

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

**PROPRIEDADES ELETRÔNICAS E DE REATIVIDADE DE
AMINOÁCIDOS E SEQUÊNCIAS PEPTÍDICAS CURTAS: ESTUDO DE
MODELAGEM MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS**

DAIANE FERNANDES DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Augusto Batagin Neto

COORIENTADOR: Prof. Dr. Filipe Camargo Dalmatti Alves Lima

ARARAQUARA - SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROPRIEDADES ELETRÔNICAS E DE REATIVIDADE DE
AMINOÁCIDOS E SEQUÊNCIAS PEPTÍDICAS CURTAS: ESTUDO DE
MODELAGEM MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS

DAIANE FERNANDES DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Augusto Batagin Neto
COORIENTADOR: Prof. Dr. Filipe Camargo Dalmatti Alves Lima

ARARAQUARA - SP

2021

O49p

Oliveira, Daiane Fernandes de.

Propriedades eletrônicas e de reatividade de aminoácidos e sequências peptídicas curtas: estudo de modelagem molecular para identificação de compostos bioativos / Daiane Fernandes de Oliveira. – Araraquara: [S.n.], 2021.

62 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: Augusto Batagin Neto.

Coorientador: Filipe Camargo Dalmatti Alves Lima

1. Aminoácidos. 2. Peptídeos bioativos. 3. Antioxidantes. 4. Reatividade química. 5. Cálculos DFT. 6. Mapas doador-aceitador. 7. Índices de Fukui I. Batagin Neto, Augusto, orient. II. Lima, Filipe Camargo Dalmatti Alves, coorient. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Propriedades eletrônicas e de reatividade de aminoácidos e sequências peptídicas curtas: estudo de modelagem molecular para identificação de compostos bioativos

AUTORA: DAIANE FERNANDES DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: AUGUSTO BATAGIN NETO

COORIENTADOR: FILIPE CAMARGO DALMATTI ALVES LIMA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. AUGUSTO BATAGIN NETO (Participação Virtual)
Coordenadoria de Curso de Engenharia de Produção / UNESP Câmpus de Itapeva

Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO DE SOUZA DE ALMEIDA LEITE (Participação Virtual)
Faculdade de Medicina / Universidade de Brasília

Profa. Dra. ALEXANDRA PATRÍCIA REGO PLÁCIDO DO NASCIMENTO (Participação Virtual)
Departamento de Química e Bioquímica / Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Araraquara, 02 de setembro de 2021

Dedicatória

Aos meus professores, pela orientação, incentivo e paciência, ao meu filho Lucas por ser a minha fonte de energia para continuar buscando novas conquistas, e em memória de meu pai.

Agradecimentos

Em um ano tão atípico, em meio a uma pandemia e incertezas, iniciei minha jornada como mãe e o mestrado ao mesmo tempo, e para que esse sonho fosse possível, eu contei com a ajuda de algumas pessoas que me acompanharam, as quais gostaria de agradecer. Por isso expresso aqui, através de palavras simples e sinceras, o quanto essas pessoas são importantes para mim e o quanto sou grata por fazerem parte dessa conquista. Primeiramente, eu agradeço a meus pais, Solange e Márcio (*in memorian*), a minha avó dona Maria, minha irmã Daniela, e o pai do meu filho, Anderson, por terem se dedicado a cuidar de meu bebê, para que eu pudesse me dedicar aos estudos, e por me darem força nos momentos mais difíceis. Gostaria de agradecer também aos meus amigos Yuji, Iury, Thiago e Natália por me darem força quando precisei. Devo expressar aqui a minha imensa gratidão a um professor que se tornou amigo e que sempre acreditou em mim, meu Coorientador Prof. Dr. Filipe Camargo Dalmatti Alves Lima, e meu Orientador Prof. Dr. Augusto Batagin Neto, que não mediu esforços ao me orientar e em me atender para tirar as minhas dúvidas quando foi necessário. Agradeço à *start up* portuguesa *Bioprospectrum* que, por meio da colaboração com os orientadores deste trabalho, me permitiu trabalhar com este interessante tema de pesquisa. Agradeço também aos membros da banca de qualificação Prof^a Dr^a Danielle Goveia e Prof. Dr. José R. S. A. Leite pela leitura e contribuições apresentadas a este trabalho. Um agradecimento especial às colaboradoras da Seção Técnica de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas Campus de Araraquara - Unesp, Cláudia, Anielle e Denise, por sempre serem atenciosas nos atendimentos e orientações. Por fim, devo agradecer ao meu filho, por ser a razão e a força para eu enfrentar os obstáculos, e agradecer o maior merecedor de todos, que é Deus, pois ele é quem me sustenta em todos os momentos, juntamente com meus anjos e santos, são a força divina que torna tudo possível.

“A nossa maior glória não reside no fato de nunca cairmos, mas sim em nos levantarmos sempre depois de cada queda.” (Oliver Goldsmith)

Resumo

Peptídeos bioativos são compostos capazes de promover efeitos bioquímicos e fisiológicos no organismo humano, incluindo efeitos antioxidantes. Tais sequências curtas de aminoácidos apresentam uma alta versatilidade química e podem ser obtidas a partir da hidrolização de proteínas, sendo encontradas em alimentos e animais. Apesar da ampla gama de aplicações possíveis destes compostos, ainda há uma grande demanda por conhecimentos básicos acerca de suas propriedades eletrônicas, o que faz com que a obtenção de sequências otimizadas baseie-se em um grande número de atividades experimentais exploratórias, comumente guiadas por tentativa e erro. Neste trabalho, técnicas de modelagem molecular foram empregadas na investigação de propriedades eletrônicas e de reatividade química, no sentido de se melhor compreender propriedades antioxidantes de aminoácidos e estruturas peptídicas curtas. Para tanto, cálculos de estrutura eletrônica baseados na teoria do funcional da densidade foram empregados na análise de níveis eletrônicos de fronteira, índices de reatividade local e mapas de doador-aceitador de 20 aminoácidos primários e alguns di- e tripeptídeos. Os resultados sugerem que propriedades eletrônicas dos aminoácidos isolados podem ser empregadas na análise da reatividade de sequências peptídicas maiores. Em especial, aminoácidos aromáticos, carregados, e Metionina (M) apresentam um papel relevante na definição de sistemas reativos. Os resultados obtidos para sequências curtas de aminoácidos aqui apresentados permitem identificar a influência da posição relativa das unidades constituintes e das terminações na reatividade das sequências, as quais podem guiar estudos experimentais e a proposição de novos compostos e mecanismos de ação. Os dados obtidos evidenciam o potencial preditivo de atividades antioxidantes de polipeptídeos por meio de suas unidades constituintes, o que define uma interessante estratégia de síntese e bioprospecção de novos compostos otimizados.

Palavras-Chave: aminoácidos, peptídeos bioativos, antioxidantes, reatividade química, cálculos DFT, mapas doador-aceitador, índices de Fukui.

Abstract

Bioactive peptides are compounds that can promote biochemical and physiological effects on the human body, including antioxidant effects. Such short sequences of amino acids have a high chemical versatility and can be obtained from protein hydrolysis, being found in food and animals. Despite the wide range of possible applications of these compounds, there is still a great demand for basic knowledge about their electronic properties, so that the search of optimized sequences is commonly based on exploratory experimental activities, commonly guided by trial and error. In this monograph, molecular modeling techniques were employed to investigate electronic and chemical reactivity properties of isolated amino acids and some short peptide sequences to better understand their antioxidant properties. For this purpose, density functional theory based calculations were conducted to evaluate frontier electronic levels, local reactivity indexes and donor-acceptor maps of 20 primary amino acids and some di- and tripeptides. The results suggest that electronic properties of the isolated amino acids can be used to interpret the reactivity of larger peptide sequences. In particular, it was noticed that aromatic, charged and Methionine amino acids play a key role for the definition of peptides reactivity. The results obtained for small sequences allow us to identify the influence of the relative position of amino acids and terminations on the reactivity of the sequences, which can guide experimental studies and the proposal of new compounds, as well as mechanisms of action. Our data evidences the potential of predicting the antioxidant activities of polypeptides via short sequences, which defines an interesting strategy for the synthesis and bioprospecting of new optimized compounds.

Keywords: amino acids, bioactive peptides, antioxidants, chemical reactivity, DFT calculations, donor-acceptor maps, Fukui indexes.

Lista de Figuras

Figura 1 - Formas não iônicas e zwitteriônicas de aminoácidos.....	17
Figura 2 - Formação de uma ligação peptídica por condensação.....	18
Figura 3 - Estrutura básica de um aminoácido.....	22
Figura 4 - Estrutura e nomenclatura dos aminoácidos considerados no presente trabalho.....	23
Figura 5 - Exemplificação de uma análise comparativa via DAM e classificação dos sistemas com base nos valores relativos obtidos.....	28
Figura 6 - Alinhamento dos níveis de energia de fronteira dos AA: espécies não-zwitteriônicas (vermelho) e zwitteriônicas (azul).....	29
Figura 7 - Mapa doador-aceitador de aminoácidos primários (espécies não-zwitteriônicas).....	31
Figura 8 - Mapa doador-aceitador de aminoácidos primários (espécies zwitteriônicas).....	32
Figura 9 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA apolares não-zwitteriônicas.....	34
Figura 10 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA apolares zwitteriônicas.....	35
Figura 11 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA polares não-zwitteriônicas.....	35
Figura 12 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA polares zwitteriônicas.....	36
Figura 13 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA aromáticos não-zwitteriônicas.....	36
Figura 14 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA aromáticos zwitteriônicas.....	36
Figura 15 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA positivamente carregados não zwitteriônicas.....	37
Figura 16 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA positivamente carregados zwitteriônicas.....	37

Figura 17 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA negativamente carregados não-zwitteriônicos.....	37
Figura 18 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA negativamente carregados zwitteriônicos.....	38
Figura 19 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos calculados para o peptídeo bioativo Salamandrina-I calculados para o peptídeo bioativo Salamandrina-I.....	40
Figura 20 - Alinhamento dos níveis de energia dos dímeros em comparação com os aminoácidos utilizados, HOMO (inferior) e LUMO (superior): espécies não-zwitteriônicas.....	41
Figura 21 - IFCA calculados para diferentes peptídeos bioativos carregados (NH_3^+) e não carregados (NH_2).....	43
Figura 22 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos dípeptídeos não-zwitteriônicos.....	45
Figura 23 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos dípeptídeos zwitteriônicos.....	46
Figura 24 - Mapa doador-aceitador dos dipeptídeos e AA não-zwitteriônicos.....	48
Figura 25 - Mapa doador-aceitador dos dipeptídeos e AA zwitteriônicos.....	48
Figura 26 - Alinhamento dos níveis de energia dos tripeptídeos (WGG, GWG e GGW) em comparação com os aminoácidos utilizados, HOMO (inferior) e LUMO (superior).....	50
Figura 27 - Alinhamento dos níveis de energia dos tripeptídeos (FGG, GFG e GGF) em comparação com os aminoácidos utilizados, HOMO (inferior) e LUMO (superior).....	50
Figura 28 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos WGG, GWG e GGW não-zwitteriônicos.....	52
Figura 29 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos WGG, GWG e GGW zwitteriônicos.....	52
Figura 30 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos FGG, GFG e GGF não-zwitteriônicos.....	53
Figura 31 - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos FGG, GFG e GGF zwitteriônicos.....	53

