

**Luis Paulo Mezzina Freitas**

**Estudo Computacional de estrutura atômica e eletrônica  
em proteínas eletroativas de bactérias do gênero  
*Geobacter***

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química de Araraquara, da Universidade  
Estadual Paulista, como parte dos requisi-  
tos para a obtenção do título de Mestre em  
Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Troiano Feliciano

Araraquara  
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

F862e Freitas, Luis Paulo Mezzina  
Estudo computacional de estrutura atômica e eletrônica em proteínas eletroativas de bactérias do gênero *Geobacter* / Luis Paulo Mezzina Freitas. – Araraquara-SP : [s.n.], 2018  
82 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
Orientador: Gustavo Troiano Feliciano

1. Simulação por computador. 2. Funcionais de densidade. 3. Estrutura eletrônica. 4. Química quântica. 5. Dinâmica molecular. I. Título.

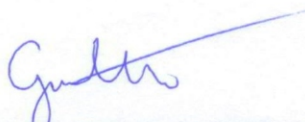
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estudo Computacional de estrutura atômica e eletrônica em proteínas eletroativas de bactérias do gênero *Geobacter*"

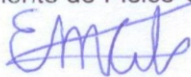
**AUTOR: LUIS PAULO MEZZINA FREITAS**

**ORIENTADOR: GUSTAVO TROIANO FELICIANO**

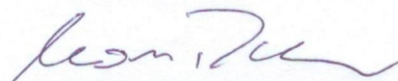
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. GUSTAVO TROIANO FELICIANO  
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. EDUARDO MAFFUD CILLI  
Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. MAURÍCIO DOMINGUES COUTINHO NETO  
Centro de Ciências Naturais e Humanas / Universidade Federal do ABC - UFABC - Santo André

Araraquara, 28 de fevereiro de 2018

## **DADOS CURRICULARES**

### **IDENTIFICAÇÃO**

Nome: Luis Paulo Mezzina Freitas

Nome em citações bibliográficas: FREITAS, L.P.M.

### **ENDEREÇO PROFISSIONAL**

Rua Prof. Francisco Degni, 55

Bairro: Quitandinha

14800-060 - Araraquara, SP

Instituto de Química - UNESP

Departamento de Físico-Química

### **FORMAÇÃO ACADÊMICA (2007-2012)**

Engenharia Mecânica, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP

### **TRABALHO APRESENTADO EM CONGRESSO**

- IV ESCOLA BRASILEIRA DE MODELAGEM MOLECULAR, realizada na Universidade Federal do ABC, no período de 7 a 11/08/2017. Apresentação de trabalho na forma de pôster: "Structural and electronic analysis of helical peptides with aromatic agglomerates".

### **OUTROS**

- Estágio docência na disciplina de Física II para o curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da UNESP-Araraquara, de março a julho de 2017.

Dedico este trabalho à memória de meu avô, Mário Mezzina.

# Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Ana Maria Mezzina Freitas e Ronaldo Freitas, por todo amor, apoio e suporte incondicional, sem os quais não seria possível chegar até aqui. Agradeço à minha irmã, Ana Luiza Mezzina Freitas, pelo carinho e incentivo em todos os momentos. Agradeço à minha avó, Maria A. C. Mezzina, pela atenção e carinho de sempre. Agradeço à minha namorada, Giovana D. G. Azevedo, por todo companheirismo, carinho, compreensão e paciência, mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço a todos os meus familiares e amigos que torceram pelas minhas conquistas.

Agradeço ao Professor Gustavo Troiano Feliciano por toda confiança depositada em mim ao oferecer esta oportunidade e pelo excelente professor e orientador que é, sempre muito participativo e empenhado em contribuir com meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

Agradeço a todos os colegas do grupo Nanobionics pelo conhecimento compartilhado nestes últimos dois anos, em especial Welder F. A. Callera e Melany I. G. Nicholson pela constante troca de ideias, experiências e opiniões.

Agradeço ao Instituto de Química de Araraquara por toda a infraestrutura, aos membros do corpo docente que contribuíram para a minha formação e aos funcionários da Universidade por toda a atenção e ajuda.

# Resumo

A pilina é um peptídeo produzido pela bactéria redutora de metais *Geobacter sulfurreducens*. Este peptídeo compõe um sistema biológico que tem atraído a atenção de pesquisadores, devido às suas propriedades condutoras interessantes. Estudos indicam que a pilina é a subunidade de uma estrutura filamentosa denominada pilus e que o conjunto desses filamentos formam uma proteína monolateral, a pili. Investigações revelaram processos de transferência eletrônica na faixa de micrômetros de comprimento, o que sugere, mais provavelmente, um regime de transporte por *hopping*. Além disso, correntes associadas à topografia referente ao filamento indicaram um comportamento ôhmico, característica associada à metais. A ausência de cofatores e citocromo tornam essas propriedades ainda mais interessantes, indicando um transporte eletrônico ao longo da própria estrutura da proteína. Este trabalho apresenta a investigação de fatores que possam contribuir para um transporte de carga tão eficiente sem a presença de citocromo. Para isso, análises foram realizadas em aglomerados aromáticos dentro da estrutura de modelos que mimetizam a pilina e de modelos propostos para o pilus. O estudo é feito utilizando, primeiramente, métodos teóricos clássicos com os pacotes de simulação AMBER e GROMACS, e em seguida cálculos híbridos QM/MM, com tratamento quântico baseado na Teoria do Funcional da Densidade, implementada no código computacional CPMD, para a obtenção da estrutura eletrônica dos grupos aromáticos. Os peptídeos miméticos apresentaram gap energético entre HOMO e LUMO consideravelmente grande em água, mas reduzido no vácuo, principalmente em aglomerados de tirosina, onde os resultados indicaram características próximas de um metal, o que sugeria presença de aglomerados aromáticos constituídos de alguns resíduos de tirosina e isolados do solvente no pilus. Entretanto, para os dois modelos de pilus estudados, estes grupos interagem com o solvente, apresentando um gap de mais de 3 eV em água e de mais de 1 eV no vácuo. O potencial eletrostático apresentou uma função moduladora sobre o gap HOMO-LUMO e a composição do aglomerado utilizado na análise apresentou grande influência no gap obtido no vácuo. A localização do HOMO e LUMO não indicou a delocalização eletrônica esperada para um processo de transferência eletrônica por tunelamento, mas ofereceu indícios para o *hopping* em razão da ocupação de diferentes resíduos de tirosina pelo mesmo elétron em água para diferentes instantes da dinâmica. No vácuo, os resíduos de lisina provocaram grande alteração no ambiente eletrostático, impactando no potencial redox dos resíduos de tirosina.

**Palavras-chave:** DFT; Pilina; QM/MM; estrutura eletrônica; aromático.

# Abstract

Pilin is a peptide produced by the metal reducing bacteria *Geobacter sulfurreducens*. This peptide is present in a biosystem that has been attracting attention due to its interesting conductive properties. Studies indicate that pilin is a subunit of a filamentous structure called pilus and the arrangement of these filaments form a unilateral protein called pili. Investigations revealed electronic transfer processes in the length range of micrometers, what suggests a hopping transport mechanism. Besides, currents associated with topography indicated an ohmic behavior along the filament, which is a metallic characteristic. The absence of cofactors and cytochrome is even more interesting because it indicates an electronic transport through the protein structure. This dissertation presents an investigation of factors that may contribute to a highly efficient charge transport without a cytochrome. Therefore, it was made an analysis in aromatic agglomerates within the structure of models that mimic pilin and within proposed models for pilus. Initially, it was used methods based on classical mechanics with the simulation packages AMBER and GROMACS, then hybrid calculations QM/MM were performed with a quantum approach based on the Density Functional Theory implemented in CPMD computer code. The mimetic peptides present a considerably high energetic gap for HOMO-LUMO in water. Nevertheless it was reduced in vacuum, mainly for groups of tyrosine where metal-like characteristics were indicated by the results, which suggested that there might be tyrosine residues isolated from water in pilus. In contradiction, the results of the models for pilus showed interactions of the aromatic groups with the solvent and the gap observed in water (more than 3 eV) remained larger than in vacuum (more than 1 eV). The electrostatic potential presented a modulating role with respect to HOMO-LUMO gap and the aromatic residues used in the analysis appear to have an influence on the gap obtained in vacuum. In addition, The delocalized electrons were not observed in HOMO and LUMO that could suggest a tunneling transport mechanism. However a variation of the tyrosine residue for HOMO occupation was observed in different moments of the dynamics suggesting a hopping mechanism. Lysine amino acids caused a change in the electrostatic environment leading to an impact on tyrosine redox potential.

**Keywords:** DFT; Pilin; QM/MM; electronic structure; aromatic.

## Lista de ilustrações

Figura 1.1 – Comparação estrutural entre as pilinas produzidas pela <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (esq.) e pela <i>Geobacter sulfurreducens</i> (dir.)(1) . . . . .	16
Figura 1.2 – Sequência de aminoácidos para a pilina PAK (10QW) e para a pilina GS (2M7G). . . . .	17
Figura 1.3 – Representação, em <i>New Cartoon</i> , de um modelo obtido por homologia(1) para fibra produzida pela espécie <i>Geobacter sulfurreducens</i> , com destaque para os resíduos aromáticos de fenilalanina (amarelo) e tirosina (vermelho) (esq.). Ampliação em uma pequena região da fibra, evidenciando os contatos entre os grupos aromáticos (dir.). . . . .	18
Figura 1.4 – Representação, em <i>New Cartoon</i> , de um modelo obtido através de parâmetros estruturais(2) para fibra produzida pela espécie <i>Geobacter sulfurreducens</i> , com destaque para os resíduos aromáticos de fenilalanina (amarelo) e tirosina (vermelho) (esq.). Ampliação em uma pequena região da fibra, evidenciando os contatos entre os grupos aromáticos, apresentando uma distância de aproximadamente 4 Å entre cada anel (dir.). . . . .	19
Figura 1.5 – Resíduos aromáticos Phe1, Phe24 e Tyr27 em diferentes subunidades organizados em uma configuração helicoidal ao longo da fibra(2). Os resíduos de fenilalanina estão representados em amarelo, enquanto que os de tirosina estão em vermelho. . . . .	19
Figura 3.1 – Métodos utilizados para os modelos miméticos e para o pilus. . . . .	22
Figura 3.2 – Peptídeos em caixa cúbica com água . . . . .	25
Figura 3.3 – Pilus, em representação <i>New Cartoon</i> , solvatado em caixa retangular . . . . .	26
Figura 3.4 – Pilus, em representação <i>New Cartoon</i> , solvatado em caixa retangular . . . . .	27
Figura 3.5 – Representação esquemática dos métodos utilizados no estudo da configuração eletrônica dos modelos miméticos . . . . .	38
Figura 3.6 – Representação da partição QM em destaque, para molécula de politirosina. <i>Dummy atom</i> de hidrogênio presente para saturar os carbonos $\gamma$ na fronteira. . . . .	39
Figura 3.7 – Representação da partição QM em destaque, para o pilus. <i>Dummy atom</i> de hidrogênio presente para saturar os carbonos $\gamma$ na fronteira. . . . .	41
Figura 4.1 – Representação dos ângulos diedros para as regiões numeradas da molécula de politirosina. . . . .	42
Figura 4.2 – Representação dos ângulos diedros para as regiões numeradas da molécula de polifenilalanina. . . . .	43

Figura 4.3 – Representação de instantes do início da dinâmica (1 ns) para os peptídeos modelo. Enquanto que a politirosina mantém a estrutura helicoidal, fica evidente a descaracterização completa da estrutura em hélice na polifenilalanina. . . . .	44
Figura 4.4 – Representação sequencial da evolução da hélice de politirosina. Retratos correspondentes a (da esquerda para a direita): Primeiro instante da dinâmica molecular, 5 ns de evolução e 10 ns de evolução (final da dinâmica). . . . .	44
Figura 4.5 – Representação sequencial da evolução da hélice de polifenilalanina. Retratos correspondentes a (da esquerda para a direita): Primeiro instante da dinâmica molecular, 5 ns de evolução e 10 ns de evolução (final da dinâmica). . . . .	45
Figura 4.6 – Variação da distância entre os centros de massa (a) e o cosseno do ângulo entre os planos formados pelos anéis (b) dos resíduos 7 e 10 da cadeia lateral da polifenilalanina. . . . .	46
Figura 4.7 – Variação da distância entre os centros de massa (a) e o cosseno do ângulo entre os planos formados pelos anéis (b) dos resíduos 7 e 11 da cadeia lateral da politirosina. . . . .	46
Figura 4.8 – Representação da partição QM definida a partir dos contatos entre os anéis para os sistemas (i) e (ii). . . . .	47
Figura 4.9 – Representação da partição QM definida a partir dos contatos entre os anéis para os sistemas (iii) e (iv). . . . .	48
Figura 4.10 – Densidade de estados eletrônicos em um dos frames da politirosina com estrutura helicoidal fixa. A abertura do gap é claramente observada na presença de água. . . . .	48
Figura 4.11 – Mapa de diferença de potencial, em Volts, da hélice de tirosina no Frame 3914, representando a diferença de potencial para o sistema, em cada ponto da malha, na ausência e presença de água. . . . .	49
Figura 4.12 – Densidade de estados eletrônicos em um dos frames da polifenilalanina com estrutura helicoidal fixa. A abertura do gap é observada na presença de água, embora menos pronunciada quando comparada à politirosina. . . . .	50
Figura 4.13 – Mapa de diferença de potencial, em Volts, da hélice de fenilalanina no Frame 5362, representando a diferença de potencial para o sistema, em cada ponto da malha, na ausência e presença de água. . . . .	51
Figura 4.14 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de tirosina. . . . .	51
Figura 4.15 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de fenilalanina. . . . .	52
Figura 4.16 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de tirosina. Resultados para os peptídeo sem estrutura helicoidal fixa. . . . .	53

Figura 4.17–Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de fenilalanina. Resultados para os peptídeo sem estrutura helicoidal fixa. . . . .	53
Figura 4.18–Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular do peptídeo de politirosina com estrutura helicoidal fixa. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO. . . . .	54
Figura 4.19–Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular do peptídeo de politirosina sem estrutura helicoidal fixa. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO. . . . .	55
Figura 4.20–Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular do peptídeo de polifenilalanina com estrutura helicoidal fixa. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO. . . . .	56
Figura 4.21–Distâncias entre átomos de hidrogênio e oxigênio presentes em uma das hélices do pilus (II). . . . .	57
Figura 4.22–Distribuição radial no <i>backbone</i> de átomos de oxigênio do com relação aos átomos de hidrogênio. . . . .	58
Figura 4.23–Distribuição radial entre resíduos aromáticos de interesse nos modelos de pilus. . . . .	59
Figura 4.24–Organização dos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 no início e após 75 ns de dinâmica molecular. . . . .	60
Figura 4.25–Representação da partição QM em um frame do Pilus (I). Resíduos selecionados com base nos contatos entre os átomos de anéis vizinhos. Distâncias verificadas de aproximadamente 4Å. . . . .	61
Figura 4.26–Representação da partição QM em um frame do Pilus (II). Resíduos selecionados com base nos contatos entre os átomos de anéis vizinhos. Distâncias verificadas de aproximadamente 4Å. . . . .	61
Figura 4.27–Representação dos resíduos carregados próximos aos grupos aromáticos em ambos os modelos de pilus. Destaque em amarelo para a cadeia lateral dos resíduos de tirosina e fenilalanina, em vermelho para os resíduos de caráter ácido e em azul para os resíduos de caráter básico. . . . .	62
Figura 4.28–Densidade de estados eletrônicos no frame do Pilus (I) correspondente ao instante inicial da dinâmica molecular. . . . .	63
Figura 4.29–Localização do HOMO e LUMO nos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 do pilus (I) no instante inicial da dinâmica. . . . .	64
Figura 4.30–Vazamento de carga devido à presença do resíduo Lys30 no LUMO obtido para o Pilus (I) no vácuo, no instante inicial da dinâmica. . . . .	64
Figura 4.31–Mapa da diferença de potencial em Volts obtido para o sistema no vácuo e em água, na estrutura do Pilus (I) do início da dinâmica. . . . .	65

Figura 4.32–Densidade de estados eletrônicos para o aglomerado aromático isolado da proteína. Coordenadas retiradas da partição QM do pilus (I) em sua estrutura correspondente ao início da dinâmica. . . . .	66
Figura 4.33–Localização do HOMO e LUMO no aglomerado, que corresponde à partição QM selecionada no Pilus (I), isolado da fibra. . . . .	66
Figura 4.34–Densidade de estados eletrônicos no Pilus (I), para o frame correspondente a 75 ns de dinâmica molecular. . . . .	67
Figura 4.35–Mapa da diferença de potencial em Volts obtido para o sistema no vácuo e em água, na estrutura do Pilus (I) após 75 ns de dinâmica molecular. . . .	67
Figura 4.36–Localização do HOMO e LUMO nos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 do pilus (I) após 75 ns de dinâmica. . . . .	68
Figura 4.37–Polarização devido às presenças do resíduo Lys30 e do terminal amina no LUMO obtido para o Pilus (I) no vácuo, na configuração após 75 ns de dinâmica. . . . .	68
Figura 4.38–Densidade de estados eletrônicos para os frames 40 e 50 ns do Pilus (II).	69
Figura 4.39–Localização do HOMO e LUMO nos aglomerados que formam as partições QM do pilus (II) em 40 e 50 ns. Destaque para a polarização no frame de 50 ns na ausência de água. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO. . . . .	70
Figura 4.40–Mapa da diferença de potencial em Volts obtido para o sistema no vácuo e em água, na estrutura do Pilus (II) para os retratos correspondentes a 40 e 50 ns de dinâmica molecular. . . . .	71
Figura 4.41–Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do modelo de pilus (I).	72
Figura 4.42–Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do modelo de pilus (I).	72
Figura 4.43–Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular para o pilus (I). Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO. . . . .	73
Figura 4.44–Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular para o pilus (II). À esquerda, estão representados de aglomerados com apenas 2 resíduos de tirosina. À direita, estão representados aglomerados com 4 resíduos de tirosina. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO. . . . .	74

# Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>1.1</b>	<b>Transporte Eletrônico em meios biológicos</b>	<b>14</b>
<b>1.2</b>	<b>Pilina</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Mecânica Molecular</b>	<b>22</b>
3.1.1	Mecânica Molecular para os modelos miméticos	24
3.1.2	Mecânica Molecular para o pilus	25
<b>3.2</b>	<b>Mecânica Quântica</b>	<b>27</b>
3.2.1	Aproximação de Born Oppenheimer	28
3.2.2	O Princípio da Antissimetria e o Método Variacional	29
3.2.3	Teoria do Funcional da Densidade	31
3.2.3.1	Funcionais de correlação e troca	34
3.2.3.2	Pseudopotenciais	35
3.2.4	Método Híbrido QM/MM	36
3.2.5	Cálculo QM/MM para os modelos miméticos	37
3.2.6	Cálculo QM/MM para o pilus	40
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>42</b>
<b>4.1</b>	<b>Modelos miméticos</b>	<b>42</b>
4.1.1	Análise estrutural dos peptídeos	42
4.1.2	Estrutura eletrônica de aglomerados aromáticos nos modelos miméticos	47
<b>4.2</b>	<b>Pilus</b>	<b>57</b>
4.2.1	Análise estrutural do pilus	57
4.2.2	Estrutura eletrônica de aglomerados aromáticos no pilus	59
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>76</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>79</b>

# 1 Introdução

A tecnologia é um conceito ligado à capacidade do ser humano de se adaptar, controlar e transformar o ambiente em que vive. Assim, a tecnologia é uma forma de aperfeiçoar as relações com o ambiente e seu desenvolvimento requer a ampliação do nosso conhecimento acerca dos fenômenos da natureza. Dentro deste desenvolvimento, podemos incluir maior eficiência de tarefas já realizadas por alguns dispositivos, aliada a um menor custo. Muitas vezes isso implica na diminuição do dispositivo utilizado para este fim. Exemplos são os microcomputadores e seus componentes (unidades de armazenamento de informação, memória, processadores, etc.), máquinas das quais inúmeras atividades são extremamente dependentes.

No estágio presente, é necessário o conhecimento e a ciência para a manipulação em escala atômica e molecular da matéria: física aplicada, ciência dos materiais, química supramolecular, mecânica quântica, ciência de dispositivos, engenharia, bioquímica, etc., que compõem o vasto e interdisciplinar campo da Nanotecnologia.

No mundo microscópico, certos fenômenos físicos se tornam muito mais pronunciados quando comparados com a escala macroscópica, evidenciando novas possibilidades que permitem criar dispositivos revolucionários. Para tanto, faz-se necessária a compreensão de mecanismos já existentes na própria natureza, que foram otimizados ao longo de milhões de anos de evolução. Como exemplo, podemos citar a ação catalítica das enzimas, observadas em condições normais de temperatura e pressão. Assim, sistemas biológicos apresentam alta eficiência na execução de suas tarefas em áreas de grande interesse para o campo tecnológico, como mecanismos de conversão de energia e geração de trabalho, mecânico ou químico.

Contudo, o perfeito funcionamento e a alta eficiência de um biosistema necessitam de um ambiente químico adequado. Por isso, a reprodução correta deste ambiente pode conduzir ao desenvolvimento de tecnologias de alta eficiência capazes de executar suas tarefas em condições ambientes.

No entanto, esta é uma tarefa desafiadora. Para reproduzir as condições desejadas, as interações nanoscópicas entre os átomos de um sistema biomolecular devem ser compreendidas, o que implica em uma análise de inúmeros graus de liberdade.

A dificuldade imposta pelo número de constituintes de uma biomolécula, bem como suas inúmeras configurações possíveis, tornam complexa qualquer conclusão sobre os mecanismos de funcionamento obtida por meio de um método experimental. Somado a isso, há a complexidade da detecção da estrutura de uma macromolécula, fator de fundamental importância para determinar a função da mesma.

Toda esta complexidade e estágio de eficiência foram alcançados após anos de

evolução, portanto, entender os mecanismos destes sistemas é de fundamental importância para que se possa otimizar algumas propriedades, sem precisar esperar que o processo de seleção natural o faça.

Dentro deste contexto, a simulação computacional se apresenta como uma importante ferramenta com base na teoria, que fornece caminhos para o entendimento de mecanismos desejados, bem como a previsão de propriedades ainda não observadas. No entanto, o desenvolvimento da descrição atômica e molecular, juntamente com a evolução dos recursos computacionais são importantes para explorar a complexidade dos sistemas biológicos.

## 1.1 Transporte Eletrônico em meios biológicos

Transferência eletrônica por meio de proteínas compõe o processo central de todas as vias de transdução de energia em células vivas (3, 4). Estudos em sistemas biológicos bem caracterizados, como metaloproteínas ou peptídeos sintéticos, demonstraram que as proteínas podem conduzir elétrons por dois mecanismos distintos: tunelamento (ou superexchange) ou hopping.

O tunelamento é limitado à pequena distância (10 - 20 Å) que os elétrons podem migrar do doador ao acceptor por barreiras de energia potencial (como a matriz protéica, por exemplo). A taxa de transferência eletrônica neste processo depende da separação entre doador e acceptor, sendo máxima na distância de contato de van der Waals.

Para distâncias mais longas, as proteínas desenvolveram outras vias para condução eletrônica, na qual os elétrons residem por algum tempo em certas posições na cadeia protéica, como em grupos aromáticos ou nas ligações covalentes do esqueleto peptídico. Este processo é conhecido como *hopping* e pode ser entendido como uma série de pequenos eventos de tunelamento.

Para que o elétron possa residir em determinadas regiões da proteína, estes sítios devem apresentar potenciais redox acessíveis. Aminoácidos como a fenilalanina, tirosina e o triptofano apresentam as características necessárias para a ocorrência do fenômeno.

Todos os sistemas protéicos usados como modelos para a investigação de processos de transferência eletrônica são restritos à transferência de carga por distâncias de 1-10 nm. Contudo, comprimentos de micrômetros foram observados na proteína pili, produzida pela bactéria redutora de metais *Geobacter sulfurreducens*(5, 6, 7, 8).

## 1.2 Pilina

A pili é uma proteína monolateral formada por filamentos denominados pilus, formados através do arranjo helicoidal de um peptídeo, a subunidade pilina ou pilA(6).

Recentemente, Reguera et al(5) purificaram a pili e investigaram sua composição química e propriedades condutoras. A proteína se revelou altamente condutora, indicando características de um nanofio biológico. Além disso, as correntes mais intensas foram associadas à topografia referente ao filamento e um comportamento ohmico foi registrado, indicando características metálicas na proteína.

Mais interessante ainda foi a baixa quantidade de elementos inorgânicos (Fe, Cu) que auxiliam na catálise em sistemas biológicos e ausência de cofatores redox, como flavinas e quinonas(5, 9), observadas em espectroscopia de absorvância e fluorescência. Apesar disso, quando filamentos da pili foram depositados ao longo de eletrodos de ouro, detectou-se uma condução de elétrons ao longo de seu comprimento a mais de 1 micrômetro de distância da extremidade do ouro(5).

O grupo conseguiu medir uma resistência de 700 Mohms ao longo de um filamento de 1 micrômetro de comprimento, e taxas de transporte de cerca de 107 electrons por segundo sob um potencial de 100 mV(5). Para o diâmetro típico desta proteína de 2 a 4 nm, a resistividade medida ao longo da proteína foi 0.2-0.9 ohm.cm, a mais baixa já documentada para um fio biológico e dentro das faixas mais baixas já reportadas para nanofios de silício 5 moderadamente dopados (0.5 ohm.cm).

Além disso, culturas de *G. sulfurreducens* em óxidos de Fe(III) apresentaram elevadas taxas respiratórias, sendo observada uma grande concentração de pili em apenas um lado da célula(5), o que revela uma estratégia que maximiza a atividade redox sem limitar a taxa de transferência eletrônica. Um estudo recente(10) revela que a redução do óxido de Fe(III) está diretamente relacionada à condutividade da pili. Mais ainda, se a condutividade da proteína for afetada, então a transferência eletrônica de longo alcance também será, sendo esta mais eficiente quanto mais pronunciadas forem as propriedades condutoras observadas.

Comparada à pili PAK produzida por outra espécie, *Pseudomonas aeruginosa*, a proteína produzida pela *Geobacter sulfurreducens* apresentou condutividade cinco ordens de grandeza mais intensa(7). A pili PAK, por sua vez, mostrou ser uma proteína não condutora em estudos anteriores(5).

Testes com biofilmes formados com a pili produzida pela *G. sulfurreducens* detectaram condução por distâncias de mais de 1 cm(11), muito diferente dos resultados obtidos com outras espécies como *P. aeruginosa* e *Escherichia coli*, que apresentaram comportamento isolante. Esta condutividade significativa observada é comparável àquela observada em nanoestruturas de metais orgânicos como o poliacetileno. Outra característica da pili que remete à condução metálica é a correlação da condutividade

com a temperatura(11).

Estudos ainda mostram a redução do Urânio(6), evidenciando um mecanismo com potencial para o desenvolvimento de tecnologias de aplicação à descontaminação do solo.

