água	36
2.1.8	Estrutura e topologia das moléculas	37
2.1.9	Pacotes de simulação para dinâmica molecular	38
<b>2.2</b>	<b>Descrição dos Sistemas Simulados</b>	39
<b>2.3</b>	<b>Detalhes Computacionais</b>	43
<b>2.4</b>	<b>Análise das Simulações</b>	44
2.4.1	Propriedades da bicamada	44
2.4.2	Interação e organização das moléculas de curcumina	45
<b>3</b>	<b>PROCESSO DE ADSORÇÃO DA CURCUMINA NA BICAMADA</b>	47
<b>3.1</b>	<b>Interação da Bicamada com Várias Moléculas de Curcumina</b>	49
<b>3.2</b>	<b>Inserção Progressiva de Moléculas</b>	62

<b>4</b>	<b>EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE CURCUMINA SOBRE A ESTRUTURA DA BICAMADA</b>	<b>74</b>
<b>4.1</b>	<b>Ação Sobre as Propriedades da Bicamada</b>	<b>74</b>
4.1.1	Interações energéticas na bicamada	76
4.1.2	Área por lipídio e espessura da bicamada	79
4.1.3	Parâmetro de ordem	84
<b>4.2</b>	<b>Efeitos do <i>Cluster</i> Sobre a Bicamada</b>	<b>87</b>
4.2.1	Perturbações locais no plano da bicamada	88
4.2.2	Tamanho do <i>cluster</i> e formação da estrutura transmembrânica	101
4.2.3	Análise da estrutura transmembrânica	110
4.2.4	Efeito da presença de sal e aumento da temperatura	116
<b>5</b>	<b>EFEITOS SOBRE A PERMEAÇÃO DE MOLÉCULAS DE ÁGUA</b>	<b>118</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>127</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>130</b>
	<b>ANEXO A - Estrutura e parâmetros de topologia utilizados para a curcumina</b>	<b>137</b>
	<b>ANEXO B - <i>A method for detection of water permeation events in Molecular dynamics simulations of lipid bilayers</i></b>	<b>143</b>

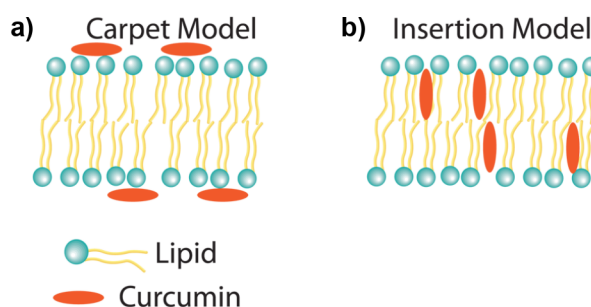
# 1

## INTRODUÇÃO

Polifenóis são uma classe de moléculas orgânicas caracterizadas pela presença de hidroxilas ligadas a anéis aromáticos. Amplamente encontrados em plantas, são os metabólitos responsáveis por conferir propriedades como cor e sabor a sucos, café e vinho, por exemplo (REIS et al., 2020). O polifenol curcumina é um pigmento amarelo-alaranjado, extraído da planta *Curcuma longa*, largamente utilizado na culinária como um ingrediente do pó de *curry*, sendo também associado ao tratamento de um grande número de doenças na medicina tradicional asiática (MAHESHWARI et al., 2006). Nas últimas décadas, vários trabalhos têm associado a curcumina, e também outros polifenóis, ao tratamento de um amplo espectro de doenças, sendo relatadas atividades anti-inflamatória, anticancerígena e antimutagênica (ANAND et al., 2008; BURGOS-MORÓN et al., 2010; OBAIDI et al., 2020). Outra atividade terapêutica que merece destaque são suas propriedades antioxidantes, que alçaram a curcumina ao *status* de importante suplemento alimentar para retardar efeitos do envelhecimento e doenças a ele associadas, como o Alzheimer (TEIXEIRA et al., 2005). Sua ação se daria sequestrando radicais livres  $Fe^{3+}$  e inibindo o processo de peroxidação dos lipídios de membranas celulares (HAMAGUCHI; ONO; YAMADA, 2010). Mais recentemente, estudos indicaram que a curcumina também apresenta atividade antimicrobiana, podendo atuar como inibidor da ação de peptídeos  $\beta$ -amilóide ( $A\beta$ ) sobre membranas celulares de neurônios (THAPA et al., 2013), e estar associada a processos de apoptose celular (RAVINDRAN; PRASAD; AGGARWAL, 2009; YUN; LEE, 2016; OBAIDI et al., 2020).

Apesar da grande quantidade de trabalhos buscando caracterizar e avaliar as atividades terapêuticas da curcumina, outros estudos ressaltam que a eficiência e segurança de sua utilização ainda carecem de pesquisa, principalmente face à popularidade que o composto adquiriu (BURGOS-MORÓN et al., 2010; NELSON et al., 2017). Seu mecanismo de ação molecular ainda é pouco conhecido e, dado o amplo espectro de atividades, pode haver várias vias de ação (INGOLFSSON; KOEPPE; ANDERSEN, 2007). Uma destas vias é sua ação direta sobre as membranas celulares, mas a forma como se dá tal interação ainda é motivo de debate (KUNWAR et al., 2008; ALSOP; DHALIWAL; RHEINSTÄDTER, 2017).