Lista de símbolos e abreviaturas

AA - Aminoácido

A ou Ala - Alanina

C ou Cys - Cisteína

D ou Asp - Ácido aspártico

E ou Glu - Ácido glutâmico

F ou Phe - Fenilalanina

G ou Gly - Glicina

H ou His - Histidina

I ou Ile - Isoleucina

K ou Lys - Lisina

L ou Leu - Leucina

M ou Met - Metionina

N ou Ang - Asparagina

P ou Pro - Prolina

Q ou Gln - Glutamina

R ou Arg - Arginina

S ou Ser - Serina

T ou Thr - Treonina

V ou Val - Valina

W ou Trp - Triptofano

Y ou Tyr - Tirosina

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*)

DAM - mapa doador-aceitador (do inglês *donor-acceptor map*)

DFT - Teoria da Densidade Funcional (do inglês *density functional theory*)

DM - Dinâmica Molecular

HOMO - Orbital molecular ocupado de maior energia (do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*)

IFCA - Índices de Fukui Condensados sobre os átomos

LUMO - Orbital molecular desocupado de menor energia (do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)

PCM - Modelo Polarizável Contínuo (do inglês *polarizable continuum model*).

PM6 - Método Paramétrico (do inglês *parametric method 6*)

S-I - Salamandrina-I

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo Geral.....	15
2.2. Objetivos Específicos.....	15
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
3.1. Aminoácidos e polipeptídeos.....	16
3.2. Polipeptídeos como compostos com atividade biológica.....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1. Materiais.....	22
4.2. Metodologia.....	24
4.2.1. Otimização de geometria.....	24
4.2.2. Estudos de reatividade.....	25
4.2.3. Análise de propriedades antioxidantes.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1. Estudo dos aminoácidos (estruturas monoméricas).....	29
5.2. Estudo de dipeptídeos.....	40
5.3. Estudo de estruturas mais estendidas (tripeptídeos).....	49
6. CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos fármacos envolve uma série de atividades que, em geral, demandam tempo, planejamento e investimentos consideráveis. Tal realidade, no entanto, vem sendo modificada com o advento de diversificadas inovações científicas e tecnológicas, que contribuem na redução de custos e tempo de produção (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

De fato, atualmente há uma crescente demanda pelo desenvolvimento de novos fármacos com menor toxicidade, maior eficiência e menor custo. Neste contexto, os peptídeos bioativos são considerados compostos de grande potencial, sendo já utilizados em casos clínicos, como por exemplo em terapias de Malária e Leishmaniose (CAMPBELL; FARREL, 2015; SILVA et al., 2018)

Peptídeos são estruturas químicas formadas por dois ou mais aminoácidos (AA) unidos por meio de ligações peptídicas. Tais compostos podem apresentar variadas combinações de AA, dispostos em distintas sequências (MARZZOCO, 2015). Em especial, considerando-se os 20 AA primários existentes, variadas combinações podem dar origem a diferentes peptídeos. Em geral, tais sequências curtas de AA são quimicamente mais versáteis que as proteínas (sequências contendo tipicamente milhares de AA), pois podem ser esterificados em seus carbonos terminais, acetilados em seus grupos amino terminais, fosforilados ou sulfatados em um ou mais resíduos (serina, treonina ou tirosina), podem ainda ser lineares, semi-cíclicos (via uma ou mais ligações dissulfeto intra- ou inter cadeias peptídicas) ou cíclicos (via ligação entre os grupos amino e carboxila dos aminoácidos terminais) (MACHADO et al., 2004).

Revisões da literatura indicam que algumas sequências polipeptídicas possuem potencial antioxidante, apresentando assim alto potencial de uso na indústria farmacêutica (BARBOSA et al., 2018; FONTOURA et al., 2019). Além das aplicações como antioxidantes, os polipeptídeos também se destacam em outras áreas da inovação farmacêutica, entre elas pode-se citar a ação antimicrobiana de alguns compostos (DO NASCIMENTO DIAS et al., 2020). Pode-se destacar ainda outras aplicações dos peptídeos bioativos, como por exemplo atividade antibacteriana, antitumoral e antiprotzoária, podendo também ser empregados no desenvolvimento

de embalagens biodegradáveis dentro da indústria alimentícia, além de outras aplicações (OLIVEIRA FILHO et al., 2019; PEDRON et al., 2020)

Contudo, ainda é grande a demanda por conhecimentos básicos acerca destes compostos, sendo muito difícil, por exemplo, explicar o porquê de sequências similares levarem, em geral a compostos com propriedades muito distintas.

A grande variedade de peptídeos possíveis e a extensa quantidade de fontes de produção destes compostos faz com que uma busca sistematizada de peptídeos bioativos seja bastante dispendiosa e pouco efetiva. De fato, a ausência de relações significativas de estrutura-atividade destes compostos faz com que a obtenção de sequências otimizadas baseie-se em um grande número de atividades experimentais exploratórias, geralmente guiadas por tentativa e erro.

Neste sentido, técnicas computacionais de simulação podem ser consideradas ferramentas poderosas no sentido de se minimizar custos e otimizar a eficiência dos materiais. Em especial, por meio de simulações computacionais pode-se frequentemente prever propriedades de compostos ainda não sintetizados, o que pode guiar a produção/busca por novas sequências, bem como auxiliar na interpretação de resultados experimentais.

Assim, no presente trabalho buscou-se avaliar propriedades estruturais, eletrônicas e de reatividade dos AA isolados e de diferentes di- e tripeptídeos obtidos da combinação entre eles, no sentido de se obter detalhes fundamentais acerca da estrutura eletrônica destes compostos e prever sua influência na estruturação e reatividade de sequências maiores. Tal estudo visa avaliar como as propriedades dos AA são alteradas com a construção dos peptídeos, no sentido de se estabelecer regras para o *design* de novos polipeptídeos bioativos e avaliar possíveis mecanismos de ação biológica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral da presente proposta é investigar propriedades eletrônicas e de reatividade de aminoácidos e peptídeos por meio de técnicas de modelagem molecular. Em especial busca-se identificar interações eletrônicas relevantes entre aminoácidos e sua influência na construção de sequências peptídicas curtas, no sentido de se estabelecer relações estrutura-atividade que permitam identificar, *a priori*, sequências com atividades biológicas promissoras.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar propriedades estruturais e eletrônicas dos aminoácidos isolados;
- Avaliar propriedades estruturais e eletrônicas de di- e tripeptídeos selecionados;
- Estabelecer relações entre a reatividade de sequências peptídicas complexas com as observadas em estruturas menores;
- Avaliar a influência da formação de estruturas zwitteriônicas e não-zwitteriônicas na reatividade e estrutura eletrônica dos sistemas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

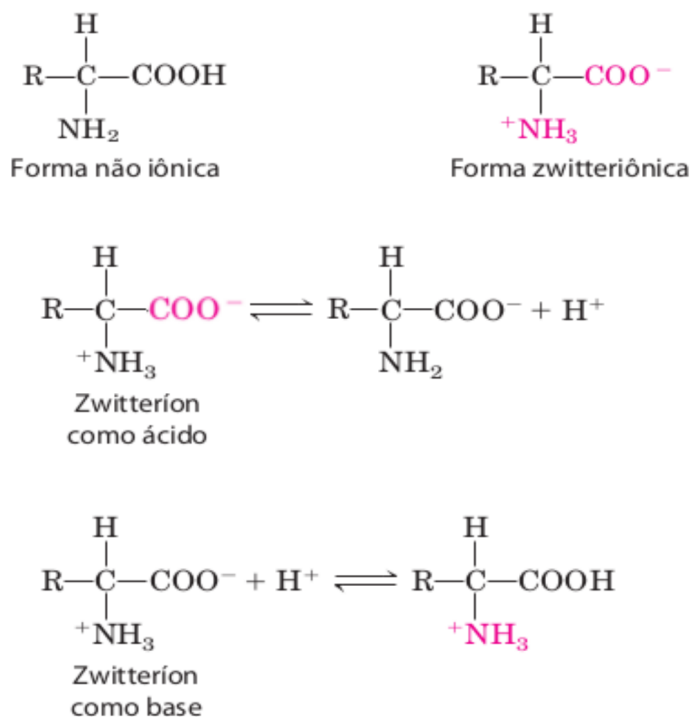
3.1. Aminoácidos e polipeptídeos

Há mais de 300 tipos de aminoácidos na natureza, porém o código genético dos diferentes seres vivos é capaz de codificar apenas 20 destes, os quais são denominados aminoácidos primários. São estes AA que participam do processo de síntese das proteínas, sendo eles: Arginina (R ou Arg), Asparagina (N ou Ang), Ácido Aspártico (D ou Asp), Alanina (A ou Ala), Fenilalanina (F ou Phe), Cisteína (C ou Cys), Glutamina (Q ou Gln), Histidina (H ou His), Lisina (K ou Lys), Tirosina (Y ou Tyr), Ácido Glutâmico (E ou Glu), Isoleucina (I ou Ile), Metionina (M ou Met), Treonina (T ou Thr), Glicina (G ou Gly), Leucina (L ou Leu), Prolina (P ou Pro), Serina (S ou Ser), Triptofano (W ou Trp) e Valina (V ou Val) (MARZZOCO, 2015).

Aminoácidos são moléculas orgânicas que apresentam em sua estrutura um grupo carboxila (COOH) e um grupo amina (NH_2), todos ligados a um átomo de carbono central, denominado carbono alfa. Tais compostos são diferenciados entre si pelas cadeiras laterais (grupo R), o carbono alfa faz também a quarta ligação com um átomo de hidrogênio. Esses compostos são comumente classificados com base em sua polaridade, estado de carga e capacidade de interagir com a água em pH biológico, como: apolares (hidrofóbicos), polares (hidrofílicos), polares com carga positiva (básicos) e polares não carregados, carregados negativamente (ácidos) e aromáticos.

De fato, quando dissolvidos em água (pH neutro), os aminoácidos podem se comportar como ácidos ou bases, levando a uma separação de carga dentro da estrutura da molécula e à formação de estruturas do tipo *zwitterion* (do alemão “íon híbrido”) (NELSON et al., 2018), como ilustrado na Figura 1.

