

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 28/06/2022



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

Ingrid Bernardes Santana Martins

**Estudo da interação dos peptídeos
antimicrobianos MP1 e H-MP1 com modelo de
membranas bacterianas por Dinâmica Molecular**

São José do Rio Preto

2021

Ingrid Bernardes Santana Martins

**Estudo da interação dos peptídeos antimicrobianos MP1 e
H-MP1 com modelo de membranas bacterianas por
Dinâmica Molecular**

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

Financiadora: Capes

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Suman de Araújo

Coorientador: Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho

São José do Rio Preto

2021

M386e

Martins, Ingrid Bernardes Santana

Estudo da interação dos peptídeos antimicrobianos MP1 e H-MP1 com modelo de membranas bacterianas por Dinâmica Molecular / Ingrid Bernardes Santana Martins. -- São José do Rio Preto, 2021

81 f.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Alexandre Suman de Araujo

Coorientador: Sidney Jurado de Carvalho

1. Biofísica Molecular. 2. Dinâmica Molecular. 3. Peptídeos antimicrobianos. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Ingrid Bernardes Santana Martins

**Estudo da interação dos peptídeos antimicrobianos MP1 e H-MP1 com
modelo de membranas bacterianas por Dinâmica Molecular**

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

Financiadora: Capes

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo

UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Orientador

Prof. Dr. Jorge Chahine

UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Ernesto Raúl Caffarena

Fundação Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro

Profa. Dra. Natália Bueno Leite Slade

Universidade Federal do Triângulo Mineiro - Uberaba

Prof. Dr. Alessandro Silva Nascimento

Universidade de São Paulo - São Carlos

São José do Rio Preto

28 de Junho de 2021

Dedico esse trabalho aos meus pais, Ana Luiza e Alessandro, que me ensinaram que eu posso ser o que eu quiser.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, porque Dele e para Ele são todas as coisas.

À toda a minha família, em especial a minha mãe Ana Luiza, o meu pai Alessandro, a minha irmã Emily, meus avós, tios, primos, ao meu noivo Gabriel, pelo companheirismo e apoio em todos os momentos, principalmente os mais difíceis, e os meus amigos que também são minha família.

Ao meu orientador, o professor Alexandre que me ensina e orienta desde a graduação com toda a paciência e respeito. Aos colaboradores desse trabalho, o professor João Ruggiero Neto, Taisa, Dayane e o professor Sidney. Aos amigos do departamento de Física: Alex, Antônio, Carolina, Daniel, Davi, Fernando, Gabriela, Guilherme, Hugo, Isabela, Janine, João, Karoline, Kenneth, Monique, Murilo, Paulo, Raphael, Renan, Thalita e Vinícius que não só tornaram a jornada muito mais prazerosa como também são presentes todos os dias nas discussões científicas importantes no meu amadurecimento científico durante o doutorado (e não científicas também).

Ao professor Benoît Roux que me recebeu no seu grupo durante o período sanduíche, que me possibilitou um período muito enriquecedor e de muito aprendizado, bem como aos colegas de grupo que foram muito receptivos. E aos amigos brasileiros Arthur, Camila, Flávio, Marcelo e Sílvia, que estavam presentes nesse período dividindo os perrengues e sendo apoio uns dos outros em todos os momentos.

Agradeço ao Laboratório Nacional de Computação Científica por fornecer o poder computacional do supercomputador Santos Dumont. À Unesp e a The University of Chicago pela infraestrutura. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“- Gostaria que isso não tivesse acontecido na minha época - disse Frodo.

- Eu também - disse Gandalf. - Como todos que vivem nesses tempos. Mas a decisão não é nossa. Tudo o que temos de decidir é o que fazer com tempo que nos é dado.”
J. R. R. Tolkien em A Sociedade do Anel [1].

Resumo

Peptídeos antimicrobianos (PAMs) são parte do sistema imune de muitas espécies e, devido ao seu modo de ação, dificultam o desenvolvimento de cepas de bactérias resistentes promovidas por antibióticos convencionais, sendo assim compostos que têm potencial de aplicação antibiótica. Os PAMs são, geralmente, ricos em resíduos de aminoácidos catiônicos e hidrofóbicos e agem diretamente na fase lipídica da membrana celular. O peptídeo Polybia-MP1 é um peptídeo extraído da vespa *Polybia paulista* e possui amplo espectro bactericida em bactérias Gram-negativas e Gram-positivas e não é hemolítico nem citotóxico. O H-MP1 é um análogo sintético em que as lisinas do MP1 são substituídas por histidinas, para que a carga líquida possa responder às mudanças no pH da solução. Nesse trabalho usamos técnicas biofísicas computacionais para investigar o efeito do pH da solução nas propriedades estruturais desses peptídeos e na sua interação com a bicamada lipídica que mimetiza a membrana celular de bactérias Gram-negativas. Os resultados indicam que a adsorção do H-MP1, sensível ao pH, aumenta com um ambiente ácido se assemelhando ao MP1, que não é influenciado pela pequena variação de pH da solução. As simulações de Dinâmica Molecular mostraram que o processo de adsorção de ambos os peptídeos se inicia pela interação do N-terminal com a bicamada, seguido por uma completa adsorção do peptídeo paralelo ao plano da bicamada, induzindo aumento no conteúdo helicoidal o que intensificou o contato do peptídeo com a fase hidrofóbica da bicamada. As simulações ainda mostraram uma desestabilização do empacotamento lipídico da bicamada caracterizada pela diminuição do parâmetro de ordem calculado para as cadeias acílicas. Simulações de Dinâmica Molecular a pH Constante, que foram realizadas a partir das estruturas dos peptídeos adsorvidos obtidas por Dinâmica Molecular convencional, foram capazes de elucidar detalhes da eletrostática envolvida no processo de adsorção. Elas mostraram que a adsorção desses peptídeos na bicamada lipídica aumenta em aproximadamente duas unidades os valores de pK_a calculados para os resíduos ionizáveis. Com isso, esses peptídeos apresentam carga mais positiva quando estão na presença da bicamada do que quando estão apenas em solução aquosa. Dessa forma, a magnitude da atração eletrostática dos mesmos pela bicamada aniônica é aumentada, evidenciando a seletividade que tais peptídeos possuem pela bicamada mimética de bactérias.

Palavras-chave: *Peptídeos antimicrobianos. Peptídeos sensíveis ao pH. Simulações por Dinâmica Molecular. Análises conformacionais. Dinâmica Molecular a pH Constante.*

Abstract

Antimicrobial peptides (AMPs) are part of the innate immune system of many species and are compounds with potential application against the development of resistant bacterial strains promoted by conventional antibiotics. The AMPs are rich in cationic and hydrophobic residues and act directly on the lipidic phase of the cell membranes. The MP1 has a broad-spectrum bactericide activity in both Gram-negative and positive bacteria, not being hemolytic or cytotoxic. H-MP1 is a synthetic analog of MP1 with lysines replaced by histidines so that its net charge could be responsive to changes in solution pH. In the present work, we applied computational biophysics techniques in order to investigate the effect of the solution pH on the structural properties, in the adsorption and insertion of these peptides in lipid bilayers mimicking the cell membrane of Gram-negative bacteria. The results indicate that the adsorption of H-MP1 is sensitive to pH, increasing to an acidic environment, matching that of MP1, which is not influenced by solution pH. Molecular Dynamic simulations indicated that the adsorption process of both peptides started by the interaction of the N-terminus with the bilayer, followed by the complete adsorption of the peptide laying parallel to the bilayer plane, inducing an increase in the peptide's helical content enhancing peptides contact with the bilayer hydrophobic phase. The simulations also presented a lipid packing perturbation of the bilayer characterized for a decrease of the acyclic chains order parameter. Constant pH Molecular Dynamics simulations, that were performed utilizing the structures of the adsorbed peptides obtained on the conventional Molecular Dynamics simulations, were able to enlighten details of the electrostatics of the adsorption process. They demonstrated that these peptides' adsorption into the lipid bilayer increases about two units the pK_a values calculated for the titratable residues. Thereby, these peptides presented higher net charges when in presence of the bilayer than when they are only in aqueous solution. Thus, the electrostatic attraction magnitude of these peptides for the anionic bilayer is increased, pointing out the selectivity that both peptides have for the bacteria mimetic bilayer.