**Figura 1.1** – Modelos propostos para a interação da curcumina com membranas.



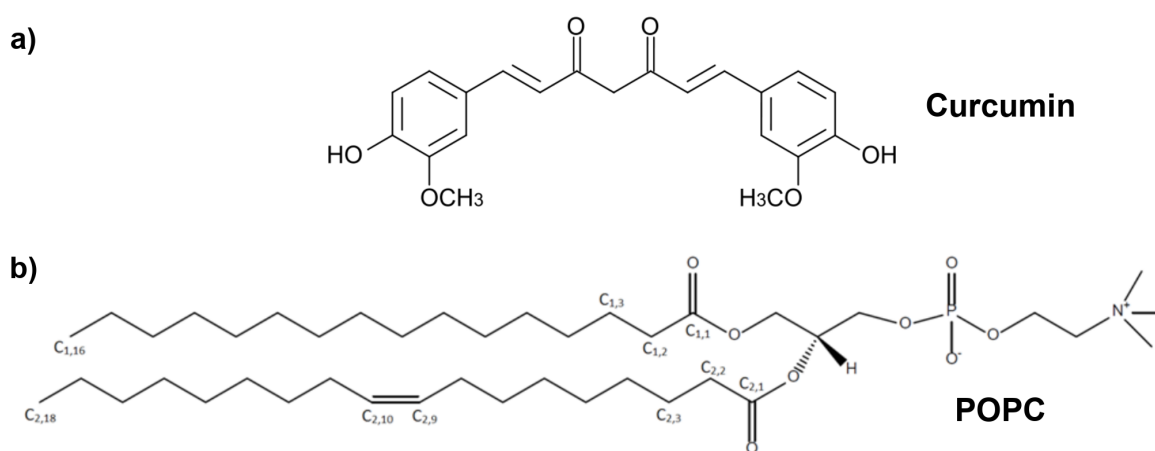
Fonte: Adaptada de: ALSOP; DHALIWAL; RHEINSTÄDTER, 2017.

Num primeiro modelo, ilustrado na Fig. 1.1a, é proposto que a molécula interage com os grupos polares que definem a região hidratada da membrana, as “cabeças” dos fosfolipídios constituintes da estrutura lipídica, atuando assim como uma barreira à interação de outras moléculas com a membrana. Este modelo é utilizado para explicar, por exemplo, a capacidade da curcumina em prevenir interação de peptídeos  $\beta$ -amiloide sobre a membrana (THAPA et al., 2013), assim como sua atividade antioxidante, inibindo o processo de peroxidação oxidativa ao sequestrar radicais livres (HAMAGUCHI; ONO; YAMADA, 2010). Sua atividade, nestes casos, estaria relacionada essencialmente à capacidade de seus grupos fenólicos reativos em se ligar à molécula alvo (STAROK et al., 2015).

Também baseado em dados experimentais, um segundo modelo propõe (Fig. 1.1b), no entanto, que a curcumina se enterra na fase hidrofóbica das membranas. Neste caso, sua ação se daria através da interação com as cadeias apolares (as “caudas”) dos fosfolipídios componentes e a consequente modificação das propriedades físicas da membrana (ERLEJMAN et al., 2004; INGOLFSSON; KOEPPE; ANDERSEN, 2007; BARRY et al., 2009). Ao alterar o ordenamento das caudas dos fosfolipídios e a rigidez da estrutura lipídica, a curcumina preveniria a inserção de radicais livres e peptídeos, modificando a barreira de energia à permeação da membrana. Neste segundo modelo, o mecanismo de ação da curcumina seria semelhante ao verificado para o colesterol, que se enterra na fase hidrofóbica modificando o ordenamento e a fluidez da membrana (MOLUGU; BROWN, 2016), mas possivelmente com o efeito oposto, isto é, aumentando a fluidez e a hidratação da estrutura

lipídica (KOTENKOV et al., 2019; ALSOP; DHALIWAL; RHEINSTÄDTER, 2017). Uma abordagem alternativa visa a conciliação dos dois modelos ao propor que o mecanismo de ação da curcumina é dependente de sua concentração. Inicialmente se ligaria à membrana na fase hidratada desta, mas com o aumento de sua concentração, as moléculas gradualmente se inserem na fase hidrofóbica passando a modular as propriedades da membrana (HUNG et al., 2008).

**Figura 1.2** – Representação das moléculas de curcumina ( $C_{21}H_{20}O_6$ ) e POPC ( $C_{42}H_{82}NO_8P$ ).



Fonte: Elaborada pelo autor.

A molécula de curcumina (Fig. 1.2a) é essencialmente hidrofóbica com um anel em cada extremidade, ligados por uma cadeia acíclica. Entretanto, ao longo de toda sua estrutura são observados grupos polares, como a hidroxila fenólica em cada um dos anéis e dois grupos carbonila no centro da molécula. Dadas estas particularidades, quando inserida na fase aquosa, as moléculas de curcumina tendem a se agregar numa estrutura que minimize a exposição dos grupos apolares à água, mas ainda assim hidratada de forma a manter a estabilidade de seus grupos polares (HAZRA; ROY; BAGCHI, 2014).

Simulando a interação de uma molécula de curcumina com diversos tipos de bicamadas a 303 K, Lyu e colaboradores (2018) observaram a adsorção do polifenol em todas as bicamadas fluidas. Para a bicamada POPC, os autores verificaram que a molécula de curcumina se estabiliza no interior da estrutura, a 7,0 Å da interface e 11,4 Å do centro da bicamada. Conciliando experimentos de difração de raios-X em vesículas e simulações por

dinâmica molecular de bicamadas dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), Alsop e colaboradores (2017) localizaram o pico da distribuição de curcumina a 8 Å do centro da membrana na abordagem experimental e a 10 Å nas simulações. Ambos os resultados concordam bem com o mínimo que obtiveram para o perfil de energia livre, a 9 Å do centro da estrutura lipídica.