Embora a transferência eletrônica observada na pilina seja notável, sabe-se pouco sobre a química do arranjo molecular e o caminho eletrônico pela molécula. Assim, identificar os aminoácidos mediando a transferência eletrônica na pili é uma tarefa desafiadora e essencial para o desenvolvimento de sistemas modelos de transporte de carga. Mutações nos aminoácidos que participam usualmente deste processo, como aminoácidos aromáticos, podem resultar em mudanças estruturais e até mesmo afetar a associação das subunidades de pilina, o que torna a modelagem molecular computacional uma ferramenta poderosa, visto que várias possibilidades de composição química e estabilidade estrutural podem ser testadas, a um custo relativamente baixo e em um curto período de tempo.

Resultados preliminares(1, 12) são consistentes com uma estrutura de pilina divergente e composição de aminoácidos que favorecem reações de transferência de elétrons. O tamanho reduzido da pilina, a ausência do domínio globular com folhas-beta e o peptídeo predominantemente helicoidal são características estruturais que apoiam estas observações.

Figura 1.1 – Comparação estrutural entre as pilinas produzidas pela *Pseudomonas aeruginosa*(esq.) e pela *Geobacter sulfurreducens*(dir.)(1)

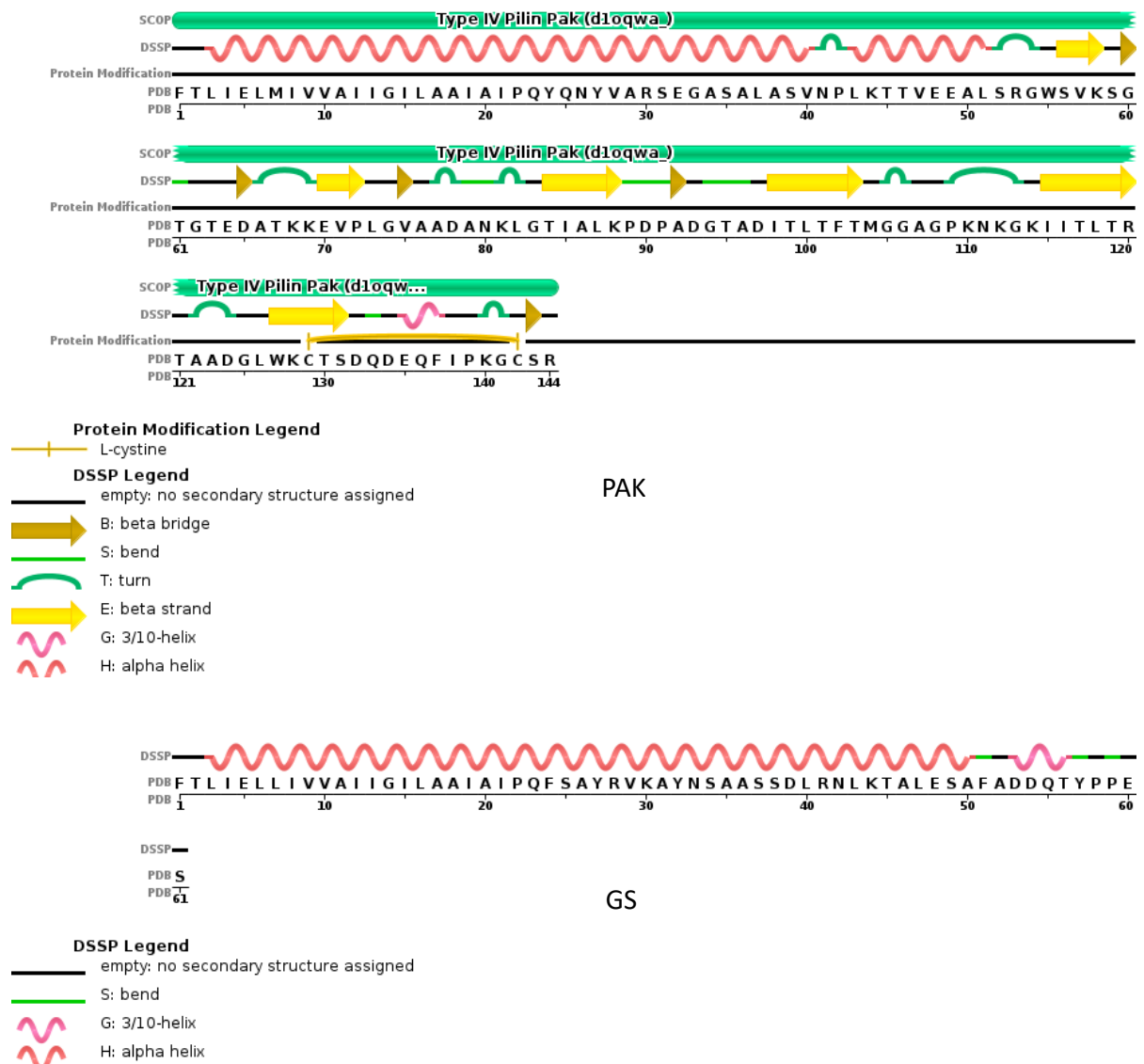


Fonte: Feliciano et al.(1), 2012

A estrutura helicoidal gera um forte campo eletrostático como consequência do ali-

nhamento dos dipolos das ligações peptídicas. Esta orientação resulta em um momento de dipolo ao longo da proteína. Espécies como a *Pseudomonas aeruginosa* apresentam estruturas semelhantes à pilA, mas com um domínio globular em uma das extremidades (Figura 1.1), o que altera o ambiente eletrostático gerado pela hélice. Logo, o momento de dipolo proveniente da hélice na pilina GS é conservado, criando um ambiente eletrostático mais favorável para o transporte de carga. A Figura 1.2 apresenta as sequências de aminoácidos para as pilinas PAK(13) e GS(14), sendo esta última obtida por NMR, evidenciando o tamanho reduzido da pilina GS sem o domínio globular com folhas beta.

Figura 1.2 – Sequência de aminoácidos para a pilina PAK (10QW) e para a pilina GS (2M7G).

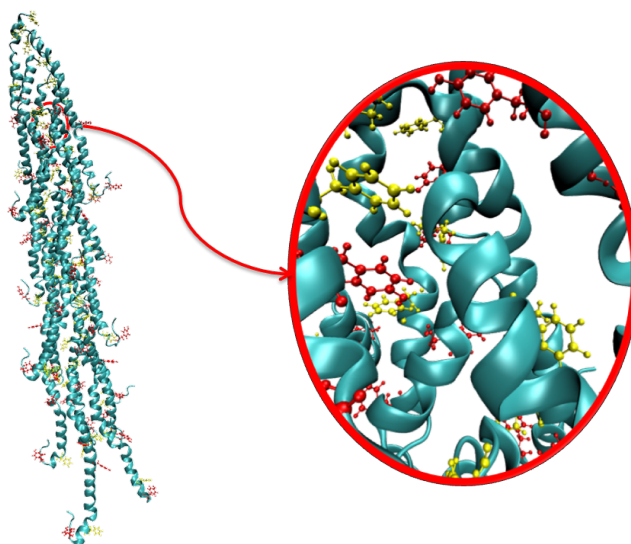


Fonte: Protein Data Bank

Ainda mais, foi demonstrada que a presença em locais estratégicos de aminoáci-

dos carregados também modificam o ambiente eletrostático, que por sua vez também modula o processo de transferência eletrônica.

Figura 1.3 – Representação, em *New Cartoon*, de um modelo obtido por homologia(1) para fibra produzida pela espécie *Geobacter sulfurreducens*, com destaque para os resíduos aromáticos de fenilalanina (amarelo) e tirosina (vermelho) (esq.). Ampliação em uma pequena região da fibra, evidenciando os contatos entre os grupos aromáticos (dir.).



Fonte: Feliciano et al.(1), 2012

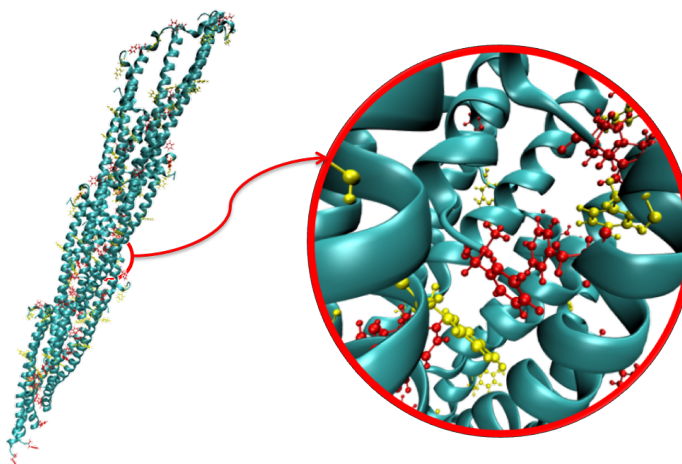
Cálculos de estrutura eletrônica para um dos modelos propostos mostraram que os estados de fronteira localizavam-se em regiões da cadeia lateral, onde os elétrons se apresentavam delocalizados. Além disso, essas regiões continham resíduos aromáticos como a tirosina, que podem favorecer o *hopping* devido ao potencial de oxidação relativamente baixo. O modelo é constituído por 18 subunidades e sua composição foi proposta por homologia com a pilina produzida pela espécie *Neisseria gonorrhoeae*. O modelo está representado na Figura 1.3.

Outra característica a favor da transferência eletrônica via *hopping* é o empilhamento dos grupos aromáticos presentes no modelo em questão.

Mais recentemente, um modelo sugerido(2) (Figura 1.4) apresenta o empilhamento de resíduos aromáticos, com distâncias de aproximadamente 4 Å entre cada anel, o que sugere uma configuração favorável ao *hopping*. Além da configuração, este modelo difere do anterior apresentando 19 subunidades, porém, em uma estrutura mais compacta.

Além disso, os resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 estão distribuídos em um arranjo periódico helicoidal ao longo de toda a fibra, como mostra a Figura 1.5, formando um caminho potencialmente condutor. Essa organização estruturada dos anéis aro-

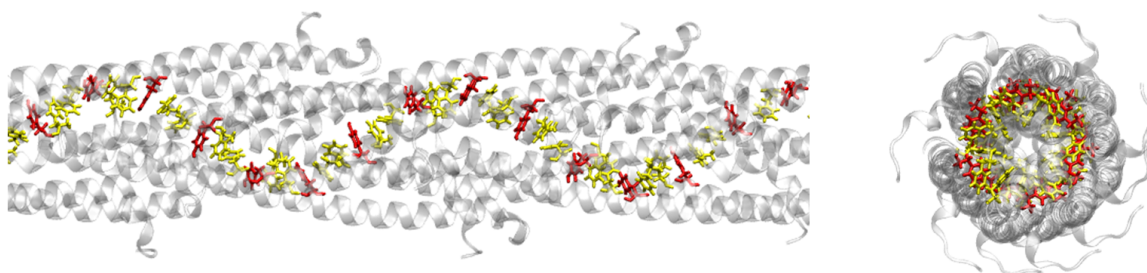
Figura 1.4 – Representação, em *New Cartoon*, de um modelo obtido através de parâmetros estruturais(2) para fibra produzida pela espécie *Geobacter sulfurreducens*, com destaque para os resíduos aromáticos de fenilalanina (amarelo) e tirosina (vermelho) (esq.). Ampliação em uma pequena região da fibra, evidenciando os contatos entre os grupos aromáticos, apresentando uma distância de aproximadamente 4 Å entre cada anel (dir.).



Fonte: Xiao et al.(2), 2016

máticos por toda a proteína foi intencional na obtenção do modelo, sendo escolhida a conformação que apresentou menor energia.

Figura 1.5 – Resíduos aromáticos Phe1, Phe24 e Tyr27 em diferentes subunidades organizados em uma configuração helicoidal ao longo da fibra(2). Os resíduos de fenilalanina estão representados em amarelo, enquanto que os de tirosina estão em vermelho.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Assim, as características citadas para este modelo indicam um possível ambiente favorável à transferência eletrônica, o que o torna interessante de ser estudado através da modelagem molecular computacional.

## 2 Objetivos

Visando entender mecanismos que tornam sistemas especializados em transferência de carga, procuramos caracterizar sistemas em meio solvente e no vácuo, a partir de suas estruturas moleculares.

A caracterização é feita, primeiramente, por meio da modelagem molecular aplicada a potenciais sistemas miméticos, construídos com base nos aminoácidos que supostamente contribuem para os mecanismos de transporte de carga na pilina, peptídeo presente na bactéria redutora de metais *Geobacter sulfurreducens*. Assim, os dois modelos propostos consistem em hélices de politirosina e polifenilalanina, uma vez que estes aminoácidos podem apresentar uma importante função no transporte por *hopping*.

A modelagem destes modelos protótipos permite analisar o efeito da composição, conformação e do solvente no ambiente eletrostático e, com isso, inferir quais os fatores que possivelmente contribuem para as propriedades condutoras da pilina.

Em seguida, pretendemos submeter modelos propostos para o pilus, citados nas Figuras 1.3 e 1.4, à modelagem molecular. A partir de técnicas de amostragem, buscamos caracterizar a estrutura eletrônica do pilus e comparar os resultados obtidos para cada modelo.

Com os resultados obtidos com os modelos de pilus aliados aos resultados da modelagem dos modelos biomiméticos, almejamos alcançar uma melhor compreensão dos fatores que possibilitam um mecanismo tão eficiente para o transporte eletrônico.

Com isso, objetiva-se contribuir para o planejamento de novos materiais e dispositivos híbridos orgânicos/inorgânicos mais eficientes e acessíveis, tanto para a geração quanto para a condução de eletricidade, com contribuição ao desenho de novos dispositivos, com aplicações em nanotecnologia.

### 3 Metodologia

O trabalho realizado envolve o uso da modelagem molecular aplicada a diferentes sistemas:

- Modelos miméticos que auxiliam no entendimento das propriedades condutoras observadas na pilina, a partir da análise do efeito da hélice e dos grupos aromáticos na estrutura eletrônica.
- Modelos da pilina propostos em trabalhos anteriores, enfatizando o estudo da estrutura eletrônica de sítios com aglomerados aromáticos através de uma abordagem híbrida QM/MM.

A modelagem molecular é um método teórico computacional, que faz uso das leis da física implementadas em um algoritmo. A técnica é muito utilizada na química e biologia, principalmente para sistemas com alta complexidade, com o objetivo de mimetizar sistemas moleculares.

A escolha de um método computacional é uma consequência do número de átomos de um sistema aliado à quantidade de equações diferenciais a serem resolvidas, o que torna inviável o cálculo sem o uso de um computador.

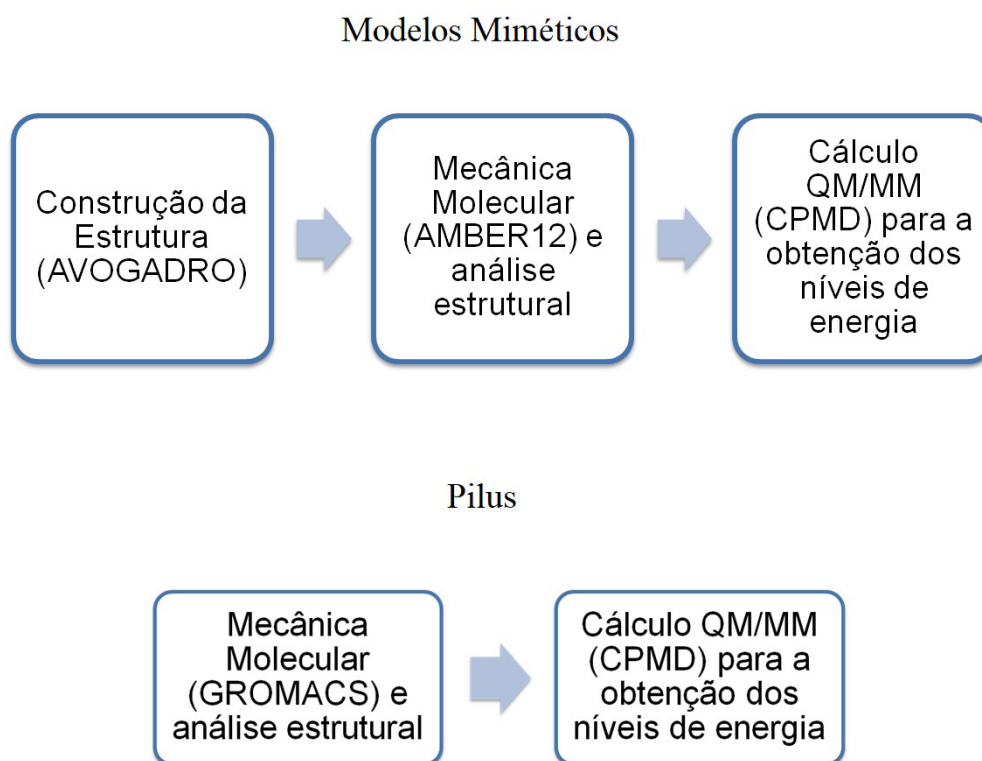
Por se tratar de um método teórico, a descrição do sistema é determinante para a confiabilidade dos resultados de interesse, podendo ser feita através da Mecânica Molecular (MM), que é baseada na Mecânica Clássica, ou através da Mecânica Quântica (QM).

A escolha da abordagem depende das propriedades que se almeja extrair do sistema. Além disso, a capacidade computacional é outro fator limitante, o que pode tornar a descrição por meio da Mecânica Quântica inviável. Neste caso, quando a representação eletrônica é necessária, métodos híbridos se tornam uma alternativa. Estes métodos possibilitam a descrição do sistema através da Mecânica Clássica, com exceção de uma região menor onde os elétrons são representados explicitamente, ou seja, a abordagem é quântica. Neste caso, o sistema é dividido em duas partes: Partição QM e Partição MM. Estes termos serão muito utilizados ao longo deste trabalho.

A simulação dos sistemas propostos foram divididas em duas etapas. A primeira etapa consiste no método clássico de cálculo seguida por uma análise estrutural. A segunda consiste no método híbrido QM/MM, onde a estrutura eletrônica foi avaliada por meio de amostragens. A Figura 3.1 apresenta os métodos utilizados de forma sequencial para os miméticos e para o pilus, respectivamente.

A etapa de Mecânica Molecular para os modelos miméticos foi realizada com o pacote AMBER12(15), enquanto que para o pilus foi realizada com o pacote GROMACS(16).

Figura 3.1 – Métodos utilizados para os modelos miméticos e para o pilus.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Os cálculos híbridos QM/MM foram realizados para todos os sistemas com o pacote CPMD(17).

Todas as ilustrações de estruturas moleculares foram obtidas no VMD(18). As estruturas dos modelos miméticos foram construídas com o AVOGADRO(19).

### 3.1 Mecânica Molecular

A modelagem clássica descreve o átomo apenas como função da posição nuclear, desprezando o movimento eletrônico, ou seja, é um método teórico clássico. Esta abordagem apresenta vantagens com relação ao custo computacional, uma vez que o número de variáveis necessárias para descrever o sistema é pequeno. Contudo, uma das propostas do trabalho é estudar a influência da estrutura e composição dos peptídeos no potencial e na estrutura eletrônica. Assim, métodos clássicos de cálculo não são mais suficientes, concentrando esta etapa de simulação em uma fase preliminar e de análise puramente estrutural.

A representação padrão da energia potencial  $U$  para esta abordagem é dada atra-

vés da seguinte equação, em função das posições  $r$  de todos os átomos:

$$U = \sum_{lig} k_{lig}(r-r_0)^2 + \sum_{ang} k_{ang}(\theta-\theta_0)^2 + \sum_{torcoes} V_n[1+\cos(n\tau-\phi)] + \sum_i \sum_j \left( \frac{A_{ij}}{(r_{ij})^{12}} + \frac{B_{ij}}{(r_{ij})^6} + \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \right) \quad (3.1)$$

Logo, a energia que descreve os sistema é considerada a partir das seguintes contribuições: (i) energia entre átomos ligados: contribuição proveniente das ligações covalentes dentro da molécula e que são parametrizadas por um termo harmônico nas coordenadas nucleares de distância (potencial de dois corpos), ângulo (três corpos) e diedral (quatro corpos) e (ii) energia entre átomos não-ligados: corresponde a interações de longo e curto alcance entre átomos não-ligados, como a interação eletrostática e de van der Waals, parametrizadas respectivamente por uma interação coulombiana entre cargas centradas nos átomos e com um potencial de Lennard-Jones.

Assim, assume-se que o sistema apresenta pequenas vibrações incapazes de alterar o estado eletrônico do mesmo. Assim, a aproximação que descreve as interações covalentes do sistema é o modelo de osciladores harmônicos, onde os átomos interagem entre si através de forças elásticas. O resultado disso é um campo de força clássico que descreve as interações inter e intramoleculares em um sistema.

Uma vez que a energia potencial do sistema é definida, as forças podem ser obtidas a partir da 2ª Lei de Newton. O gradiente dessas forças é, então, obtido na etapa de minimização da energia do sistema. Durante este processo, um algoritmo altera as posições nucleares, com o objetivo de encontrar a configuração com a menor energia potencial. O método consiste em percorrer a superfície de potencial na direção que a energia decresce, ou seja, na direção contrária ao gradiente máximo das forças.

Com a geometria otimizada, a evolução dos sistemas no tempo é calculada através da obtenção das forças, acelerações, velocidades e posições dos átomos, via equações diferenciais que traduzem a 2ª. Lei de Newton:

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} = -\vec{\nabla} U(r_1, r_2, \dots, r_N) \quad (3.2)$$

Como resultado final da dinâmica molecular, obtém-se uma trajetória especificando as mudanças de velocidade e posição de cada átomo ao longo do tempo.

Com isso ,para que todo o método de Mecânica Molecular seja executado, é necessário que seja especificada apenas uma configuração inicial do sistema, a partir da qual todo processo citado acima é realizado.

### 3.1.1 Mecânica Molecular para os modelos miméticos

Os cálculos para os miméticos nesta etapa foram realizados utilizando métodos clássicos teóricos, por meio do pacote AMBER12(15). Dois modelos foram construídos no AVOGADRO, cada um contendo 12 aminoácidos.

Como discutido anteriormente, a estrutura em hélice contribui para o transporte eletrônico devido ao momento de dipolo resultante do alinhamento dos dipolos das ligações peptídicas. Com o objetivo de investigar o efeito que a hélice provoca no ambiente eletrostático do peptídeo, foram realizadas duas dinâmicas para cada sistema, onde em uma das dinâmicas restrições de posições foram aplicadas aos carbonos  $\alpha$  para impedir que as características helicoidais fossem perdidas ao longo da dinâmica.

Assim, quatro dinâmicas foram realizadas para os sistemas em meio solvente:

- i. molécula de politirosina com restrição de posição em todos os carbonos  $\alpha$ , fixando a estrutura em  $\alpha$  - hélice.
- ii. molécula de polifenilalanina com restrição de posição em todos os carbonos  $\alpha$ , fixando a estrutura em  $\alpha$  - hélice.
- iii. molécula de politirosina, inicialmente em  $\alpha$  - hélice, sem aplicação de restrição de posição.
- iv. molécula de polifenilalanina, inicialmente em  $\alpha$  - hélice, sem aplicação de restrição de posição.

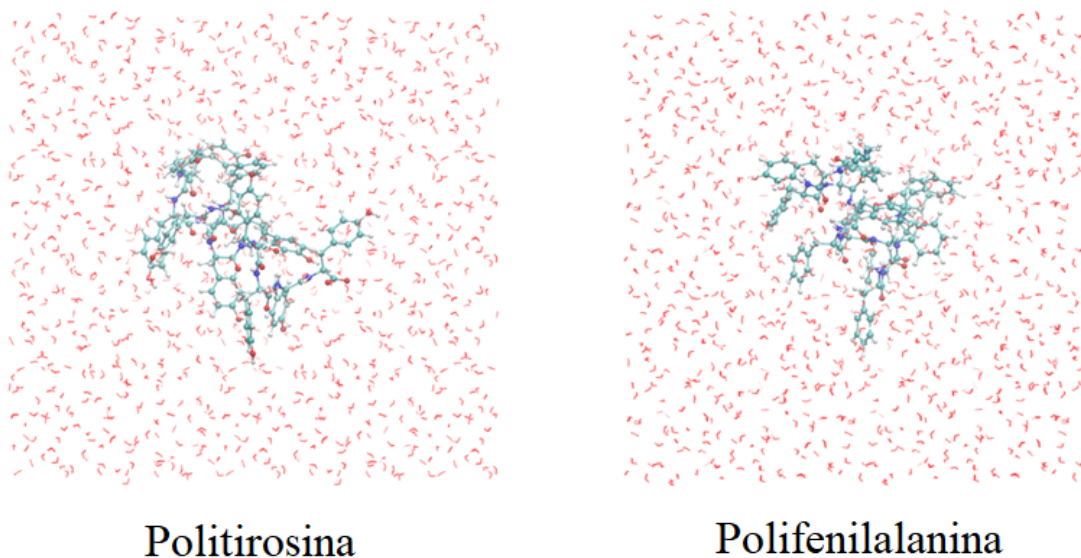
A simulação foi realizada para um estado de protonação que corresponde àquele dos aminoácidos isolados em condições de pH neutro, com os sistemas em caixas periódicas, método PME (*Particle Mesh Ewald*)(20, 21), contendo 2113 moléculas de água para o peptídeo de fenilalanina e 2038 moléculas de água para o peptídeo de tirosina. A Figura 3.2 ilustra os sistemas.

O campo de força utilizado para a água foi o *TIP3P*(22), enquanto que para o peptídeo foi utilizado o *amberff99SB*(23), muito utilizado para proteínas.

Inicialmente, utilizamos o algoritmo *steepest decent* na etapa de minimização de energia, com o intuito de alcançar mais rapidamente regiões mais próximas a um mínimo de energia na superfície de energia potencial. Feito isso, com a geometria mais próxima de um mínimo, utilizamos o algoritmo de *gradientes conjugados* por ser mais refinado que o utilizado inicialmente.

Mesmo após submetido a este processo, os valores não atingiram o critério de convergência, possivelmente por apresentarem uma estrutura inicial muito distante de um mínimo. A solução encontrada foi submeter o sistema à uma dinâmica prévia sem temperatura e pressão para estes sistemas com o objetivo de relaxar a estrutura.

Figura 3.2 – Peptídeos em caixa cúbica com água



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

A primeira etapa da dinâmica molecular é a termalização, que consiste em aumentar a temperatura, gradativamente, de 0 K à 300K, na ausência de pressão. O controle de temperatura no processo de termalização foi feito com a opção no input para o termostato de *Langevin*(24). Este algoritmo controla a temperatura do sistema alterando as velocidades dos átomos, ou seja, adicionando e retirando energia do sistema.

A etapa de produção finaliza a dinâmica molecular, sendo considerados os efeitos da pressão no sistema, com a opção no input para o barostato de *Parrinello Rahman*(25). Para cada iteração, passos de 2 femtossegundos foram estabelecidos, sendo realizados, ao final da dinâmica, 10 nanossegundos de evolução.

A evolução do sistema foi armazenada a cada 500 passos da dinâmica em arquivos com as trajetórias dos átomos, a partir das quais foi feito todo o pós-processamento.