Keywords: *Antimicrobial peptides. Sensitive pH peptides. Molecular Dynamics Simulations. Conformational analysis. Constant pH Molecular Dynamics.*

Lista de Figuras

- 1.1 Peptídeos MP1 e H-MP1 na estrutura inicial utilizada nas simulações desse trabalho. Em (a) o MP1, em (b) o H-MP1 com as histidinas protonadas, em (c) o H-MP1 com as histidinas desprotonadas. Os peptídeos estão em configuração da estrutura secundária e coloridos da seguinte forma: os aminoácidos hidrofóbicos estão apresentados em branco, os carregados positivamente em azul, os carregados negativamente em vermelho, e os polares não-carregados em verde. 23
- 3.1 Representação da caixa de simulação contendo água (superfície cinza), a bicamada de POPC (ciano) e POPG (laranja), íons Na^+ (azul) e Cl^- (vermelho) e o peptídeo em representação de estrutura secundária (α -hélice representada em roxo e *random coil* em branco). No início da simulação os peptídeos são posicionados de maneira aleatória a uma distância de aproximadamente 10 Å da bicamada lipídica. 34
- 3.2 Esquema básico das simulações de Dinâmica Molecular a pH Constante, onde é realizada uma simulação de Dinâmica Molecular convencional em um estado fixo de protonação, seguido por um passo de neMD/MC a fim de amostrar novos estados de protonação. O esquema mostra o que acontece quando essa mudança pode ser aceita ou rejeitada. 38
- 4.1 Estrutura secundária em função do tempo para cada aminoácido durante a simulação dos peptídeos em solução aquosa, (a) MP1 e (b) H-MP1. Na cor azul quando o resíduo apresenta estrutura secundária em conformação α -hélice, ciano para conformação *random coil* e vermelho para folha- β . . . 42
- 4.2 Porcentagem do tempo total da trajetória em que a ligação de hidrogênio entre os resíduos i e $i + 4$ do backbone existem para o MP1 e o H-MP1 em solução aquosa. O objetivo é observar o quão forte é a estruturação em α -hélice desses peptídeos no decorrer da simulação. O MP1 está representado em roxo e o H-MP1 em verde. 43

4.3	Distância das pontes salinas entre os aminoácidos carregados dos peptídeos MP1 na figura (a) e H-MP1 na figura (b) para as simulações dos mesmos em solução aquosa. Ligações entre os resíduos 2 e 4 estão representadas em preto, 2 e 5 em vermelho, 8 e 4 em ciano, 8 e 5 em azul e 8 e 11 em laranja.	44
4.4	Estrutura secundária de cada aminoácido durante a simulação, (a) MP1 e (b) H-MP1. Na cor azul quando o resíduo apresenta estrutura secundária em conformação α -hélice, ciano para conformação <i>random coil</i> e vermelho para folha- β . O MP1 está adsorvido na bicamada a partir de 100 ns do tempo de simulação, e o H-MP1 a partir de 400 ns. É importante notar que após a adsorção a porcentagem de conformação α -hélice da estrutura secundária aumenta.	45
4.5	Porcentagem do tempo em que a ligação de hidrogênio entre os resíduos $i-i+4$ do <i>backbone</i> existe na simulação para MP1 e H-MP1 a fim de investigar a estabilidade da estrutura de α -hélice durante a simulação. O MP1 está representado em roxo e o H-MP1 está dividido em duas situações: antes da adsorção completa em laranja, e depois em verde.	46
4.6	Distância das pontes salinas formadas entre os aminoácidos carregados dos peptídeos (a) MP1 e (b) H-MP1 para as simulações na presença da bicamada. Ligações entre os resíduos 2 e 4 estão representadas em preto, 2 e 5 em vermelho, 8 e 4 em ciano, 8 e 5 em azul e 8 e 11 em laranja.	47
4.7	Processo de adsorção dos peptídeos antimicrobianos MP1 em roxo (a) e H-MP1 em verde (b). A bicamada está representada em cinza nas das duas figuras.	49

- 4.8 *Snapshots* das simulações em que foram observadas a adsorção dos dois peptídeos estudados. (a) e (c) Instante em que os peptídeos primeiramente tocam a bicamada com o N-terminal carregado. Pode-se notar que parte da estrutura secundária se configura em *random coil*. (b) e (d) Peptídeos após a adsorção completa, paralelos à bicamada, com estrutura majoritariamente helicoidal, com a face hidrofóbica em contato com as cadeias acíclicas e a hidrofílica com as cabeças polares e água. Destaque para o triptofano posicionado na interface hidrofílica/hidrofóbica como indicado por experimentos de fluorescência. Os peptídeos estão representados em *cartoon* e coloridos pelo tipo de resíduo (resíduos hidrofóbicos representados em branco, positivos em azul, negativos em vermelho e polares não-carregados em verde). O resíduo de triptofano (TRP) está representado em laranja, as moléculas de água em *iceblue*, lipídeos pelo nome de cada átomo: carbonos em ciano, nitrogênios em azul, oxigênios em vermelho e fósforos em dourado. 50
- 4.9 Distância entre diferentes regiões dos peptídeos ao centro de massa da bicamada lipídica. Três posições para ambos os peptídeos foram consideradas aqui, o centro de massa (COM) considerando o peptídeo inteiro em preto, o N-terminal como sendo o centro de massa do primeiro resíduo (Ile1) em roxo o C-terminal sendo o centro de massa do último resíduo (Leu14) em ciano. (a): MP1, (b): H-MP1, *inset*: nos primeiros 6 nanossegundos da simulação, quando o peptídeo está fora da bicamada (mais de 20 Å de distância), podemos ver que o peptídeo começa paralelo à bicamada e rapidamente muda para uma orientação perpendicular e começa a se aproximar da bicamada. . 51
- 4.10 Perfil de densidade de número para as simulações dos dois peptídeos, MP1 em (a) em que o peptídeo adsorvido está representado em roxo e o HMP1 em (b) em que o peptídeo adsorvido está representado em verde, em ambas as figuras a bicamada de 7POPC:3POPG e solução aquosa. A água está representada em azul, as cabeças polares em vermelho, as cadeias acíclicas em ciano, e os peptídeos antes de ocorrer a adsorção em laranja. 52
- 4.11 Histograma das distâncias entre o centro de massa do triptofano dos peptídeos (Trp3) e o centro de massa da bicamada durante a simulação, mostrando qual é a distância mais frequente entre esse aminoácido e o CM da bicamada. Em (a) para o MP1 e em (b) para o H-MP1. 53