Estes resultados demonstram que a molécula de curcumina particiona na membrana e a localizam em regiões internas à ocupada pelo glicerol dos fosfolípidios (o átomo de carbono do grupo glicerol é o primeiro átomo da cauda). A localização da molécula é dependente da composição lipídica da membrana, com maior enterramento para POPC e dioleoilfosfatidilcolina (DOPC), e menor para palmitoilfosfatidilglicerol (POPG) e palmitoilfosfatidiletanolamina (POPE) (LYU et al., 2018). A presença de uma molécula de curcumina nas bicamadas resulta em pequenas alterações em algumas propriedades destas. Foram observadas uma redução na área por lípidio na monocamada em que a molécula está presente (a monocamada oposta não é afetada), e um sutil aumento na espessura da bicamada (LYU et al., 2018) mas as variações observadas normalmente estão compreendidas no erro do valor calculado para os sistemas de controle (sem curcumina). Portanto, embora a curcumina possa ser localizada no interior da membrana, as informações obtidas da interação da bicamada com uma (ou duas) moléculas de curcumina nos permitem avançar pouco em relação ao seu mecanismo de ação.

Tais resultados levantam o questionamento de se a ação de várias moléculas de curcumina sobre a bicamada se daria nesta mesma direção, com as moléculas individualmente se estabilizando na região das carbonilas, no limite entre as regiões hidratada e hidrofóbica do sistema, ou se haveria algum tipo de ação cooperativa entre as moléculas do polifenol que resultasse num processo diferente de internalização na bicamada e, talvez, na estabilização em outra região da estrutura. A ação conjunta de várias moléculas de curcumina seria suficiente, por exemplo, para que consigam avançar sobre o núcleo hidrofóbico definido pelas caudas dos fosfolípidios? O colesterol modula as propriedades de uma membrana, mas sua ação resulta na redução da fluidez e aumento na espessura, restringindo a acessibilidade de moléculas de água ao núcleo hidrofóbico. Resultados experimentais indicam que a curcumina também é capaz de modificar propriedades da membrana, com seus efeitos podendo ser opostos ou similares aos do colesterol. Utilizando difração de raios-X, Hung e colaboradores (2008) mediram variações na espessura da membrana de vesículas unilamelares de DOPC e observaram que a curcumina promove alterações significativas na espessura da estrutura

lipídica – um afinamento da ordem de 10 Å, sendo a espessura da membrana ~28,6 Å – apresentando portanto uma ação contrária à do colesterol. É relatado que a curcumina aumenta o ordenamento das caudas dos fosfolipídios em lipossomas de DMPC ou diestearoilfosfatidilcolina (DSPC) (DUDA; CYGAN; WISNIEWSKA-BECKER, 2020), efeito também observado na ação do colesterol. Mas também, que a curcumina propicia um aumento na hidratação da região hidrofóbica de vesículas (ALSOP; DHALIWAL; RHEINSTÄDTER, 2017; DUDA; CYGAN; WISNIEWSKA-BECKER, 2020), com aumento da fluidez e induzindo, por algum mecanismo, o vazamento de material de seu interior (LEITE et al., 2018).

Em um trabalho recente, Duda e colaboradores (2020) estudaram a ação da curcumina em membranas de lipossomas por ressonância paramagnética eletrônica (EPR *Spin-label*) e observaram alterações no ordenamento das caudas dos fosfolipídios. Os autores propõem que as moléculas de curcumina agem sobre o núcleo hidrofóbico da bicamada, assumindo uma orientação transmembrânica através da associação de duas moléculas no interior da estrutura lipídica. Estes resultados sugerem uma interação, e também um efeito, essencialmente equivalentes aos produzidos pelo colesterol sobre a membrana. Entretanto, o perfil de polaridade medido por eles revela que a curcumina propicia o aumento na penetração de moléculas de água no centro da bicamada, efeito radicalmente oposto ao verificado para o colesterol.

Estudando o efeito da curcumina em vesículas compostas por POPC, Leite e colaboradores (2018) relatam que ela apresenta atividade membranolítica, induzindo o extravasamento do conteúdo das vesículas. A curcumina particiona na região hidrofóbica da bicamada e por algum processo perturba a estrutura da membrana, possivelmente resultando em perda do material interno da vesícula. Por outro lado, a ação do colesterol resulta em aumento na espessura da bicamada, e também da fase hidrofóbica. Estes dados sugerem que, apesar de ambas as moléculas agirem sobre o núcleo hidrofóbico, a dinâmica de interação do colesterol e da curcumina com a membrana devem ser diferentes.

Simulações computacionais de modelos de membranas biológicas possibilitam estudar a dinâmica de interação entre os lipídios e avaliar mecanismos de ação de moléculas sobre a membrana (TIELEMAN; MARRINK; BERENDSEN, 1997). As bicamadas fosfolipídicas são sistemas modelo construídos de forma a mimetizar as principais características de membranas

biológicas (MARRINK; DE VRIES; TIELEMAN, 2009; POGER; CARON; MARK, 2016). Aliando experimentos em vesículas multilamelares por difração de raios-X a simulações de bicamadas por dinâmica molecular, Alsop e colaboradores (2017) estudaram o efeito da hidratação do sistema sobre a ação da curcumina. Em baixo nível de hidratação (~7 moléculas de água por molécula de lipídio) a curcumina se estabiliza na região hidratada da bicamada, enquanto que em membranas fluidas (~27 moléculas de água por lipídio) sua ação ocorre em regiões mais internas à vesícula/bicamada. Obtendo boa correspondência entre os resultados das abordagens experimental e computacional, e somando-os ao cálculo do perfil de energia livre para a curcumina a partir do potencial de força média (PMF), os autores sugerem que a curcumina apresenta dois estados principais de localização em membranas: um estado metaestável na região das cabeças polares, e um segundo estado na região apolar das caudas – embora suas simulações por dinâmica molecular no equilíbrio (livre), com uma ou duas moléculas de curcumina, não explorem este segundo estado. Os resultados experimentais indicam que o segundo estado é mais favorável no sistema hidratado e o perfil de energia revela mínimos locais na região apolar a 9 Å do centro da bicamada. Os autores propõem então que a interação em dois estados possibilita a unificação dos dois modelos discutidos anteriormente para a ação da curcumina em membranas: dependendo das características do meio em que o estudo é realizado, a molécula seria observada num ou noutro estado.