### 3.1.2 Mecânica Molecular para o pilus

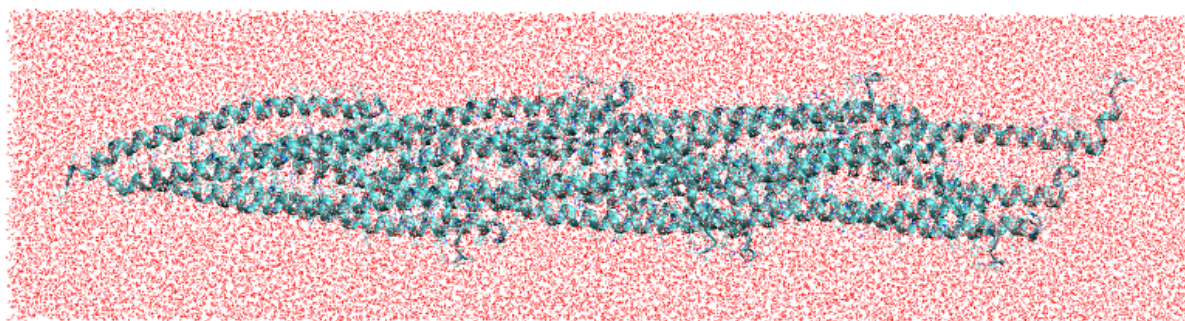
O objetivo da Mecânica Molecular aplicado aos modelos de pilus é uma análise estrutural, verificando até mesmo a estabilidade dos contatos presentes entre grupos aromáticos.

Nesta etapa, foram realizadas duas dinâmicas em solvente, com as moléculas de pilus apresentando um estado de protonação que corresponde àquele dos aminoácidos isolados em condições de pH neutro:

- I. Modelo proposto na Figura 1.4.
- II. Modelo proposto na Figura 1.3.

O pacote utilizado para os cálculos foi o GROMACS(16). Os sistemas foram solvatados em caixas periódicas, método PME (*Particle Mesh Ewald*)(20, 21), mas devido à quantidade de átomos em cada sistema não utilizamos caixa cúbica, pois a capacidade computacional disponível não seria suficiente. Então, os sistemas foram confinados em células retangulares com distância mínima de 1,2 Å entre um átomo da proteína e as paredes da célula. Este critério de seleção da caixa reduziu consideravelmente a quantidade de moléculas de solvente. Além disso, como o estado de protonação estabelecido resultava em uma carga líquida de -2 para cada subunidade, utilizamos contra-íons de sódio para neutralizar a carga negativa das moléculas. As figuras 3.3 e 3.4 representam os sistemas descritos.

Figura 3.3 – Pilus, em representação *New Cartoon*, solvatado em caixa retangular



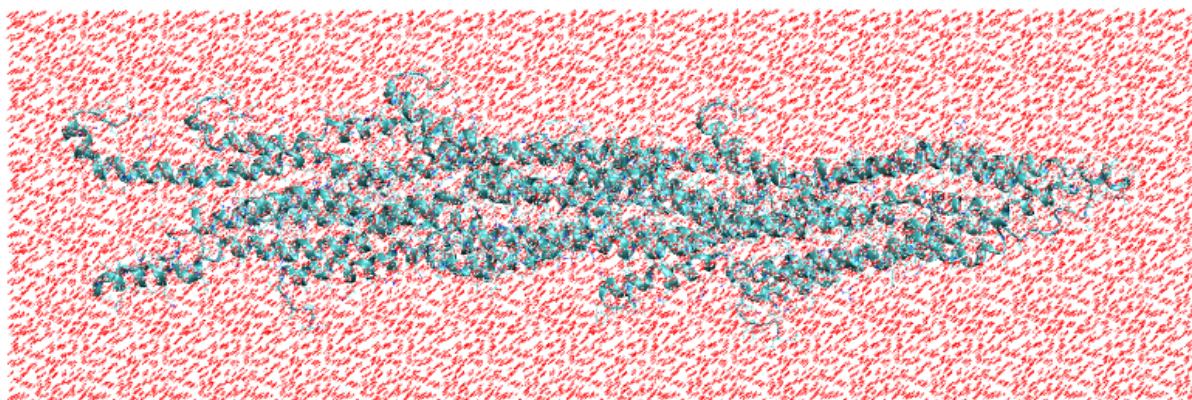
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Utilizamos o campo de força *SPC*(26) para a água e *amberff99SB*(23) para a proteína.

A etapa de minimização de energia não apresentou nenhum problema de convergência. A fase de termalização foi realizada com restrições de posição nos átomos das moléculas, permitindo assim, que as moléculas de água se ajustassem à temperatura de 300 K sem que houvesse influência na estrutura das fibras. O acoplamento de temperatura foi feito com o algoritmo de *v-rescale*(27, 28).

Logo após a termalização, os efeitos de pressão foram incorporados aos sistemas em uma nova etapa através do barostato de *Parrinello Rahman*(25), com os sistemas ainda submetidos às restrições de posição.

A última etapa consistiu na dinâmica molecular, onde foram desconsideradas quaisquer restrições de posição na molécula. Uma iteração foi executada para cada 2 fen-

Figura 3.4 – Pilus, em representação *New Cartoon*, solvatado em caixa retangular

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

tossegundos de evolução do sistema, sendo realizados, ao final da dinâmica, 100 nanossegundos de evolução no tempo.

A evolução de cada sistema foi armazenada a cada 2500 passos da dinâmica em arquivos com as trajetórias dos átomos, a partir das quais foi feito todo o pós-processamento.

## 3.2 Mecânica Quântica

Diferentemente do cálculo clássico (MM), onde apenas as coordenadas nucleares são consideradas na descrição molecular, a abordagem quântica (QM) descreve os elétrons explicitamente. O método é empregado em sistemas cujo interesse são propriedades ou fenômenos dependentes da configuração eletrônica, como as reações químicas, por exemplo, onde ligações são formadas e quebradas o tempo todo.

O estudo de todo sistema molecular contendo  $N$  elétrons e  $M$  núcleos é feito através da solução da equação de Schroedinger independente do tempo:

$$\hat{H}\Psi(\{r\}, \{R\}) = E_{tot}\Psi(\{r\}, \{R\}) \quad (3.3)$$

A resolução desta equação resulta na função de onda  $\Psi(\{r\}, \{R\})$ , que representa a descrição matemática de um sistema de partículas, em que  $\{r\}$  é o conjunto de coordenadas espaciais eletrônicas e  $\{R\}$  o conjunto de coordenadas espaciais nucleares.

A partir da função de onda podemos obter todos os observáveis físicos do mesmo, ou seja, todas as suas propriedades.

O operador Hamiltoniano do sistema,  $\hat{H}$ , pode ser escrito da seguinte forma, em coordenadas atômicas::

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^N \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{A=1}^M \frac{\nabla_A^2}{2} - \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^M \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (3.4)$$

Os termos do operador correspondem à energia cinética eletrônica e nuclear mais a interação coulômbica núcleo-núcleo, elétron-núcleo e elétron-elétron. Os índices  $i$  e  $j$  são os índices eletrônicos e A e B nucleares.

Dentro deste contexto, a solução exata não é possível, pois a equação só pode ser resolvida analiticamente para o átomo de hidrogênio, ou hidrogenóides. Sistemas com mais de dois elétrons só apresentarão solução para a equação de Schroedinger diante de aproximações feitas no Hamiltoniano.

### 3.2.1 Aproximação de Born Oppenheimer

Para sistemas multieletrônicos, pode ser utilizada, a princípio, a aproximação de Born-Oppenheimer(29), que simplifica o problema através da separação dos movimentos nucleares e eletrônicos, o que implica na solução isolada do problema eletrônico.

A aproximação parte da diferença de massa entre núcleo e elétron (o núcleo tem uma massa aproximadamente 1836 vezes maior), o que resulta na resposta eletrônica instantânea ao movimento nuclear. Logo, pode-se assumir que o elétron se movimenta em um espaço com núcleos fixos, desprezando-se, desta forma, o termo de energia cinética nuclear do Hamiltoniano. Como consequência, o termo correspondente à interação núcleo-núcleo no Hamiltoniano passa a ser constante.

Este desacoplamento dos graus de liberdade eletrônicos e nucleares permite que a função de onda seja separável:

$$\Psi(\{r\}, \{R\}) = \psi(\{r\}, \{R\})\phi(\{R\}) \quad (3.5)$$

A separação define  $\psi(\{r\})$  como a função de onda eletrônica, cuja dependência com relação às coordenadas nucleares é paramétrica, e  $\phi(\{R\})$  como a função de onda nuclear.

Dessa forma, o Hamiltoniano utilizado na equação de Schroedinger que descreve o movimento eletrônico é:

$$\hat{H}_{ele} = - \sum_{i=1}^N \frac{\nabla_i^2}{2} - \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^M \frac{1}{r_{ij}} \quad (3.6)$$

Neste caso, o fato da dependência das coordenadas nucleares ser apenas paramétrica permite que o Hamiltoniano eletrônico,  $\hat{H}_{ele}$ , possa comutar com quaisquer posições nucleares, o que garante a obtenção de  $E_{ele}(\{R\})$  a partir de  $\{R\}$  distintos. Somando-se à energia eletrônica a energia potencial núcleo-núcleo, definida como constante devido à considerada inexistente movimentação nuclear, obtém-se a energia total do sistema como se segue:

$$E_{tot} = E_{ele} + \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (3.7)$$

### 3.2.2 O Princípio da Antissimetria e o Método Variacional

A descrição eletrônica deve levar em consideração as coordenadas espaciais e o spin. Feito isto, a função de onda deve satisfazer o princípio de antissimetria(30), que requer que qualquer função de onda multieletrônica deve ser antissimétrica diante da permutação de dois elétrons.

Dessa maneira, a função de onda de um elétron passa a ser representada por  $\chi(x)$ , denominada spin-orbital, onde x representa as coordenadas espaciais e de spin.

O princípio da antissimetria é atendido quando se utiliza o determinante de Slater definido como:

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N) = (N!)^{-\frac{1}{2}} \begin{vmatrix} \chi_i(x_1) & \chi_j(x_1) \cdots \chi_k(x_1) \\ \chi_i(x_2) & \chi_j(x_2) \cdots \chi_k(x_2) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \chi_i(x_N) & \chi_j(x_N) \cdots \chi_k(x_N) \end{vmatrix} \quad (3.8)$$

Neste caso, a resolução da equação de Schroedinger pode ser tratada como um problema de autovalores, cuja solução é alcançada através do método variacional(31).

Dado o operador Hamiltoniano  $\hat{H}$ , dependendo do sistema, pode existir um conjunto infinito de soluções para a equação de Schroedinger independente do tempo:

$$\hat{H}|\Psi_i\rangle = \epsilon_i|\Psi_i\rangle, \quad (3.9)$$

onde  $i = 0, 1, 2, \dots$  e  $\epsilon_0 \leq \epsilon_1 \leq \epsilon_2 \dots < \epsilon_i \leq \dots$ , sendo  $\epsilon_i$  autovalores exatos e  $\epsilon_0$  a energia do estado fundamental.

O termo  $|\Psi_i\rangle$  representa as autofunções ortonormais, como se segue:

$$\langle \Psi_i | \Psi_j \rangle = \delta_{ij} \quad (3.10)$$

Assim,  $\{|\Psi_i\rangle\}$  forma um conjunto completo de soluções, o que significa que qualquer função  $|\Phi\rangle$  pode ser escrita como uma combinação linear de funções  $|\Psi_i\rangle$ :

$$|\Phi\rangle = \sum_{i=1}^N c_i |\Psi_i\rangle \quad (3.11)$$

Sendo a função  $|\Phi\rangle$  normalizada, o princípio variacional garante que o valor esperado do Hamiltoniano será maior ou igual a energia exata do estado fundamental:

$$\langle \Phi | \hat{H} | \Phi \rangle \geq \epsilon_0 \quad (3.12)$$

O método consiste na variação dos coeficientes  $\{c_i\}$  até que o valor esperado  $\langle \Phi_i | \hat{H} | \Phi_j \rangle$  atinja um mínimo, sendo este o valor estimado para a energia exata do estado fundamental.

A minimização é realizada através do método de Lagrange dos multiplicadores indeterminados. Neste método subtraímos o termo  $E(\langle \Psi | \Psi \rangle - 1)$  da função original (equivalente a subtrair zero devido à ortonormalidade da função  $|\Psi\rangle$ ), que estabelece o vínculo. Assim, como  $\langle \Phi_i | \hat{H} | \Phi_j \rangle = \sum_{ij} c_i^* c_j H_{ij}$ , temos uma nova função definida como:

$$\lambda = \sum_{ij} c_i^* c_j H_{ij} - E \left( \sum_i c_i^2 - 1 \right) \quad (3.13)$$

Assim, o mínimo da função  $\lambda$  ocorre nos mesmo coeficientes de  $\langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle$ . Este procedimento permite que os coeficientes sejam obtidos independentemente.

$$\frac{\partial \lambda}{\partial c_k} = 0 = \sum_j c_j H_{kj} + c_i H_{ik} - 2E c_k \quad k = 1, 2, \dots, N \quad (3.14)$$

Como  $H_{ij} = H_{ji}$ , obtemos:

$$\sum_j H_{ij}c_j - Ec_i = 0 \quad (3.15)$$

A equação (3.15) também pode ser representada na notação matricial através da expressão:

$$\mathbf{Hc} = E\mathbf{c} \quad (3.16)$$

Deste modo, o método variacional consiste em encontrar as N soluções da equação de Schroedinger independente do tempo, através na diagonalização da matriz  $\mathbf{H}$ , sendo que a autofunção correspondente ao mais baixo autovalor é a função de onda do estado fundamental.

### 3.2.3 Teoria do Funcional da Densidade

O tratamento do problema de muitas partículas pode ser realizado através de uma descrição baseada na densidade eletrônica,  $\rho(\mathbf{r})$ .

A utilização da densidade eletrônica apresenta vantagens frente a função de onda dado o número de graus de liberdade envolvidos ser muito menor. Para um sistema com N elétrons, a função de onda necessita de 3N variáveis espaciais, mais N variáveis de spin, enquanto que a densidade eletrônica depende de apenas de 3 variáveis espaciais e uma de spin. Logo, a empregabilidade da densidade eletrônica em problemas multieletrônicos reduz significativamente o custo computacional necessário. Este é o formalismo da Teoria do Funcional da Densidade(32) (DFT, do inglês *Density Functional Theory*).

O primeiro passo para a aplicação da Teoria do Funcional da Densidade ao problema de muitos corpos foi dado por Pierre Hohenberg e Walter Kohn, quando, na década de 60, formularam dois teoremas que nos permitem descrever o problema eletrônico em termos da densidade eletrônica. Estes são denominados os Teoremas de Hohenberg-Kohn(33).

O primeiro Teorema estabelece que a função de onda, e portanto a energia e qualquer propriedade eletrônica do sistema é unicamente definida pela densidade eletrônica.

A partir de uma dada densidade eletrônica,  $\rho(\mathbf{r})$ , determina-se um potencial externo,  $v_{ext}(\mathbf{r})$ , e o número de elétrons. Com isso é possível se construir o Hamiltoniano, per-

mitindo a resolução da equação de Schroedinger para a obtenção da função de onda no estado fundamental,  $\Psi_0$ .

Com a função de onda do estado fundamental podemos extrair todos os observáveis físicos do sistema no estado fundamental, que podem ser escritos como funcionais da densidade eletrônica. Assim, a energia do estado fundamental pode ser expressa em função da densidade:

$$E_0 = E[\rho_0(\mathbf{r})] = T[\rho_0(\mathbf{r})] + E_{ee}[\rho_0(\mathbf{r})] + E_{Ne}[\rho_0(\mathbf{r})] \quad (3.17)$$

Os dois primeiros termos da equação (3.17) representam a energia cinética dos elétrons e a energia das interações eletrônicas, respectivamente, e a soma entre eles resulta no funcional de Hohenberg-Kohn, definido por:

$$F_{HK} = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{U}_{ee} | \Psi \rangle \quad (3.18)$$

O funcional  $F_{HK}$  é universal para todo sistema de N partículas.

O terceiro termo do funcional da energia representa a interação elétron-núcleo e é gerado a partir do potencial externo,  $v_{ext}(\mathbf{r})$ , sendo este dependente das coordenadas nucleares.

O segundo Teorema estabelece que para qualquer densidade particular  $\rho'$ , onde em todo espaço  $\int \rho'(\mathbf{r})d(\mathbf{r}) = N$  e  $\rho'(\mathbf{r}) \geq 0$ , então  $E[\rho'] \geq E_0$ . O teorema ainda garante que a energia é mínima quando a densidade eletrônica corresponde àquela do estado fundamental, o que está de acordo com o princípio variacional.

Embora os Teoremas de Hohenberg-Kohn demonstrem que a Energia eletrônica possa ser escrita como um funcional da densidade, o funcional  $F_{HK}$  ainda é desconhecido, pois até esse ponto não é apresentada uma forma de se escrever a energia cinética eletrônica em função da densidade.

Em 1965, Walter Kohn e Lu Jeu Sham(34) apresentaram uma abordagem para o problema da energia cinética eletrônica, descrevendo-a na sua forma funcional,  $T[\rho]$ . Neste método um sistema de elétrons interagentes é representado por um sistema de elétrons não interagentes (gás de elétrons) que produz a mesma densidade eletrônica. Este sistema não interagente é descrito por uma função de onda antissimétrica com orbitais de um elétron. Como apresentado anteriormente no princípio da antissimetria, a representação é matricial e é dada da seguinte forma para a densidade e energia cinética, com relação aos orbitais de Kohn-Sham,  $\varphi_i(\mathbf{r})$ :

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N |\varphi_i(\mathbf{r})|^2 \quad (3.19)$$

$$T[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \langle \varphi_i(\mathbf{r}) | \nabla^2 | \varphi_i(\mathbf{r}) \rangle \quad (3.20)$$

Dentro deste contexto, o funcional universal é definido da seguinte forma:

$$F[\rho] = T[\rho] + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{|\vec{r}_1 - \vec{r}_2|} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{xc}[\rho] \quad (3.21)$$

O segundo termo da equação (3.21) é referente à energia potencial proveniente da interação elétron-elétron clássica, dada em termos da densidade eletrônica, e o terceiro termo,  $E_{xc}[\rho]$ , representa a energia de correlação e troca do sistema. Além das contribuições de correlação e troca eletrônica na energia, o termo  $E_{xc}[\rho]$  apresenta correções para a auto-interação eletrônica e para a energia cinética, necessária em razão da aproximação de um sistema não interagente.

Logo, a representação para a energia total do sistema é dada pelo funcional de Kohn-Sham, como se segue:

$$E_{KS}[\rho(\mathbf{r})] = F[\rho(\mathbf{r})] + \int v_{ext}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad (3.22)$$

O segundo termo da equação (3.22) representa a energia da interação elétron-núcleo obtida através do potencial externo,  $v_{ext}(\mathbf{r})$ . Esta contribuição também pode ser obtida através das coordenadas nucleares, de acordo com a equação:

$$\int v_{ext}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} = - \int \sum_{\alpha=1}^M \frac{Z_{\alpha}}{|R_{\alpha} - \mathbf{r}|} \rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad (3.23)$$

O operador Hamiltoniano para o sistema é escrito conforme mostra a equação a seguir:

$$\hat{H} = \sum_{i=1}^N \left[ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_{ef}(\mathbf{r}_i) \right] \quad (3.24)$$

O termo  $v_{ef}(\mathbf{r}_i)$  é o potencial efetivo e contempla todos os potenciais envolvidos no sistema. Sua obtenção é feita por meio do método de multiplicadores de Lagrange, utilizando o vínculo de uma densidade eletrônica fixa:

$$\frac{\delta}{\delta\rho(\mathbf{r})} \left[ E_{KS}[\rho(\mathbf{r})] - \mu \left( \int \rho'(\mathbf{r})d(\mathbf{r}) - N \right) \right] = 0 \quad (3.25)$$

O que resulta em:

$$\mu = \frac{\delta T[\rho(\mathbf{r})]}{\delta\rho(\mathbf{r})} + v_{ef}(\mathbf{r}) \quad (3.26)$$

$$v_{ef}(\mathbf{r}) = v_{ext}(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + \frac{\delta E_{xc}[\rho(\mathbf{r})]}{\delta\rho(\mathbf{r})} \quad (3.27)$$

Todas as equações apresentadas na determinação do potencial efetivo e do Hamiltoniano para a resolução da equação de Schroedinger constituem as equações de Kohn-Sham, que é um problema de autovalores, cuja solução é obtida através do ciclo auto-consistente descrito a seguir:

1. Propor uma função tentativa,  $\rho(\mathbf{r})$ ;
2. Calcular o potencial efetivo através da equação (3.27);
3. Resolver as equações de Kohn-Sham,  $\hat{H}\varphi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i\varphi_i(\mathbf{r})$ ;
4. Obter uma nova densidade a partir da equação (3.19);
5. Comparar as energias eletrônicas obtidas para as duas densidades. Se houver convergência, as propriedades do sistema podem ser calculadas, caso contrário, o processo retorna para o item 2 utilizando a nova densidade eletrônica obtida.

Assim, o DFT determina a energia eletrônica uma vez que o funcional de correlação e troca é conhecido. No entanto, não há uma forma universal de se expressar este funcional e aproximações são inevitáveis para este objetivo.

### 3.2.3.1 Funcionais de correlação e troca

Duas aproximações utilizadas na determinação do funcional  $E_{xc}[\rho(\mathbf{r})]$  serão apresentadas aqui. As descrições consideram a antissimetria da função de onda diante da permutação de dois elétrons (troca eletrônica) e o acoplamento do movimento de um elétron com relação a todos os outros (correlação eletrônica).

A proposta mais simples é a Aproximação da Densidade Local, que resulta no funcional LDA(35) (*Local Density Approximation*). Esta descrição trata um sistema eletrônico não homogêneo como localmente homogêneo. Este funcional, expresso na equação (3.28), descreve bem sistemas com densidade eletrônica uniforme ou com variação lenta (como sólidos), porém, apresenta falhas quando estas características não estão presentes.

$$E_{xc}[\rho(\mathbf{r})] = \int \varepsilon_{xc}^{LDA}[\rho(\mathbf{r})]\rho(\mathbf{r})d(\mathbf{r}) \quad (3.28)$$

O termo  $\varepsilon_{xc}^{LDA}[\rho(\mathbf{r})]$  é a energia de correlação e troca por partícula de um gás de elétrons uniforme.

Outra proposta surge com a finalidade de descrever mais adequadamente sistemas com densidade eletrônica não homogênea. Esta é a aproximação do gradiente generalizado GGA(36) (*Generalized Gradient Approximation*), que avalia a densidade local e a variação espacial desta. Dessa forma, o funcional de correlação e troca GGA apresenta dependência com relação ao gradiente da densidade e é dado por:

$$E_{xc}[\rho(\mathbf{r}), |\nabla \rho(\mathbf{r})|] = \int \varepsilon_{xc}^{GGA}[\rho(\mathbf{r}), |\nabla \rho(\mathbf{r})|]\rho(\mathbf{r})d(\mathbf{r}) \quad (3.29)$$

O termo  $\varepsilon_{xc}^{GGA}[\rho(\mathbf{r})]$  pode ser obtido através de diferentes expressões encontradas na literatura, sendo cada uma dependente do funcional proposto.

### 3.2.3.2 Pseudopotenciais

O método de pseudopotenciais surge com o esforço computacional necessário para descrever todos os elétrons contidos em um sistema. Contudo, alguns dos elétrons na ligação química não são afetados por alterações no ambiente, o que permite o uso de descrições mais simples. Assim, o problema eletrônico pode ser dividido em duas representações: elétrons do caroço, que são aqueles que não estão envolvidos diretamente na ligação química, e elétrons de valência, que são aqueles diretamente envolvidos na ligação química.

Originalmente, a função de onda proposta(37) consistia na combinação de dois termos, representando os elétrons de valência,  $|\varphi_v\rangle$  (pseudo-função de onda) e os elétrons do caroço,  $|\varphi_c\rangle$ . A função de onda é representada através da seguinte relação:

$$|\Phi\rangle = |\varphi_v\rangle - \sum_c \alpha_{cv}|\varphi_c\rangle, \quad (3.30)$$

em que  $\alpha_{cv} = \langle \varphi_c | \varphi_v \rangle \neq 0$ . A combinação escolhida deve ser tal que  $|\Phi\rangle$  e  $|\varphi_c\rangle$  sejam autofunções de um mesmo operador Hamiltoniano  $\hat{H}$ , como se segue:

$$\hat{H}|\Phi\rangle = \varepsilon_v|\Phi\rangle$$

$$\hat{H}_p|\varphi_v\rangle = \varepsilon_v|\varphi_v\rangle$$

$$\hat{H}|\varphi_c\rangle = \varepsilon_c|\varphi_c\rangle \quad (3.31)$$

Dado que os operadores Hamiltonianos são descritos por  $\hat{H} = -\nabla^2 + V$  e  $\hat{H}_p = -\nabla^2 + V_p$ , em que  $V$  é o potencial coulômbico do núcleo e  $V_p$  é o chamado pseudopotencial, cuja descrição para que as equações acima sejam satisfeitas é dada por:

$$V_p = V + \sum_c (\varepsilon_v - \varepsilon_c) |\varphi_c\rangle \langle \varphi_c| \quad (3.32)$$

A equação (3.32) é a forma mais geral para a definição do pseudopotencial, cuja ação é diferente em funções de onda de diferentes momentos angulares.

### 3.2.4 Método Híbrido QM/MM

Como consequência da descrição eletrônica envolvida, evidentemente, o número de componentes no sistema aumenta consideravelmente, o que explica o custo computacional extremamente alto quando se faz uso da modelagem quântica, resultando em uma empregabilidade em sistemas menores, com poucos átomos.

Como a descrição da estrutura eletrônica é fundamental para o entendimento futuro da transferência de carga observada neste sistema biológico, um método alternativo se faz necessário para que as informações eletrônicas sejam consideradas no cálculo. Neste caso, um método de cálculo híbrido apresenta uma alternativa eficaz. O método se mostra adequado para o estudo de macromoléculas e sítios ativos de enzimas(38), onde o número de átomos é significativamente alto.

O método QM/MM foi proposto inicialmente por Warshel(39) no estudo de uma enzima, onde a partição QM compreendia o sítio ativo, sendo empregado o método clássico para o restante da enzima e para o solvente. Como as reações químicas ocorrem apenas no sítio ativo da enzima, a descrição dos elétrons é necessária apenas nesta região, permitindo que se obtenha resultados confiáveis a um custo computacional relativamente baixo.

O acoplamento QM/MM é dado por um Hamiltoniano híbrido  $\hat{H}_{QM-MM}$ .

O Hamiltoniano total,  $\hat{H}_{TOT}$ , apresenta três termos: um termo quântico, um clássico e um termo de acoplamento:

$$\hat{H}_{TOT} = \hat{H}_{QM} + \hat{H}_{MM} + \hat{H}_{QM-MM} \quad (3.33)$$

Este operador Hamiltoniano total opera sobre a função de onda do sistema, devolvendo a energia total do sistema, também composta de três termos.

$$E_{TOT} = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM-MM} \quad (3.34)$$

O termo de acoplamento  $E_{QM-MM}$ , na abordagem do DFT, é dado da seguinte forma:

$$E_{QM-MM} = \sum_{i=1}^C q_i \int \frac{\rho(r)}{|r - \tau_i|} dr + \sum_{i=1}^C \sum_{\alpha=1}^Q \frac{q_i Z_{\alpha}}{|R_{\alpha} - \tau_i|} + E_{QM-MM}^{LJ} \quad (3.35)$$

Na equação (3.35) os termos representam interação coulômbica das cargas atômicas MM com os núcleos e elétrons QM e uma interação de van der Waals parametrizada por um potencial do tipo Lennard-Jones para as interações de curto alcance.