4.12	Parâmetros de ordem calculados para as cadeias acílicas dos lipídios da bicamada na ausência de peptídeo na caixa de simulação (em preto), com o peptídeo MP1 adsorvido na bicamada (em roxo) e com o peptídeo H-MP1 adsorvido na bicamada (em verde). Para os gráficos onde o peptídeo está adsorvido o parâmetro de ordem foi calculado apenas para os lipídeos que estejam a uma distância do peptídeo de no máximo 10 Å. Em (a) estão apresentados os resultados calculados para a cadeia insaturada e em (b) para a cadeia saturada de ambos os lipídeos, POPC e POPG.	54
4.13	Média da energia eletrostática em (a) e energia de Van der Waals em (b) da interação entre cada resíduo de aminoácido dos peptídeos MP1 (IDWKLLDAKQIL-NH ₂) e H-MP1 (IDWHLLDAAHQIL-NH ₂) e os fosfolipídeos da bicamada e seus respectivos desvios padrão. MP1 está representado em roxo e o H-MP1 em verde.	56
4.14	Distribuição radial de pares calculada para os resíduos de ácido aspártico do peptídeo MP1 com o nitrogênio protonável da lisina mais próxima. Em (a) estão apresentados os valores para o ácido aspártico 2 e a lisina 5, em (b) para o ácido aspártico 8 com a lisina 4 e em (c) do ácido aspártico 8 com a lisina 11.	64
4.15	Distribuição radial de pares calculada para os resíduos de ácido aspártico do peptídeo H-MP1 com o nitrogênio protonável da histidina mais próxima. Em (a) estão apresentados os valores para o ácido aspártico 2 e a histidina 4, em (b) para o ácido aspártico 8 com a histidina 5 e em (c) do ácido aspártico 8 com a histidina 11.	65
4.16	Disposição dos resíduos ionizáveis dos peptídeos utilizados nesse trabalho. Os resíduos ácidos e básicos estão representados em vermelho e turquesa, respectivamente. O <i>backbone</i> se encontra representado em cinza.	66

Lista de Tabelas

4.1	Fração protonada para cada resíduo do peptídeo MP1 obtidas pelas simulações de CpHMD nas três configurações e três pHs diferentes.	59
4.2	Cargas líquidas calculadas para o MP1	59
4.3	Fração protonada para cada resíduo do peptídeo H-MP1 obtidas pelas simulações de CpHMD nas três configurações e três pHs diferentes.	60
4.4	Cargas líquidas calculadas para o H-MP1	60
4.5	Valores de pK_a e coeficientes de Hill para os resíduos do MP1.*	62
4.6	Valores de pK_a e coeficientes de Hill para os resíduos do H-MP1.*	62

Lista de Abreviaturas

PAMs Peptídeos Antimicrobianos

DM Dinâmica Molecular

CpHMD Dinâmica Molecular a pH Constante

POPC 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-fosfatidilcolina

POPG 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-fosfatidilglicerol

TFE Trifluoroetanol

VDW Van der Waals

MC Monte Carlo

GB *Generalized Born*

TREX *Temperature Replica Exchange*

HEWL *Hen Egg-White Lysozyme*

AMBER *Assisted Model Building with Energy Refinement*

CHARMM *Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics*

OPLS *Optimized Potentials for Liquid Simulations*

GROMOS *GRoningen MOlecular Simulation*

PBC *Periodic Boundary Conditions*

PME *Particle Mesh Ewald*

NAMD *NAnoscale Molecular Dynamics*

VMD *Visual Molecular Dynamics*

neMD *Nonequilibrium Molecular Dynamics*

CD *Circular Dichroism*

DSSP *Define Secondary Structure of Proteins*

Lys Lisina

Asp Ácido Aspártico

His Histidina

Trp Triptofano

Leu Leucina

Ile Isoleucina

COM *Center of Mass*

Sumário

1	Introdução e Justificativa	18
1.1	Propriedades e Mecanismos de Ação dos Peptídeos Antimicrobianos	19
1.2	Os Peptídeos MP1 e H-MP1	21
1.3	Dinâmica Molecular	25
1.4	Dinâmica Molecular a pH constante	27
2	Objetivos	29
3	Metodologia	30
3.1	Dinâmica Molecular	30
3.1.1	Detalhes Computacionais	33
3.2	Dinâmica Molecular a pH Constante	36
3.2.1	Detalhes Computacionais	40
4	Resultados e Discussão	41
4.1	Adsorção dos peptídeos MP1 e H-MP1 por simulações de Dinâmica Molecular	41
4.1.1	Análises de Estrutura Secundária	41
4.1.2	Processo de adsorção	48
4.1.3	Alterações na bicamada	54
4.1.4	Análises energéticas	56
4.2	Análises de regulação de carga da adsorção dos peptídeos por CpHMD . . .	58
5	Conclusão	67

Capítulo 1

Introdução e Justificativa

Os peptídeos antimicrobianos (PAMs) são uma nova classe de agentes antibióticos altamente efetivos e também boas alternativas aos antibióticos convencionais para enfrentar o aumento de cepas bacterianas resistentes [2–4], já que mecanismo de ação de organismos invasores contra esses tipos de antimicrobianos são raramente observados [5] e também por já ser conhecido que eles possuem atividade contra bactérias resistentes a vários tipos de antibióticos [6].

Esses peptídeos fazem parte do sistema imune de muitas espécies. Diferente dos antibióticos convencionais, PAMs agem na fase lipídica da membrana plasmática sem que sejam necessários receptores de membrana [7, 8], sendo uma vantagem devido ao fato de que o desenvolvimento de mecanismos de resistência pela bactéria pode ser dificultado quando o peptídeo age na membrana celular [9].

Nesse trabalho, procuramos elucidar em nível atômico-molecular o processo de adsorção e os detalhes da interação de dois peptídeos antimicrobianos com a bicamada lipídica, monitorando as mudanças estruturais que acontecem nos peptídeos, alterações provocadas na membrana modelo e também como ocorre a regulação de carga no peptídeo quando exposto à presença da bicamada e alterações de pH.

Capítulo 5

Conclusão

Nesse estudo foram investigadas, por dois tipos de simulações de Dinâmica Molecular, a influência do pH no processo de adsorção de dois peptídeos antimicrobianos da família dos mastoparanos, o Polybia-MP1 e seu análogo contendo histidina H-MP1, na bicamada lipídica mista mimética de bactérias e sua inserção espontânea na fase hidrofóbica da bicamada. Os resultados mostraram que o análogo H-MP1, com histidinas substituindo as lisinas do MP1, ficou mais responsivo ao pH do meio se comparado ao MP1. Ambos os peptídeos apresentam comportamento similar quando interagem com a bicamada, com aumento do conteúdo helicoidal com a adsorção, se posicionando paralelamente ao plano da bicamada. Apesar de os dois peptídeos apresentarem um estado adsorvido final semelhante, o processo de adsorção foi diferente. Antes de a adsorção ocorrer os peptídeos encostam o N-terminal primeiro na bicamada, o MP1 então, rapidamente adsorve, o análogo permaneceu perpendicular à bicamada por quase 400 ns na simulação apresentada, perdendo grande parte da sua estrutura secundária que estava em conformação α -hélice e depois se insere e também fica paralelo à bicamada, recuperando sua estrutura em α -hélice com a influência do ambiente hidrofílico/hidrofóbico da interface. A quantidade de estrutura em α -hélice calculada usando a ligação de hidrogênio dos resíduos $i-i + 4$ do *backbone* teve boa concordância com as determinadas experimentalmente por CD. As calculadas com o *software* STRIDE, superestimaram a quantidade de hélice nos dois peptídeos. As simulações de DM também evidenciaram que as pontes salinas das cadeias laterais ajudaram a estabilizar a estrutura secundária. Os peptídeos adsorvidos são favorecidos pela interação eletrostática de acordo com as análises energéticas que são as principais responsáveis pela adsorção e enovelamento em α -hélice do peptídeo. Além disso, alterações na bicamada lipídica também foram observadas através de cálculos de parâmetro de ordem dos fosfolipídios que ficam em torno do peptídeo adsorvido. Esses resultados mostraram uma diminuição da ordem das cadeias lipídicas com a adsorção dos peptídeos, indicando perturbação do empacotamento lipídico e aumento da fluidez da bicamada localizado nessa região.