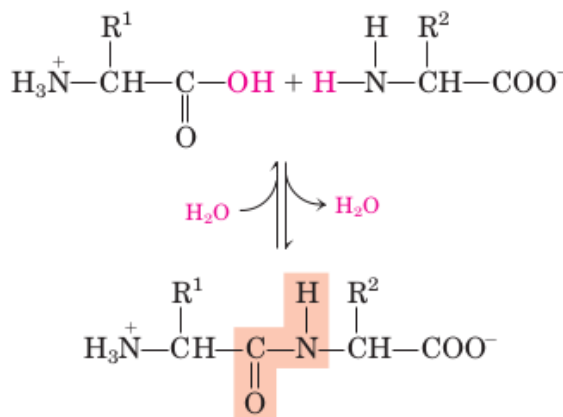
Figura 1. Formas não iônicas e zwitteriônicas de aminoácidos



Fonte: Adaptado de Nelson et al. (2018)

Sequências contendo dois ou mais aminoácidos conectados levam à formação de peptídeos e proteínas em organismos vivos. A ligação covalente entre AA vizinhos nestas estruturas é denominada ligação peptídica, a qual é formada por meio de um processo de desidratação, com a interação da α -carboxila de um AA (grupo OH) com o α -amino de outro (átomo de hidrogênio), conforme ilustrado na Figura 2 (NELSON et al., 2018).

Figura 2. Formação de uma ligação peptídica por condensação



Fonte: Nelson et al. (2018)

Em geral, peptídeos são sequências contendo entre dois (dipeptídeos) a dezenas de aminoácidos (polipeptídeos). O termo proteína aplica-se quando centenas ou milhares de aminoácidos estão presentes na composição de um polipeptídeo, levando a conformações espaciais (enovelamento) específicas que definem, muitas vezes, as suas funções biológicas.

Além da estrutura primária dos peptídeos, que se trata de ligações peptídicas lineares, existe também a estrutura secundária, que corresponde ao primeiro nível de enrolamento helicoidal, onde as interações acontecem através de ligação de hidrogênio entre os grupos C=O e N-H dando origem à conformação Alfa-Hélice e a Beta-Folha (NELSON et al., 2018).

3.2. Polipeptídeos como compostos com atividade biológica

Os peptídeos bioativos podem ser associados a vários efeitos bioquímicos e fisiológicos em organismos. Um exemplo típico são os peptídeos obtidos da hidrólise proteica do soro de queijo, os quais contêm ação fisiológica capaz de reduzir a hipertensão e a dislipidemia, prevenindo doenças cardiovasculares (SPADOTI et al., 2011). Peptídeos bioativos extraídos de animais são também amplamente estudados por apresentarem potencial terapêutico, como por exemplo o VmCT1 obtido de escorpiões da espécie *Vaejovis mexicanus*, o qual apresenta função antimicrobiana atividade antitumoral e antiprotzoária (PEDRON et al., 2020.). Assim como nos

escorpiões, também podem ser encontrados peptídeos com propriedades terapêuticas no veneno de serpentes, como, por exemplo, da jararaca comum, com funções leishmanicida e bactericida (DEMATEI et al., 2021).

Além das ações fisiológicas dos peptídeos bioativos, pode-se destacar também sua aplicação em outras áreas tecnológicas, como no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis para alimentos (OLIVEIRA FILHO et al., 2019). Tais compostos são também de grande relevância na indústria farmacêutica, dada sua potencialidade em ações anti-hipertensivas, antitrombóticas, antitumorais, anti-inflamatórias e antioxidantes (DAMASCENO et al., 2016).

Dentre esta vasta gama de processos bioativos associados a estes compostos, merece destaque sua ação antioxidante. Durante o processo de metabolismo, compostos são liberados em nosso organismo, sendo que, alguns em excesso podem apresentar toxicidade a ponto de levar ao envelhecimento, danos ou até morte das células devido ao estresse oxidativo, e essas moléculas são comumente definidas como radicais livres. Do ponto de vista químico, estes compostos apresentam um ou mais elétrons não pareados, o que os tornam muito instáveis, altamente reativos e com vida útil relativamente curta. Para diminuir e inibir os danos causados pelos radicais livres nas células, entram em ação os agentes antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999)

Compostos antioxidantes, em especial, são substâncias que possuem a capacidade de transferência de cargas com radicais livres, mantendo-os estáveis e evitando os efeitos nocivos destes compostos sobre as células, em especial, processos associados ao “envelhecimento” celular (FERREIRA et al., 2015). Tais compostos podem ser classificados como enzimáticos ou não enzimáticos. Dentre os compostos antioxidantes enzimáticos, pode-se destacar o superóxido dismutase, a catalase, a peroxidase, glutathione redutase e glutathione peroxidase. No caso dos compostos não enzimáticos, existe uma subdivisão entre compostos metabólitos, produzidos pelo organismo, como: melatonina, ácido úrico, ácido lipóico, bilirrubina, coenzima Q10, proteínas quelantes de metais, transferrina etc, e os compostos nutritivos não produzidos pelo corpo: vitamina E, vitamina C, flavonóides, ácidos graxos, ômega-3 (DHALIWAL; SINGH, 2015).

Atualmente, existe no mercado uma série de antioxidantes sintéticos, porém geralmente são de uso restrito, dada a sua alta toxicidade e possíveis danos que podem induzir ao DNA (SOARES, 2002). Tal fato motiva a busca por compostos com atividade antioxidante advindos de fontes naturais e seguras, tanto para o uso em alimentos, quanto em medicamentos. Neste sentido, peptídeos bioativos têm conseguido destaque.

A produção destes compostos pode ser feita por meio de vários métodos, como: tratamento químico, fermentação microbiana de proteínas (alimentos), extração de solventes e hidrólise enzimática, sendo este último o mais indicado quando se trata de indústria farmacêutica e alimentícia, dado o menor número de resíduos tóxicos nos produtos finais (SILA; BOUGATEF, 2016).

Muitos peptídeos relativamente pequenos e derivados de AA, têm variadas funções biológicas com efeitos fisiológicos significativos em nosso organismo. Por exemplo, quando o grupo ácido da histidina é removido, ela é convertida em histamina, a qual está relacionada a diversas funções biológicas, com potente atividade vasodilatadora. Outro exemplo é a serotonina, um importante neurotransmissor produzido a partir do triptofano. Também pode-se citar a carnosina, um dipeptídeo de ocorrência natural encontrado no tecido muscular (CAMPBELL; FARREL, 2015).

AA compõem inúmeros antioxidantes conhecidos, como o trí-peptídeo Glutathione, formado a partir de resíduos de três aminoácidos (Cys, Gly e Glu), presente em quase todas as células do nosso organismo, tanto no meio intra quanto extracelular. Estudos reportados nos anos 90, indicam uma correlação entre baixas concentrações de Glutathione com a ocorrência de algumas doenças, como por exemplo a AIDS, estando também ligadas a um maior risco de estresse oxidativo e a ocorrência de infecções oportunistas, o que evidencia o potencial antioxidante deste peptídeo. De fato, este composto atua de maneira efetiva na proteção celular contra mudanças causadas pela oxidação e também trabalha defendendo o meio celular contra os xenobióticos (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; JÚNIOR et al., 1998).

Moléculas com anéis aromáticos e hidroxilas em sua composição, têm se mostrado promissores antioxidantes. Em especial, a presença de compostos fenólicos em plantas está associada às suas atividades farmacológicas, inibição da oxidação

lipídica e inibição da proliferação de fungos (SOARES, 2002b). Em especial, a presença de ramificações polares, como, por exemplo, a histidina, são capazes de potencializar a atividade antioxidante destes compostos (LUNA-VITAL et al., 2015).

Além dos alimentos naturais e do nosso organismo, os bioativos com efeitos antioxidantes também podem ser encontrados em outras formas, como por exemplo, na secreção da pele de diferentes anfíbios. Um exemplo interessante é o peptídeo bioativo Salamandrina-I (FAVWGCADYRGY-NH₂) descoberto e isolado de glândulas de salamandras pela primeira vez em 2020 (PLÁCIDO et al., 2020), e a sequência TWYFITPYIPDK extraída e isolada da pele de rãs tropicais (BARBOSA et al., 2018), os quais apresentam importantes funções antioxidantes.

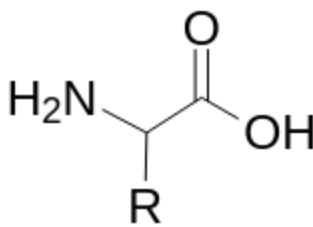
Dada a potencialidade destes compostos, inúmeras indústrias na área de inovação tecnológica, farmacêutica, e alimentícia, se interessam e buscam explorar os benefícios dos peptídeos antioxidantes. Um exemplo deste tipo de empresa, é a Bioprospectum, parceira do presente projeto, que visa o desenvolvimento de ativos biotecnológicos com base na bioprospecção de moléculas naturais e/ou produtos da biodiversidade (Bioprospectum, 2021).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Os materiais de interesse do presente trabalho são os aminoácidos (AA) e algumas de suas estruturas estendidas, em especial dipeptídeos e tripeptídeos. De forma geral, AA são compostos quaternários baseados prioritariamente em carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Sua estrutura básica envolve um grupo amina e um grupo carboxila, ligados ao carbono α , o qual é também conectado a um hidrogênio e uma cadeia lateral (R) que determina a natureza do AA (Figura 3).