Na interface das partições QM e MM pode haver um corte fictício de uma ligação covalente, normalmente uma ligação carbono-carbono. Para evitar problemas com a valência do carbono na fronteira, um átomo fictício (*link atom*) de hidrogênio é adicionado saturando as ligações na interface. Uma vez que este átomo é apenas um artifício, ou seja, não está presente na molécula real, correções devem ser feitas no *input* de maneira a evitar que haja interação da partição MM com este *link atom* (Exclusões).

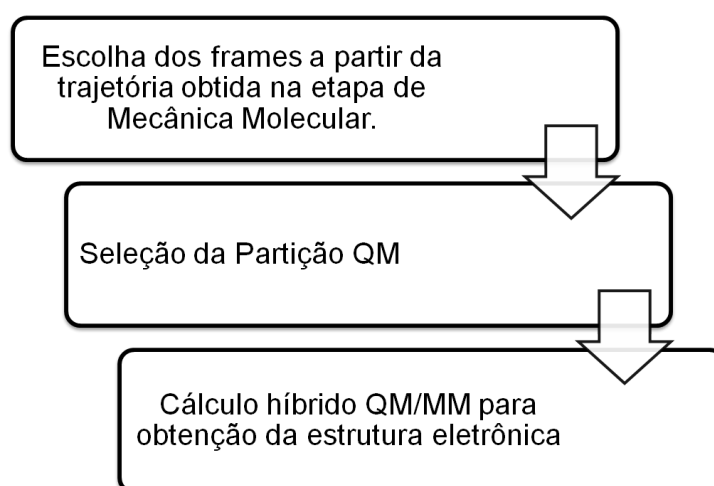
### 3.2.5 Cálculo QM/MM para os modelos miméticos

Para os cálculos nesta etapa, Utilizamos o pacote CPMD(17), que funciona com uma base de ondas planas e é baseado na Teoria do Funcional da Densidade (DFT).

O objetivo estabelecido para os miméticos envolvia a análise dos efeitos da hélice e dos grupos aromáticos na estrutura eletrônica do peptídeo e o ambiente eletrostático gerado, tanto na presença como na ausência de água. Para tanto, uma amostragem foi feita para cada dinâmica realizada, com 10 frames selecionados em intervalos de,

aproximadamente, 1 ns entre eles. A obtenção dos retratos a partir do arquivo de trajetória foi conduzida pelo programa *cptraj*(40) contido no AMBER. Os algoritmos permitem que a estrutura em determinado instante possa ser extraída em extensão *pdb*. Para cada retrato escolhido, duas estruturas foram obtidas: uma na presença e outra na ausência de água. A Figura 3.5 apresenta o método sequencial utilizado para o cálculo QM/MM(41, 42, 43).

Figura 3.5 – Representação esquemática dos métodos utilizados no estudo da configuração eletrônica dos modelos miméticos



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

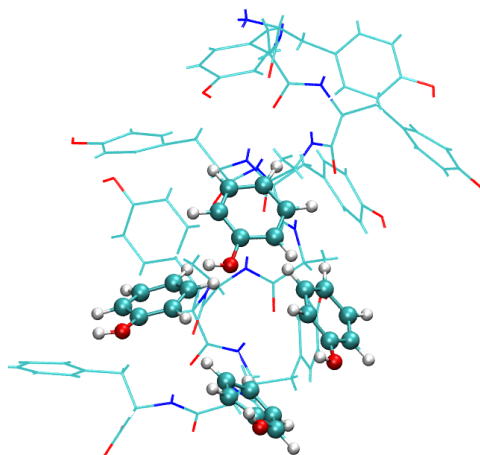
A partição QM para cada frame selecionado era determinada com base na proximidade dos resíduos aromáticos da cadeia lateral. Foram selecionados os quatro resíduos aromáticos que apresentavam os contatos mais interessantes. As escolhas foram feitas com o auxílio de um script escrito em *python*, que nos possibilitou avaliar a posição e orientação relativa de um anel aromático com relação a outro ao longo da trajetória. Estas análises serão apresentadas nos resultados do trabalho.

A proximidade dos resíduos da cadeia lateral, bem como a orientação relativa entre eles podem apresentar um caminho que favorece um dipolo mais pronunciado ao longo do peptídeo.

Na tentativa de analisar a estrutura eletrônica da mesma região da molécula em diferentes retratos da dinâmica, procuramos selecionar os mesmos grupos aromáticos em cada um dos frames da amostra. Esta divisão para a partição QM nem sempre é possível, devido às mudanças estruturais dos peptídeos. Contudo, quando necessário, poucos resíduos foram substituídos de um frame para outro.

Os sistemas submetidos às restrições de posições no esqueleto não apresentavam mobilidade tão significativa da cadeia lateral quando comparados aos sistemas onde as restrições não estavam presentes, devido à conservação da estrutura helicoidal. Mais detalhes serão apresentados nos resultados.

Figura 3.6 – Representação da partição QM em destaque, para molécula de politirosina. *Dummy atom* de hidrogênio presente para saturar os carbonos  $\gamma$  na fronteira.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Determinadas as partições QM/MM, os cálculos híbridos puderam ser feitos. A leitura das coordenadas e parâmetros da região MM é feita pelo CPMD a partir de arquivos no formato Gromos(44), obtidos a partir das coordenadas vindas do AMBER.

A fronteira entre as partições QM e MM ficou estabelecida na ligação covalente entre os carbonos  $\beta$  e  $\gamma$ . Assim, apenas os anéis aromáticos constituem a partição QM. A saturação dos carbonos  $\gamma$  foi feita com o método de *Hydrogen Capping*(45)(Figura 3.6).

Em todos os cálculos utilizamos um *cutoff* de 90 Ry e pseudopotenciais de *Troullier Martins*(46) com funcionais de correlação e troca BP(47).

O protocolo de cálculo para as amostragens consistia, inicialmente, na otimização da função de onda(48), seguida pelo cálculo da densidade de estados eletrônicos via equações de Kohn-Sham.

Em posse destes resultados, verificamos o gap de energia entre o último estado ocupado e o primeiro desocupado (HOMO e LUMO, respectivamente).

Os níveis energéticos obtidos no final do cálculo QM/MM foram utilizados na construção da DOS (Density of States), obtidas a partir de funções Gaussianas:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (3.36)$$

Uma análise complementar à DOS consistia na visualização da densidade eletrônica feita com o uso do VMD.

### 3.2.6 Cálculo QM/MM para o pilus

Assim como nos cálculos dos modelos miméticos, o pacote utilizado nos cálculos híbridos aplicados ao pilus foi o CPMD(17).

Com o objetivo de analisar a estrutura eletrônica e a localização da densidade eletrônica em regiões contendo aglomerados aromáticos, o procedimento foi realizado para os sistemas na presença de água e, em seguida, no vácuo em diferentes instantes da trajetória. A amostragem foi feita com 12 frames, sendo dez deles selecionados com um intervalo de 10 ns entre um e outro, e os outros dois frames correspondentes aos instantes inicial e final da dinâmica.

Como as dinâmicas foram realizadas com o *GROMACS*, a ferramenta utilizada na obtenção dos retratos foi o *trjconv*, que permite a extração da configuração do sistema em um instante desejado em extensão *pdb*. A sequência de métodos utilizadas nesta etapa foi a mesma apresentada para os modelos miméticos na Figura 3.5.

O critério de seleção da partição QM segue o que foi apresentado para os modelos miméticos com relação à proximidade entre resíduos aromáticos vizinhos na cadeia lateral. Devido à periodicidade apresentada pela estrutura do pilus (I) (Figura 1.5), foram selecionados 6 resíduos aromáticos em cada frame. A pequena variação estrutural dos aglomerados aromáticos e a periodicidade dos resíduos ao longo da fibra facilitaram a definição de partição QM para este sistema. Em contrapartida, o pilus (II) não apresenta estrutura padronizada para os resíduos aromáticos, o que conduziu a uma avaliação mais cautelosa, em cada um dos frames, em busca de aglomerados aromáticos.

Definida a partição QM, a leitura das coordenadas e parâmetros da região MM é feita pelo CPMD a partir de arquivos de formato Gromos(44), assim como realizado no cálculo híbrido dos modelos miméticos. Contudo, a conversão para o formato Gromos é realizada a partir de um *pdb* vindo do AMBER. Uma vez que a dinâmica molecular foi realizada no GROMACS, a estrutura em *pdb* apresenta nomenclatura diferente para os átomos quando comparada àquela obtida no AMBER.

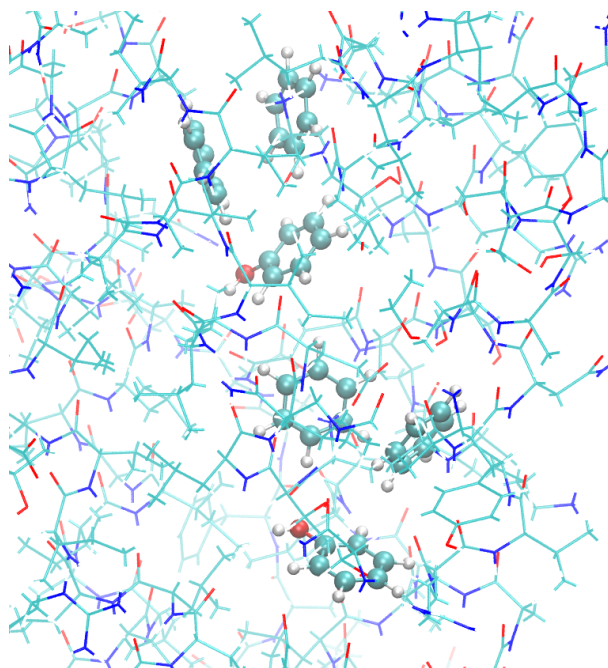
Corrigido o problema de nomenclatura e convertido os arquivos para formato *gromos*, o cálculo híbrido foi executado pelo CPMD, com opções de *cutoff* de 90 Ry e pseudopotenciais de Troullier Martins(46) com funcionais de correlação e troca BP(47).

Os cálculos realizados para os sistemas no vácuo também foram realizados visando entender o efeito do solvente nos sistemas. Para isso, as cargas das moléculas de água foram anuladas na topologia, simulando as condições do vácuo.

A fronteira entre as partições QM e MM ficou novamente estabelecida entre

os carbonos  $\beta$  e  $\gamma$ . O método *Hydrogen Capping*(45) foi utilizado na saturação dos carbonos de fronteira(Figura 3.7), sendo os *link atoms* de hidrogênio invisíveis à partição MM, ou seja, não há interação entre um *link atom* e a partição MM.

Figura 3.7 – Representação da partição QM em destaque, para o pilus. *Dummy atom* de hidrogênio presente para saturar os carbonos  $\gamma$  na fronteira.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Com o objetivo de entender a contribuição da matriz proteica para a estrutura eletrônica e níveis energéticos, um cálculo puramente QM foi realizado para os anéis de benzeno e fenol isolados no vácuo em apenas um dos frames, com a sua correspondente configuração.

O protocolo de cálculo foi o mesmo utilizado para os modelos miméticos: otimização da função de onda seguida pelo cálculo da densidade de estados eletrônicos via equações de Kohn-Sham.

Da mesma forma como foi feito para os modelos miméticos, os níveis energéticos resultantes do cálculo híbrido foram utilizados na construção da DOS, com base em funções Gaussianas. A localização dos estados eletrônicos foi feita com o VMD, permitindo a identificação de possíveis transições eletrônicas entre resíduos aromáticos.

## 4 Resultados e Discussão

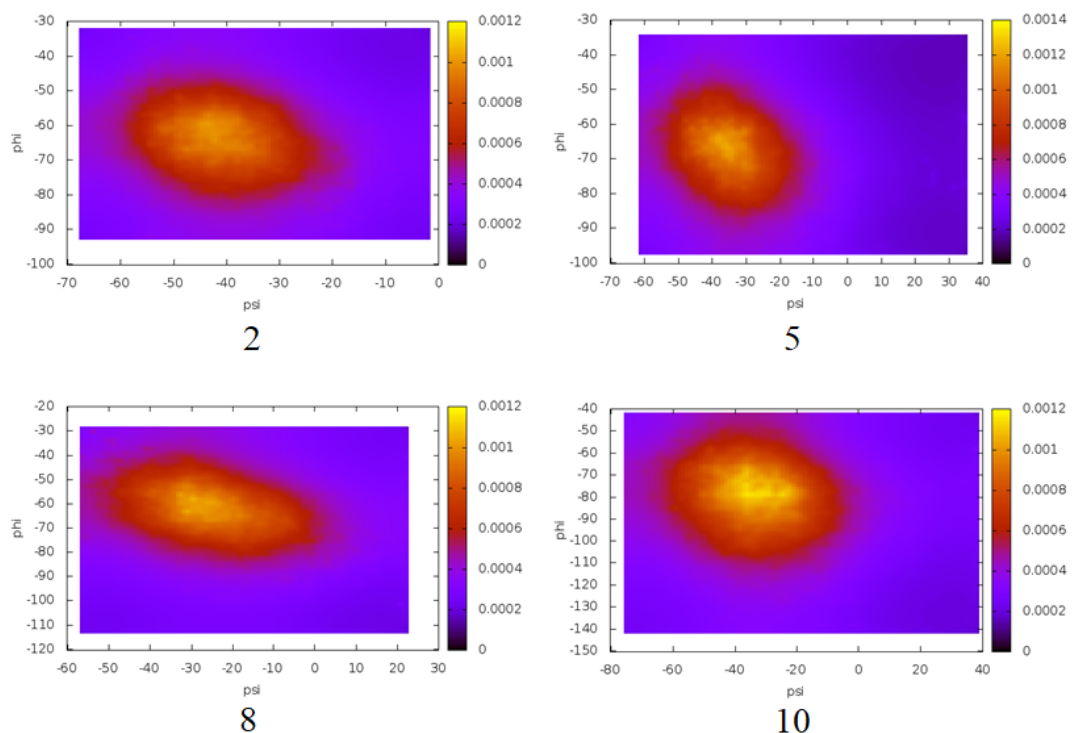
### 4.1 Modelos miméticos

#### 4.1.1 Análise estrutural dos peptídeos

A estrutura helicoidal predominante na pilina é especulada como um possível fator para a alta eficiência do transporte eletrônico observado neste biosistema. Em vista disso, uma análise da variação conformacional se torna necessária para os sistemas (iii) e (iv) ao longo da dinâmica, onde não houve restrições de posição para os carbonos  $\alpha$ .

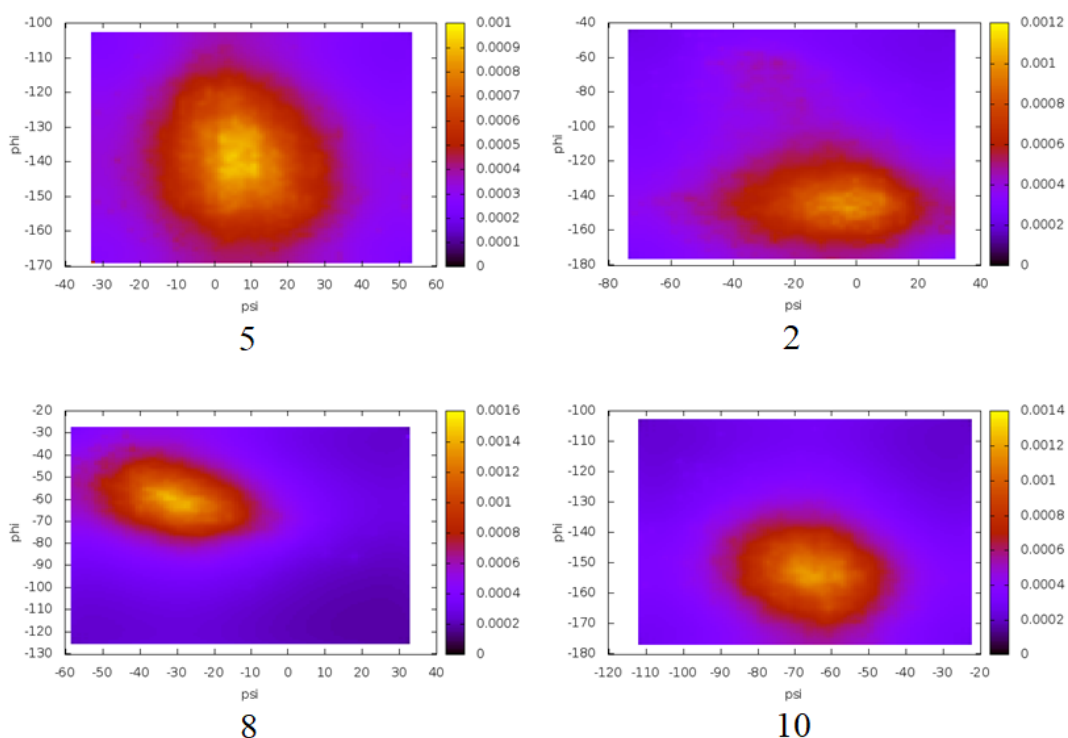
Fazendo uso do *cpptraj*, pares de ângulos diedros, psi e phi, foram obtidos para todas as regiões dos peptídeos (numeradas de 1 a 10, sendo 1 a região mais próxima do terminal amina e 10 a região mais próxima do terminal carboxila), ao longo da trajetória da dinâmica. Em seguida, os valores foram agrupados em histogramas, indicando, dessa maneira, qual a conformação predominante ao longo da cadeia.

Figura 4.1 – Representação dos ângulos diedros para as regiões numeradas da molécula de politirosina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.2 – Representação dos ângulos diedros para as regiões numeradas da molécula de polifenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Para efeito comparativo, os histogramas das Figuras 4.1 e 4.2 representam ângulos diedros em porções diferentes da cadeia para politirosina e polifenilalanina, respectivamente.

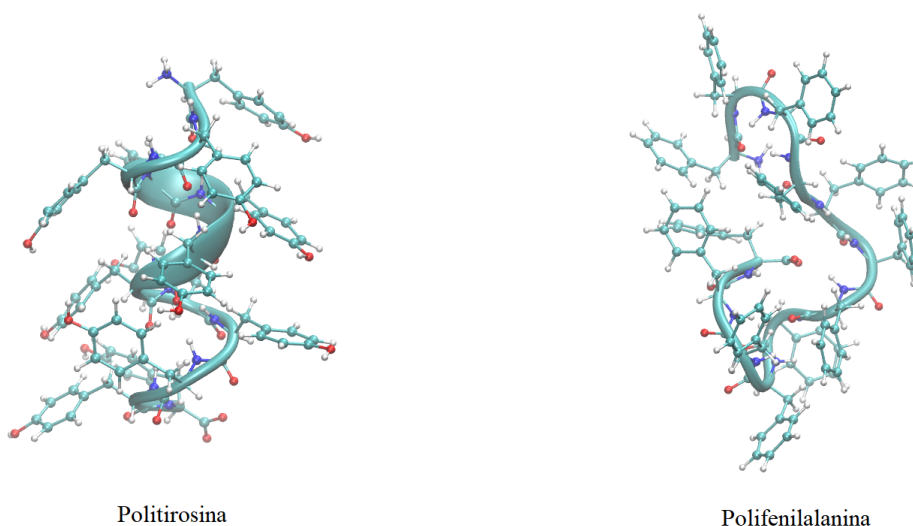
A análise dos diedros indica a predominância de uma estrutura próxima de uma hélice na politirosina, com valores próximos a  $-60^\circ$  para  $\phi$  e  $-40^\circ$  para  $\psi$ , característico de  $\alpha$ -hélice, enquanto que na polifenilalanina há indícios claros de descaracterização da estrutura helicoidal inicial.

A partir da trajetória do sistema é possível observar que as características helicoidais são perdidas rapidamente na fenilalanina. A Figura 4.3 representa as estruturas obtidas após 1 ns de dinâmica, para ambos os sistemas.

Estes resultados obtidos para a polifenilalanina tornam interessante a comparação posterior dos mapas de potencial eletrostático mostrados nas análises dos resultados vindos do cálculo QM/MM. A comparação direta do potencial observado na polifenilalanina entre sistemas com e sem restrições na estrutura do esqueleto, fornecem evidências importantes quanto à contribuição da estrutura em hélice no transporte eletrônico ao longo do peptídeo.

Embora a mudança estrutural seja mais pronunciada para o peptídeo de fenilala-

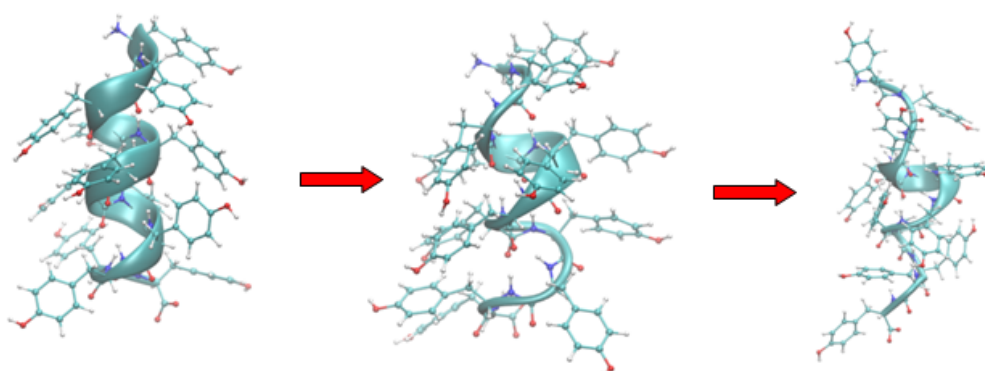
Figura 4.3 – Representação de instantes do início da dinâmica (1 ns) para os peptídeos modelo. Enquanto que a politirosina mantém a estrutura helicoidal, fica evidente a descaracterização completa da estrutura em hélice na polifenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

nina, podemos observar uma alteração mais lenta no peptídeo de tirosina com um intervalo de tempo maior na dinâmica. As Figuras 4.4 e 4.5 mostram claramente esta mudança entre o início e final da trajetória em cada sistema.

Figura 4.4 – Representação sequencial da evolução da hélice de politirosina. Retratos correspondentes a (da esquerda para a direita): Primeiro instante da dinâmica molecular, 5 ns de evolução e 10 ns de evolução (final da dinâmica).

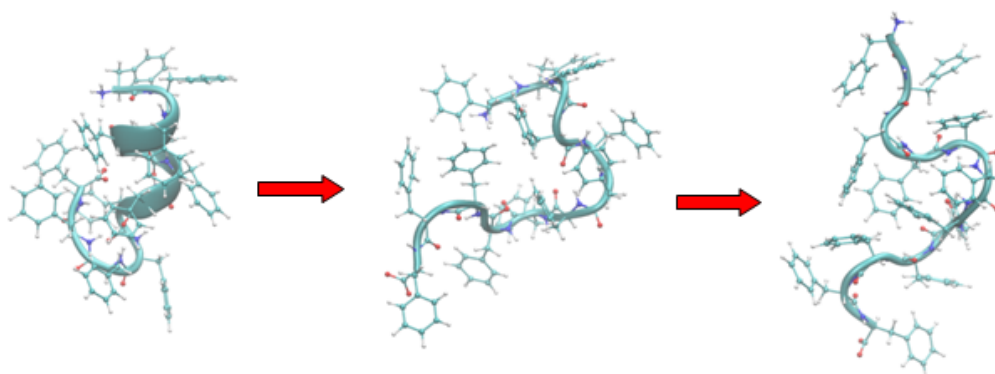


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Estes retratos evidenciam que o peptídeo de tirosina mantém características helicoidais em solução por um tempo relativamente longo, quando comparado ao peptídeo de fenilalanina, principalmente na região central da molécula.

A Figura 4.5 ainda indica o início da descaracterização da hélice para a fenilalanina

Figura 4.5 – Representação sequencial da evolução da hélice de polifenilalanina. Retratos correspondentes a (da esquerda para a direita): Primeiro instante da dinâmica molecular, 5 ns de evolução e 10 ns de evolução (final da dinâmica).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

ainda na otimização de geometria. O fenômeno é bem evidente na região próxima ao terminal carboxila.

Mesmo que apareça apenas em uma região próxima a um dos terminais, a perda da helicidade pode anular parte do efeito dipolo. Assim, aplicar a restrição de posição no esqueleto antes da minimização de energia corrigiria o problema, mas geraria outro na convergência, uma vez que a estrutura inicial se encontrava muito distante de um mínimo de energia.

Outra análise conformacional interessante a ser feita com os resultados da mecânica molecular, são as variações de posições dos resíduos aromáticos presentes nas cadeias laterais e suas respectivas orientações no espaço. A análise ganha importância devido a orientação e proximidade de grupos aromáticos observados na pilina.

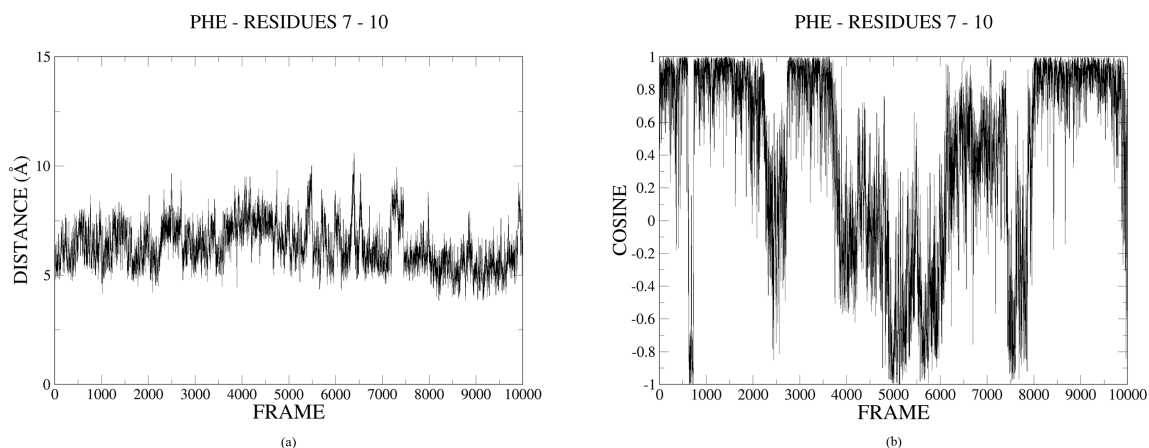
Com o *cpptraj*, as coordenadas dos átomos de cada grupo aromático foram obtidas para toda a trajetória, possibilitando o levantamento de curvas representando as distâncias entre determinados grupos ao longo da dinâmica. Para tanto, escrevemos um algoritmo em python que permitisse o cálculo das coordenadas do centro de massa de cada anel, para todos os instantes da dinâmica, a partir das coordenadas atômicas.

Em posse dos dados de coordenadas atômicas, para cada frame da trajetória, os vetores normais aos planos formados pelos carbonos aromáticos também foram obtidos por meio de um algoritmo em python. Como consequência, curvas fornecendo a variação do cosseno entre planos formados pelos anéis foram levantadas.