Em síntese, o mecanismo de ação da curcumina é, portanto, dependente de sua localização na membrana, e esta, por sua vez, é dependente de sua concentração de moléculas no sistema e das propriedades da membrana. Apesar de ser o principal foco de estudos pela abordagem computacional, a interação da curcumina, ou de outros polifenóis, normalmente é avaliada pela ligação de uma única molécula à bicamada (KOPEĆ; TELENIUS; KHANDELIA, 2013; LYU et al., 2018). Além disso, a curcumina apresenta baixa solubilidade em meio aquoso, fruto da presença de diferentes grupos hidrofóbicos, o que leva à formação de agregados cuja dinâmica de ação sobre a membrana pode ocorrer de forma diferente da observada para uma única molécula (HAZRA; ROY; BAGCHI, 2014; KOTENKOV et al., 2019).

## 6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho avaliou-se a interação entre uma bicamada de POPC e diversas quantidades de moléculas de curcumina (razão curcumina/lipídio), por meio de simulações por dinâmica molecular, usando dois protocolos: (1) as moléculas de curcumina (1, 2, 4, 8 ou 16) foram introduzidas aleatória e simultaneamente dispersas na fase aquosa da caixa de simulação e (2) pela inserção progressiva e gradual de 1 até 32 moléculas de curcumina, inseridas individualmente a cada 100 ns, evitando a prévia agregação das moléculas na água. Os resultados mostram que, em ambos os conjuntos de simulações, as moléculas de curcumina sempre adsorvem na bicamada. Em sistemas com poucas moléculas, elas se estabilizam na região das carbonilas, em orientação aproximadamente paralela à superfície da bicamada, em concordância com dados disponíveis na literatura e reproduzindo um modelo de interação do tipo carpete. Quando a concentração de moléculas de curcumina cresce e elas são inseridas simultaneamente na fase aquosa, a curcumina se agrega ainda na fase aquosa e internaliza a bicamada como um *cluster*, avançando sobre o núcleo hidrofóbico. Dependendo do tamanho do *cluster*, a interação com os lipídios resulta na dispersão das moléculas pelas duas monocamadas e sua consequente desestruturação. *Clusters* grandes (~16 moléculas) têm a característica de estabelecerem, ao menos de forma transiente, estruturas transmembrânicas que unem as duas monocamadas.

Os experimentos com inserção progressiva de moléculas de curcumina confirmam os resultados de localização e orientação obtidos no primeiro conjunto de simulações. No caso em que as moléculas de curcumina podem adsorver à bicamada por qualquer uma das monocamadas, ao menos até 16 moléculas de curcumina, não se observa a formação de agregados grandes e, conseqüentemente, da estrutura transmembrânica, apresentando no período de equilíbrio de ambas as simulações, distribuição compatível com a obtida na simulação equivalente em que as moléculas adsorveram como um *cluster*. Continuando a aumentar progressivamente o número de moléculas de curcumina, observa-se que mesmo a adsorção por ambas as monocamadas conduz à uma distribuição que resulta no crescimento dos *clusters* e à formação da estrutura transmembrânica e, considerando a saturação das monocamadas, estes tendem a ser permanentes ou de duração muito longa. Quando se impõe

que a adsorção da curcumina se dê por uma única monocamada, no entanto, é observada a formação de agregados grandes, já a partir da 13<sup>a</sup> ou 14<sup>a</sup> molécula inserida, que avançam sobre o núcleo hidrofóbico, estabelecendo a estrutura transmembrânica.

No intervalo de existência das estruturas transmembrânicas, as moléculas de curcumina que avançam sobre o núcleo hidrofóbico, se orientando de forma, aproximadamente, perpendicular à superfície da bicamada, enquanto a maior parte daquelas na região das carbonilas ainda se orientam paralelamente. Outros resultados que emergem dos dados discutidos são os efeitos da concentração da curcumina sobre as características estruturais da bicamada. Observa-se uma variação modesta da espessura média da bicamada quando essa é calculada sobre toda a bicamada (flutuações de  $\pm 2 \text{ \AA}$ ), em relação ao valor obtido numa bicamada POPC pura. Entretanto, verifica-se um considerável afinamento local (maior que  $9 \text{ \AA}$ ) quando a estrutura transmembrânica se estabelece.

O parâmetro de ordem avalia a estruturação das caudas dos fosfolipídios, sendo sua modificação associada a alterações na fluidez da bicamada: comparando com a bicamada pura, na fase de equilíbrio (4500 a 6000 ns na simulação 16Curc, e nos 1900 ns da extensão P16), observa-se um aumento no ordenamento do início da cadeia (até o sexto carbono; região em que a curcumina se localiza) e uma diminuição do ordenamento no final da cadeia. Em linha com experimentos que indicam a presença de água no núcleo hidrofóbico de bicamadas contendo curcumina (DUDA; CYGAN; WISNIEWSKA-BECKER, 2020), os resultados aqui apresentados evidenciam um crescimento do número de eventos de permeação de moléculas de água e, conseqüentemente, do coeficiente de permeabilidade da bicamada, com o aumento do número de moléculas de curcumina. Este crescimento é ainda mais significativo quando a estrutura transmembrânica é formada, podendo ser estabelecidos poros transientes em função da perturbação decorrente da ação da curcumina, e possivelmente consistindo na fonte da atividade membranolítica reportada para curcumina na literatura (LEITE et al., 2018). A redução do parâmetro de ordem e o aumento da permeabilidade da bicamada indicam que perturbação causada pela curcumina aumenta a fluidez da estrutura lipídica, efeito também sugerido por experimentos em vesículas (KOTENKOV et al., 2019; LEITE et al., 2018; ALSOP; DHALIWAL; RHEINSTÄDTER, 2017)