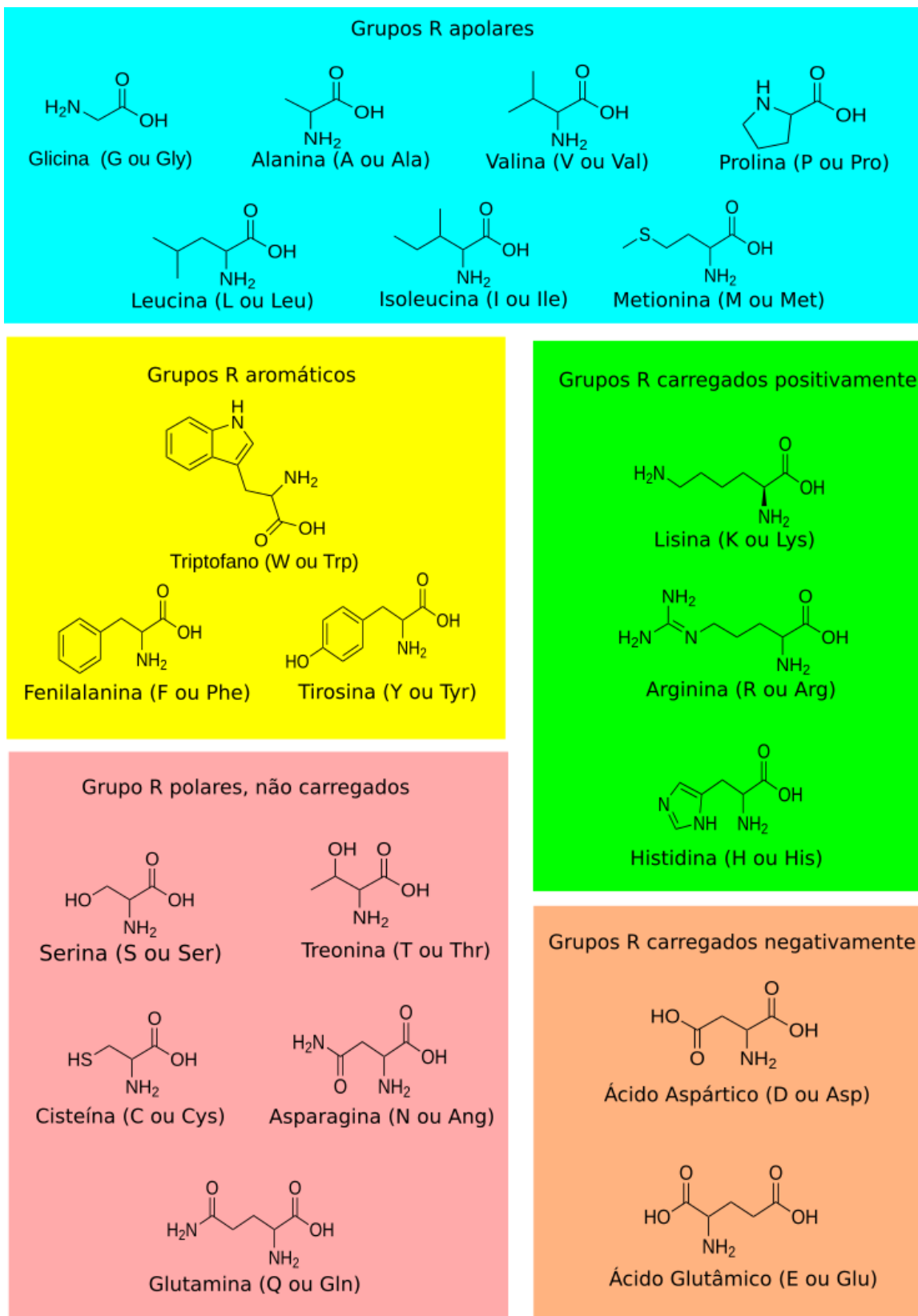
Figura 3. Estrutura básica de um aminoácido.



Fonte: A autora

Existem 20 aminoácidos ditos primários, os quais são os compostos de interesse do estudo aqui apresentado. A Figura 4 ilustra a estrutura e nomenclatura destes compostos. O símbolo de cada AA e sua abreviatura são apresentados entre parêntesis.

Figura 4. Estrutura e nomenclatura dos aminoácidos considerados no presente trabalho.



Fonte: A autora

Na Figura 4, os AA carregados positivamente e negativamente, estão representados sem suas devidas cargas. AA positivos comumente apresentam grupos R N-protonados, os AA negativos, por sua vez, são deprotonados, levando à formação de COO^- no grupo R. Dado o interesse do presente trabalho em avaliar possíveis propriedades bioativas destes compostos, optou-se por se investigar os peptídeos em sua forma dominante no meio fisiológico. Neste sentido, a Histidina (H), que na literatura é citada como um AA positivamente carregado, foi aqui avaliada em sua forma neutra (“PepCalc.com - Peptide calculator”, 2021). Os demais AA seguiram sua definição padrão (carga 0 para os AA polares, apolares e aromáticos; carga +1 para K e R; e carga -1 para D e E).

Por meio de ligações envolvendo o grupo amina e o grupo carboxílico dos AA (ligações peptídicas), obtém-se os peptídeos e as proteínas. No presente trabalho foram também avaliados dipeptídeos e tripeptídeos no sentido de se identificar como as propriedades das unidades monoméricas (AA) se manifestam em estruturas mais estendidas, visando o estabelecimento de padrões.

Diferentes combinações de di- e tripeptídeos foram confeccionadas, considerando-se a Glicina (G) (como padrão de comparação) e outros AA selecionados com base nos resultados do estudo das unidades. Diferentes ordens de sequência foram empregadas, visando avaliar a influência da posição relativa dos AA.

Desta forma, na presente monografia foram estudados: i) os 20 AA primários isolados; ii) 8 dipeptídeos (GD, DG, GH, HG, GM, MG, GW e WG); e iii) 6 tripeptídeos (GGW, GWG, WGG, GGF, GFG e FGG). Todas as estruturas foram confeccionados em sua forma zwitteriônica, dado o interesse de suas propriedades em solução com pH fisiológico (~7.4), e também na forma não zwitteriônica para a análise e possível estabelecimento de padrões.

4.2. Metodologia

4.2.1. Otimização de geometria

Um dos maiores cuidados a serem tomados em cálculos de estrutura eletrônica está associado à obtenção de estruturas de qualidade do sistema em estudo.

Descrever satisfatoriamente as características estruturais é de grande importância, não apenas porque as propriedades eletrônicas obtidas de cálculos de estrutura eletrônica dependem parametricamente das posições nucleares consideradas, mas também porque estas características, em si, muitas vezes permitem compreender/prever fenômenos físicos associados ao sistema de interesse, em especial em se tratando de sistemas bioativos. Neste sentido, uma atenção especial foi dada aos métodos de otimização de geometria dos compostos.

As estruturas dos compostos foram inicialmente projetadas com o auxílio do pacote computacional Avogadro (HANWELL et al., 2012). Após a obtenção de estruturas iniciais, pré-otimizações foram realizadas empregando-se uma abordagem Hartree-Fock com método semiempírico PM6 (do inglês *parametric method 6*) (STEWART, 2007), implementado no pacote computacional MOPAC2016 (STEWART, 2016). As estruturas pré-otimizadas foram então re-otimizadas numa abordagem baseada na teoria do funcional da densidade, DFT (do inglês *density functional theory*) (KOHN; SHAM, 1965) utilizando-se o funcional de correlação e troca híbrido B3LYP (BECKE, 1993; LEE; YANG; PARR, 1988; STEPHENS et al., 1994; VOSKO; WILK; NUSAIR, 1980) e funções de base 6-311G, com o auxílio do pacote computacional Gaussian 09 (FRISCH et al., 2009). Abordagens similares têm sido empregadas com sucesso por nosso grupo de pesquisa no estudo de peptídeos de diferentes extensões e com variadas propriedades biológicas (PLÁCIDO et al., 2020).

A presença do solvente (água) foi simulada por meio do método PCM (do inglês *polarizable continuum model*) (TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005). Neste método, a presença do solvente é simulada posicionando-se o sistema no interior de uma cavidade relativa a um meio dielétrico. Apesar de sua simplicidade, o método PCM apresenta uma boa relação custo-benefício, sendo empregado com sucesso no estudo de sistemas zwitteriônicos diversos (CARICATO; MENNUCCI; TOMASI, 2006; GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021; GUEVARA-LEVEL et al., 2019; PEDONE; BARONE, 2010; WU; GAO; ZHENG, 2019).

4.2.2. Estudos de reatividade

O estudo de reatividade dos sistemas foi realizado por meio de Índices de Fukui

Condensados sobre os átomos (IFCA). Tais descritores permitem avaliar quais regiões de uma dada molécula são mais propensas à entrada ou retirada de elétrons (YANG; MORTIER, 1986). De forma geral os IFCA são definidos de acordo com o tipo de reação a ser observada, sendo expressos por meio da Equação 1:

$$\begin{aligned} f^+ &= q_k(N+1) - q_k(N) \\ f^- &= q_k(N) - q_k(N-1) \\ f^0 &= \frac{1}{2}[q_k(N+1) - q_k(N-1)] \end{aligned} \quad (1)$$

Sendo M o sistema de interesse (com N elétrons), $q_k(N+1)$, $q_k(N)$ e $q_k(N-1)$ representam as populações eletrônicas sobre o k -ésimo átomo nas espécies M^- , M e M^+ , respectivamente. Neste sentido, os IFCA's podem ser considerados como uma aproximação linear da derivada da densidade eletrônica local em função da variação do número de elétrons dos sistemas (LEWARS, 2011).

Os índices f^+ , f^- e f^0 são empregados, respectivamente, para a análise de reações envolvendo agentes externos nucleofílicos (que tendem a doar elétrons para M), eletrofílicos (que tendem a retirar elétrons de M) ou radicais livres (interação sem troca de elétrons) atuando sobre o k -ésimo átomo do sistema M . Tais descritores vem sendo empregados com sucesso no estudo de reatividade de compostos orgânicos diversos, inclusive peptídeos e outros materiais (ALVES et al., 2020; BARBOZA; GOMES; BATAGIN-NETO, 2021; DO AMARAL RODRIGUES et al., 2019; LASCANE et al., 2020; MAIA; VENTORIM; BATAGIN-NETO, 2019; MANDÚ; BATAGIN-NETO, 2018; PLÁCIDO et al., 2020; RODRIGUES DE ARAÚJO et al., 2019).

No presente trabalho, os IFCA foram obtidos numa abordagem DFT, utilizando-se o mesmo funcional (B3LYP), funções de base (6-311G), método de descrição do solvente (PCM) e software (Gaussian 09) empregados na otimização de geometria.

Para facilitar a interpretação dos dados, mapas com escalas de cor foram confeccionados para IFCA, onde as reatividades locais foram representadas por meio de uma escala RGB (vermelho > laranja > amarelo > verde > azul). Para tanto foi empregado o software Jmol (HERREZ, 2008) além de scripts em *bash* e rotinas em

Fortran 90, já previamente desenvolvidas no grupo de pesquisa.

4.2.3. Análise de propriedades antioxidantes

Para classificar as moléculas estudadas, em relação a sua capacidade de doação e aceitação de elétrons, foram construídos mapas doador-aceitador (DAM). Tal mapa é obtido considerando-se os índices de aceitação (R_a) e doação (R_d) de elétrons do sistema de interesse. Em geral, as propriedades antioxidantes de compostos diversos estão associadas à capacidade de transferência de carga (doação ou aceitação) com radicais livres, levando a sua inativação e proteção, de agentes relevantes no funcionamento de organismos.

Neste contexto, a atividade antioxidante de compostos pode ser estimada por meio da análise da propensão destes materiais em doar (ω^-) ou receber (ω^+) elétrons de agentes externos diversos. Tal propriedade pode ser quantificada com o uso das relações descritas nas Equações 2 e 3 (MARTÍNEZ et al., 2008).

$$\omega^- = \frac{(3I + A)^2}{16(I - A)} \quad (2)$$

$$\omega^+ = \frac{(I + 3A)^2}{16(I - A)} \quad (3)$$

sendo que I representa valores de energia de ionização e A a afinidade eletrônica, estimados conforme as Equações 4 e 5:

$$I = E(N - 1) - E(N), \quad (4)$$

$$A = E(N) - E(N + 1), \quad (5)$$

sendo que $E(J)$ descreve a energia total dos sistemas com J elétrons, obtidas numa abordagem DFT/B3LYP/6-311G/PCM.