As Figuras 4.6 e 4.7 mostram exemplos de pares de resíduos que se mantêm próximos durante grande parte da dinâmica e a orientação relativa entre os planos. Observamos que, de maneira geral, os grupos aromáticos para a politirosina apresentam uma organização mais estável, com empilhamentos mais frequentes que os grupos da

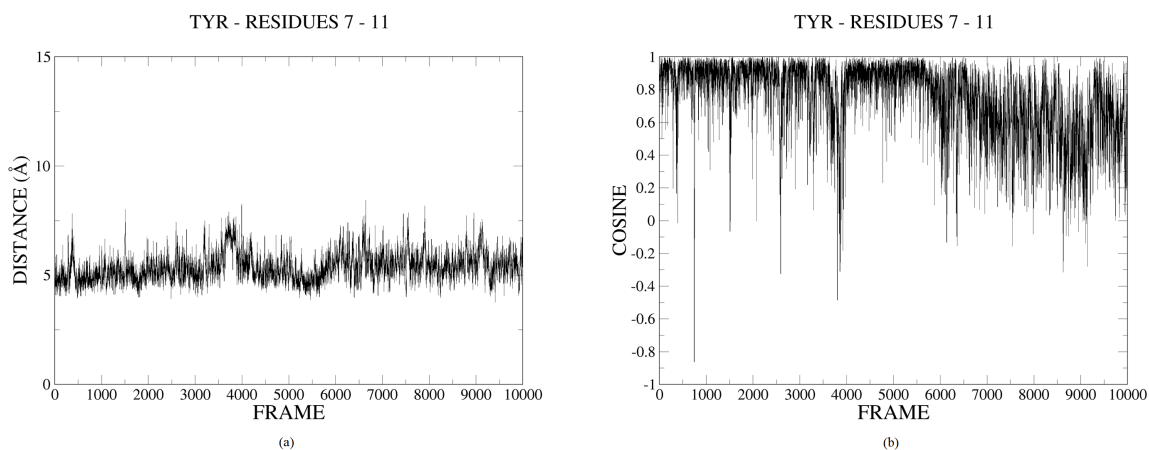
polifenilalanina.

Figura 4.6 – Variação da distância entre os centros de massa (a) e o cosseno do ângulo entre os planos formados pelos anéis (b) dos resíduos 7 e 10 da cadeia lateral da polifenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.7 – Variação da distância entre os centros de massa (a) e o cosseno do ângulo entre os planos formados pelos anéis (b) dos resíduos 7 e 11 da cadeia lateral da politirosina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

A análise da estrutura do esqueleto, aliada à análise da cadeia lateral de cada peptídeo permite admitir que a estabilidade observada na hélice formada por tirosinas é uma consequência do oxigênio presente nos grupos aromáticos, que confere um caráter hidrofílico ao peptídeo. Como na fenilalanina o oxigênio está ausente no anel, o peptídeo apresenta um comportamento hidrofóbico, levando a molécula a assumir uma estrutura globular quando esta se encontra em meio aquoso.

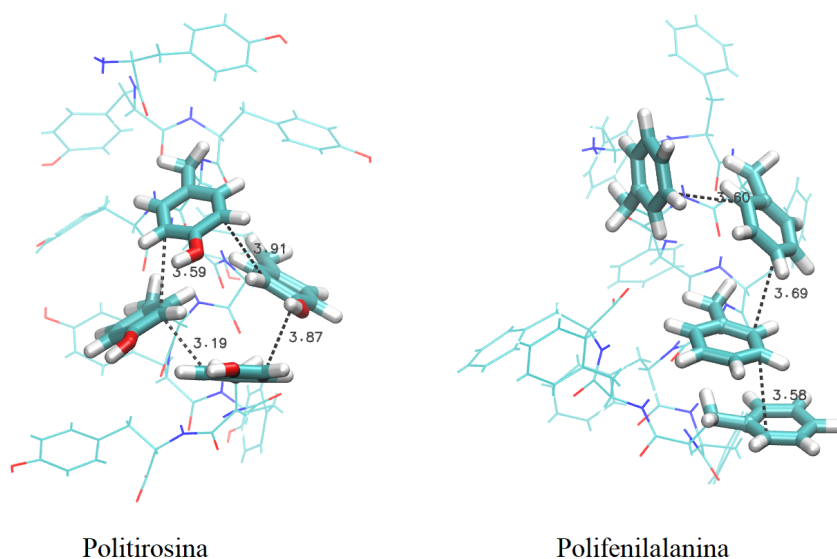
#### 4.1.2 Estrutura eletrônica de aglomerados aromáticos nos modelos miméticos

As curvas de orientação e posição relativa entre anéis distintos auxiliaram no entendimento da organização da cadeia lateral dos peptídeos e guiaram as escolhas necessárias para a realização do método híbrido. Com isso, os dez frames com contatos interessantes foram selecionados, procurando manter intervalos de tempo aproximadamente iguais entre cada um.

Para os sistemas (i) e (ii), as escolhas foram facilitadas, uma vez que a conservação da estrutura helicoidal impedia uma mobilidade muito grande da cadeia lateral. Neste caso, os resíduos utilizados foram os mesmos em quase todas as configurações utilizadas na amostragem, diferentemente da amostragem dos sistemas (iii) e (iv), onde a grande mobilidade da cadeia lateral impediu que os resíduos utilizados na partição QM fossem mantidos de um frame para outro.

As Figuras 4.8 e 4.9 ilustram as partições QM obtidas em um dos frames de cada sistema estudado. É importante enfatizar que os melhores contatos (aproximadamente 4 Å) em cada configuração foram determinados com o auxílio de curvas como demonstrado nas Figuras 4.6 e 4.7.

Figura 4.8 – Representação da partição QM definida a partir dos contatos entre os anéis para os sistemas (i) e (ii).

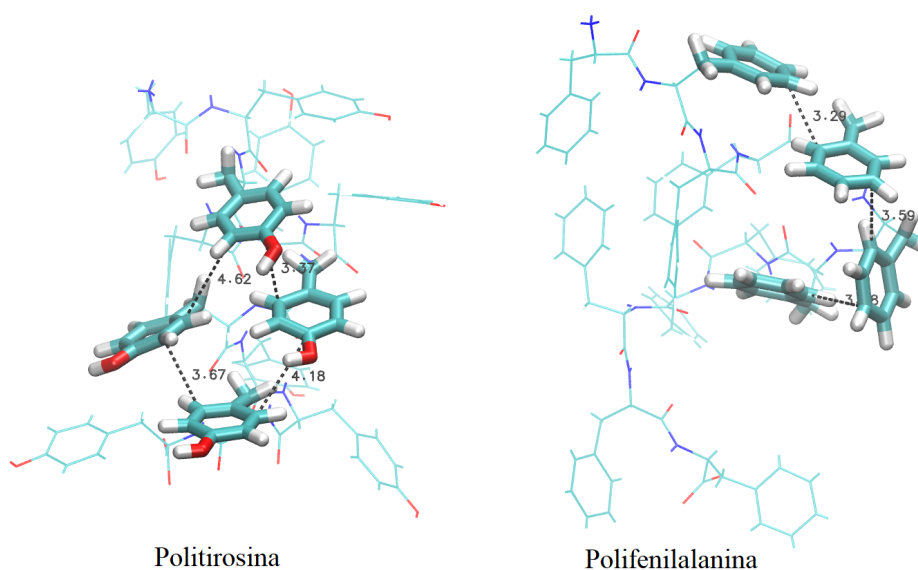


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Com as partições QM e MM devidamente definidas, a densidade de estados eletrônicos foi obtida para cada um dos frames, permitindo a comparação entre os níveis energéticos observados para os sistemas no vácuo e na presença de água, conforme mostrado na Figura 4.10.

Neste caso, o gap observado quando o sistema se encontra no vácuo foi aproxima-

Figura 4.9 – Representação da partição QM definida a partir dos contatos entre os anéis para os sistemas (iii) e (iv).

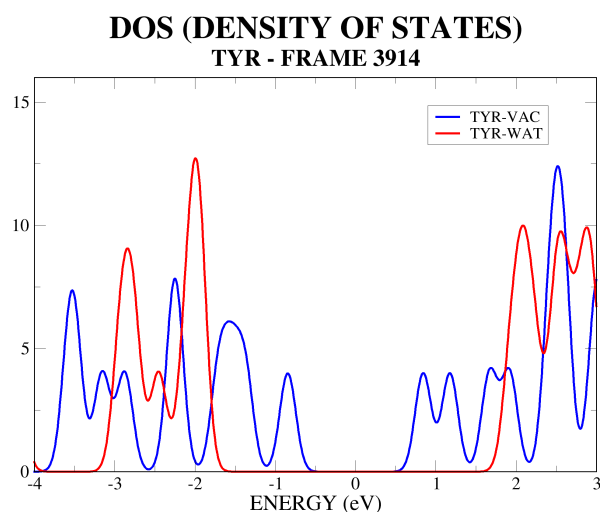


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

damente de 1 eV, enquanto que para o sistema em água o gap abriu para mais de 3 eV.

A diferença na separação dos estados HOMO e LUMO observada para a tirosina é um indicativo de que o ambiente eletrostático na presença da água é diferente, uma

Figura 4.10 – Densidade de estados eletrônicos em um dos frames da politirosina com estrutura helicoidal fixa. A abertura do gap é claramente observada na presença de água.

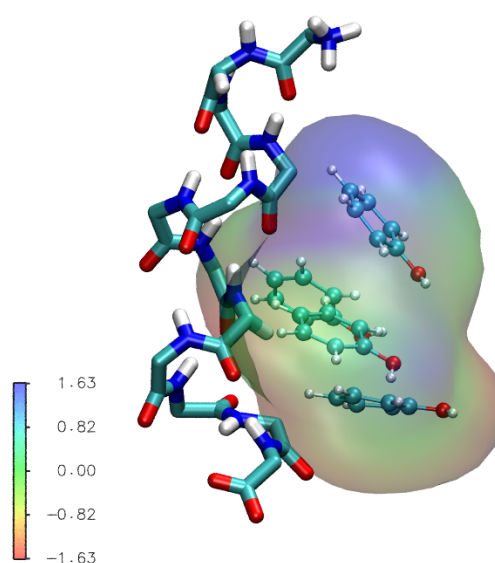


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

vez que não existe apenas o dipolo da hélice. Como consequência, a estrutura eletrônica se modifica e a distribuição eletrônica dos estados de fronteira não mais são localizados nas extremidades. Portanto, artifícios oriundos da condição periódica de contorno também são atenuados.

Essa análise é reforçada quando analisamos o mapa de diferença de potencial do sistema. A Figura 4.11 exhibe a diferença entre o potencial calculado para o sistema, na ausência e presença de água, em cada ponto da malha para a partição QM da hélice de tirosina, em uma faixa de -1,63 V a 1,63 V. Em regiões próximas ao terminal amina, o mapa mostra um valor maior de potencial para o sistema no vácuo com relação ao sistema em solvente. O oposto acontece no terminal carboxila, onde o potencial calculado no vácuo é maior que aquele obtido em solvente.

Figura 4.11 – Mapa de diferença de potencial, em Volts, da hélice de tirosina no Frame 3914, representando a diferença de potencial para o sistema, em cada ponto da malha, na ausência e presença de água.



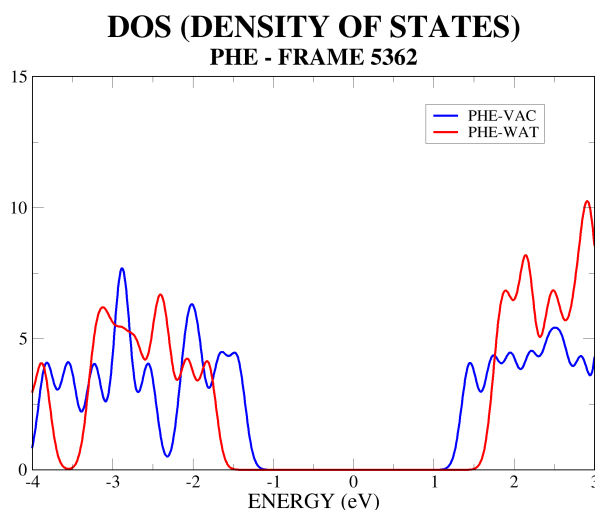
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Este resultado reforça o efeito de neutralização do dipolo da hélice provocado pela água, uma vez que a diferença de potencial entre os terminais da hélice obtida para o peptídeo no vácuo é maior.

Em termos de composição do peptídeo, com a finalidade de detectar diferenças no efeito provocado por grupos aromáticos distintos, realizamos a mesma análise para o peptídeo de fenilalanina com estrutura fixa em hélice (Figura 4.12).

Desta vez, a diferença entre os gaps observados para o HOMO e LUMO foi pequena, embora observável. A presença da água não afetou o gap da mesma forma, o que pode ser justificado pelo gap relativamente grande obtido para o sistema no vácuo.

Figura 4.12 – Densidade de estados eletrônicos em um dos frames da polifenilalanina com estrutura helicoidal fixa. A abertura do gap é observada na presença de água, embora menos pronunciada quando comparada à politirosina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

É importante enfatizar que, embora o sistema tenha sido submetido à uma dinâmica com restrições no esqueleto, partes terminais do peptídeo apresentaram mudanças estruturais com o processo de minimização de energia. Como o momento de dipolo intenso nas hélices pode ser explicado pela soma de dipolos locais nas ligações peptídicas, favorecidos por uma orientação ao longo do esqueleto, uma pequena variação na estrutura peptídica pode afetar o dipolo resultante, o que reflete um gap maior para o sistema no vácuo.

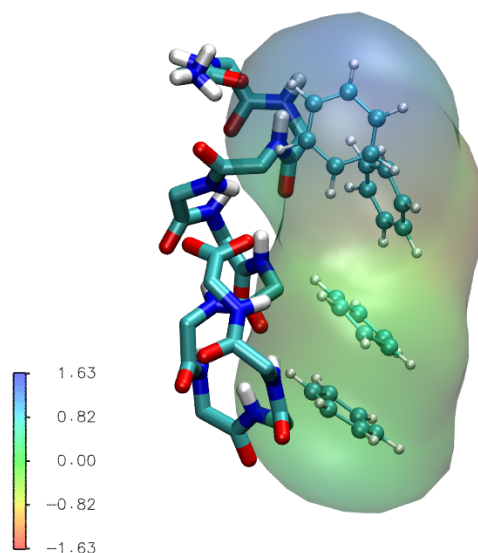
Na Figura 4.13 está representado este efeito no potencial. Assim como na Figura 4.11, esse mapa representa a diferença entre o potencial calculado para o sistema no vácuo e em solvente, para cada ponto da malha.

A diferença de potencial para o sistema é relativamente menor, o que justifica a diferença no gap. Além disso, a identificação da diferença de potencial entre os terminais da hélice é dificultada, em função da dobra observada no terminal carboxila.

Para confirmar as conclusões feitas até aqui é necessária uma análise sobre toda a amostragem. Para facilitar a verificação, as curvas de DOS foram sobrepostas, como mostram as Figuras 4.14 e 4.15 para os sistemas (i) e (ii), respectivamente.

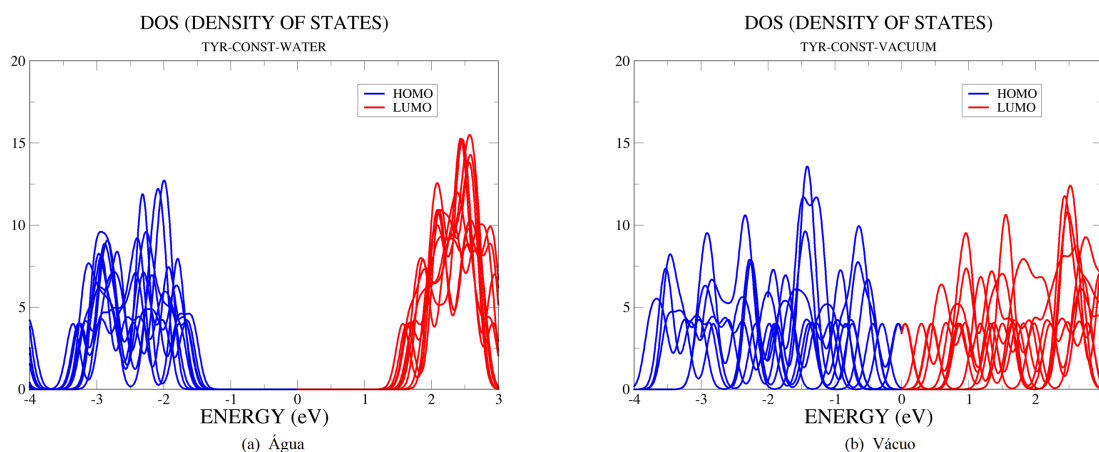
A análise da densidade de estados para toda a amostragem mostra que ao longo da trajetória o gap entre HOMO e LUMO apresenta pouca variação no peptídeo de fenilalanina, tanto em água quanto no vácuo. O mesmo é observado para o peptídeo de tirosina quando este se encontra em meio solvente, mas não observamos este comportamento na ausência de água, onde quase não é possível identificar a separação de estados.

Figura 4.13 – Mapa de diferença de potencial, em Volts, da hélice de fenilalanina no Frame 5362, representando a diferença de potencial para o sistema, em cada ponto da malha, na ausência e presença de água.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.14 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de tirosina.

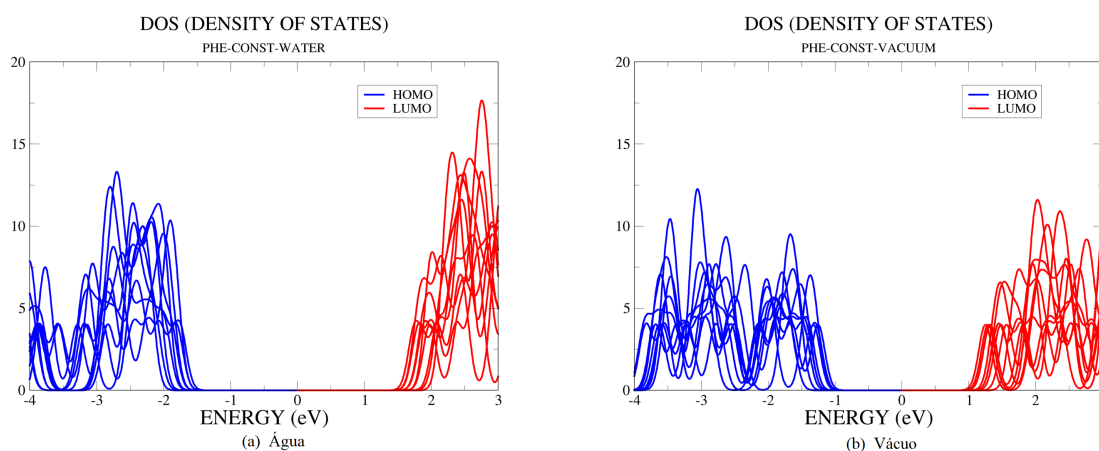


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Este fenômeno observado na politirosina é característicos de metais, mas pode ser justificado como um erro metodológico, uma vez que o resultado do cálculo QM/MM é sensível à escolha da partição, o que interfere diretamente na convergência. Em alguns frames observamos um custo computacional maior, provavelmente devido a resíduos pertencentes à região MM estarem localizados muito próximos da região QM.

Outro fator que justifica esta conclusão é o número de frames em que foi observado

Figura 4.15 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de fenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

este efeito. Na maior parte da amostragem para o sistema no vácuo, a separação dos estados ocupados dos desocupados era observável.

Como os frames amostrados foram diretamente tirados de uma trajetória de dinâmica molecular, cogitamos a possibilidade das forças atuantes nos resíduos escolhidos estarem altas. Assim, uma otimização de geometria foi previamente realizada a fim de verificar a hipótese. Para todos os testes em que a otimização foi realizada, não observamos nenhuma diferença significativa no gap obtido.

Este resultado garante que as forças atuantes no sistema apresentam intensidades adequadas para o cálculo dos níveis energéticos e não comprometeram a separação obtida entre o HOMO e LUMO.

A DOS também foi obtida para os peptídeos vindos de dinâmicas (iii) e (iv).

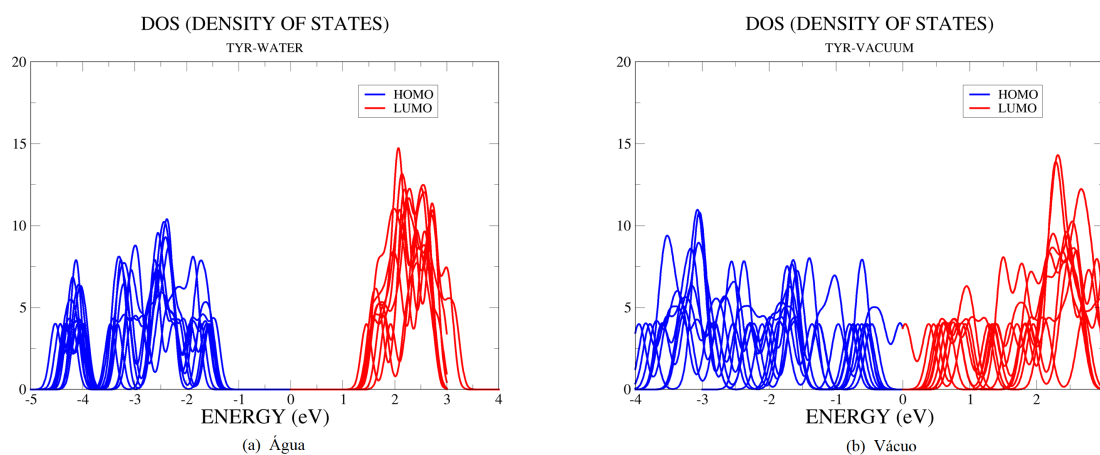
Os resultados obtidos na Figura 4.16 mostram a semelhança na densidade de estados eletrônicos para a tirosina em água quando a estrutura em hélice não é fixa ao longo da dinâmica. Com relação ao vácuo, a DOS mostrou o fechamento praticamente absoluto do gap em apenas um frame, enquanto que o restante se manteve em uma faixa de, aproximadamente, 0,5 eV a 1 eV.

Portanto, a única diferença observada para a politirosina ocorreu para o sistema no vácuo, onde a visualização do gap para a estrutura helicoidal fixa ao longo da dinâmica, não permitiu sua determinação, enquanto que para o peptídeo com o esqueleto livre para se movimentar o gap pode ser observado, embora pequeno.

A Figura 4.17 representa a densidade de estados eletrônicos da amostragem de polifenilalanina, sem restrição na estrutura vinda da dinâmica. Os resultados em água foram próximos daqueles observados para o peptídeo helicoidal.

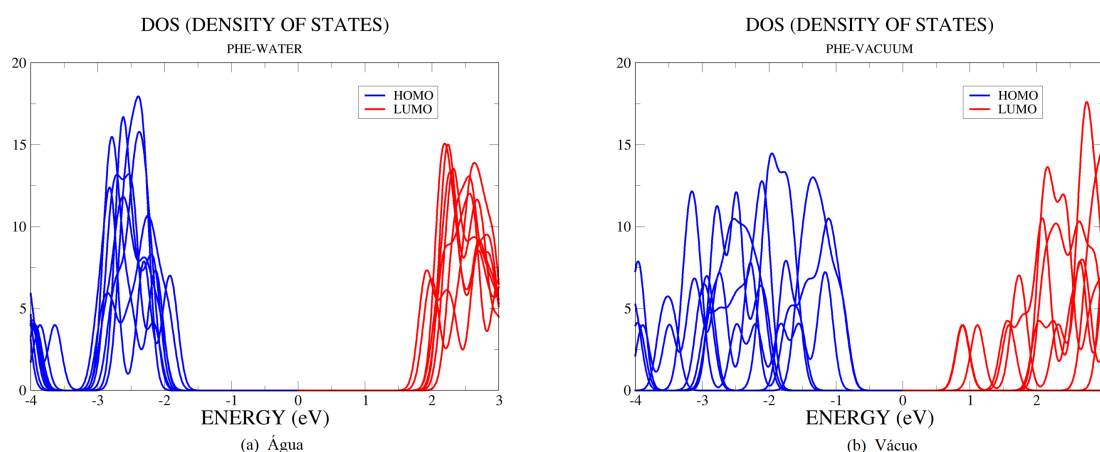
Para o sistema no vácuo, o gap não é bem definido, embora seja maior que o en-

Figura 4.16 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de tirosina. Resultados para os peptídeo sem estrutura helicoidal fixa.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.17 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do peptídeo de fenilalanina. Resultados para os peptídeo sem estrutura helicoidal fixa.



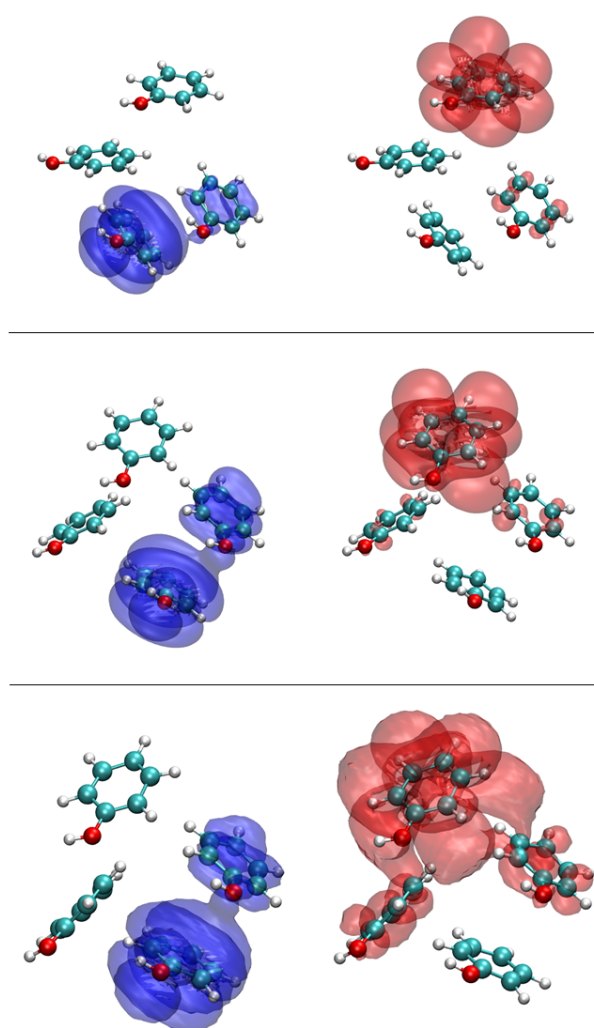
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

contrado na politirosina. Como já citado e ilustrado acima, a polifenilalanina apresenta tendência a buscar uma estrutura globular ao longo da dinâmica, característico de moléculas hidrofóbicas. Este fenômeno dificulta a escolha dos resíduos adequados para o cálculo QM/MM devido a alta taxa de mobilidade dos grupos aromáticos. Isso sugere que o resultado do cálculo híbrido é, aparentemente muito sensível à escolha da partição QM.

Uma análise complementar realizada foi a verificação da localização dos estados de fronteira. O empilhamento de anéis aromáticos pode provocar o alinhamento de orbitais pi (*pi stacking*), o que resulta no compartilhamento eletrônico por mais de um resíduo, ou seja, o orbital eletrônico passa a estar localizado em mais de um anel.

A identificação de instantes em que a densidade eletrônica pode estar localizada em vários resíduos (delocalização eletrônica) sugere a provável transição eletrônica entre anéis aromáticos de forma não radiativa, ou seja, sem a necessidade de absorção de energia pelo sistema. Além disso, identificar a ocupação de regiões diferentes para o mesmo estado em diferentes momentos da dinâmica é outro indicativo da transição eletrônica espontânea nos aglomerados aromáticos.