De forma resumida, pode-se afirmar que o processo de agregação das moléculas de curcumina, portanto, ocorre tanto na fase aquosa, quanto no interior da bicamada (em

elevadas concentrações). Considerando que numa vesícula a adsorção se dá pela interface externa, a formação da estrutura transmembrânica pode ocorrer se houver a prévia agregação das moléculas de curcumina no meio aquoso, mas caso os *clusters* adsorvidos não tenham tamanho suficiente para se enterrarem no núcleo hidrofóbico, eles podem contribuir para a saturação da interface externa da membrana, e induzir o processo de agregação e posterior formação da estrutura. Em qualquer dos casos, moléculas de curcumina começarão a ser depositadas na monocamada interna, e se a estrutura transmembrânica perder moléculas o suficiente, será desfeita, resultando numa membrana com curcumina dispersa pela região do glicerol em ambas as monocamadas. Num sistema real, o número de moléculas de curcumina não é limitado como nas simulações, e o processo de interação da curcumina com a membrana se dá de forma dinâmica, com novas moléculas sendo continuamente adsorvidas da solução. Se, no entanto, ocorrer a saturação também da monocamada interior, o processo é invertido e as moléculas de curcumina na bicamada tendem a se agregar, alimentando a estrutura transmembrânica e estabelecendo um microdomínio, que neste caso pode ser estável por longos períodos, com potencial para comprometer a integridade estrutural da membrana. Este provavelmente é o mecanismo pelo qual a interação da curcumina com membranas de vesículas produz resultados que a localizam tanto dispersa pela bicamada quanto no centro da estrutura lipídica, com a formação do microdomínio potencialmente associado à toxicidade da curcumina em altas concentrações (BURGOS-MORÓN, 2010). Os efeitos da curcumina sobre a bicamada serem dependentes de sua concentração é uma relação já estabelecida na literatura, mas o mecanismo pelo qual ocorre ainda não havia sido elucidado, nem o motivo de alguns autores postularem a ligação da curcumina como sendo dispersa pela bicamada, enquanto outros propõem o enterramento, inclusive com a formação de estrutura transmembrânica, apesar do consenso de que ela age no interior da bicamada/membrana.

## REFERÊNCIAS

ABRAHAM, M. J. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1–2, p. 19–25, 1 set. 2015.

ALLEN, W. J.; LEMKUL, J. A.; BEVAN, D. R. GridMAT-MD: a grid-based membrane analysis tool for use with molecular dynamics. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 12, p. 1952–1958, set. 2009.

ALSOP, R. J.; DHALIWAL, A.; RHEINSTÄDTER, M. C. Curcumin Protects Membranes through a Carpet or Insertion Model Depending on Hydration. **Langmuir**, v. 33, n. 34, p. 8516–8524, 29 ago. 2017.

ANAND, P. et al. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. **Cancer Letters**, v. 267, n. 1, p. 133–164, 18 ago. 2008.

AWOONOR-WILLIAMS, E.; ROWLEY, C. N. Molecular simulation of nonfacilitated membrane permeation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, New approaches for bridging computation and experiment on membrane proteins. v. 1858, n. 7, Part B, p. 1672–1687, 1 jul. 2016.

BARRY, J. et al. Determining the Effects of Lipophilic Drugs on Membrane Structure by Solid-State NMR Spectroscopy: The Case of the Antioxidant Curcumin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 12, p. 4490–4498, 1 abr. 2009.

BEEMAN, D. Some multistep methods for use in molecular dynamics calculations. **Journal of Computational Physics** 20(2):130-139, 1976.

BERENDSEN, H. J. C. et al. Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. Em: PULLMAN, B. (Ed.). **Intermolecular Forces: Proceedings of the Fourteenth Jerusalem Symposium on Quantum Chemistry and Biochemistry Held in Jerusalem, Israel, April 13–16, 1981**. The Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry. Dordrecht: Springer Netherlands, 1981. p. 331–342.

BERENDSEN, H. J. C., J. P. M. POSTAM, A. DINOLA, E J. R HAAK. Molecular dynamics with coupling to an external bath. **J. Chem. Phys.**, 81:3684-3690, 1984.

BERENDSEN, H. J. C.; VAN DER SPOEL, D.; VAN DRUNEN, R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. **Computer Physics Communications**, v. 91, n. 1, p. 43–56, 2 set. 1995.

BERGER, O.; EDHOLM, O.; JÄHNIG, F. Molecular dynamics simulations of a fluid bilayer of dipalmitoylphosphatidylcholine at full hydration, constant pressure, and constant temperature. **Biophysical Journal**, v. 72, n. 5, p. 2002–2013, maio 1997.

BROOKS, B. R., R. E. BRUCCOLERI, B. D. OLAFSON, D. J. STATES, S. SWAMINATHAN E M. KARPLUS. A program for macromolecular energy minimization and calculations. **J. Comp. Chem.** 4:187-217, 1983.

BROOKS, B. R., C. L. BROOKS 3RD, A. D. MACKRELL JR, L. NILSSON, R. J. PETRELLA, B. ROUX, Y. WON, G. ARCHONTIS, C. BARTELS, S. BORESCH, A. CAFLISH, L. CAVES, Q. CUI, A. R. DINNER, M. FEIG, J. GAO, M. HODOSCEK, W. IM, K. KUCZERA, T. LAZARIDIS, J. MA, V. OVCHINNIKOV, E. PACI, R. W. PASTOR, C. B. POST, J. Z. PU, M. SCHAEFER, B. TIDOR, R. M. VENERABLE, H. L. WOODCOCK, X. WU, W. YANG, D. M. YORK E M. KARPLUS. **CHARMM: the biomolecular simulation program.** *J. Comput. Chem.* 30:1545-1614, 2009.