Com base na análise comparativa dos valores de ω^- e ω^+ com descritores de aceptadores e doadores típicos, como os átomos de Flúor (F, de alta eletronegatividade), e o Sódio (Na, eletropositivo), pode-se definir os índices R_a e R_d , associados, respectivamente, à capacidade eletroaceitora e eletrodoadora dos

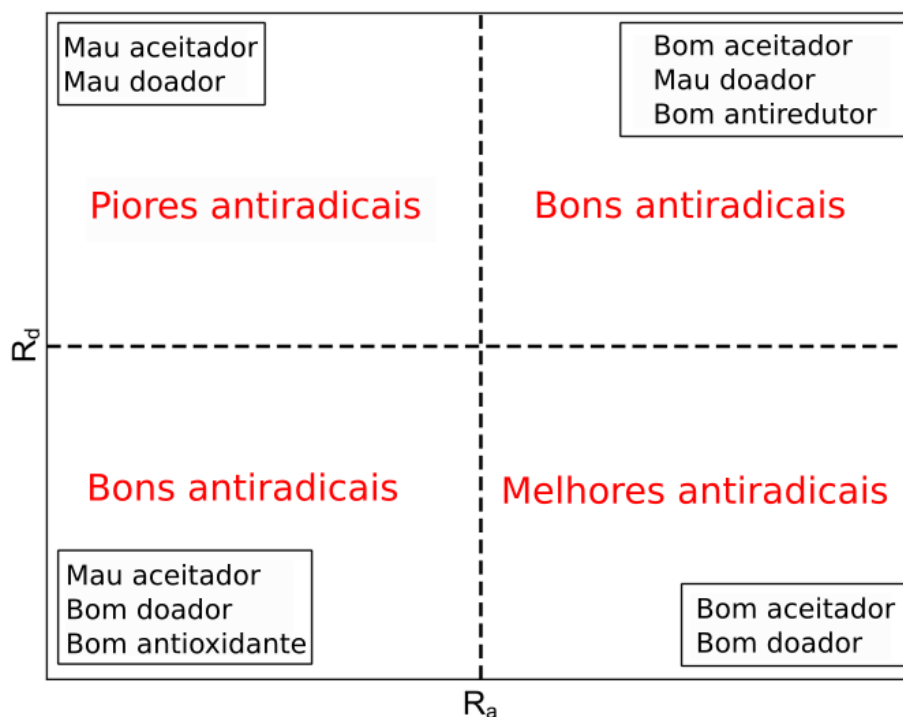
compostos. Em geral altos valores de R_a e baixos valores de R_d definem moléculas com alta atividade antioxidante (ou seja, com capacidade eletroaceitora e eletrodoadora intensificada) que é definido pelas Equações 6 e 7 (MARTÍNEZ et al., 2008).

$$R_a = \frac{\omega_L^+}{\omega_F^+} \quad (6)$$

$$R_d = \frac{\omega_L^-}{\omega_{Na}^-} \quad (7)$$

Tipicamente são empregados os valores de $\omega_{Na}^- = 3,46$ e $\omega_F^+ = 3,40$ (MARTÍNEZ et al., 2008). A Figura 5 ilustra como o DAM pode ser empregado na análise comparativa entre as capacidades aceitadora/doadora de elétrons e da atividade antioxidante dos compostos.

Figura 5. Exemplificação de uma análise comparativa via DAM e classificação dos sistemas com base nos valores relativos obtidos.



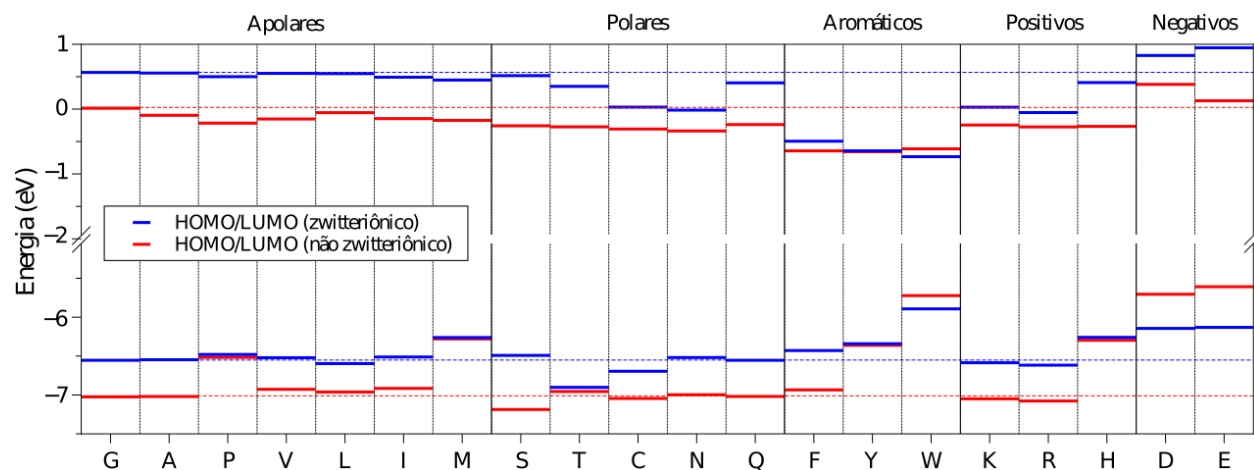
Fonte: Adaptado de Martínez et al. (2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo dos aminoácidos (estruturas monoméricas)

A Figura 6 ilustra a posição dos níveis de energia dos orbitais de fronteira dos diferentes AA zwitteriônicos (azul) e não-zwitteriônicos (vermelho) avaliados. São apresentados o HOMO (linhas inferiores) e LUMO (linhas superiores) representando, respectivamente, o orbital de maior energia ocupado (do inglês *highest occupied molecular orbital*) e o orbital de menor energia desocupado (do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*). As linhas pontilhadas indicam a posição dos níveis de energia da Glicina (G), tomada como referência, dada a natureza do grupo ligado ao carbono alfa (H).

Figura 6. Alinhamento dos níveis de energia de fronteira dos AA: espécies não-zwitteriônicas (vermelho) e zwitteriônicas (azul).



De forma geral, os orbitais de fronteira dos compostos carregam importantes informações acerca da reatividade química dos sistemas, uma vez que são estes orbitais que se encontram associados aos processos de transferência de carga e transições eletrônicas (FUKUI, 1982). Em especial, na Figura 6 pode-se observar que os AA aromáticos, apresentam valores de HOMO mais altos e LUMO mais baixos, o que sugere que tais compostos sejam bons doadores e bons aceptadores de elétrons, o

que é mais evidente no caso do Triptofano (W). De fato, tal AA domina a reatividade reportada em peptídeos bioativos, como a Salamandrina-I (S-I), possuindo um grande potencial antioxidante, conforme reportado em outros trabalhos (EHRENSHAFT; DETERDING; MASON, 2015; FUENTES-LEMUS et al., 2016).

Altos valores de HOMO são também observados nos sistemas negativamente carregados (Ácidos aspártico e glutâmico, D e E, respectivamente) e na Metionina (M), enquanto que baixos LUMOs são observados para a Lisina (K) e Histidina (H), ambos positivamente carregados, o que sugere também certa reatividade destes compostos em sistemas polipeptídicos.

Pode-se observar que tanto nos AAs zwitteriônicos quanto nos não-zwitteriônicos, o comportamento é o mesmo, com leves diferenças nos valores absolutos. De forma geral, nota-se que espécies zwitteriônicas apresentam variações de cerca de +0.5 eV na posição dos orbitais de fronteira, com exceção dos AA: i) Prolina (P), Metionina (M), Treonina (T), Tirosina (Y) e Histidina (H), os quais não apresentam variações significativas no HOMO; ii) Triptofano (W), Ácido aspártico (D) e Ácido glutâmico (E), com variações negativas do HOMO (redução do valor da energia); e iii) os aromáticos (W, Y e F), Cisteína (C), Asparagina (N), Lisina (K) e Arginina (R) com variações menos significativas no LUMO.

Em se tratando de estruturas oligoméricas (polipeptídicas), pode-se esperar que unidades com maiores valores de E_{HOMO} e menores valores E_{LUMO} dominem a reatividade dos sistemas. De fato, considerando a existência do acoplamento eletrônico entre as unidades, pode-se supor que sistemas que satisfaçam estas condições atuam como espécies “trapeadoras” de carga dentro das sequências (ou seja, sítios aceitadores/doadores de elétrons), atuando da seguinte forma:

- armadilhamento de elétrons devido aos baixos valores de LUMO: ao serem inseridos no composto (por meio da interação deste com espécies externas nucleofílicas) tais elétrons tendem a ocupar níveis mais baixos de energia, os quais situam-se sobre os sítios trapeadores;
- armadilhamento de buracos (ou ausência de elétrons nos orbitais de valência, definição empregada na descrição de semicondutores (ASHCROFT; NERMIN, 2010)) devido aos altos valores de HOMO: ao se remover um elétron do

composto (por meio da interação deste com espécies externas eletrofílicas) tais lacunas eletrônicas se deslocariam pelo material, tendendo a ocupar níveis mais altos em energia (na verdade, os elétrons ocupam níveis mais baixos, deixando as lacunas eletrônicas em níveis mais altos).

Desta forma, considerando-se estruturas não zwitteriônicas, pode-se supor que, dentro de uma sequência peptídica, os AA M, F, Y, W, D e E devem atuar como centros reativos em relação a espécies externas eletrofílicas, enquanto que as unidades F, Y, W, K e H devem atuar como sítios de alta reatividade com relação a nucleófilos. Tais tendências são, em geral, mantidas ao se considerar estruturas zwitteriônicas, com uma menor dominância destas unidades, dada a aproximação dos níveis de fronteira das espécies menos reativas com as mais reativas.

As tendências doador/aceitador dos diferentes AA são melhor exemplificadas nas Figuras 7 e 8, as quais ilustram o DAM obtido considerando-se estruturas não zwitteriônicas e zwitteriônicas, respectivamente. Em ambos os casos considera-se a Glicina (G) como padrão de comparação ($R=H$).

Figura 7. Mapa doador-aceitador de aminoácidos primários (espécies não-zwitteriônicas).