Figura 4.18 – Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular do peptídeo de politirosina com estrutura helicoidal fixa. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO.



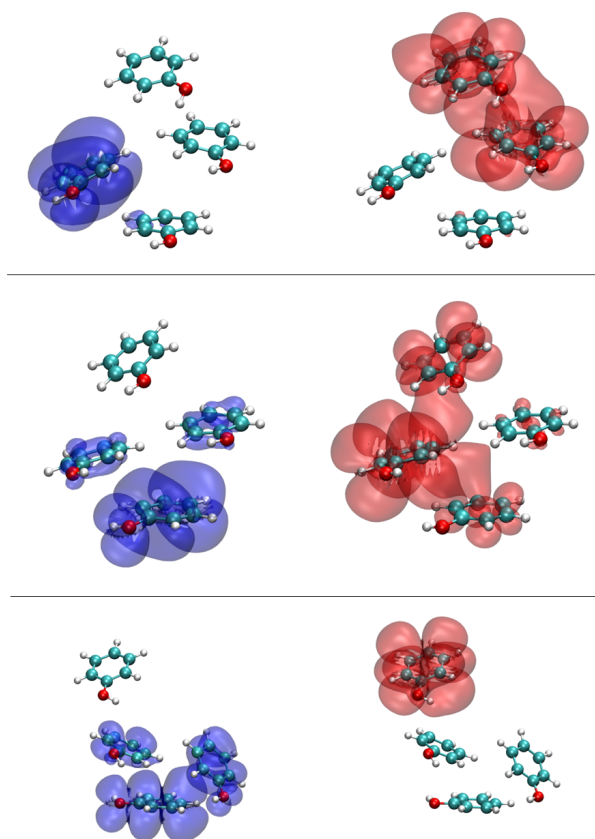
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Em outras palavras, se o elétron se encontrar delocalizado em todo o aglomerado, podemos considerar a hipótese de um regime de transporte por tunelamento, sabendo que este fenômeno depende de uma ponte entre doador e acceptor para que ocorra. Enquanto que a variação da localização eletrônica em um mesmo estado, durante a

dinâmica, pode ser um indicativo de *hopping*, pois neste caso há a identificação de diferentes sítios onde o elétron pode residir.

Buscando identificar estas características nos peptídeos de politirosina e polifenilalanina, a visualização dos estados eletrônicos para ambos os modelos estão representadas nas Figuras 4.18, 4.19 e 4.20. Para tal análise, utilizamos frames cujas partições QM são compostas pelos mesmos resíduos, permitindo que as variações das localizações do HOMO e LUMO para esta região da cadeia lateral fossem avaliadas sem a necessidade de considerar a substituição de nenhum anel aromático.

Figura 4.19 – Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular do peptídeo de politirosina sem estrutura helicoidal fixa. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Em grande parte dos frames representados, é evidente a ocupação de mais de um resíduo da cadeia lateral tanto para o HOMO quanto para o LUMO, o que era esperado devido ao *stacking*. Em alguns poucos frames esta ocupação se estende a até três resíduos.

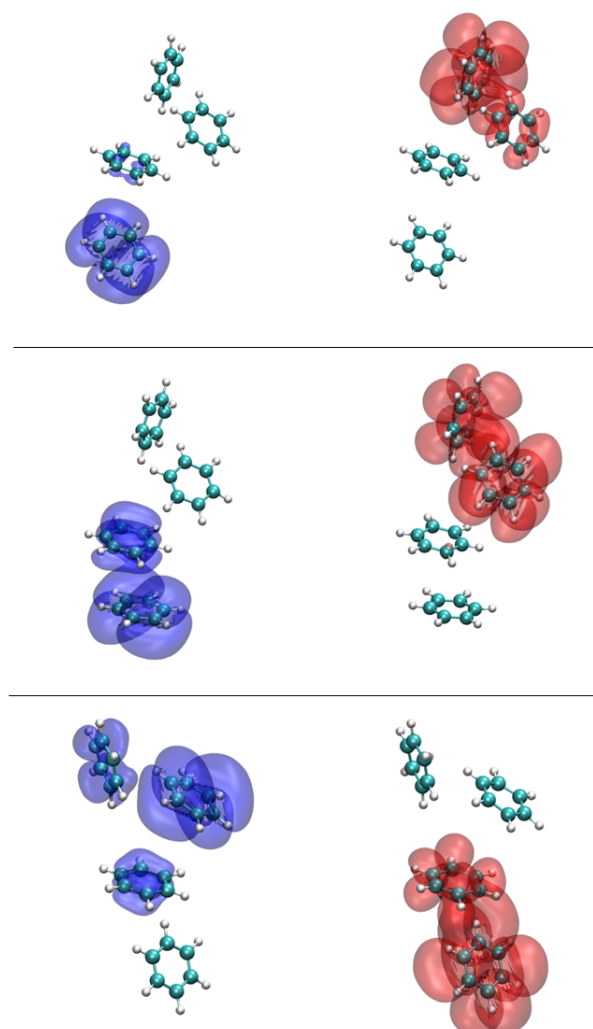
Embora o HOMO no peptídeo de politirosina com estrutura em hélice fixa (Figura 4.18) apresente ocupação de dois anéis em toda a dinâmica, não há variação da localização eletrônica para este estado com a evolução do sistema. Contudo, observamos

a ocupação de mais anéis no LUMO.

No entanto, no peptídeo de politirosina sem restrições de posição aplicadas ao esqueleto identificamos não somente a ocupação de dois ou mais anéis no HOMO, como também diferentes regiões visitadas pelo elétron em diferentes momentos da trajetória para este mesmo estado (Figura 4.19).

O peptídeo de polifenilalanina também apresentou localização eletrônica de mais de um resíduo no mesmo estado e, além disso, identificamos a ocupação de diferentes regiões para o HOMO e LUMO (Figura 4.20).

Figura 4.20 – Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular do peptídeo de polifenilalanina com estrutura helicoidal fixa. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Obviamente, muitas características eletrônicas dos sistemas podem não ter sido observadas devido ao pequeno número de frames utilizados na amostragem, o que dificulta inferir sobre o regime de transporte nos modelos estudados. Contudo, a iden-

tificação da pluralidade de resíduos da cadeia lateral ocupados em um estado, bem como a ocupação de diferentes regiões pelo mesmo estado como consequência da evolução do sistema, são características importantes que indicam a contribuição de aglomerados aromáticos na cadeia lateral para o transporte eletrônico na pilina.

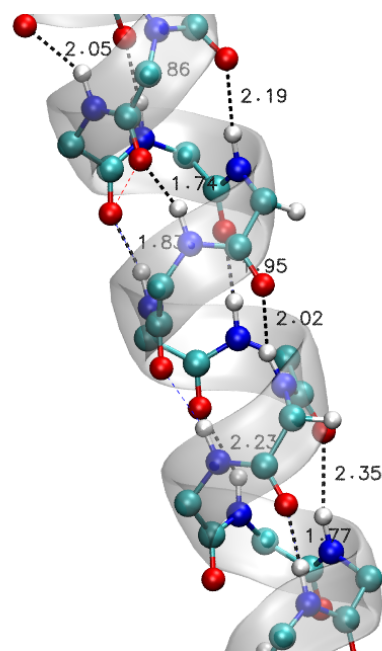
## 4.2 Pilus

### 4.2.1 Análise estrutural do pilus

Para que um modelo proposto para a fibra tenha validade para estudo, primeiramente deve apresentar estabilidade estrutural ao longo da dinâmica. Como os modelos apresentam cadeias helicoidais, a prevalência de grande parte desta estrutura durante a dinâmica é de fundamental importância para análises posteriores. Contudo, houve uma quebra da molécula no modelo de pilus (II) em um instante próximo de 50 ns de dinâmica. Sendo assim todas as análises referentes a este modelo serão feitas para a primeira metade da trajetória.

Uma forma de identificar uma estrutura predominantemente helicoidal é a análise de ligações de hidrogênio formadas entre átomos de hidrogênio e oxigênio no esqueleto da proteína. Na Figura 4.21 estão representadas as distâncias entre estes átomos.

Figura 4.21 – Distâncias entre átomos de hidrogênio e oxigênio presentes em uma das hélices do pilus (II).



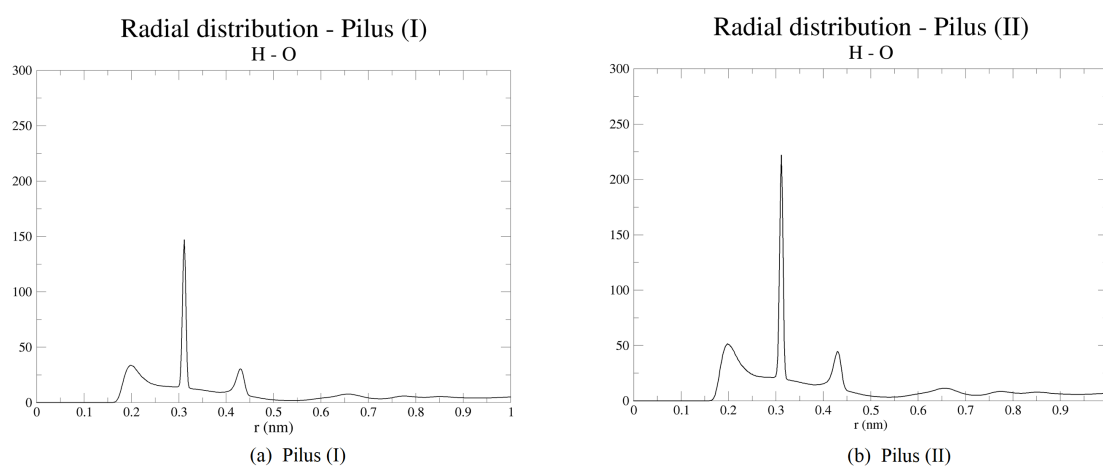
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Assim, distâncias próximas de 3 Å entre estes átomos indicam uma estrutura helicoidal. A partir da função de distribuição radial (*RDF*) utilizada no pós processamento

do GROMACS, obtivemos curvas indicando as distâncias mais frequentes entre os átomos de hidrogênio e oxigênio do esqueleto da fibra.

A função de distribuição radial utiliza como referência um átomo de hidrogênio e divide o espaço em torno deste átomo em cascas esféricas de raios diferentes. A partir disto, o método determina o número de átomos de oxigênio presente em cada casca ao longo de toda a dinâmica. O cálculo é feito para cada átomo de hidrogênio do esqueleto e uma curva é obtida ao final do processo. A Figura 4.22 representa as curvas *RDF* obtidas para os dois modelos de pilus.

Figura 4.22 – Distribuição radial no *backbone* de átomos de oxigênio do com relação aos átomos de hidrogênio.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

As curvas obtidas para ambos os modelos são similares, com picos situados a distâncias próximas de 3 Å, o que evidencia uma frequência significativamente alta de oxigênios próximos a hidrogênios no *backbone*, indicando uma estrutura predominantemente helicoidal para as subunidades da fibra em toda a trajetória.

Mesmo através da visualização direta dos frames no VMD, foi possível notar que as subunidades mantiveram as características helicoidais em grande parte de suas estruturas após 100 ns de evolução.

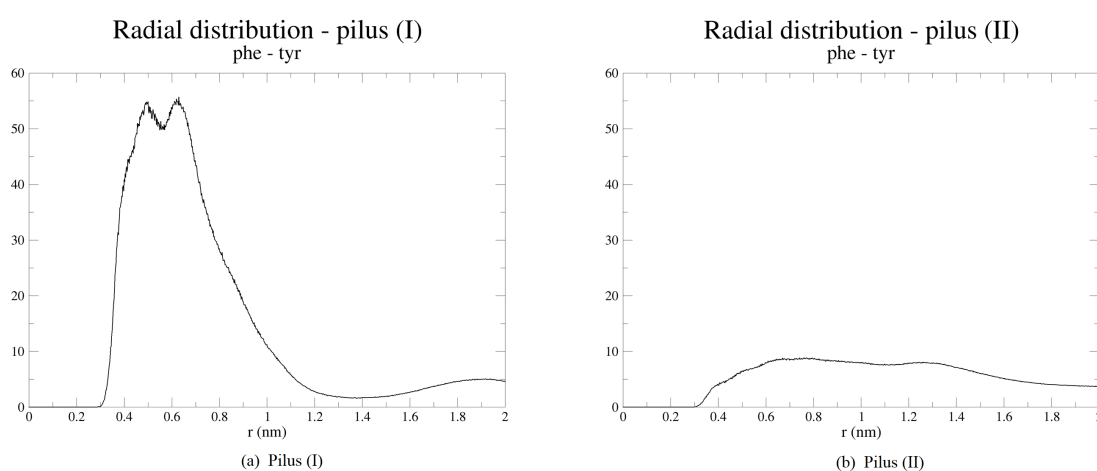
Os contatos aromáticos presentes em cada estrutura configuram uma característica importante do sistema. Anéis aromáticos próximos podem indicar empilhamento (*pi stacking*). Como citado anteriormente, este trabalho apresenta interesse particular na estrutura eletrônica de aglomerados aromáticos.

A interação entre subunidades vizinhas resultou, inicialmente, em uma organização estruturada dos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 na região central da fibra no modelo do pilus (I). Assim, verificar a estabilidade destes resíduos é de fundamental importância, visto que grupos aromáticos podem desempenhar uma função importante em regimes de transporte de carga em proteínas.

Enquanto isso, a estrutura inicial do pilus (II) não apresentava uma organização padrão dos resíduos de fenilalanina e tirosina. Em contrapartida, tais resíduos são frequentes na estrutura e alguns se encontravam a curtas distâncias. A identificação de contatos próximos predominantes entre esses grupos em toda a trajetória pode indicar aglomerados na estrutura, mesmo que aleatórios.

A análise da proximidade de resíduos aromáticos também foi feita por meio da distribuição radial de átomos de anéis de resíduos de tirosina com relação aos átomos de anéis de resíduos de fenilalanina. A Figura 4.23 mostra a curva obtida para cada um dos sistemas.

Figura 4.23 – Distribuição radial entre resíduos aromáticos de interesse nos modelos de pilus.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

A curva obtida para o pilus (I) apresenta dois picos próximos. Estas regiões da curva indicam distâncias de aproximadamente 4 Å e 7 Å entre os átomos dos anéis de fenilalanina com os átomos dos anéis de tirosina, o que indica uma possível estabilidade na organização dos resíduos aromáticos da região central da fibra.

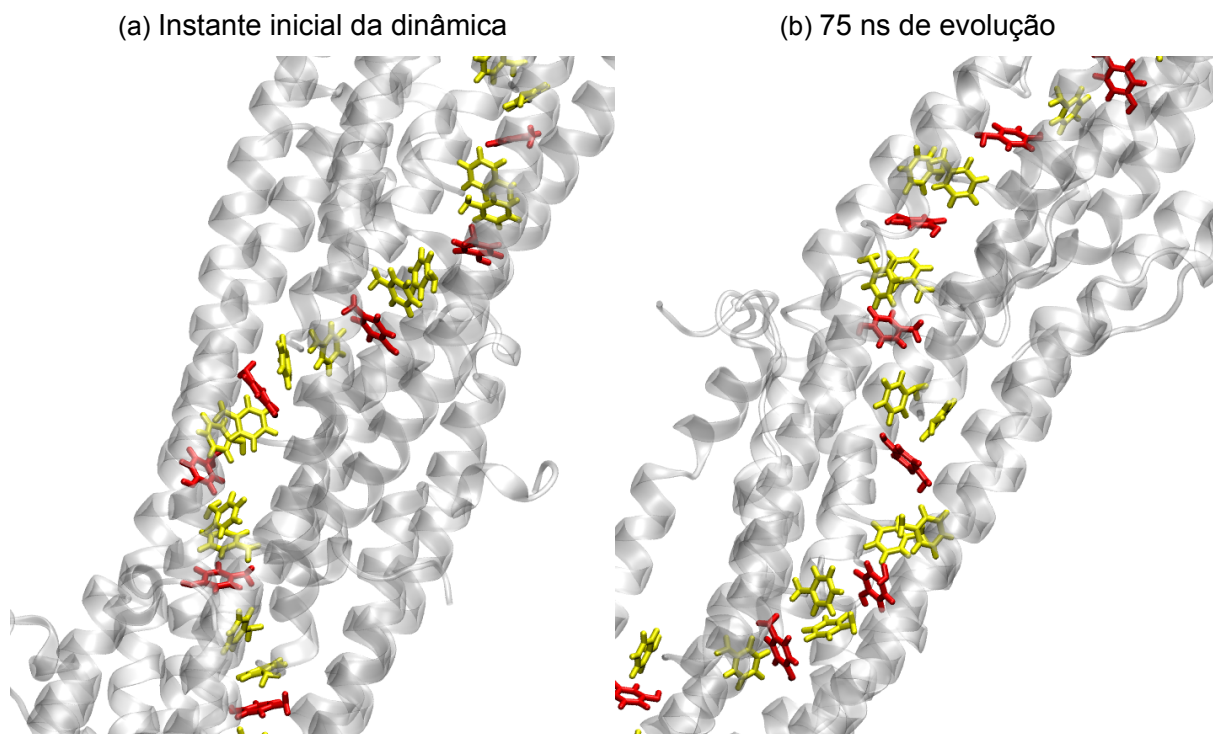
No entanto, para o pilus (II), observamos uma distribuição mais homogênea, com contatos ligeiramente mais frequentes em uma região próxima de 6 Å. Este resultado indica que não há aglomerados aromáticos frequentes ao longo de toda estrutura da fibra na trajetória avaliada.

#### 4.2.2 Estrutura eletrônica de aglomerados aromáticos no pilus

A disposição dos resíduos de tirosina e fenilalanina fornecem uma orientação na definição da melhor partição QM (com relação aos contatos entre resíduos próximos) para os frames utilizados na amostragem.

Com relação ao Pilus (I), embora os resíduos aromáticos da região central da fibra permaneçam próximos, o *stacking* paralelo observado inicialmente entre os anéis não

Figura 4.24 – Organização dos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 no início e após 75 ns de dinâmica molecular.



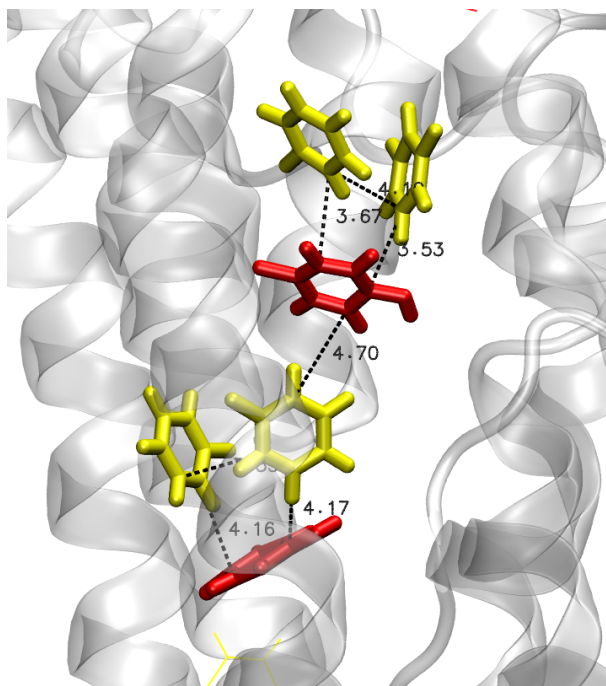
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

está mais presente com a evolução do sistema no tempo, onde a formação de "ilhas" é notada em grande parte da estrutura. É observado que os resíduos Phe1 e Phe24 apresentam uma orientação em "T" com relação ao resíduo Tyr27. A comparação entre a organização dos anéis na estrutura inicial e durante a dinâmica está representada na Figura 4.24.

Com a estabilidade do arranjo estruturado dos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 do pilus (I), apresentado na Figura 4.23, a escolha da partição QM não representou um desafio, sendo necessária apenas a observação de regiões onde os átomos de anéis próximos se encontrassem a distâncias de aproximadamente 4 Å do anel vizinho. A representação da partição QM para um dos frames está representada na Figura 4.25.

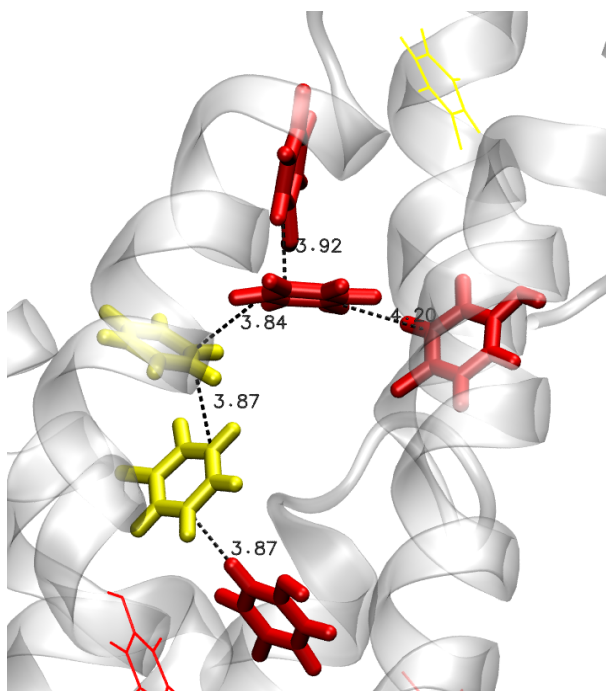
No modelo de pilus (II) não encontramos a mesma facilidade na definição da partição QM, uma vez que não há uma organização padrão de resíduos aromáticos. Contudo, observamos uma região próxima a uma das extremidades da fibra, onde um aglomerado de grupos aromáticos aparece com frequência ao longo da trajetória da dinâmica. No aglomerado pode ser notada a presença dos resíduos Phe24, Tyr27, Tyr32 e Phe51 de cadeias diferentes, e a escolha dos seis resíduos para compor a partição QM dependeu exclusivamente das distâncias entre átomos dos anéis vizinhos no frame em análise. A representação da partição QM para um dos frames do sistema está representada na Figura 4.26.

Figura 4.25 – Representação da partição QM em um frame do Pilus (I). Resíduos selecionados com base nos contatos entre os átomos de anéis vizinhos. Distâncias verificadas de aproximadamente 4Å.



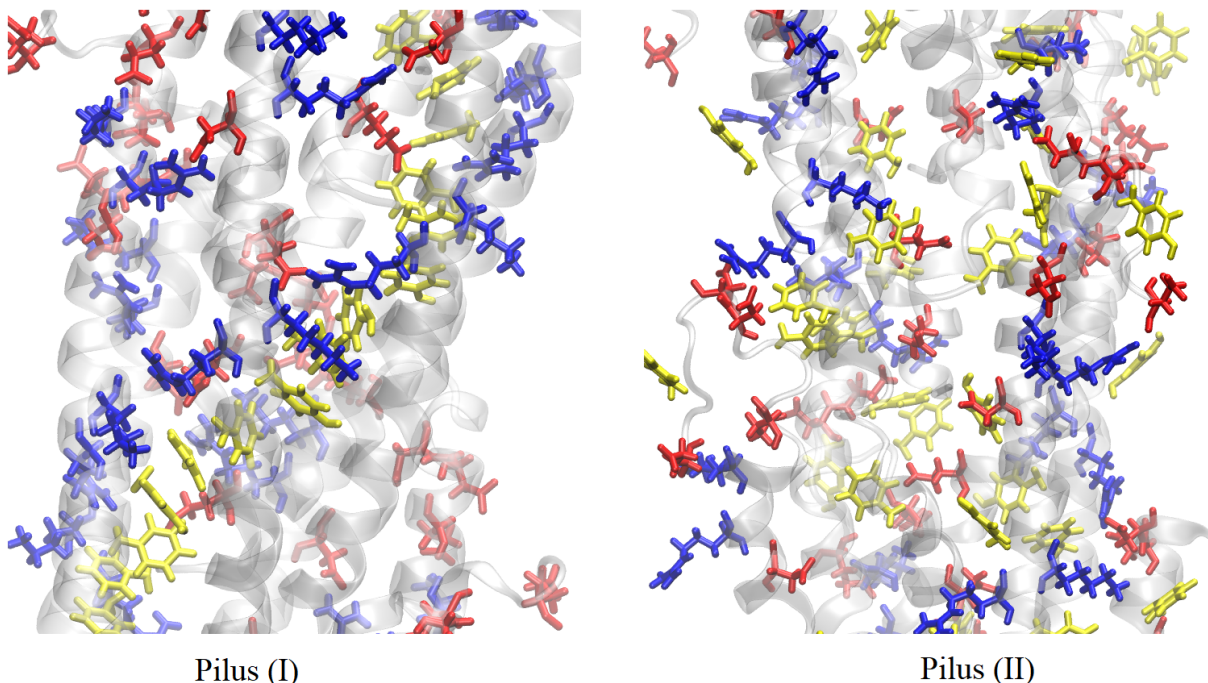
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.26 – Representação da partição QM em um frame do Pilus (II). Resíduos selecionados com base nos contatos entre os átomos de anéis vizinhos. Distâncias verificadas de aproximadamente 4Å.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.27 – Representação dos resíduos carregados próximos aos grupos aromáticos em ambos os modelos de pilus. Destaque em amarelo para a cadeia lateral dos resíduos de tirosina e fenilalanina, em vermelho para os resíduos de caráter ácido e em azul para os resíduos de caráter básico.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Diante dos resultados obtidos para os modelos miméticos, a análise comparativa dos estados eletrônicos para o sistema na presença e ausência de água se tornou interessante para verificar se a fibra de fato blinda os anéis do efeito do solvente no pilus (I). Além disso, a separação dos estados de fronteira revela a energia necessária para a promoção de um elétron a um nível desocupado. Esta transição de estados torna um estado de mais baixa energia acessível para um elétron de um sistema vizinho. Este fenômeno possibilitaria transições eletrônicas ao longo de toda a proteína.

Com esses objetivos, verificamos o gap de energia entre os estados HOMO e LUMO em ambos os casos.

No entanto, o excesso de resíduos carregados próximos da partição QM pode causar grande influência na estrutura eletrônica dos aglomerados aromáticos. A Figura 4.27 destaca os resíduos carregados na estrutura da fibra para ambos os modelos de pilus.

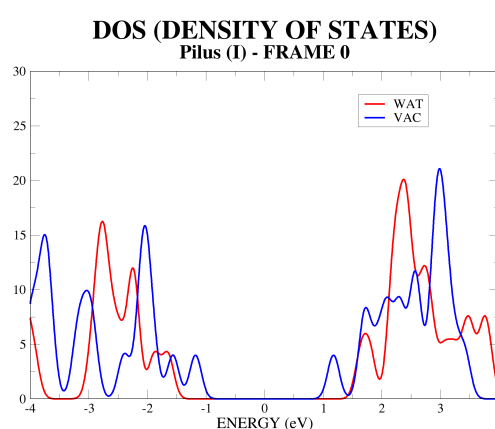
É notável a grande concentração de resíduos Arg28 e Lys30 próximos aos aglomerados formados por tirosina e fenilalanina no pilus (I). A carga positiva destes grupos pode afetar a densidade eletrônica, gerando uma forte atração eletrostática. Além disso, o que mais chama a atenção é a proximidade entre os grupos positivos sem a presença de grupos negativos para balancear as forças de repulsão envolvidas entre

estes grupos de caráter básico. Até mesmo a estabilidade da molécula poderia ser comprometida devido a esta repulsão, mas como foi mostrado na análise dos resultados da dinâmica molecular a conformação da fibra é predominantemente helicoidal após 100 ns de evolução.