A fim de analisar a eletrostática envolvida na interação desses peptídeos com a bicamada foram realizadas análises das simulações de Dinâmica Molecular a pH Constante. As cargas líquidas dos dois peptídeos foram calculadas, bem como os valores de pK_a aparente para cada resíduo ionizável em cada configuração, ressaltando as diferenças nas frações de protonação para os peptídeos em solução aquosa ou na presença da bicamada. O potencial eletrostático da bicamada e o pH da solução modulam a afinidade dos dois peptídeos pela bicamada modelo. Também foi investigado o efeito de alteração do pH local na superfície da bicamada causada por esse potencial eletrostático. As cargas de cada peptídeo em diferentes situações foram calculadas e o conjunto de fatores analisados auxilia no entendimento da seletividade do análogo contendo histidina no meio ligeiramente ácido. Essa seletividade pode ter um papel importante na atividade inibitória de proliferação celular de bactérias.

Referências

- 1 TOLKIEN, J. R. R. *O Senhor dos Anéis: A Sociedade do Anel*. 3ª edição. ed. Sao Paulo: Martins Fontes, 2000. ISBN 9788533613379.
- 2 YEAMAN, M. R.; YOUNT, N. Y. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews*, v. 55, n. 1, p. 27–55, mar. 2003. ISSN 0031-6997.
- 3 MALIK, E. et al. pH Dependent Antimicrobial Peptides and Proteins, Their Mechanisms of Action and Potential as Therapeutic Agents. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 4, nov. 2016. ISSN 1424-8247.
- 4 HANEY, E. F.; STRAUS, S. K.; HANCOCK, R. E. W. Reassessing the Host Defense Peptide Landscape. *Frontiers in Chemistry*, v. 7, 2019. ISSN 2296-2646. Disponível em: <https://internal-journal.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2019.00043/full>.
- 5 ZASLOFF, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, v. 415, n. 6870, p. 389–395, jan. 2002. ISSN 1476-4687. Number: 6870 Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/415389a>.
- 6 KANG, H.-K. et al. The therapeutic applications of antimicrobial peptides (AMPs): a patent review. *Journal of Microbiology (Seoul, Korea)*, v. 55, n. 1, p. 1–12, jan. 2017. ISSN 1976-3794.
- 7 CHEN, Y. et al. Rational design of alpha-helical antimicrobial peptides with enhanced activities and specificity/therapeutic index. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 280, n. 13, p. 12316–12329, abr. 2005. ISSN 0021-9258.
- 8 WANG, K.-r. et al. Antitumor effects, cell selectivity and structure-activity relationship of a novel antimicrobial peptide polybia-MPI. *Peptides*, v. 29, n. 6, p. 963–968, jun. 2008. ISSN 0196-9781.
- 9 GIULIANI, A.; PIRRI, G.; NICOLETTO, S. F. Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *Central European Journal of Biology*, v. 2, n. 1, p. 1–33, mar. 2007. ISSN 1644-3632. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/s11535-007-0010-5>.
- 10 WANG, Z.; WANG, G. APD: the Antimicrobial Peptide Database. *Nucleic Acids Research*, v. 32, n. Database issue, p. D590–592, jan. 2004. ISSN 1362-4962.
- 11 HANCOCK, R. E.; LEHRER, R. Cationic peptides: a new source of antibiotics. *Trends in Biotechnology*, v. 16, n. 2, p. 82–88, fev. 1998. ISSN 0167-7799.

- 12 WIMLEY, W. C. Describing the Mechanism of Antimicrobial Peptide Action with the Interfacial Activity Model. *ACS chemical biology*, v. 5, n. 10, p. 905–917, out. 2010. ISSN 1554-8929. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2955829/>.
- 13 BECHINGER, B.; ZASLOFF, M.; OPELLA, S. J. Structure and interactions of magainin antibiotic peptides in lipid bilayers: a solid-state nuclear magnetic resonance investigation. *Biophysical Journal*, v. 62, n. 1, p. 12–14, abr. 1992. ISSN 0006-3495.
- 14 MARASSI, F. M.; OPELLA, S. J. A Solid-State NMR Index of Helical Membrane Protein Structure and Topology. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 144, n. 1, p. 150–155, maio 2000. ISSN 1090-7807. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090780700920354>.
- 15 KLOCEK, G. et al. Thermodynamics of melittin binding to lipid bilayers. Aggregation and pore formation. *Biochemistry*, v. 48, n. 12, p. 2586–2596, mar. 2009. ISSN 1520-4995.
- 16 FOŠNARIČ, M.; IGLIČ, A.; MAY, S. Influence of rigid inclusions on the bending elasticity of a lipid membrane. *Physical Review E*, v. 74, n. 5, p. 051503, nov. 2006. Disponível em: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.74.051503>.
- 17 PAVLIČ, J. I. et al. Bending elasticity of lipid membranes in presence of beta 2 glycoprotein I in the surrounding solution. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 253, p. 012064, nov. 2010. ISSN 1742-6596. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/253/1/012064>.
- 18 JING, W. et al. The structure of the antimicrobial peptide Ac-RRWWRF-NH₂ bound to micelles and its interactions with phospholipid bilayers. *The Journal of Peptide Research: Official Journal of the American Peptide Society*, v. 61, n. 5, p. 219–229, maio 2003. ISSN 1397-002X.
- 19 SPAAR, A.; MÜNSTER, C.; SALDITT, T. Conformation of peptides in lipid membranes studied by x-ray grazing incidence scattering. *Biophysical Journal*, v. 87, n. 1, p. 396–407, jul. 2004. ISSN 0006-3495.
- 20 ZEMEL, A.; BEN-SHAUL, A.; MAY, S. Modulation of the spontaneous curvature and bending rigidity of lipid membranes by interfacially adsorbed amphipathic peptides. *The Journal of Physical Chemistry. B*, v. 112, n. 23, p. 6988–6996, jun. 2008. ISSN 1520-6106.
- 21 MAY, S.; HARRIES, D.; BEN-SHAUL, A. Lipid demixing and protein-protein interactions in the adsorption of charged proteins on mixed membranes. *Biophysical Journal*, v. 79, n. 4, p. 1747–1760, out. 2000. ISSN 0006-3495. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1301069/>.
- 22 EPAND, R. F. et al. Probing the “Charge Cluster Mechanism” in Amphipathic Helical Cationic Antimicrobial Peptides. *Biochemistry*, v. 49, n. 19, p. 4076–4084, maio 2010. ISSN 0006-2960. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi100378m>.
- 23 PARENTE, R. A.; NIR, S.; SZOKA, F. C. Mechanism of leakage of phospholipid vesicle contents induced by the peptide GALA. *Biochemistry*, v. 29, n. 37, p. 8720–8728, set. 1990. ISSN 0006-2960.