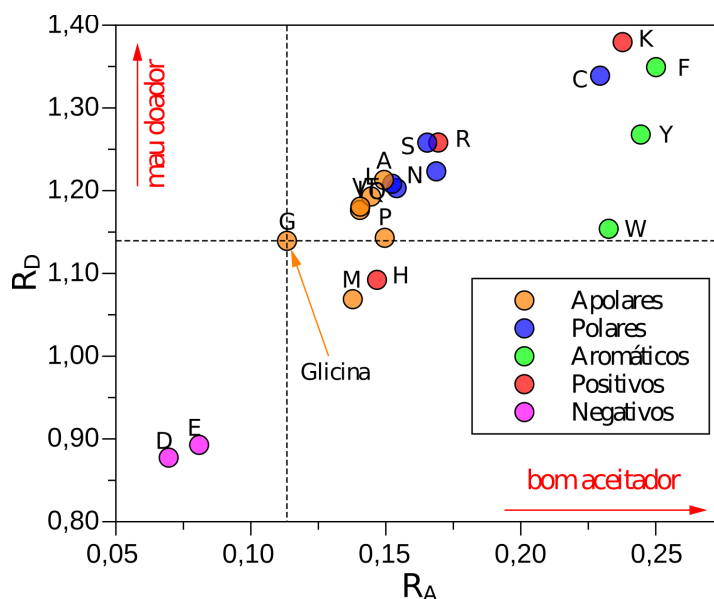
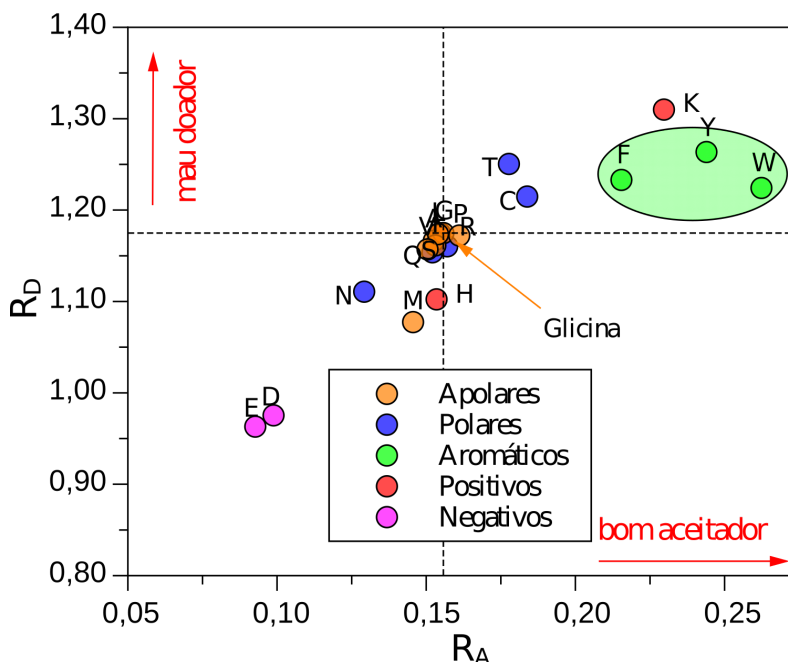


Figura 8. Mapa doador-aceitador de aminoácidos primários (espécies zwitteriônicas).



Com relação às espécies não zwitteriônicas (Figura 7), nota-se que:

- AA apolares: em geral tendem a ser melhores aceitadores e piores doadores que a G. Uma importante exceção é a Metionina (M) que apresenta alta capacidade doadora e aceitadora;
- AA polares: definem-se como melhores aceitadores e piores doadores em relação à G. Em especial, a Cisteína (C) apresenta-se com uma boa aceitadora;
- AA aromáticos: definem-se como bons aceitadores e maus doadores. Vale destacar a posição do Triptofano (W), o qual situa-se mais próximo ao 4º quadrante (propriedade doadora melhorada em relação aos demais AA aromáticos);
- AA positivamente carregados: Apresentam uma distribuição anômala no DAM, com alta capacidade aceitadora/baixa capacidade doadora para a Lisina (K) e uma performance otimizada da Histidina (H), com altas capacidades aceitadora e doadora. Arginina (R) situa-se nas imediações dos grupos polares;
- AA negativos: ambos os compostos apresentam capacidade doadora otimizada em relação aos demais.

Com relação às espécies zwitteriônicas (Figura 8) pode-se salientar as seguintes observações:

- AA apolares: tendem a se localizar ao redor da Glicina (G), com uma única exceção para a Metionina (M), que caracteriza-se, novamente como um melhor doador;
- AA polares: localizam-se nas proximidades dos grupos apolares, tendo a Treonina (T) e a Cisteína (C) como melhores aceitadores (e piores doadores) e a Asparagina (N) como melhor doador (pior aceitador);
- AA aromáticos: compostos com maior capacidade aceitadora sem grandes prejuízos em suas propriedades doadores, características que os definem como interessantes unidades antioxidantes;
- AA positivamente carregados: cada AA se comporta de uma maneira, sendo a que Arginina (R) apresenta propriedades muito similares à Glicina (G); a Lisina (K) um mal doador e um bom aceitador de elétrons; e a Histidina (H) é uma molécula intermediária;
- AA negativamente carregados: bons doadores e maus aceitadores, sem exceção.

É interessante ressaltar que, apesar das mudanças observadas em cada sistema, comparativamente à Glicina, todos os AA apresentados na Figura 8 podem ser classificados como bons anti-radicais (vide Figura 5). Novamente é importante salientar a performance otimizada dos AA aromáticos zwitteriônicos em relação aos demais (maior proximidade com o 4º quadrante da Fig. 8) e das estruturas não zwitteriônicas Histidina (H), Metionina (M) e Triptofano (W). De fato, uma série de estudos recentemente conduzidos pelo nosso grupo, em colaboração com o grupo de pesquisa do Prof. Dr. José Roberto de Souza Almeida Leite (Faculdade de Medicina - Universidade de Brasília), do Dr. Peter Eaton (LAQV/REQUIMTE, Universidade do Porto/Portugal) e a *start-up* portuguesa *Bioprospectrum* têm indicado que a reatividade de diferentes peptídeos localiza-se preferencialmente sobre estes sítios, dependendo também da posição relativa destes dentro da sequência e da formação ou não de estruturas zwitteriônicas (BARBOSA. E. A. et al, 2021; PLÁCIDO et al., 2020; PLÁCIDO, A., et al., 2021).

A fim de avaliar a distribuição espacial dos centros reativos sobre a estrutura dos AA, análise de IFCA foram conduzidas. As Figuras 9-18 ilustram os resultados obtidos,

comparando as estruturas não zwitteriônicas e zwitteriônicas. Em cada figura, da esquerda para a direita são apresentadas, respectivamente, as representações das estruturas 3D otimizadas e os IFCA's relativos à interação com espécies nucleofílicas (f^+), eletrofílicas (f^-) e radicalares (f^0). Para os IFCA é empregada uma escala de cor RGB (vermelho - verde - azul) de modo que regiões em vermelho definem centros de alta reatividade, enquanto que regiões em azul estão associadas a sítios não reativos. As demais cores definem sítios com reatividade intermediária. Cada estrutura possui sua própria escala de cor.

Figura 9. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA apolares não-zwitteriônicas

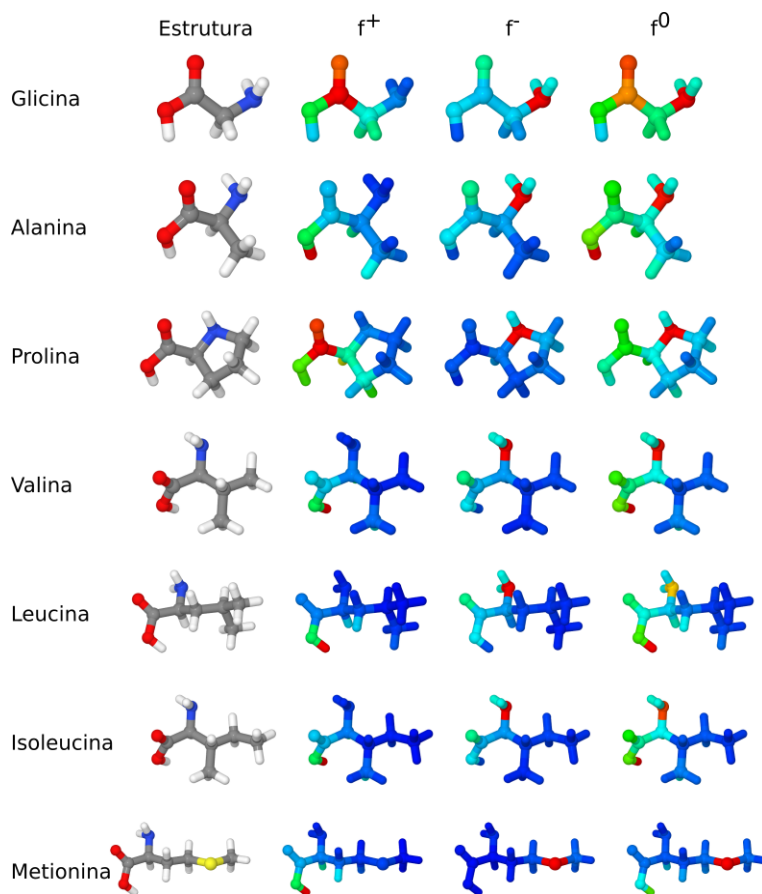


Figura 10. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA apolares zwitteriônicas.

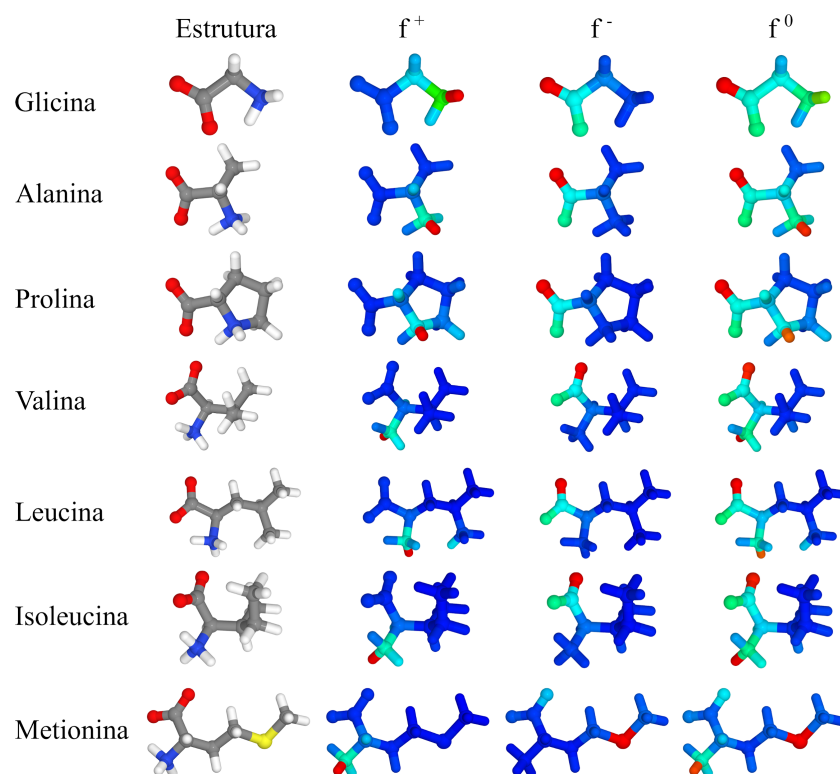


Figura 11. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA polares não-zwitteriônicas.