BURGOS-MORÓN, E. et al. The dark side of curcumin. **International Journal of Cancer**, v. 126, n. 7, p. 1771–1775, 2010.

BUSSI, G., D. DONADIO, E M. PARRINELLO. Canonical sampling through velocity rescaling. **J. Chem. Phys.** 126:14- 101, 2007.

CAMILO, C. R. DE S. [UNESP. **Estudo por dinâmica molecular da ação do colesterol sobre o acoplamento entre as faces de bicamadas fosfolipídicas.** Dissertação (Mestrado em Biofísica Molecular) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), 138p., 28 abr. 2017.

CAMILO, C. R. DE S.; RUGGIERO, J. R.; DE ARAUJO, A. S. A Method for Detection of Water Permeation Events in Molecular Dynamics Simulations of Lipid Bilayers. **Brazilian Journal of Physics**, v. 52, n. 3, p. 62, 24 fev. 2022.

CAPPONI, S. et al. Interleaflet mixing and coupling in liquid-disordered phospholipid bilayers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1858, n. 2, p. 354–362, 1 fev. 2016.

CASE, D. A., V. BABIN, J. T. BERRYMAN, R. M. BETZ, Q. CAI, D. S. CERUTTI, T. E. CHEATHAM III, T. A. DARDEN, R. E. DUKE, H. GOHLKE, A. W. GOETZ, S. GUSAROV, N. HOMEYER, P. JANOWSKI, J. KAUS, I. KOLOSSVÁRY, A. KOVALENKO, T. S. LEE, S. LEGRAND, T. LUCHKO, R. LUO, B. MADEJ, K. M. MERZ, F. PAESANI, D. R. ROE, A. ROITBERG, C. SAGUI, R. SALOMON-FERRER, G. SEABRA, C. L. SIMMERLING, W. SMITH, J. SWAILS, R. C. WALKER, J. WANG, R. M. WOLF, X. WU, E P. A. KOLLMAN. **AMBER 14.** San Francisco: University of California, 2014.

DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An  $N \cdot \log(N)$  method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 15 jun. 1993.

DO CANTO, A. M. T. M. et al. Molecular dynamics simulations of T-20 HIV fusion inhibitor interacting with model membranes. **Biophysical Chemistry**, v. 159, n. 2, p. 275–286, 1 dez. 2011.

DUDA, M.; CYGAN, K.; WISNIEWSKA-BECKER, A. Effects of Curcumin on Lipid Membranes: an EPR Spin-label Study. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 78, n. 2, p. 139–147, 1 jun. 2020.

ERLEJMAN, A. G. et al. The Interaction of Flavonoids with Membranes: Potential Determinant of Flavonoid Antioxidant Effects. **Free Radical Research**, v. 38, n. 12, p. 1311–1320, 1 dez. 2004.

ESSMANN, U. et al. A smooth particle mesh Ewald method. **The Journal of Chemical Physics**, v. 103, n. 19, p. 8577–8593, 15 nov. 1995.

GUIXÀ-GONZÁLEZ, R. et al. MEMBPLUGIN: studying membrane complexity in VMD. **Bioinformatics**, v. 30, n. 10, p. 1478–1480, 15 maio 2014.

HAMAGUCHI, T.; ONO, K.; YAMADA, M. REVIEW: Curcumin and Alzheimer's Disease. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 16, n. 5, p. 285–297, 3 set. 2010.

HAZRA, M. K.; ROY, S.; BAGCHI, B. Hydrophobic hydration driven self-assembly of curcumin in water: similarities to nucleation and growth under large metastability, and an analysis of water dynamics at heterogeneous surfaces. **The Journal of Chemical Physics**, v. 141, n. 18, p. 18C501, 14 nov. 2014.

HESS, B. et al. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 1463–1472, 1997.

HOOVER, W. G. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. **Physical Review A**, v. 31, n. 3, p. 1695–1697, 1 mar. 1985.

HOCKNEY, R. W., S. P. GOEL, E. J. EASTWOOD. Quiet high resolution computer models of a plasma. **J. Comp. Phys.** 14:148-158, 1974.

HUANG, C., K. T. WIKFELDT, T. TOKUSHIMA, D. NORDLUND, Y. HARADA, U. BERGMANN, M. NIEBUH, T. M. WEISS, Y. HORIKAWA, M. LEETMAA, M. P. LJUNGBER, O. TAKAHASHI, A. LENZ, L. OJAMAÄ, A. P. LYUBARTSEV, S. SHIN, L. G. M. PETTERSSON E A. NILSSON. The inhomogeneous structure of water at ambient conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 106(36):15214-15218, 2009.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1 fev. 1996.

HUNG, W.-C. et al. Membrane-Thinning Effect of Curcumin. **Biophysical Journal**, v. 94, n. 11, p. 4331–4338, 1 jun. 2008.

HYSLOP, P. A.; MOREL, B.; SAUERHEBER, R. D. Organization and interaction of cholesterol and phosphatidylcholine in model bilayer membranes. **Biochemistry**, v. 29, n. 4, p. 1025–1038, 30 jan. 1990.

INGOLFSSON, H. I.; KOEPPE, R. E.; ANDERSEN, O. S. Curcumin is a Modulator of Bilayer Material Properties. **Biochemistry**, v. 46, n. 36, p. 10384–10391, 1 set. 2007.