- 24 EPAND, R. F. et al. Lipid Segregation Explains Selective Toxicity of a Series of Fragments Derived from the Human Cathelicidin LL-37. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 53, n. 9, p. 3705–3714, set. 2009. ISSN 0066-4804. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2737875/>.
- 25 HANEY, E. F. et al. Induction of non-lamellar lipid phases by antimicrobial peptides: a potential link to mode of action. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 163, n. 1, p. 82–93, jan. 2010. ISSN 1873-2941.
- 26 NGUYEN, L. T.; HANEY, E. F.; VOGEL, H. J. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends in Biotechnology*, v. 29, n. 9, p. 464–472, set. 2011. ISSN 1879-3096.
- 27 WIMLEY, W. C.; HRISTOVA, K. Antimicrobial peptides: successes, challenges and unanswered questions. *The Journal of Membrane Biology*, v. 239, n. 1-2, p. 27–34, jan. 2011. ISSN 1432-1424.
- 28 BROCHARD, F.; GENNES, P. G. D.; PFEUTY, P. Surface tension and deformations of membrane structures : relation to two-dimensional phase transitions. *Journal de Physique*, v. 37, n. 10, p. 1099–1104, out. 1976. ISSN 0302-0738. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1051/jphys:0197600370100109900>.
- 29 PUECH, P.-H. et al. Line thermodynamics: adsorption at a membrane edge. *Physical Review Letters*, v. 90, n. 12, p. 128304, mar. 2003. ISSN 0031-9007.
- 30 HUANG, H. W.; CHEN, F.-Y.; LEE, M.-T. Molecular mechanism of Peptide-induced pores in membranes. *Physical Review Letters*, v. 92, n. 19, p. 198304, maio 2004. ISSN 0031-9007.
- 31 FOSNARIC, M. et al. Stabilization of pores in lipid bilayers by anisotropic inclusions. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 107, n. 45, p. 12519–12526, 2003. ISSN 1520-6106. Disponível em: <https://research.vu.nl/en/publications/stabilization-of-pores-in-lipid-bilayers-by-anisotropic-inclusion>.
- 32 BETTERTON, M. D.; BRENNER, M. P. Electrostatic Edge Instability of Lipid Membranes. *Physical Review Letters*, v. 82, n. 7, p. 1598–1601, fev. 1999. Disponível em: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.82.1598>.
- 33 MATSUZAKI, K. et al. Modulation of magainin 2-lipid bilayer interactions by peptide charge. *Biochemistry*, v. 36, n. 8, p. 2104–2111, fev. 1997. ISSN 0006-2960.
- 34 BROGDEN, K. A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nature Reviews. Microbiology*, v. 3, n. 3, p. 238–250, mar. 2005. ISSN 1740-1526.
- 35 SENGUPTA, D. et al. Toroidal pores formed by antimicrobial peptides show significant disorder. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 1778, n. 10, p. 2308–2317, out. 2008. ISSN 0005-2736. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273608001764>.
- 36 GAZIT, E. et al. Structure and orientation of the mammalian antibacterial peptide cecropin P1 within phospholipid membranes. *Journal of Molecular Biology*, v. 258, n. 5, p. 860–870, maio 1996. ISSN 0022-2836.

- 37 DEAN, R. E. et al. A carpet-based mechanism for direct antimicrobial peptide activity against vaccinia virus membranes. *Peptides*, v. 31, n. 11, p. 1966–1972, nov. 2010. ISSN 1873-5169.
- 38 SHAI, Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by α -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 1462, n. 1, p. 55–70, dez. 1999. ISSN 0005-2736. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000527369900200X>.
- 39 BECHINGER, B.; LOHNER, K. Detergent-like actions of linear amphipathic cationic antimicrobial peptides. *Biochimica Et Biophysica Acta*, v. 1758, n. 9, p. 1529–1539, set. 2006. ISSN 0006-3002.
- 40 CABRERA, M. P. dos S. et al. Interactions of mast cell degranulating peptides with model membranes: A comparative biophysical study. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 486, n. 1, p. 1–11, jun. 2009. ISSN 0003-9861. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986109000812>.
- 41 YANDEK, L. E.; POKORNY, A.; ALMEIDA, P. F. F. Wasp Mastoparans Follow the Same Mechanism as the Cell-Penetrating Peptide Transportan 10. *Biochemistry*, v. 48, n. 30, p. 7342–7351, ago. 2009. ISSN 0006-2960. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2774274/>.
- 42 MP, C. et al. New insight into the mechanism of action of wasp mastoparan peptides: lytic activity and clustering observed with giant vesicles. *Langmuir : the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, v. 27, n. 17, p. 10805–10813, ago. 2011. ISSN 0743-7463, 1520-5827. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/21797216>.
- 43 ANDREU, D.; RIVAS, L. Animal antimicrobial peptides: an overview. *Biopolymers*, v. 47, n. 6, p. 415–433, 1998. ISSN 0006-3525.
- 44 CABRERA, M. P. D. S. et al. Conformation and lytic activity of eumecine mastoparan: a new antimicrobial peptide from wasp venom. *The Journal of Peptide Research*, v. 64, n. 3, p. 95–103, 2004. ISSN 1399-3011. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1399-3011.2004.00173.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3011.2004.00173.x>.
- 45 SOUZA, B. M. et al. Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Peptides*, p. 2157–2164, nov. 2005. ISSN 0196-9781. Accepted: 2014-05-20T13:54:38Z Publisher: Elsevier B.V. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/19558>.
- 46 WANG, K.-r. et al. Novel mode of action of polybia-MPI, a novel antimicrobial peptide, in multi-drug resistant leukemic cells. *Cancer Letters*, v. 278, n. 1, p. 65–72, jun. 2009. ISSN 1872-7980.
- 47 CABRERA, M. P. dos S. et al. Influence of the bilayer composition on the binding and membrane disrupting effect of Polybia-MP1, an antimicrobial mastoparan peptide with leukemic T-lymphocyte cell selectivity. *Biochemistry*, v. 51, n. 24, p. 4898–4908, jun. 2012. ISSN 1520-4995.