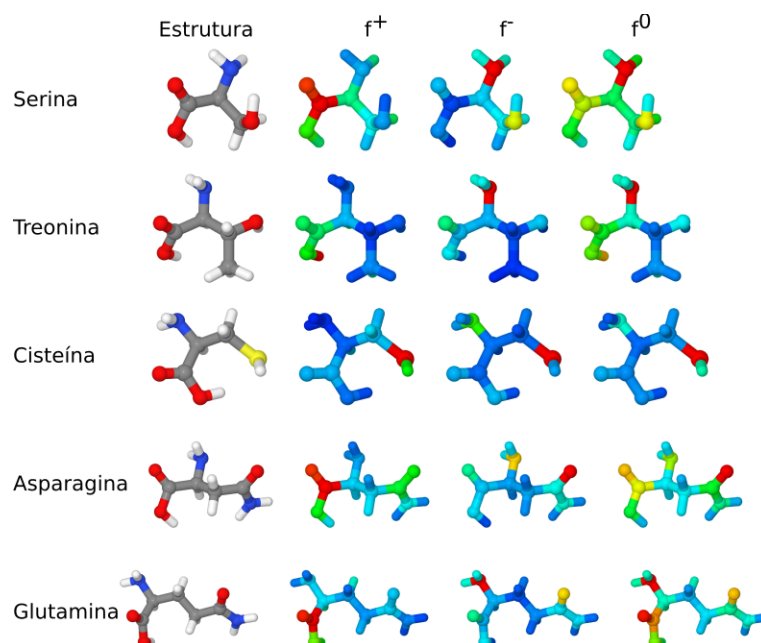


Figura 12. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA polares zwitteriônicas.

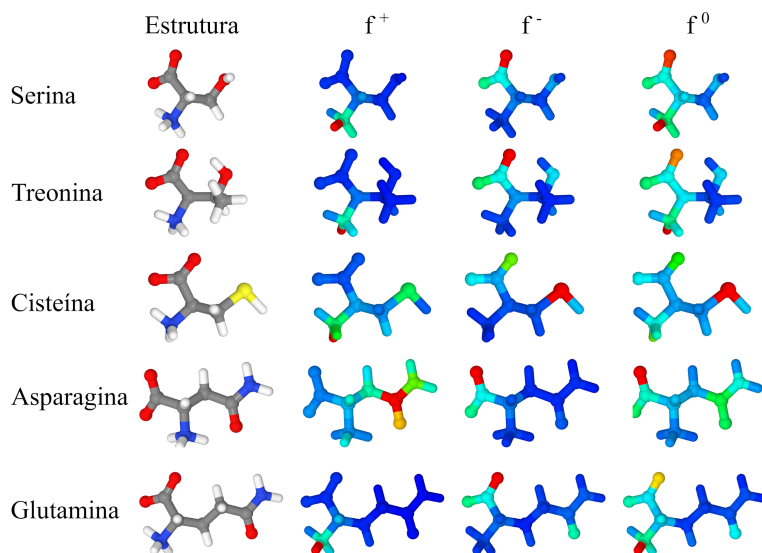


Figura 13. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA aromáticos não-zwitteriônicas.

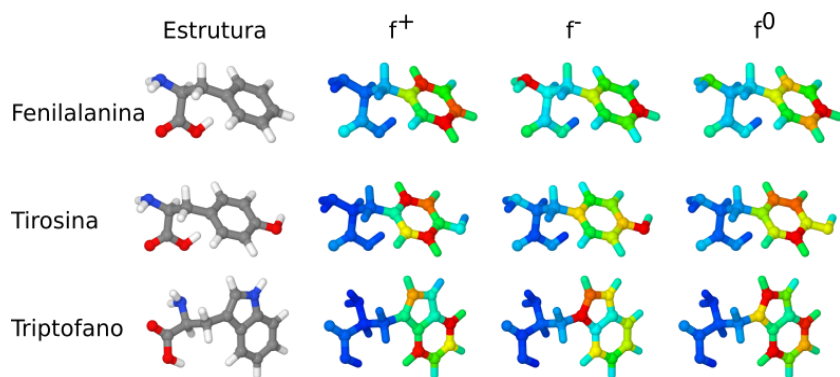


Figura 14. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA aromáticos zwitteriônicas.

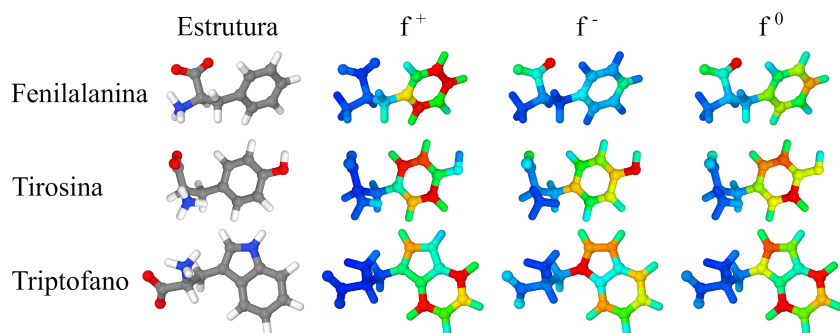


Figura 15. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA positivamente carregados não-zwitteriônicas.

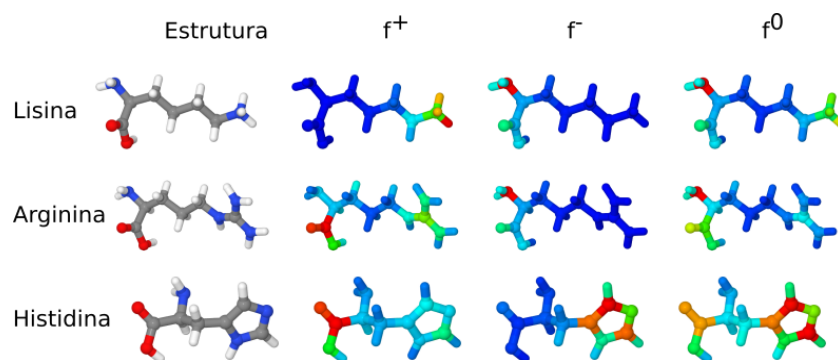


Figura 16. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA positivamente carregados zwitteriônicas.

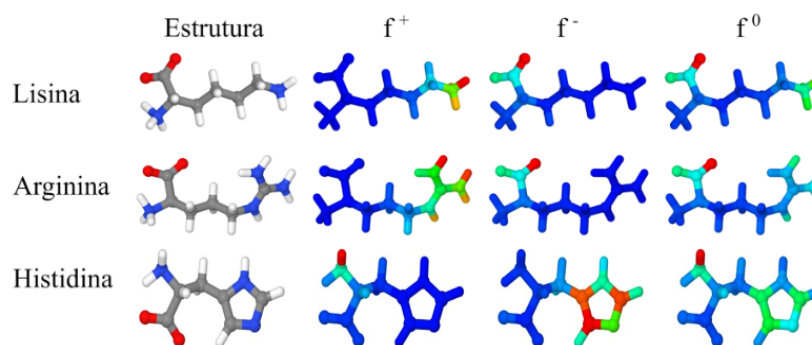


Figura 17. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA negativamente carregados não-zwitteriônicas.

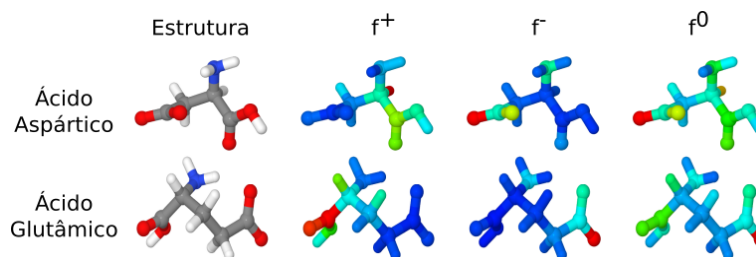
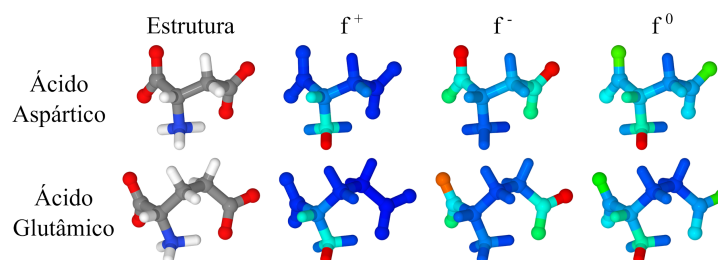


Figura 18. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos das estruturas de AA negativamente carregados zwitteriônicas.



De forma geral, em ambas as estruturas (não zwitteriônicas e zwitteriônicas) nota-se uma predominância da reatividade sobre as regiões terminais, NH_3^+ e COO^- ou NH_2 e COOH . Para os sistemas não zwitteriônicos, nota-se alta reatividade com relação a agentes nucleofílicos sobre os átomos de hidrogênio do COOH e alta reatividade em relação a eletrófilos sobre o nitrogênio do grupo NH_2 , ou seja, sugerindo a tendência a se formar estruturas zwitteriônicas no equilíbrio químico (retirada de H^+ do COOH e inserção deste sobre o NH_2). Um efeito oposto é observado para as estruturas zwitteriônicas, as quais apresentam altos valores de f^+ sobre os átomos de hidrogênio do NH_3^+ e altos valores de f^- sobre um dos oxigênios do grupo COO^- , sugerindo a tendência a se formar estruturas não-zwitteriônicas. Tal resultado é de fato esperado, dada a possibilidade de troca iônica nestes sistemas no equilíbrio dinâmico, e sugere que processos associados ao equilíbrio químico e formação de estruturas estendidas (peptídeos) dominam a reatividade das estruturas, com um papel pouco relevante dos grupos R para a maioria dos sistemas.