JORGENSEN, W. L. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, 15 jul. 1983.

JORGENSEN, W. L., E. J. TIRADO-RIVERS. The OPLS [optimized potentials for liquids simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and cambrin. **J. Am. Chem. Soc.** 110:1657-1666, 1988.

- KOPEĆ, W.; TELENIUS, J.; KHANDELIA, H. Molecular dynamics simulations of the interactions of medicinal plant extracts and drugs with lipid bilayer membranes. **The FEBS Journal**, v. 280, n. 12, p. 2785–2805, 2013.
- KOTENKOV, S. A. et al. Effect of Cholesterol and Curcumin on Ordering of DMPC Bilayers. **Applied Magnetic Resonance**, v. 50, n. 1, p. 511–520, 1 mar. 2019.
- KOZIARA, K. B. et al. Testing and validation of the Automated Topology Builder (ATB) version 2.0: prediction of hydration free enthalpies. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 28, n. 3, p. 221–233, mar. 2014.
- KUČERKA, N.; NIEH, M.-P.; KATSARAS, J. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1808, n. 11, p. 2761–2771, 1 nov. 2011.
- KUNWAR, A. et al. Quantitative cellular uptake, localization and cytotoxicity of curcumin in normal and tumor cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1780, n. 4, p. 673–679, 1 abr. 2008.
- LEEKUMJORN, S.; SUM, A. K. Molecular Characterization of Gel and Liquid-Crystalline Structures of Fully Hydrated POPC and POPE Bilayers. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 21, p. 6026–6033, 1 maio 2007.
- LEITE, N. B. et al. Cholesterol modulates curcumin partitioning and membrane effects. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1860, n. 11, p. 2320–2328, 1 nov. 2018.
- LYU, Y. et al. Characterization of Interactions between Curcumin and Different Types of Lipid Bilayers by Molecular Dynamics Simulation. **The Journal of Physical Chemistry. B**, v. 122, n. 8, p. 2341–2354, 01 2018.
- MACDERMAID, C. M. et al. Molecular dynamics simulations of cholesterol-rich membranes using a coarse-grained force field for cyclic alkanes. **The Journal of Chemical Physics**, v. 143, n. 24, p. 243144, 10 dez. 2015.
- MAHESHWARI, R. K. et al. Multiple biological activities of curcumin: A short review. **Life Sciences, NATURECEUTICALS (NATURAL PRODUCTS), NUTRACEUTICALS, HERBAL BOTANICALS, AND PSYCHOACTIVES: DRUG DISCOVERY AND DRUG-DRUG INTERACTIONS**. v. 78, n. 18, p. 2081–2087, 27 mar. 2006.
- MALDE, A. K. et al. An Automated Force Field Topology Builder (ATB) and Repository: Version 1.0. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 12, p. 4026–4037, 13 dez. 2011.
- MARRINK, S. J.; DE VRIES, A. H.; TIELEMAN, D. P. Lipids on the move: Simulations of membrane pores, domains, stalks and curves. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, Lipid Interactions, Domain Formation, and Lateral Structure of Membranes**. v. 1788, n. 1, p. 149–168, 1 jan. 2009.
- MARTÍNEZ, L. **Introdução à simulação por Dinâmica Molecular e aplicações**. Petrópolis: LNCC - V Escola de Modelagem Molecular em Sistemas Biológicos, 2010.

- MIYAMOTO, S.; KOLLMAN, P. A. Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. **Journal of Computational Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 952–962, 1992.
- MOLUGU, T. R.; BROWN, M. F. Cholesterol-Induced Suppression of Membrane Elastic Fluctuations at the Atomistic Level. **Chemistry and physics of lipids**, v. 199, p. 39–51, set. 2016.
- NAMBA, A.M., V.B. DA SILVA, E C.H.T.P. DA DILVA. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Quím.** 33(4):13-24, 2008.
- NELSON, K. M. et al. The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 5, p. 1620–1637, 09 2017.
- NOSÉ, S. A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. **Molecular Physics**, v. 52, p. 255–268, 1984.
- NOSÉ, S.; KLEIN, M. L. Constant pressure molecular dynamics for molecular systems. **Molecular Physics**, v. 50, n. 5, p. 1055–1076, 10 dez. 1983.
- OBAIDI, I. et al. Curcumin Sensitizes Kidney Cancer Cells to TRAIL-Induced Apoptosis via ROS Mediated Activation of JNK-CHOP Pathway and Upregulation of DR4. **Biology**, v. 9, n. 5, p. 92, maio 2020.
- OLIVEIRA, M. C.; YUSUPOV, M.; BOGAERTS, A.; CORDEIRO, R. M. Lipid Oxidation: Role of Membrane Phase-Separated Domains. **J Chem Inf Model** 61:2857–2868, 2021.
- 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**, v. 25, n. 13, p. 1656–1676, out. 2004.
- ORSI, M.; ESSEX, J. W. The ELBA Force Field for Coarse-Grain Modeling of Lipid Membranes. **PLOS ONE**, v. 6, n. 12, p. e28637, 16 dez. 2011.
- PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics**, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, 1 dez. 1981.
- PASCUTTI, P. G. Princípios da Simulação por Dinâmica Molecular. Em: **Métodos Computacionais no Estudo de Macromoléculas Biológicas**. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2019, p.15-35.
- PHILLIPS, J. C. et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1781–1802, dez. 2005.
- PIGGOT, T. J.; PIÑEIRO, Á.; KHALID, S. Molecular Dynamics Simulations of Phosphatidylcholine Membranes: A Comparative Force Field Study. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 11, p. 4593–4609, 13 nov. 2012.
- POGER, D.; CARON, B.; MARK, A. E. Validating lipid force fields against experimental data: Progress, challenges and perspectives. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -**