- 48 ZANIN, L. P. M. et al. Effects of N-terminus modifications on the conformation and permeation activities of the synthetic peptide L1A. *Amino Acids*, v. 48, n. 6, p. 1433–1444, jun. 2016. ISSN 1438-2199. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2196-1>.
- 49 ALVARES, D. S.; WILKE, N.; NETO, J. R. Effect of N-terminal acetylation on lytic activity and lipid-packing perturbation induced in model membranes by a mastoparan-like peptide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 1860, n. 3, p. 737–748, mar. 2018. ISSN 0005-2736. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273617304108>.
- 50 DENNISON, S. R. et al. Amphiphilic alpha-helical antimicrobial peptides and their structure/function relationships. *Protein and Peptide Letters*, v. 12, n. 1, p. 31–39, jan. 2005. ISSN 0929-8665.
- 51 PASUPULETI, M. et al. Rational Design of Antimicrobial C3a Analogues with Enhanced Effects against Staphylococci Using an Integrated Structure and Function-Based Approach. *Biochemistry*, v. 47, n. 35, p. 9057–9070, set. 2008. ISSN 0006-2960. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi800991e>.
- 52 D, E. et al. Analysis of membrane and surface protein sequences with the hydrophobic moment plot. *Journal of Molecular Biology*, v. 179, n. 1, p. 125–142, out. 1984. ISSN 0022-2836, 1089-8638. Disponível em: <http://europepmc.org/article/med/6502707>.
- 53 LEITE, N. B. et al. Effect of the aspartic acid D2 on the affinity of Polybia-MP1 to anionic lipid vesicles. *European Biophysics Journal*, v. 43, n. 4, p. 121–130, maio 2014. ISSN 1432-1017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00249-014-0945-1>.
- 54 ALVARES, D. S. et al. The interfacial properties of the peptide Polybia-MP1 and its interaction with DPPC are modulated by lateral electrostatic attractions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 1858, n. 2, p. 393–402, fev. 2016. ISSN 0005-2736. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273615004083>.
- 55 CABRERA, M. P. dos S. et al. Selectivity in the mechanism of action of antimicrobial mastoparan peptide Polybia-MP1. *European biophysics journal: EBJ*, v. 37, n. 6, p. 879–891, jul. 2008. ISSN 0175-7571.
- 56 LEITE, N. B. et al. The effect of acidic residues and amphipathicity on the lytic activities of mastoparan peptides studied by fluorescence and CD spectroscopy. *Amino Acids*, v. 40, n. 1, p. 91–100, jan. 2011. ISSN 1438-2199.
- 57 ALVARES, D. d. S. et al. Modulatory Effects of Acidic pH and Membrane Potential on the Adsorption of pH-Sensitive Peptides to Anionic Lipid Membrane. *Membranes*, v. 11, n. 5, p. 307, maio 2021. Number: 5 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0375/11/5/307>.
- 58 VOGT, T. C. B.; BECHINGER, B. The Interactions of Histidine-containing Amphipathic Helical Peptide Antibiotics with Lipid Bilayers THE EFFECTS OF CHARGES AND pH. *Journal of Biological Chemistry*, v. 274, n. 41, p. 29115–29121, out. 1999. ISSN 0021-9258, 1083-351X. Publisher: American Society for Biochemistry and Molecular Biology. Disponível em: <http://www.jbc.org/content/274/41/29115>.

- 59 MAKOVITZKI, A.; SHAI, Y. pH-Dependent Antifungal Lipopeptides and Their Plausible Mode of Action. *Biochemistry*, v. 44, n. 28, p. 9775–9784, jul. 2005. ISSN 0006-2960. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi0502386>.
- 60 MAKOVITZKI, A.; FINK, A.; SHAI, Y. Suppression of Human Solid Tumor Growth in Mice by Intratumor and Systemic Inoculation of Histidine-Rich and pH-Dependent Host Defense-like Lytic Peptides. *Cancer Research*, v. 69, n. 8, p. 3458–3463, abr. 2009. ISSN 0008-5472, 1538-7445. Publisher: American Association for Cancer Research Section: Experimental Therapeutics, Molecular Targets, and Chemical Biology. Disponível em: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/69/8/3458>.
- 61 HE, K. et al. Antimicrobial peptide pores in membranes detected by neutron in-plane scattering. *Biochemistry*, v. 34, n. 48, p. 15614–15618, dez. 1995. ISSN 0006-2960.
- 62 KOENIG, B. W.; FERRETTI, J. A.; GAWRISCH, K. Site-specific deuterium order parameters and membrane-bound behavior of a peptide fragment from the intracellular domain of HIV-1 gp41. *Biochemistry*, v. 38, n. 19, p. 6327–6334, maio 1999. ISSN 0006-2960.
- 63 EEMAN, M.; DELEU, M. From biological membranes to biomimetic model membranes. *BASE*, jan. 2010. ISSN 1370-6233, 1780-4507. Disponível em: <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=6568>.
- 64 GENNIS, R. B. *Biomembranes: Molecular Structure and Function*. New York: Springer-Verlag, 1989. (Springer Advanced Texts in Chemistry). ISBN 9781475720679. Disponível em: <https://www.springer.com/gp/book/9781475720679>.
- 65 LOHNER, K.; SEVCSIK, E.; PABST, G. Chapter Five Liposome-Based Biomembrane Mimetic Systems: Implications for Lipid–Peptide Interactions. In: LIU, A. L. (Ed.). *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*. Academic Press, 2008. v. 6, p. 103–137. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S155445160706005X>.
- 66 DENNISON, S. R.; HARRIS, F.; PHOENIX, D. A. Chapter Three - Langmuir–Blodgett Approach to Investigate Antimicrobial Peptide–Membrane Interactions. In: IGLIČ, A.; KULKARNI, C. V. (Ed.). *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*. Academic Press, 2014. v. 20, p. 83–110. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124186989000034>.
- 67 DEVAUX, P. F. Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes. *Biochemistry*, v. 30, n. 5, p. 1163–1173, fev. 1991. ISSN 0006-2960.
- 68 FADOK, V. A. et al. The role of phosphatidylserine in recognition of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death and Differentiation*, v. 5, n. 7, p. 551–562, jul. 1998. ISSN 1350-9047.
- 69 ZWAAL, R. F. A.; COMFURIUS, P.; BEVERS, E. M. Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, v. 62, n. 9, p. 971–988, maio 2005. ISSN 1420-682X.

- 70 ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Phase Transition for a Hard Sphere System. *The Journal of Chemical Physics*, v. 27, n. 5, p. 1208–1209, nov. 1957. ISSN 0021-9606, 1089-7690. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1743957>.
- 71 STILLINGER, F. H.; RAHMAN, A. Improved simulation of liquid water by molecular dynamics. *The Journal of Chemical Physics*, v. 60, n. 4, p. 1545–1557, fev. 1974. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1681229>.
- 72 MCCAMMON, J. A.; GELIN, B. R.; KARPLUS, M. Dynamics of folded proteins. *Nature*, v. 267, n. 5612, p. 585–590, jun. 1977. ISSN 0028-0836.
- 73 PLOEG, P. van der; BERENDSEN, H. J. C. Molecular dynamics simulation of a bilayer membrane. *The Journal of Chemical Physics*, v. 76, n. 6, p. 3271–3276, mar. 1982. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.443321>.
- 74 VOET, D.; VOET, J. G. *Bioquímica*. 4ª edição. ed. [S.l.]: Artmed, 2013.
- 75 ATKINS, P.; PAULA, J. d. *Físico-química - Fundamentos*. 6ª edição. ed. [S.l.]: LTC, 2017. ISBN 978-85-216-3422-5.
- 76 NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 7ª edição. ed. [S.l.]: Artmed, 2018.
- 77 WARSHEL, A. Calculations of chemical processes in solutions. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 83, n. 12, p. 1640–1652, jun. 1979. ISSN 0022-3654. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/j100475a014>.
- 78 PERUTZ, M. F. Electrostatic effects in proteins. *Science*, v. 201, n. 4362, p. 1187–1191, set. 1978. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Publisher: American Association for the Advancement of Science Section: Articles. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/201/4362/1187>.
- 79 WARSHEL, A.; RUSSELL, S. T. Calculations of electrostatic interactions in biological systems and in solutions. *Quarterly Reviews of Biophysics*, v. 17, n. 3, p. 283–422, ago. 1984. ISSN 1469-8994, 0033-5835. Publisher: Cambridge University Press. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/quarterly-reviews-of-biophysics/article/abs/calculations-of-electrostatic-interactions-in-biological-systems-and-in-solutions/44186947919D48E7ED4AD63B27AA2676>.
- 80 MATTHEW, J. B. Electrostatic Effects in Proteins. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, v. 14, n. 1, p. 387–417, 1985. eprint: <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.14.060185.002131>. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.14.060185.002131>.
- 81 MACHUQUEIRO, M.; BAPTISTA, A. M. Molecular Dynamics at Constant pH and Reduction Potential: Application to Cytochrome c3. *Journal of the American Chemical Society*, v. 131, n. 35, p. 12586–12594, set. 2009. ISSN 0002-7863. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja808463e>.