O efeito dos resíduos Arg 28 e Lys30 serão apresentados na visualização da localização dos estados eletrônicos.

A Figura 4.28 representa a DOS obtida para os anéis selecionados da estrutura inicial do pilus (I), antes de ser submetida à simulação de 100 ns de evolução no tempo.

Figura 4.28 – Densidade de estados eletrônicos no frame do Pilus (I) correspondente ao instante inicial da dinâmica molecular.



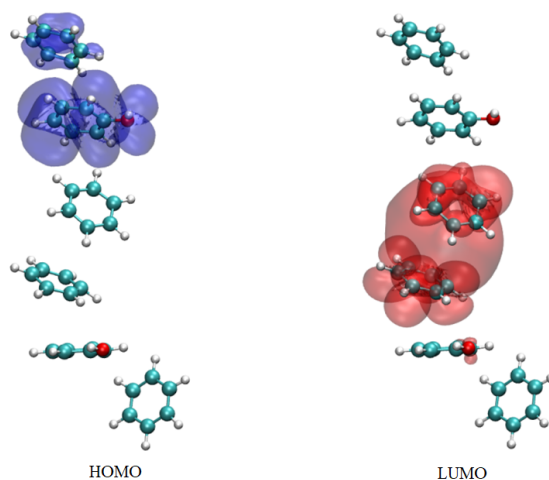
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

O gap reduzido observado para o sistema no vácuo (2,35 eV contra 3,29 eV calculado em água) mostra que, mesmo localizados na região central da fibra, os resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 não estão isolados do efeito da água. Mais interessante, não há nenhum indicativo de comportamento metálico neste arranjo periódico de anéis aromáticos.

Além disso, a localização dos estados de fronteira foram verificadas e estão representadas na Figura 4.29. É possível notar que existe um vazamento de carga no LUMO, que está localizado nos resíduos Phe1 e Phe24. Como mostrado anteriormente, Phe1 é um resíduo amino terminal, o que significa que a carga positiva concentrada nesta região atrai a densidade de carga presente, causando a visível deformação. O mesmo não ocorre no HOMO, uma vez que a densidade de carga está concentrada a uma distância maior do terminal amina.

O vazamento de carga para a estrutura no vácuo foi mais pronunciado comparado ao observado na estrutura em água. Neste caso, a densidade de carga é atraída para o resíduo Lys30 próximo à região. Possivelmente, a água neutraliza o efeito da carga positiva, resultando em uma atração menos intensa gerada por parte desta, o que

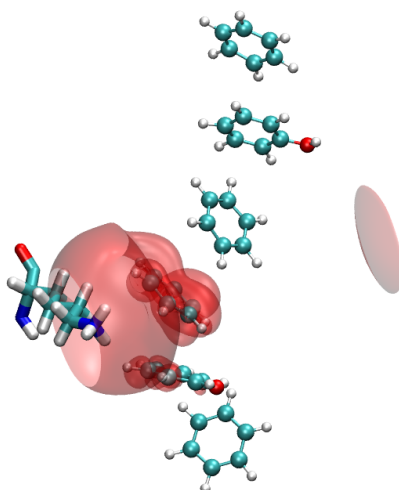
Figura 4.29 – Localização do HOMO e LUMO nos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 do pilus (I) no instante inicial da dinâmica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

evita que a densidade de carga sofra forte atração por parte deste grupo e fique mais concentrada no terminal amina. A Figura 4.30 mostra a concentração de carga em torno da Lys30 na ausência de água.

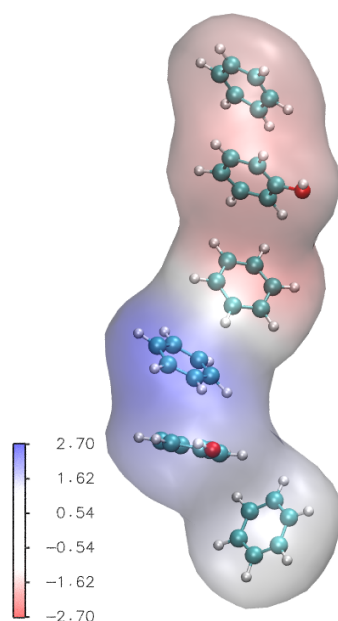
Figura 4.30 – Vazamento de carga devido à presença do resíduo Lys30 no LUMO obtido para o Pilus (I) no vácuo, no instante inicial da dinâmica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Outro resultado comparativo de ambos os cálculos para esta configuração inicial do pilus (I) é o mapa de potencial eletrostático. A diferença entre o potencial obtido para o sistema no vácuo com o potencial obtido para o sistema na presença de água

Figura 4.31 – Mapa da diferença de potencial em Volts obtido para o sistema no vácuo e em água, na estrutura do Pilus (I) do início da dinâmica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

está representado na Figura 4.31, para uma faixa de -2,7 a 2,7 V.

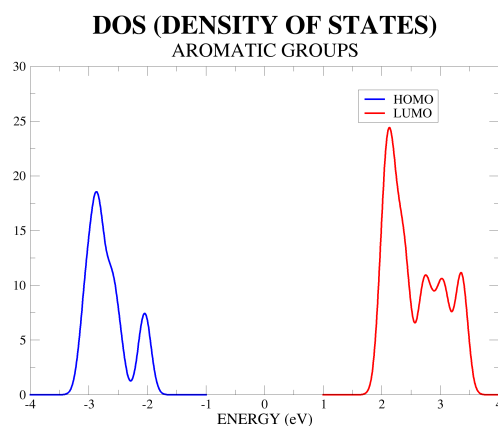
O mapa indica um dipolo mais intenso no vácuo, evidenciando mais uma vez a ação do solvente no ambiente eletrostático do sistema. Da mesma maneira como observado nos modelos miméticos, o dipolo presente na estrutura devido à hélice não está presente em água, mais um fator que sugere que o arranjo periódico estruturado dos resíduos de interesse não está isolado da água.

Para a análise da influência que a matriz protéica impõe na configuração eletrônica da partição QM e no ambiente eletrostático que age sob o mesmo, um cálculo para os anéis isolados no vácuo foi realizado. Os níveis energéticos obtidos estão apresentados na Figura 4.32. O gap de energia calculado entre os estados de fronteira foi de 4,02 eV, grande quando comparado a 2,35 eV obtido para o mesmo aglomerado presente na fibra na ausência de água.

Este resultado destaca a contribuição da estrutura da proteína na configuração eletrônica dos anéis. A Figura 4.33 mostra a localização do HOMO e LUMO no aglomerado isolado da proteína. Embora o HOMO apresente semelhança com aqueles obtidos na fibra, o LUMO se encontra distribuído ao longo de cinco anéis. É importante ressaltar as ausências do grupo amina e de resíduos polares neste sistema, o que evita uma concentração de carga em determinada região.

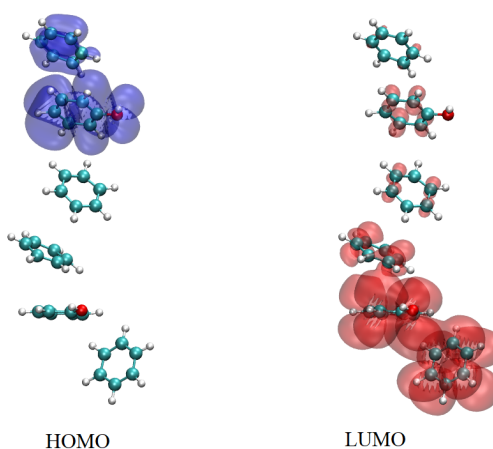
A comparação entre os resultados de estrutura eletrônica da configuração inicial da dinâmica com a configuração em um instante aleatório da trajetória é interessante devido ao rearranjo dos grupos aromáticos em ilhas, como foi mostrado na Figura 4.24.

Figura 4.32 – Densidade de estados eletrônicos para o aglomerado aromático isolado da proteína. Coordenadas retiradas da partição QM do pilus (I) em sua estrutura correspondente ao início da dinâmica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.33 – Localização do HOMO e LUMO no aglomerado, que corresponde à partição QM selecionada no Pilus (I), isolado da fibra.



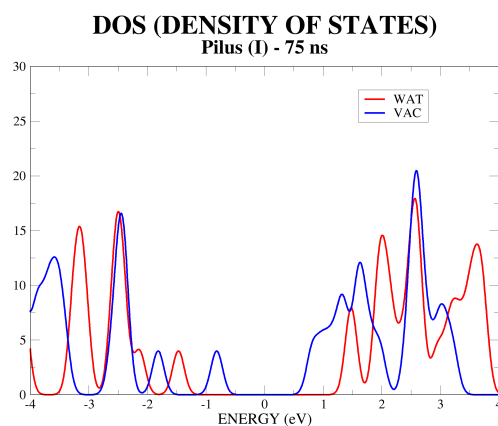
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Neste caso, utilizamos um frame correspondente a 75 ns de evolução, na qual a DOS está representada na Figura 4.34.

Mais uma vez podemos observar um gap reduzido na ausência de água, enfatizando a influência significativa do solvente nos níveis energéticos. Os valores obtidos para o gap nesta configuração foram de 2,94 eV e 1,63 eV, em água e no vácuo, respectivamente.

Além disso o mapa de diferença de potencial nos dois meios (Figura 4.35) apresentou um momento de dipolo mais bem definido no vácuo quando comparado ao mapa obtido na estrutura inicial. Este resultado reforça mais uma vez as observações feitas

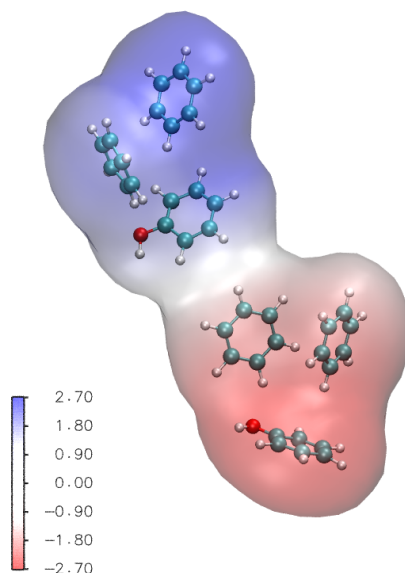
Figura 4.34 – Densidade de estados eletrônicos no Pilus (I), para o frame correspondente a 75 ns de dinâmica molecular.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

na DOS.

Figura 4.35 – Mapa da diferença de potencial em Volts obtido para o sistema no vácuo e em água, na estrutura do Pilus (I) após 75 ns de dinâmica molecular.

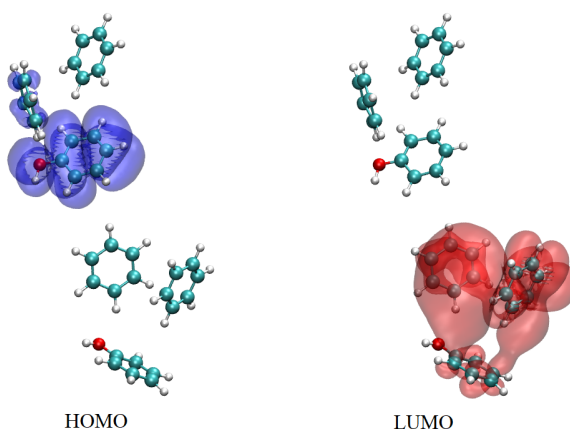


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

A localização dos estados eletrônicos para esta configuração está apresentada na Figura 4.36. Observamos um efeito de polarização no LUMO, mais uma vez como resultado da interação da carga positiva do terminal amina com a densidade eletrônica. A concentração da densidade entre Phe1 e Phe24 é visível e também foi observada no resultado obtido no vácuo, mas devido à ausência do solvente para neutralizar a forte

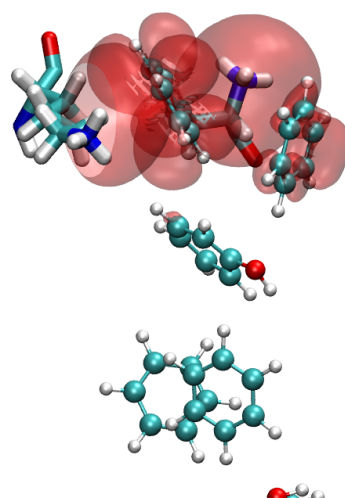
interação de resíduos com carga positiva próximos a densidade de carga, há também a forte interação eletrônica com o resíduo Lys30 (Figura 4.37). Assim como observado no frame inicial, no HOMO há uma maior concentração no resíduo Tyr27, distante o suficiente de uma região com carga positiva, o que evita que a carga seja atraída para fora dos anéis.

Figura 4.36 – Localização do HOMO e LUMO nos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27 do pilus (I) após 75 ns de dinâmica.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.37 – Polarização devido às presenças do resíduo Lys30 e do terminal amina no LUMO obtido para o Pilus (I) no vácuo, na configuração após 75 ns de dinâmica.



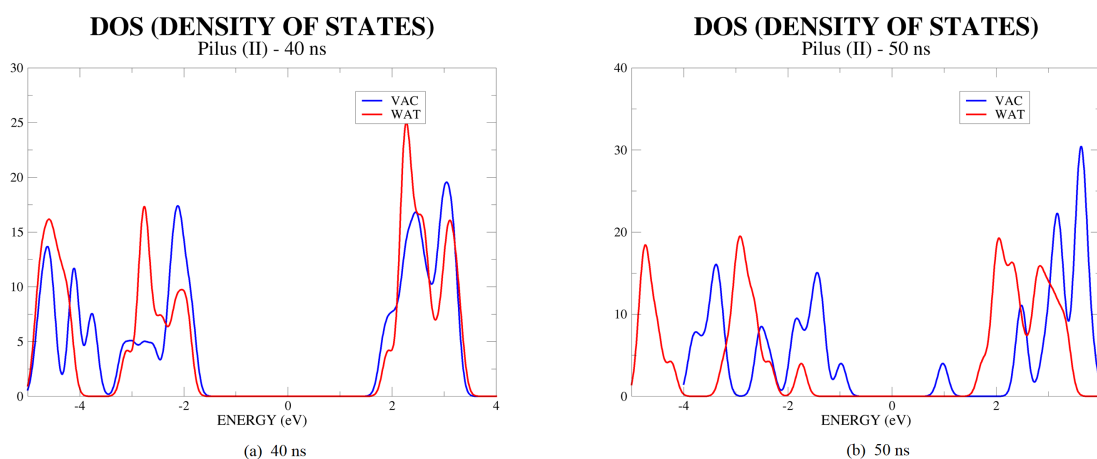
Fonte: Elaborado pelo próprio autor

O cálculo com os anéis de benzeno e fenol isolados da fibra, na configuração que representa a partição QM do frame referente a 75 ns de evolução do sistema, indi-

cou resultados muito próximos do observado no mesmo cálculo realizado na estrutura inicial, com um gap entre HOMO e LUMO de aproximadamente 4 eV. Este resultado confirma a contribuição da matriz proteica para a redução da separação dos estados de fronteira.

Os resultados obtidos com o cálculo de estrutura eletrônica para o pilus (II) apresentaram uma dependência da composição da partição QM. Enquanto que para o pilus (I) a composição sempre consistia nos resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27, sendo dois de cada um, a partição QM do pilus (II) não apresentava sempre a mesma quantidade para cada um dos resíduos Phe24, Tyr27, Tyr32 e Phe51. O que observamos é que quanto maior a quantidade de resíduos de tirosina, menor é a diferença para separação energética entre HOMO e LUMO do sistema em água e no vácuo. A Figura 4.38 apresenta a DOS obtida para as estruturas correspondentes a 40 e 50 ns de evolução.

Figura 4.38 – Densidade de estados eletrônicos para os frames 40 e 50 ns do Pilus (II).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Embora existente, o gap entre HOMO e LUMO para a partição selecionada após 40 ns de dinâmica na presença de água (3,84 eV) é muito próximo do gap para a estrutura na ausência da mesma (3,67 eV). Esta diferença é quase indistinguível para este frame.

Para o frame retirado com 50 ns de dinâmica é visível que a separação entre HOMO e LUMO é reduzida no vácuo, 2,28 eV contra 3,48 eV obtido em água.

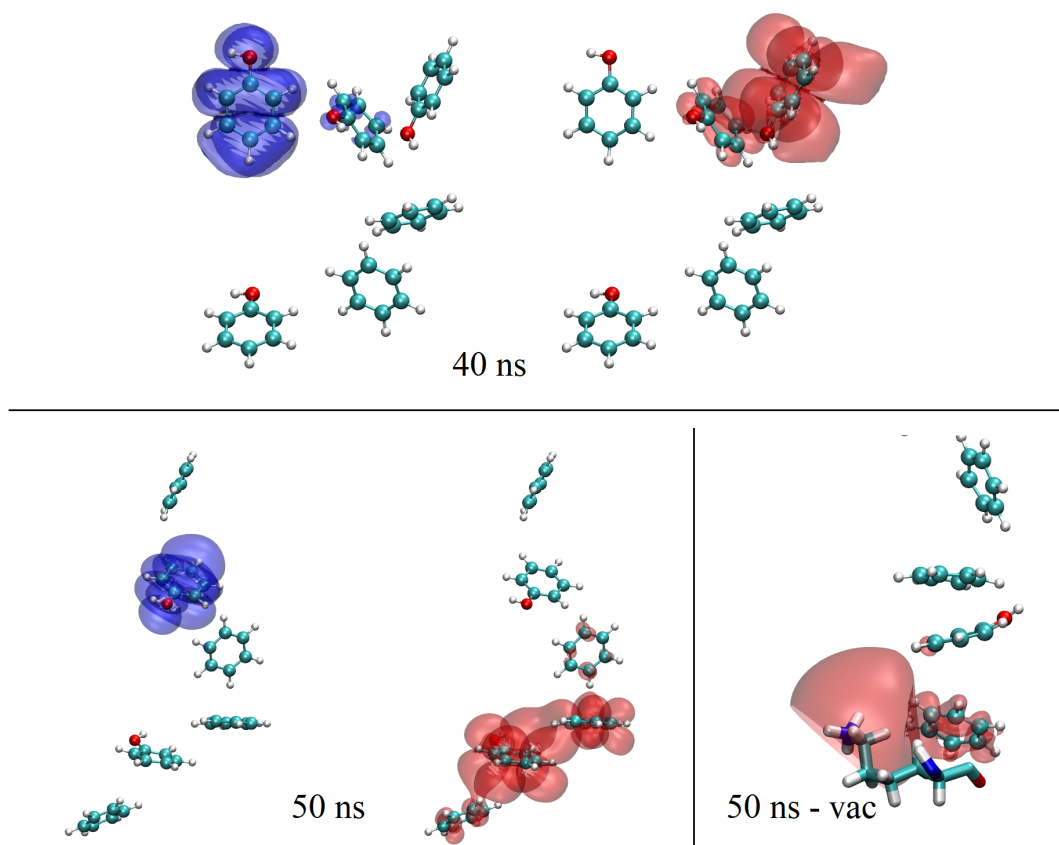
A diferença para as duas partições é o número de resíduos de tirosina e fenilalanina presentes. Para o frame de 40 ns utilizamos quatro resíduos de tirosina, sendo dois Tyr27 e dois Tyr32, e dois resíduos de fenilalanina, Phe51 e Phe24. Enquanto que para o frame de 50 ns utilizamos quatro resíduos de fenilalanina, dois Phe24 e dois Phe51, e dois de tirosina, sendo os dois Tyr27.

Estes resultados sugerem que ocorre o fechamento do gap quando o aglomerado em sua maioria é constituído por fenilalanina, e que esta característica pode não de-

pendar da estrutura da fibra, uma vez que observamos a mesma separação de estados nos aglomerados presentes no pilus (I).

A Figura 4.39 mostra a localização dos estados eletrônicos de fronteira para os aglomerados utilizados no cálculo quântico para os frames correspondentes a 40 e 50 ns de dinâmica. Os resultados mostram maior delocalização eletrônica no LUMO do frame 50 ns na presença de água, porém esta delocalização não é mais observada no vácuo, onde mais uma vez a presença da Lys30 gera uma forte atração na densidade eletrônica. Esta interação do elétron com a Lys30 evidencia, como no pilus (I), o efeito neutralizador da água sobre os aminoácidos polares da proteína.

Figura 4.39 – Localização do HOMO e LUMO nos aglomerados que formam as partições QM do pilus (II) em 40 e 50 ns. Destaque para a polarização no frame de 50 ns na ausência de água. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO.

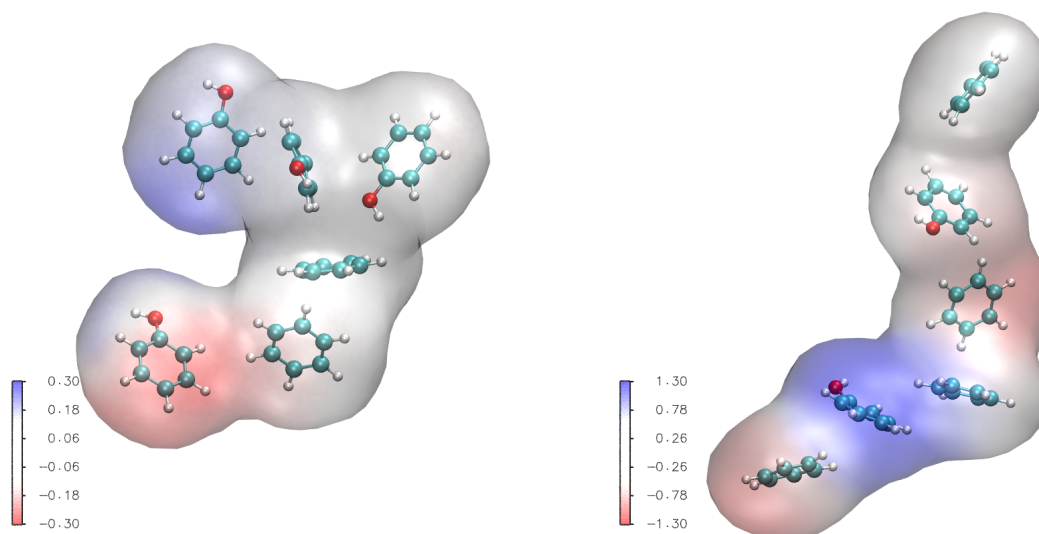


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Os mapas de diferença do potencial do sistema no vácuo e em água estão apresentados na Figura 4.40.

Uma relação entre o gap energético entre HOMO e LUMO e potencial eletrostático pode ser observada. A faixa utilizada para a observação da diferença de potencial do retrato referente a 40 ns foi de -0,3 a 0,3 V, sendo que para intervalos maiores,

Figura 4.40 – Mapa da diferença de potencial em Volts obtido para o sistema no vácuo e em água, na estrutura do Pilus (II) para os retratos correspondentes a 40 e 50 ns de dinâmica molecular.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

nenhuma diferença pôde ser notada. Em contrapartida, no frame de 50 ns uma faixa de -1,3 a 1,3 V já permitiu a identificação de regiões com potenciais diferentes para cada meio.

Esta característica indica que quando o gap de energia existente em água é muito próximo daquele no vácuo, então o potencial presente ao longo do sistema é muito próximo para os dois ambientes. Da mesma forma, se a alteração do gap energético é mais significativa de um meio para outro, assim também será a diferença de potencial ao longo do sistema.

O resultado sugere que o potencial eletrostático apresenta uma função moduladora nos estados eletrônicos de aglomerados aromáticos.

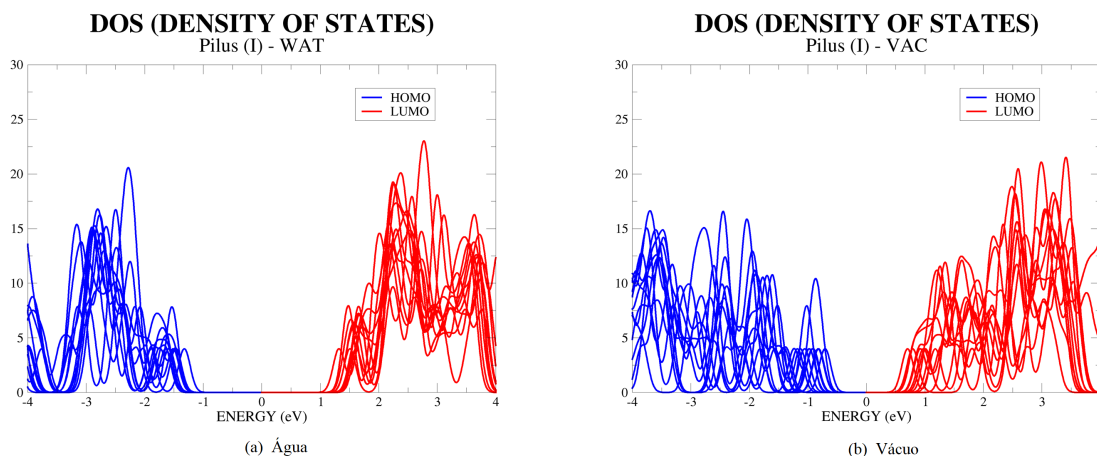
Com relação ao modelo pilus (I), o pilus (II) apresentou uma diferença consideravelmente menor entre o potencial obtido no vácuo e o potencial obtido em água, além de apresentar um momento de dipolo menos pronunciado.

A análise dos aglomerados compostos pelos anéis de benzeno e fenol isolados da proteína indicaram um comportamento similar ao obtido no pilus(I), com gap energético de, aproximadamente, 4 eV.

Para confirmar as características dos níveis energéticos observadas para os sistemas na presença e ausência de água, as densidades de estados eletrônicos de toda a amostragem foram plotadas e apresentadas nas Figuras 4.41 e 4.42.

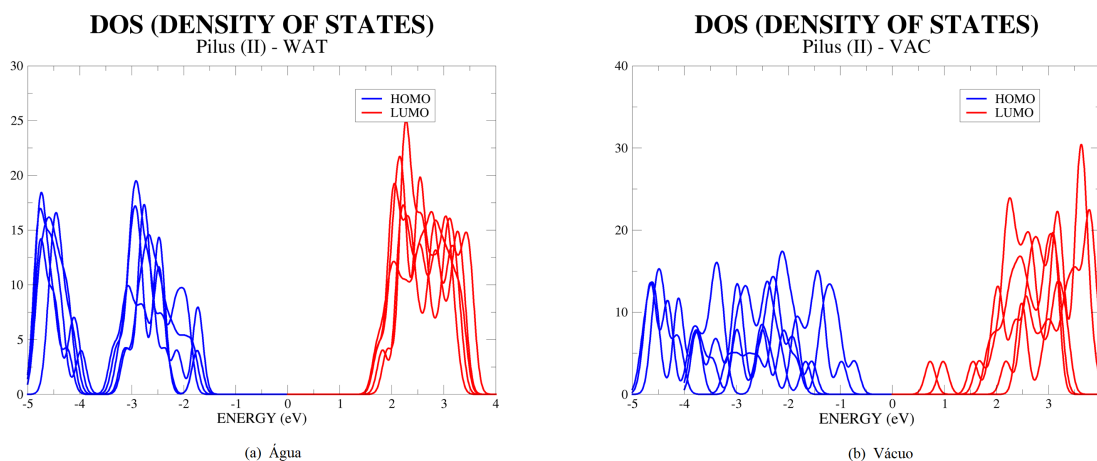
A amostragem para o pilus (I) foi construída com 12 frames, enquanto que para o pilus (II) foram utilizados apenas 5 retratos contidos nos primeiros 50 ns da trajetória, devido ao problema estrutural observado na metade da dinâmica molecular.