- Biomembranes**, New approaches for bridging computation and experiment on membrane proteins. v. 1858, n. 7, Part B, p. 1556–1565, 1 jul. 2016.
- PORASSO, R. D.; LÓPEZ CASCALES, J. J. A criterion to identify the equilibration time in lipid bilayer simulations. **Papers in Physics**, v. 4, n. 040005, out. 2012.
- RAND, R. P.; PARSEGIAN, V. A. Hydration forces between phospholipid bilayers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes**, v. 988, n. 3, p. 351–376, 6 dez. 1989.
- RAVINDRAN, J.; PRASAD, S.; AGGARWAL, B. B. Curcumin and Cancer Cells: How Many Ways Can Curry Kill Tumor Cells Selectively? **The AAPS Journal**, v. 11, n. 3, p. 495–510, 10 jul. 2009.
- REIS, A. et al. Interaction of polyphenols with model membranes: Putative implications to mouthfeel perception. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1862, n. 2, p. 183133, 1 fev. 2020.
- SAPAY, N.; TIELEMAN, D. P. Chapter 4 Molecular Dynamics Simulation of Lipid–Protein Interactions. Em: FELLER, S. E. (Ed.). **Current Topics in Membranes**. Computational Modeling of Membrane Bilayers. [s.l.] Academic Press, 2008. v. 60p. 111–130.
- SEELIG, J.; WAESPE-SARCEVIC, N. Molecular order in cis and trans unsaturated phospholipid bilayers. **Biochemistry** v. 17, p. 3310-3315, 1978.
- SHINODA, W.; OKAZAKI, S. A Voronoi analysis of lipid area fluctuation in a bilayer. **J. Chem. Phys.** v. 109, p. 1517-1521, jul. 1998.
- SMABY, J. M. et al. Phosphatidylcholine acyl unsaturation modulates the decrease in interfacial elasticity induced by cholesterol. **Biophysical Journal**, v. 73, n. 3, p. 1492–1505, set. 1997.
- STAROK, M. et al. EGFR Inhibition by Curcumin in Cancer Cells: A Dual Mode of Action. **Biomacromolecules**, v. 16, n. 5, p. 1634–1642, 11 maio 2015.
- SWOPE, W.C., H. C.ANDERSEN, P. H. BERENS, E K. R WILSON. A computer-simulation method for the calculation of equilibrium-constants for the formations of physical clusters of molecules: applications to small water clusters. **J. Chem. Phys.** 76:637-649, 1982.
- TEIXEIRA, S. et al. Structure–property studies on the antioxidant activity of flavonoids present in diet. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, n. 8, p. 1099–1108, 15 out. 2005.
- THAPA, A. et al. Membrane-Mediated Neuroprotection by Curcumin from Amyloid- $\beta$ -Peptide-Induced Toxicity. **Langmuir**, v. 29, n. 37, p. 11713–11723, 17 set. 2013.
- TIELEMAN, D. P.; BERENDSEN, H. J. A molecular dynamics study of the pores formed by Escherichia coli OmpF porin in a fully hydrated palmitoyloleoylphosphatidylcholine bilayer. **Biophysical Journal**, v. 74, n. 6, p. 2786–2801, jun. 1998.
- TIELEMAN, D. P.; MARRINK, S. J.; BERENDSEN, H. J. A computer perspective of membranes: molecular dynamics studies of lipid bilayer systems. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1331, n. 3, p. 235–270, 21 nov. 1997.

- TIRONI, I. G., R. SPERB, P. E. SMITH E W. F. VAN GUNSTEREN. A generalized reaction field method for molecular dynamics simulation. **J. Chem. Phys.** v. 102, p. 5451-5459, 1995.
- VAN GUNSTEREN, W. F., E H. J. C. BERENDSEN. **Gromos-87 manual**. Biomos BV Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands, 1987.
- VAN DER SPOEL, D., E. LINDAHL, B. HESS, A. R. VAN BURREN, E. APOL, P. J. MEULENHOF, D. P. TIELEMAN, A. L. T. SIJBERS, K. A. FEENSTRA, R. VAN DRUNEN, E H. J. C. BERENDSEN. **GROMACS user manual: Version 4.5.4**. Uppsala, Sweden: Uppsala University, 2010.
- VAN GUNSTEREN, W. F., S. R. BILLETER, A. A. EISING, P. H. HÜNENBERGER, P. KRÜGER, A. E. MARK, W. R. P. SCOTT, E I. G. TIRONI. Biomolecular Simulations: the **GROMOS96 manual and user guide**. Zürich, Switzerland: Hochschulverlag AG an der ETH Zürich, 1996.
- VENABLE, R. M.; KRÄMER, A.; PASTOR, R. W. Molecular Dynamics Simulations of Membrane Permeability. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 9, p. 5954–5997, 8 maio 2019.
- YANG, J.; MARTÍ, J.; CALERO, C. Pair interactions among ternary DPPC/POPC/cholesterol mixtures in liquid-ordered and liquid-disordered phases. **Soft Matter**, v. 12, n. 20, p. 4557–4561, 18 maio 2016.
- YUN, D. G.; LEE, D. G. Antibacterial activity of curcumin via apoptosis-like response in *Escherichia coli*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 12, p. 5505–5514, 1 jun. 2016.
- ZHAO, W. et al. Atomic-scale structure and electrostatics of anionic palmitoyloleoylphosphatidylglycerol lipid bilayers with Na<sup>+</sup> counterions. **Biophysical Journal**, v. 92, n. 4, p. 1114–1124, 15 fev. 2007.
- ZIELKIEWICZ, J. Structural properties of water: comparison of the SPC, SPCE, TIP4P and TIP5P models of water. **J. Phys. Chem.** 123:104501, 2005.