- 82 HARRIS, T. K.; TURNER, G. J. Structural basis of perturbed pKa values of catalytic groups in enzyme active sites. *IUBMB life*, v. 53, n. 2, p. 85–98, fev. 2002. ISSN 1521-6543.
- 83 BORON, W. F. Regulation of intracellular pH. *Advances in Physiology Education*, v. 28, n. 1-4, p. 160–179, dez. 2004. ISSN 1043-4046.
- 84 OCCHIPINTI, R.; BORON, W. F. Mathematical modeling of acid-base physiology. *Progress in biophysics and molecular biology*, v. 117, n. 1, p. 43–58, jan. 2015. ISSN 0079-6107. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4666298/>.
- 85 BAPTISTA, A. M.; TEIXEIRA, V. H.; SOARES, C. M. Constant-pH molecular dynamics using stochastic titration. *The Journal of Chemical Physics*, v. 117, n. 9, p. 4184–4200, ago. 2002. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1497164>.
- 86 DLUGOSZ, M.; ANTOSIEWICZ, J. M. Constant-pH molecular dynamics simulations: a test case of succinic acid. *Chemical Physics*, v. 302, n. 1, p. 161–170, jul. 2004. ISSN 0301-0104. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030101040400134X>.
- 87 MONGAN, J.; CASE, D. A.; MCCAMMON, J. A. Constant pH molecular dynamics in generalized Born implicit solvent. *Journal of Computational Chemistry*, v. 25, n. 16, p. 2038–2048, dez. 2004. ISSN 0192-8651.
- 88 MENG, Y.; ROITBERG, A. E. Constant pH replica exchange molecular dynamics in biomolecules using a discrete protonation model. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 6, n. 4, p. 1401–1412, abr. 2010. ISSN 1549-9626.
- 89 SWAILS, J. M.; YORK, D. M.; ROITBERG, A. E. Constant pH Replica Exchange Molecular Dynamics in Explicit Solvent Using Discrete Protonation States: Implementation, Testing, and Validation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 10, n. 3, p. 1341–1352, mar. 2014. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct401042b>.
- 90 KONG, X.; BROOKS, C. L. -dynamics: A new approach to free energy calculations. *The Journal of Chemical Physics*, v. 105, n. 6, p. 2414–2423, ago. 1996. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.472109>.
- 91 LEE, M. S.; SALSBUURY, F. R.; BROOKS, C. L. Constant-pH molecular dynamics using continuous titration coordinates. *Proteins*, v. 56, n. 4, p. 738–752, set. 2004. ISSN 1097-0134.
- 92 MONGAN, J.; CASE, D. A. Biomolecular simulations at constant pH. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 15, n. 2, p. 157–163, abr. 2005. ISSN 0959-440X. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959440X05000485>.
- 93 KHANDOGIN, J.; BROOKS, C. L. Constant pH molecular dynamics with proton tautomerism. *Biophysical Journal*, v. 89, n. 1, p. 141–157, jul. 2005. ISSN 0006-3495.

- 94 MACHUQUEIRO, M.; BAPTISTA, A. M. Constant-pH molecular dynamics with ionic strength effects: protonation-conformation coupling in decalysine. *The Journal of Physical Chemistry. B*, v. 110, n. 6, p. 2927–2933, fev. 2006. ISSN 1520-6106.
- 95 WILLIAMS, S. L.; OLIVEIRA, C. A. F. de; MCCAMMON, J. A. Coupling Constant pH Molecular Dynamics with Accelerated Molecular Dynamics. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 6, n. 2, p. 560–568, fev. 2010. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct9005294>.
- 96 ITOH, S. G.; DAMJANOVIĆ, A.; BROOKS, B. R. pH replica-exchange method based on discrete protonation states. *Proteins*, v. 79, n. 12, p. 3420–3436, dez. 2011. ISSN 1097-0134.
- 97 SALOMON-FERRER, R.; CASE, D. A.; WALKER, R. C. An overview of the Amber biomolecular simulation package. *WIREs Computational Molecular Science*, v. 3, n. 2, p. 198–210, 2013. ISSN 1759-0884. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/wcms.1121>. Disponível em: <https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/wcms.1121>.
- 98 SWAILS, J. M.; ROITBERG, A. E. Enhancing Conformation and Protonation State Sampling of Hen Egg White Lysozyme Using pH Replica Exchange Molecular Dynamics. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 8, n. 11, p. 4393–4404, nov. 2012. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct300512h>.
- 99 BROOKS, B. et al. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program. *Journal of computational chemistry*, v. 30, n. 10, p. 1545–1614, jul. 2009. ISSN 0192-8651. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2810661/>.
- 100 FLANNELLY, D. F.; AOKI, T. G.; ARISTILDE, L. Short-time dynamics of pH-dependent conformation and substrate binding in the active site of beta-glucosidases: A computational study. *Journal of Structural Biology*, v. 191, n. 3, p. 352–364, set. 2015. ISSN 1047-8477. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047847715300277>.
- 101 JEONG, B.-S.; DYER, R. B. Proton Transport Mechanism of M2 Proton Channel Studied by Laser-Induced pH Jump. *Journal of the American Chemical Society*, v. 139, n. 19, p. 6621–6628, maio 2017. ISSN 0002-7863. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5509413/>.
- 102 SOARES, R. O. et al. Unraveling HIV protease flaps dynamics by Constant pH Molecular Dynamics simulations. *Journal of Structural Biology*, v. 195, n. 2, p. 216–226, ago. 2016. ISSN 1047-8477. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047847716301125>.
- 103 OLIVEIRA, A. S. F. et al. Coupling between protonation and conformation in cytochrome c oxidase: Insights from constant-pH MD simulations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, v. 1857, n. 6, p. 759–771, jun. 2016. ISSN 0005-2728. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272816300718>.