Figura 4.41 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do modelo de pilus (I).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.42 – Sobreposição da DOS obtida em toda a amostragem do modelo de pilus (I).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Os resultados apresentados na DOS para a amostragem do pilus (I) indicam um gap entre HOMO e LUMO na faixa de 2,9 a 3,3 eV para a grande maioria dos frames analisados na água. Para os mesmos frames deste modelo no vácuo, a separação entre os estados de fronteira não ficou tão bem definido, apresentando valores na faixa de 1,4 a 2,3 eV.

Assim, observamos durante toda a dinâmica a abertura do gap entre HOMO e LUMO provocado pela água, indicando uma característica contrária ao esperado após a conclusão obtida com os resultados do cálculo híbrido para os modelos miméticos.

Esperava-se que a estrutura periódica central, formada por resíduos de tirosina e fenilalanina no modelo pilus (I), estivesse isolada da água pela própria fibra e que isso contribuísse para uma separação relativamente pequena entre os estados de fronteira. O que observamos foi a penetração de moléculas de água na fibra e um gap conside-

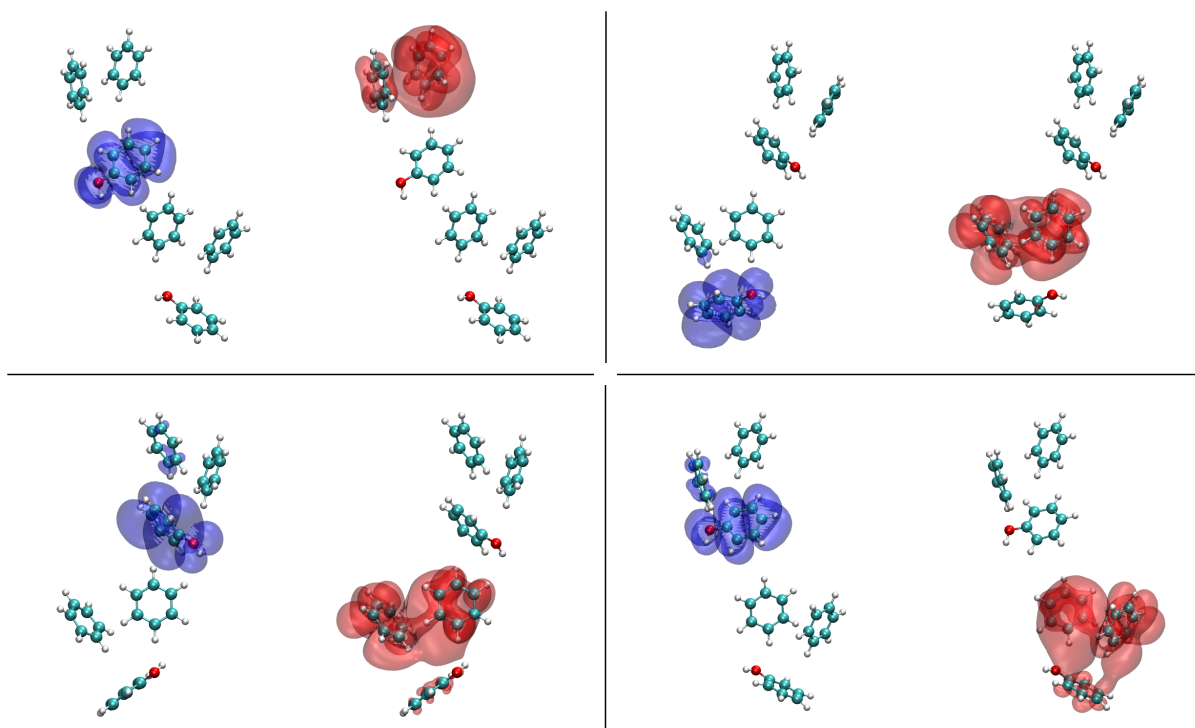
ravelmente alto, distante de um comportamento metálico, ou mesmo semicondutor.

A amostragem do pilus (II) apresenta a separação entre HOMO e LUMO com valores na faixa de 3,45 a 3,85 eV para os frames analisados na água. Para a amostragem no vácuo, o gap energético apresentou grandes variações, possivelmente devido à composição da partição QM ser diferente com relação ao número de resíduos de fenilalanina e tirosina. Estruturas cuja partição QM compreendia 3 ou mais resíduos de tirosina apresentaram gap muito próximo ao obtido em água. Contudo, em estruturas com apenas 2 resíduos de tirosina na partição QM houve o fechamento do gap quando comparado ao resultado em água, o que confirma a dependência no vácuo apresentada pela separação dos estados de fronteira em aglomerados aromáticos com a quantidade de resíduos de tirosina e fenilalanina presentes.

Assim como observado no pilus (I), o modelo pilus (II) apresentou características na estrutura eletrônica dos aglomerados que não conferem ao modelo traços de propriedades metálicas, ou mesmo semicondutoras.

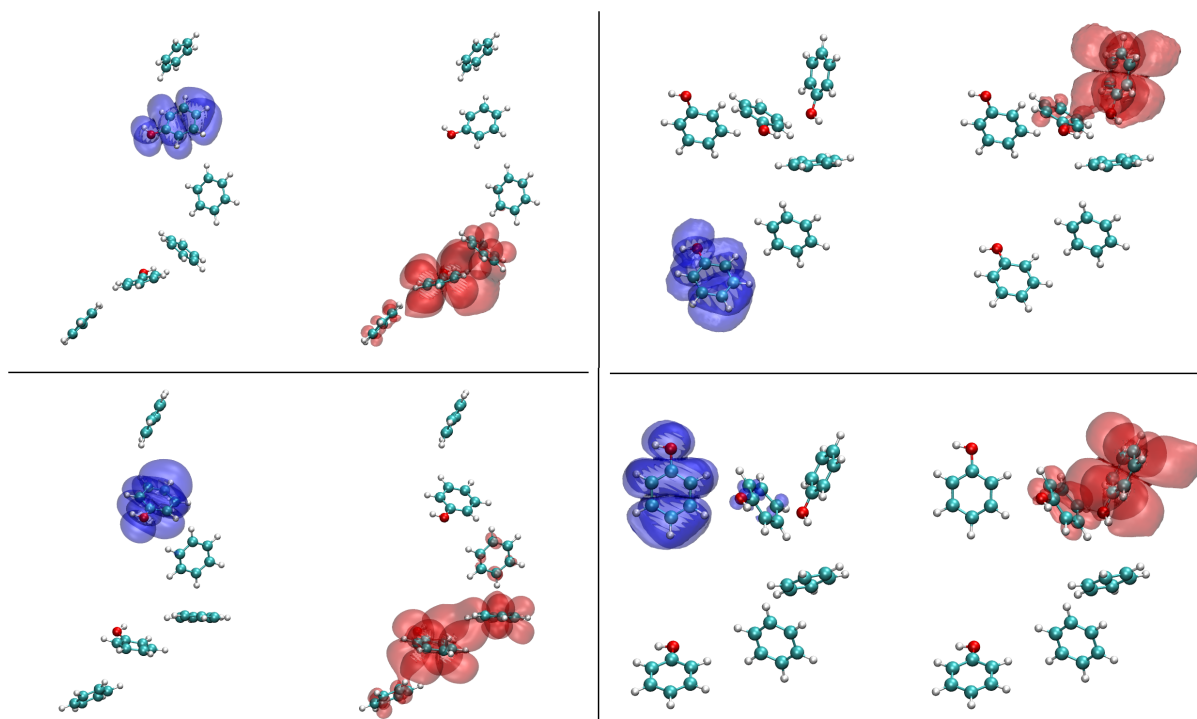
Para completar a investigação de possíveis regimes de transporte presentes no pilus, a visualização dos estados eletrônicos na amostragem em água pode fornecer indícios importantes da ocorrência de *hopping* ou tunelamento.

Figura 4.43 – Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular para o pilus (I). Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 4.44 – Localização dos estados eletrônicos em diferentes momentos da dinâmica molecular para o pilus (II). À esquerda, estão representados de aglomerados com apenas 2 resíduos de tirosina. À direita, estão representados aglomerados com 4 resíduos de tirosina. Representação em azul para o HOMO e em vermelho para o LUMO.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Como já enfatizado anteriormente na análise dos peptídeos, a delocalização eletrônica em grande parte dos anéis do sistema pode significar transporte por tunelamento. Mais interessante ainda para esta conclusão seria identificar diferentes regiões de ocupação eletrônica em diferentes instantes da dinâmica, com um frame intermediário indicando delocalização eletrônica entre estes dois sítios de ocupação.

A variação da região de ocupação eletrônica correspondente a um estado específico pode ser uma característica do *hopping*, pois esta observação indicaria que o elétron pode residir em diferentes resíduos conforme o sistema evolui no tempo.

A localização do HOMO e LUMO para ambos os modelos estudados, em alguns frames da trajetória, está representada nas Figuras 4.43 e 4.44.

A densidade eletrônica do pilus (I) se apresenta sempre localizada em um resíduo de tirosina no HOMO, de acordo com o observado na amostragem. É possível notar a variação da localização eletrônica em alguns momentos, onde a densidade eletrônica aparece em diferentes resíduos de tirosina no último estado ocupado.

O LUMO para o pilus (I) apresenta ocupação nos resíduos de fenilalanina. O elétron aparece delocalizado em Phe1 e Phe24 na maioria dos frames, estendendo a delocalização para Tyr27 em um dos frames.

O mesmo comportamento foi observado no modelo de pilus (II) com relação ao HOMO, em que a densidade se concentrava em um resíduo de tirosina em todos os frames analisados. Contudo, a densidade eletrônica no LUMO apresentou diferentes características com a variação da disposição dos anéis no aglomerado.

Partições nas quais os anéis apresentaram um empilhamento que indicasse um "corrimão" ao longo da estrutura, apresentaram delocalização eletrônica no LUMO em pelo menos três resíduos. Já em aglomerados em que o "corrimão" não é observado, o LUMO ficou localizado em apenas dois resíduos.

Os resultados obtidos na amostragem não sugerem um regime de transporte por tunelamento de forma não radiativa, porém é possível identificar maior delocalização eletrônica no LUMO quando há empilhamento entre anéis formando uma "corrimão" ao longo da estrutura.

A análise do HOMO apontou diferentes resíduos de tirosina que o elétron ocupa em diferentes momentos da dinâmica. Esta característica é um indício do regime de *hopping*

## 5 Conclusão

Primeiramente, é importante ressaltar que o estudo deste trabalho não foi o mecanismo de transporte eletrônico em si, mas características na estrutura dos modelos que podem sugerir os possíveis regimes de transporte envolvidos.

Os resultados obtidos na mecânica molecular para os modelos miméticos mostram maior estabilidade da hélice em um peptídeo composto por tirosina. A trajetória mostra com clareza um caráter hidrofóbico do peptídeo de fenilalanina, que busca uma conformação com característica globular.

A descaracterização da hélice para a polifenilalanina ocorre rapidamente nos instantes iniciais da trajetória, enquanto a politirosina mantém a estrutura helicoidal por mais tempo. Esta observação evidencia que as interações eletrostáticas entre o oxigênio presente na tirosina com a água contribuem para a estabilização estrutural do peptídeo.

Com relação à estabilidade do pilus, os dois modelos estudados apresentaram uma estrutura predominantemente helicoidal em toda a dinâmica. O modelo de pilus (I) conservou os contatos existentes entre os resíduos Phe1, Phe24 e Tyr27, mesmo na presença de grupos com carga positiva muito próximos, como Arg28 e Lys30.

A análise da densidade de estados eletrônicos evidenciou que a água provoca a abertura do gap energético entre os estados de fronteira em peptídeos helicoidais com grupos aromáticos em sua composição, o que, a princípio, sugere que os grupos aromáticos devem se localizar em regiões isoladas do solvente no pilus. Contudo, os resultados obtidos para o pilus não apontaram para a blindagem de aglomerados de tirosina e fenilalanina por parte da proteína, ou seja, o gap obtido apresentou valores maiores em praticamente todos os frames de ambas as amostragens realizadas.

Outra constatação importante é o gap entre HOMO e LUMO obtido para a politirosina ser pequeno com relação ao obtido para a polifenilalanina. Isto é mais evidente quando os sistemas se encontram em meios que simulam o vácuo, onde os aglomerados constituídos de tirosina apresentaram valores que indicam características próximas de um metal. Mais ainda, aglomerados de tirosina apresentaram um momento de dipolo bem definido. Isso sugere grande contribuição dos resíduos de tirosina para o transporte na pilina.

Entretanto, os aglomerados das fibras utilizados na caracterização da estrutura eletrônica continham tanto resíduos de tirosina, quanto de fenilalanina. Neste caso, foi observado que a quantidade de cada aminoácido pode influenciar na separação dos estados de fronteira para o sistema no vácuo.

Mais interessante ainda com relação a esta observação, é o valor do gap no vácuo

ser tão grande quanto em água (maior que 3 eV) para aglomerados compostos em sua maioria por tirosina.

Além disso, quanto maior a diferença de potencial eletrostático para um mesmo retrato no vácuo e na água, enfatizando o momento de dipolo mais intenso no vácuo, maior será o fechamento do gap entre HOMO e LUMO no vácuo. Esse resultado sugere que o potencial do sistema pode controlar a separação dos estados de fronteira.

Embora o efeito do potencial possa ser observado em ambos os sistemas, o momento de dipolo presente em aglomerados do pilus (I) é mais pronunciado com relação aos aglomerados do pilus (II).

Logo, com a anulação provocada pela água de parte do momento de dipolo, os resultados do gap energético apresentados para os sistemas em água mostram um comportamento muito distante de um semicondutor. Mesmo no vácuo, os modelos de pilus apresentaram valores relativamente altos, sendo os menores registrados em torno de 1,5 eV, ainda distante de um semicondutor.

A investigação da localização dos estados eletrônicos não identificou a delocalização eletrônica por todos os anéis, embora o empilhamento entre os mesmos contribua para que o elétron fique mais delocalizado. Além disso, resíduos de lisina e arginina apresentaram forte atração em elétrons próximos, o que impediu a delocalização destes. Esta forte interação foi, principalmente, observada no vácuo, onde a atração eletrostática é de maior alcance, uma vez que o efeito neutralizador da água não está presente.

Sendo assim, dentro da amostragem, não há características que possam sugerir um regime de transporte por tunelamento.

Com relação ao *hopping*, a análise não pode ser conclusiva, mas sugere a possibilidade de ocorrência deste regime de transporte. A amostragem apresentou elétrons do HOMO localizados em resíduos de tirosina diferentes com a evolução do sistema no tempo. A ocupação destes resíduos é interessante devido ao potencial redox da tirosina ser acessível em regimes de transporte eletrônico por *hopping* em proteínas.

A ausência de assinaturas de citocromo ou cofatores na pilina, relatada em trabalhos anteriores, indicou a possibilidade do transporte eletrônico ocorrer através da própria estrutura da proteína. Contudo, os resultados obtidos neste trabalho para ambos os modelos de pilus não refletem uma estrutura eletrônica que permita a transição eletrônica espontânea ao longo da fibra, ou seja, de forma não radiativa.

Isso significa que pode haver um mecanismo, ainda não identificado, que crie um ambiente favorável ao transporte eletrônico detectado em investigações experimentais. Possivelmente, um fator presente na interação entre as fibras na pili possa resultar em um sistema que apresente tais características condutoras.

A utilização de outros sistemas modelo direcionados para estes estudos pode trazer à luz fenômenos químicos e físicos ainda não identificados, que justifiquem as

propriedades únicas observadas neste biossistema.

Outra possibilidade de análise seria a investigação da configuração eletrônica em partições diferentes. A escolha da partição QM em macromoléculas é uma tarefa difícil em razão da fronteira entre as regiões de tratamento clássico e quântico ser estabelecida em ligações covalentes. Muitas vezes, grupos restritos à abordagem clássica poderiam conferir propriedades eletrônicas significativas se incluídos na partição QM. Assim, propriedades até então não observadas poderiam ser reveladas através da abordagem quântica em partições de diferentes composições.

Como estudo complementar, a presença de íons metálicos próximos da pilina permitiria a investigação de propriedades redox do sistema. Para isso, seria necessária a identificação de um sítio de ligação na proteína, formando um complexo com o metal.

## Referências

- 1 FELICIANO, G. T. et al. Molecular and Electronic Structure of the Peptide Subunit of *Geobacter sulfurreducens* Conductive Pili from First Principles. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 116, n. 30, p. 8023–8030, 2012. DOI:10.1021/jp302232p. 8, 16, 18
- 2 XIAO, K. et al. Low Energy Atomic Models Suggesting a Pilus Structure that could Account for Electrical Conductivity of *Geobacter sulfurreducens* pili. *Scientific Reports*, v. 6, n. 1, 2016. DOI:10.1038/srep23385. 8, 18, 19
- 3 BRITTAIN, T. Intra-molecular electron transfer in proteins. *Protein Pept Lett*, v. 15, n. 6, p. 556–561, 2008. DOI:10.2174/092986608784966895. 14
- 4 GRAY, H. B.; WINKLER, J. R. Electron flow through proteins. *Chemical Physics Letters*, v. 483, n. 1-3, p. 1–9, 2009. DOI:10.1016/j.cplett.2009.10.051. 14
- 5 REGUERA, G. et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, v. 435, n. 7045, p. 1098–1101, 2005. DOI:10.1038/nature03661. 14, 15
- 6 COLOGGI, D. L. et al. Extracellular reduction of uranium via *Geobacter* conductive pili as a protective cellular mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 108, n. 37, p. 15248–15252, 2011. DOI:10.1073/pnas.1108616108. 14, 15, 16
- 7 ING, N. L.; NUSCA, T. D.; HOCHBAUM, A. I. *Geobacter sulfurreducens* pili support ohmic electronic conduction in aqueous solution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, [s.l.], v. 19, n. 32, p. 21791–21799, 2017. DOI:10.1039/C7CP03651E. 14, 15
- 8 SNIDER, R. M. et al. Long-range electron transport in *Geobacter sulfurreducens* biofilms is redox gradient-driven. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, National Academy of Sciences, v. 109, n. 38, p. 15467–15472, 2012. DOI:10.1073/pnas.1209829109. 14
- 9 CHILDERS, S. E.; CIUFO, S.; LOVLEY, D. R. *Geobacter metallireducens* accesses Fe(III) oxide by chemotaxis. *Nature*, v. 416, n. 6882, p. 767–769, 05 2002. DOI:10.1038/416767a. 15
- 10 VARGAS, M. et al. Aromatic Amino Acids Required for Pili Conductivity and Long Range Extracellular Electron Transport in *Geobacter sulfurreducens*. *Mbio*, v. 4, n. 2, 2013. DOI:10.1128/mBio.00105-13. 15
- 11 MALVANKAR, N. S. et al. Tunable metallic-like conductivity in microbial nanowire networks. *Nature Nanotechnology*, v. 6, n. 9, p. 573–579, 2011. DOI:10.1038/NNANO.2011.119. 15, 16
- 12 FELICIANO, G. T.; STEIDL, R. J.; REGUERA, G. Structural and functional insights into the conductive pili of *Geobacter sulfurreducens* revealed in molecular dynamics simulations. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 17, n. 34, p. 22217–22226, 2015. DOI:10.1039/C5CP03432A. 16

- 13 CRAIG, L. et al. Type IV Pilin Structure and Assembly: X-Ray and EM Analyses of *Vibrio cholerae* Toxin-Coregulated Pilus and *Pseudomonas aeruginosa* PAK Pilin. *Molecular Cell*, v. 11, n. 5, p. 1139 – 1150, 2003. ISSN 1097-2765. DOI:10.1016/S1097-2765(03)00170-9. 17
- 14 REARDON, P. N.; MUELLER, K. T. Structure of the Type IVa Major Pilin from the Electrically Conductive Bacterial Nanowires of *Geobacter sulfurreducens*. *Journal of Biological Chemistry*, v. 288, n. 41, p. 29260–29266, 2013. DOI:10.1074/jbc.M113.498527. 17
- 15 CASE, D. A. et al. The Amber biomolecular simulation programs. *Journal of Computational Chemistry*, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, v. 26, n. 16, p. 1668–1688, 2005. DOI:10.1002/jcc.20290. 21, 24
- 16 BERENDSEN, H.; SPOEL, D. van der; DRUNEN, R. van. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Computer Physics Communications*, v. 91, n. 1-3, p. 43–56, set. 1995. DOI:10.1016/0010-4655(95)00042-E. 21, 26
- 17 CPMD. Copyright IBM Corp 1990-2015, Copyright MPI für Festkörperforschung Stuttgart 1997-2001. Disponível em: <<http://www.cpmc.org/>>. 22, 37, 40
- 18 HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD – Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. DOI:10.1016/0263-7855(96)00018-5. 22
- 19 HANWELL, M. D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, v. 4, n. 1, 2012. DOI:10.1186/1758-2946-4-17. 22
- 20 Ewald, P. P. Die Berechnung optischer und elektrostatischer Gitterpotentiale. *Annalen der Physik*, v. 369, n. 3, p. 253–287, 1921. DOI:10.1002/andp.19213690304. 24, 26
- 21 DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An n-log(n) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics*, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993. DOI:10.1063/1.464397. 24, 26
- 22 MAHONEY, M. W.; JORGENSEN, W. L. A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions. *The Journal of Chemical Physics*, v. 112, n. 20, p. 8910–8922, 2000. DOI:10.1063/1.481505. 24
- 23 HORNAK, V. et al. Comparison of multiple Amber force fields and development of improved protein backbone parameters. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 65, n. 3, p. 712–725, 2006. DOI:10.1002/prot.21123. 24, 26
- 24 GRETT, G. S.; KREMER, K. Molecular dynamics simulation for polymers in the presence of a heat bath. *Physical Review A*, American Physical Society, v. 33, n. 5, p. 3628–3631, May 1986. DOI:10.1103/PhysRevA.33.3628. 25

- 25 PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics*, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, 1981. DOI:10.1063/1.328693. 25, 26
- 26 BERENDSEN, H. et al. Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. In: . [S.l.]: Springer Netherlands, 1981, (The Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry). p. 331–342. 26
- 27 MORISHITA, T. Fluctuation formulas in molecular-dynamics simulations with the weak coupling heat bath. *The Journal of Chemical Physics*, v. 113, n. 8, p. 2976–2982, 2000. DOI:10.1063/1.1287333. 26
- 28 BERENDSEN, H. J. C. et al. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*, v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984. DOI:10.1063/1.448118. 26
- 29 Born, M.; Oppenheimer, R. Zur Quantentheorie der Molekeln. *Annalen der Physik*, v. 389, p. 457–484, 1927. DOI:10.1002/andp.19273892002. 28
- 30 MCQUARRIE, D.; SIMON, J. *Physical Chemistry: a Molecular Approach*. Sausalito, CA: University Science Books, 1997. 29
- 31 SZABO, A.; OSTLUND, N. *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. Mineola, NY: Dover Publications, 1996. 29
- 32 KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M. C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*. Weinheim - New York: Wiley - VCH, 2nd edition, 2001. 31
- 33 HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review*, American Physical Society, v. 136, n. 3B, p. B864–B871, Nov 1964. DOI:10.1103/PhysRev.136.B864. 31
- 34 KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review*, v. 140, n. 4, p. A1133–A1138, 1965. DOI:10.1103/PhysRev.140.A1133. 32
- 35 VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. *Canadian Journal of Physics*, v. 58, n. 8, p. 1200–1211, 1980. DOI:10.1139/p80-159. 35
- 36 PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple [Phys. Rev. Lett. 77, 3865 (1996)]. *Physical Review Letters*, American Physical Society, v. 78, n. 7, p. 1396–1396, Feb 1997. DOI:10.1103/PhysRevLett.78.1396. 35
- 37 PHILLIPS, J. C.; KLEINMAN, L. New method for calculating wave functions in crystals and molecules. *Physical Review*, American Physical Society, v. 116, n. 2, p. 287–294, Oct 1959. DOI:10.1103/PhysRev.116.287. 35
- 38 MONARD, G.; MERZ, K. M. Combined Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Methodologies Applied to Biomolecular Systems. *Accounts of Chemical Research*, v. 32, n. 10, p. 904–911, 1999. DOI:10.1021/ar970218z. 36

- 39 WARSHEL, A.; LEVITT, M. Theoretical studies of enzymic reactions: Dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme. *Journal of Molecular Biology*, v. 103, n. 2, p. 227–249, 1976. DOI:10.1016/0022-2836(76)90311-9. 36
- 40 ROE, D. R.; CHEATHAM, T. E. PTRAJ and CPPTRAJ: Software for Processing and Analysis of Molecular Dynamics Trajectory Data. *Journal Of Chemical Theory And Computation*, American Chemical Society, v. 9, n. 7, p. 3084–3095, jul. 2013. DOI:10.1021/ct400341p. 38
- 41 BISWAS, P. K.; GOGONEA, V. A regularized and renormalized electrostatic coupling Hamiltonian for hybrid quantum-mechanical–molecular-mechanical calculations. *The Journal of Chemical Physics*, v. 123, n. 16, p. 164114–164119, 2005. DOI:10.1063/1.2064907. 38
- 42 LAIO, A.; VANDEVONDELE, J.; ROTH LISBERGER, U. A Hamiltonian electrostatic coupling scheme for hybrid Car–Parrinello molecular dynamics simulations. *The Journal of Chemical Physics*, v. 116, n. 16, p. 6941–6947, 2002. DOI:10.1063/1.1462041. 38
- 43 EICHINGER, M. et al. A hybrid method for solutes in complex solvents: Density functional theory combined with empirical force fields. *The Journal of Chemical Physics*, v. 110, n. 21, p. 10452–10467, 1999. DOI:10.1063/1.479049. 38
- 44 GUNSTEREN, W. F. van et al. *Biomolecular Simulation: The GROMOS96 manual and user guide*. [S.l.: s.n.], 1996. 39, 40
- 45 CRESPO, A. et al. A DFT-based QM-MM Approach Designed for the Treatment of Large Molecular Systems: Application to Chorismate Mutase. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 107, n. 49, p. 13728–13736, 2003. DOI:10.1021/jp036236h. 39, 41
- 46 TROULLIER, N.; MARTINS, J. L. Efficient pseudopotentials for plane-wave calculations. *Physical Review B*, American Physical Society, v. 43, p. 1993–2006, Jan 1991. DOI:10.1103/PhysRevB.43.1993. 39, 40
- 47 BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, American Physical Society, v. 38, n. 6, p. 3098–3100, Sep 1988. DOI:10.1103/PhysRevA.38.3098. 39, 40
- 48 HUTTER, J.; LUTHI, H. P.; PARRINELLO, M. Electronic structure optimization in plane-wave-based density functional calculations by direct inversion in the iterative subspace. *Computational Materials Science*, v. 2, n. 2, p. 244–248, 1994. DOI:10.1016/0927-0256(94)90105-8. 39