- 104 RADAK, B. K. et al. Constant-pH Molecular Dynamics Simulations for Large Biomolecular Systems. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 13, n. 12, p. 5933–5944, dez. 2017. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00875>.
- 105 MARTINS, I. B. S. et al. The effect of acidic pH on the adsorption and lytic activity of the peptides Polybia-MP1 and its histidine-containing analog in anionic lipid membrane: a biophysical study by molecular dynamics and spectroscopy. *Amino Acids*, abr. 2021. ISSN 1438-2199. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00726-021-02982-0>.
- 106 ALVARES, D. S. et al. The antimicrobial peptide Polybia-MP1 differentiates membranes with the hopanoid, diplopterol from those with cholesterol. *BBA Advances*, p. 100002, jan. 2021. ISSN 2667-1603. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667160321000016>.
- 107 LEACH, A. R.; LEACH. *Molecular Modelling: Principles and Applications*. 2ª edição. ed. Harlow, England ; New York: Prentice Hall, 2001. ISBN 978-0-582-38210-7.
- 108 FRENKEL, D.; SMIT, B. *Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications*. 2ª edição. ed. [S.l.]: Academic Press, 2001.
- 109 JORGENSEN, W. L.; MAXWELL, D. S.; TIRADO-RIVES, J. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. *Journal of the American Chemical Society*, v. 118, n. 45, p. 11225–11236, nov. 1996. ISSN 0002-7863. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja9621760>.
- 110 HORNAK, V. et al. Comparison of multiple AMBER force fields and development of improved protein backbone parameters. *Proteins*, v. 65, n. 3, p. 712–725, nov. 2006. ISSN 0887-3585. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4805110/>.
- 111 HUANG, J.; MACKERELL, A. D. CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data. *Journal of Computational Chemistry*, v. 34, n. 25, p. 2135–2145, set. 2013. ISSN 1096-987X.
- 112 HORTA, B. A. C. et al. A GROMOS-Compatible Force Field for Small Organic Molecules in the Condensed Phase: The 2016H66 Parameter Set. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 12, n. 8, p. 3825–3850, ago. 2016. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00187>.
- 113 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, out. 1984. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.448118>.
- 114 ULIN, M. J.; CORTI, D. S. Molecular Dynamics at Constant Pressure: Allowing the System to Control Volume Fluctuations via a “Shell” Particle. *Entropy*, v. 15, n. 9, p. 3941–3969, set. 2013. Number: 9 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1099-4300/15/9/3941>.

- 115 FELLER, S. E. et al. Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method. *The Journal of Chemical Physics*, v. 103, n. 11, p. 4613–4621, set. 1995. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.470648>.
- 116 DAVIDCHACK, R. L.; HANDEL, R.; TRETYAKOV, M. V. Langevin thermostat for rigid body dynamics. *The Journal of Chemical Physics*, v. 130, n. 23, p. 234101, jun. 2009. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.3149788>.
- 117 HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, v. 14, n. 1, p. 33–38, fev. 1996. ISSN 0263-7855. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0263785596000185>.
- 118 R, G.-G. et al. MEMBPLUGIN: studying membrane complexity in VMD. *Bioinformatics (Oxford, England)*, v. 30, n. 10, p. 1478–1480, jan. 2014. ISSN 1367-4803, 1367-4811. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/24451625>.
- 119 FRISHMAN, D.; ARGOS, P. Knowledge-based protein secondary structure assignment. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 23, n. 4, p. 566–579, 1995. ISSN 1097-0134. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/prot.340230412>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/prot.340230412>.
- 120 PIGGOT, T. J. et al. On the Calculation of Acyl Chain Order Parameters from Lipid Simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 13, n. 11, p. 5683–5696, nov. 2017. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00643>.
- 121 JO, S. et al. CHARMM-GUI Membrane Builder for Mixed Bilayers and Its Application to Yeast Membranes. *Biophysical Journal*, v. 97, n. 1, p. 50–58, jul. 2009. ISSN 0006-3495. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2711372/>.
- 122 JO, S. et al. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*, v. 29, n. 11, p. 1859–1865, ago. 2008. ISSN 1096-987X.
- 123 MARK, P.; NILSSON, L. Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 105, n. 43, p. 9954–9960, nov. 2001. ISSN 1089-5639. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp003020w>.
- 124 PHILLIPS, J. C. et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, v. 26, n. 16, p. 1781–1802, 2005. ISSN 1096-987X. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jcc.20289>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.20289>.
- 125 KNAPP, B.; OSPINA, L.; DEANE, C. M. Avoiding False Positive Conclusions in Molecular Simulation: The Importance of Replicas. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 14, n. 12, p. 6127–6138, dez. 2018. ISSN 1549-9618, 1549-9626. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jctc.8b00391>.

- 126 ELBER, R.; RUYMGAART, A. P.; HESS, B. SHAKE parallelization. *The European physical journal. Special topics*, v. 200, n. 1, p. 211–223, nov. 2011. ISSN 1951-6355. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3285512/>.
- 127 MIYAMOTO, S.; KOLLMAN, P. A. Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. *Journal of Computational Chemistry*, v. 13, n. 8, p. 952–962, 1992. ISSN 1096-987X. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jcc.540130805>. Disponível em: <https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.540130805>.
- 128 DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An Nlog(N) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics*, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, jun. 1993. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.464397>.
- 129 STERN, H. A. Molecular simulation with variable protonation states at constant pH. *The Journal of Chemical Physics*, v. 126, n. 16, p. 164112, abr. 2007. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.2731781>.
- 130 CHEN, Y.; ROUX, B. Constant-pH Hybrid Nonequilibrium Molecular Dynamics–Monte Carlo Simulation Method. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 11, n. 8, p. 3919–3931, ago. 2015. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00261>.
- 131 NILMEIER, J. P. et al. Nonequilibrium candidate Monte Carlo is an efficient tool for equilibrium simulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 108, n. 45, p. E1009–E1018, nov. 2011. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Publisher: National Academy of Sciences Section: PNAS Plus. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/108/45/E1009>.
- 132 CHEN, Y.; ROUX, B. Efficient hybrid non-equilibrium molecular dynamics - Monte Carlo simulations with symmetric momentum reversal. *The Journal of Chemical Physics*, v. 141, n. 11, p. 114107, set. 2014. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4895516>.
- 133 CHEN, Y.; ROUX, B. Generalized Metropolis acceptance criterion for hybrid non-equilibrium molecular dynamics—Monte Carlo simulations. *The Journal of Chemical Physics*, v. 142, n. 2, p. 024101, jan. 2015. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4904889>.
- 134 RADAK, B. K.; ROUX, B. Efficiency in nonequilibrium molecular dynamics Monte Carlo simulations. *The Journal of Chemical Physics*, v. 145, n. 13, p. 134109, out. 2016. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4964288>.
- 135 KABSCH, W.; SANDER, C. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. *Biopolymers*, v. 22, n. 12, p. 2577–2637, dez. 1983. ISSN 0006-3525.

- 136 WEINSTOCK, D. S. et al. Correlation between ^{13}C chemical shifts and helix content of peptide ensembles. *Protein Science : A Publication of the Protein Society*, v. 17, n. 5, p. 950–954, maio 2008. ISSN 0961-8368. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2327285/>.
- 137 MARQUSEE, S.; BALDWIN, R. L. Helix stabilization by Glu-...Lys+ salt bridges in short peptides of de novo design. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 84, n. 24, p. 8898–8902, dez. 1987. ISSN 0027-8424. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC299658/>.
- 138 FAIRMAN, R. et al. Further studies of the helix dipole model: Effects of a free $-\text{NH}_3^+$ or $-\text{COO}^-$ group on helix stability. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 5, n. 1, p. 1–7, 1989. ISSN 1097-0134. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/prot.340050102>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/prot.340050102>.
- 139 HUYGHUES-DESPOINTES, B. M. P.; SCHOLTZ, J. M.; BALDWIN, R. L. Helical peptides with three pairs of Asp-Arg and Glu-Arg residues in different orientations and spacings. *Protein Science*, v. 2, n. 1, p. 80–85, 1993. ISSN 1469-896X. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/pro.5560020108>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pro.5560020108>.
- 140 GAINES, G. L. *Insoluble monolayers at liquid-gas interfaces*. New York: Interscience Publishers, 1966. OCLC: 178483.