No entanto, importantes exceções podem ser observadas em alguns grupos:

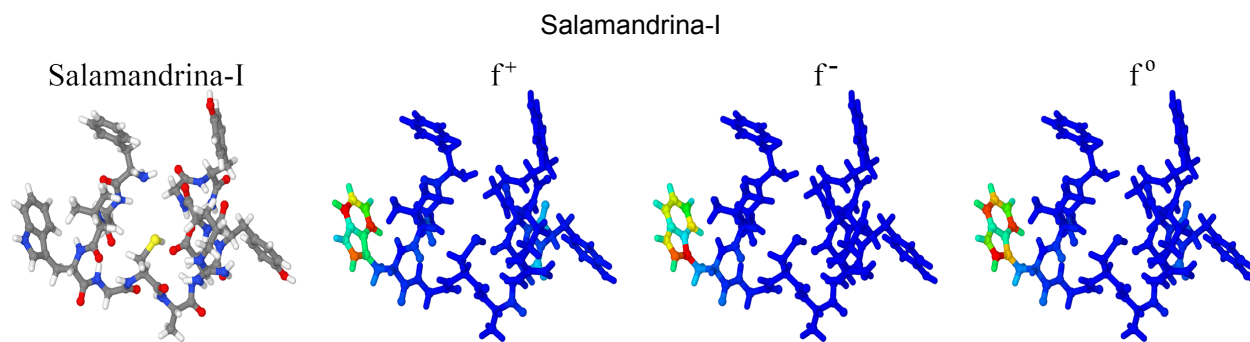
- AA apolares: tanto para espécies não-zwitteriônicas como zwitteriônicas, nota-se uma alta reatividade em relação a agentes eletrofílicos sobre o átomo de enxofre do Metionina (M), a qual pode estar associada às variações significativas observadas no HOMO desta estrutura e a sua maior capacidade eletrodoadora;
- AA polares: de forma análoga à Metionina (M) nota-se altos valores de f^- sobre o enxofre da Cisteína (C), evidenciando a conhecida reatividade deste AA, por exemplo na Glutathione (NETTO et al., 2007; PLÁCIDO et al., 2020). É

interessante notar que, na espécie não zwitteriônica há uma dominância na reatividade do enxofre, tanto em f^+ como em f^- . Em especial, a alta reatividade sobre o enxofre reforça a plausibilidade de da formação de ligações dissulfeto nestes sistemas. Ainda com relação aos AA polares, nota-se também uma reatividade diferenciada no grupo R da Asparagina (N), em especial ao redor da ligação C=O. É interessante notar que este sítio apresenta alta reatividade com relação a eletrófilos (f^-) na espécie não zwitteriônica, passando a ser reativo com relação a nucleófilos (f^+) na espécie zwitteriônica;

- AA aromáticos: todos estes compostos tem sua reatividade centrada sobre os grupos R, o que possivelmente está associado à dominância do sistema pi sobre os níveis de fronteira destes compostos. Uma interessante exceção é a baixa reatividade sobre relativa ao f^- da Fenilalanina (F) zwitteriônica;
- AA carregados positivamente: a Lisina (K) e a Arginina (R) apresentam reatividade com relação a agentes nucleofílicos (f^+) sobre os seus grupos R, enquanto que a Histidina (H) apresenta maior reatividade sobre o grupo R em relação a agentes eletrofílicos (f^-);
- AA carregados negativamente: a reatividade com relação a agentes eletrofílicos (f^-) se encontra localizada sobre os grupos R, com alta contribuição também sobre os COO^- terminais para os sistemas zwitteriônicos. f^+ segue a mesma tendência dos demais compostos para os sistemas zwitteriônicos (alta reatividade sobre os NH_3^+ terminais) com alta reatividade sobre a cadeia principal nos sistemas não zwitteriônicos;

É importante ressaltar que a distribuição espacial dos centros reativos aqui apresentada para o Triptofano (W) isolado é completamente compatível com a reportada para o peptídeo S-I (Figura 19, sequência FAVWGCADYRGY-NH₂) (PLÁCIDO et al., 2020). O que sugere que características de reatividade das unidades monoméricas podem ser preservadas em sequência maiores, e que, em especial, pode-se prever qual unidade deve dominar a reatividade dos sistemas considerando-se os alinhamentos relativos entre os níveis de fronteira das unidades constituintes.

Figura 19. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos calculados para o peptídeo bioativo



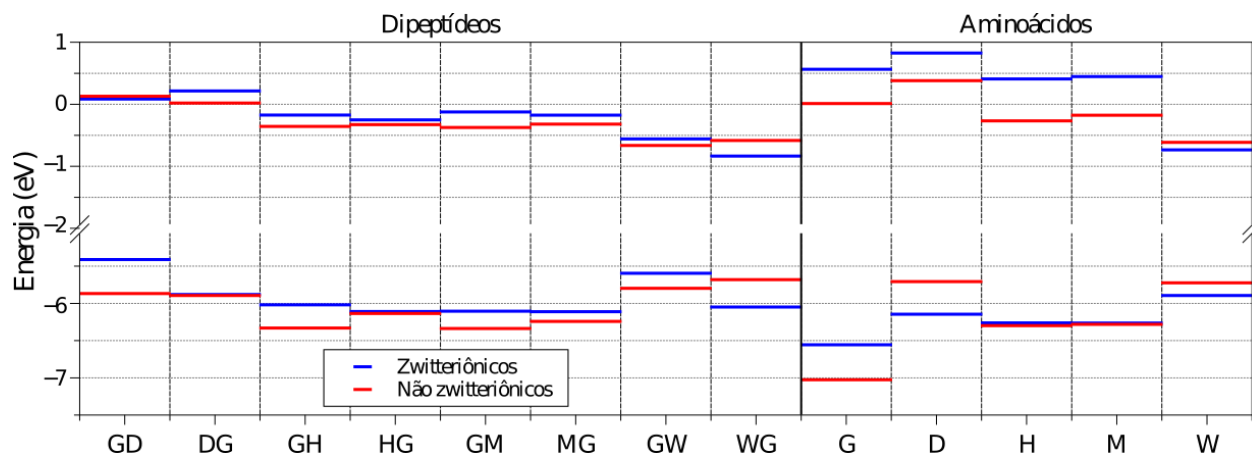
Fonte: Adaptado de (PLÁCIDO et al., 2020)

5.2. Estudo de dipeptídeos

Visando avaliar se as propriedades eletrônicas de estruturas peptídicas estendidas poderiam, de fato, ser compreendidas como uma combinação das propriedades dos AA isolados, estudos envolvendo dipeptídeos foram também conduzidos. Para tanto, foram selecionadas estruturas que apresentaram alinhamentos relativos de interesse: i) Glicina (G) como padrão de alto gap, ii) Ácido aspártico (D) como um representante dos AAs carregados negativamente com alto valor de HOMO, iii) Histidina (H) como um representante dos AAs carregados positivamente com alto valor de HOMO; iv) Metionina (M) representante do grupo dos AAs apolares com alto valor de HOMO; e v) Triptofano (W) representante do grupo dos AAs aromáticos com alto valor de HOMO e baixo valor de LUMO.

A Figura 20 ilustra os níveis de energia dos orbitais de fronteira das estruturas dipeptídicas: GD, DG, GH, HG, GM, MG, GW, WG, bem como dos AA que os constituem na forma zwitteriônica e não-zwitteriônica. A ordem dos AA indica a sua posição em relação ao N e C terminais, de modo que o primeiro AA está mais próximo da terminação N e o segundo do C-terminal.

Figura 20. Alinhamento dos níveis de energia dos dímeros em comparação com os aminoácidos utilizados, HOMO (inferior) e LUMO (superior) espécies não-zwitteriônicas.



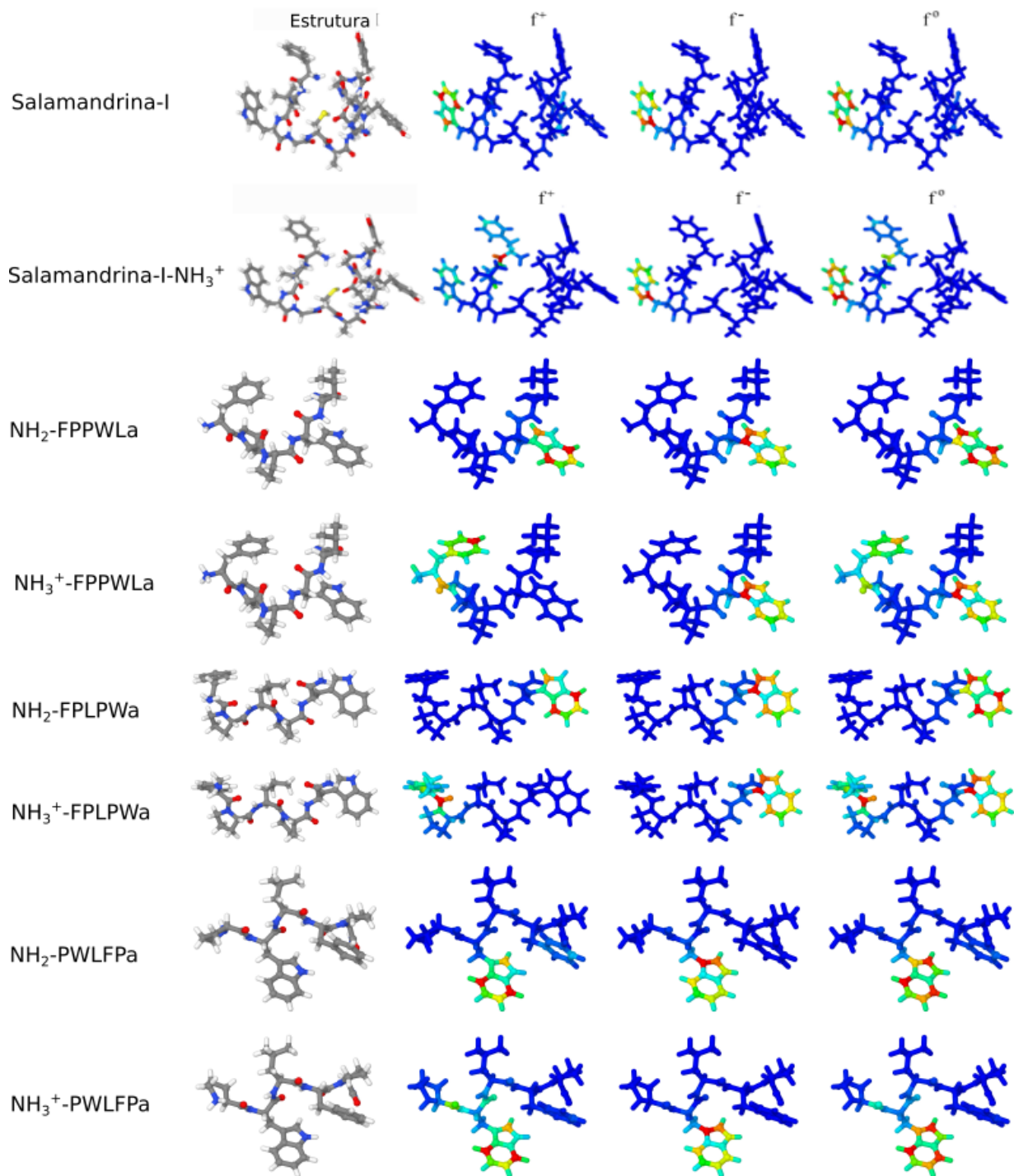
De maneira geral, nas estruturas não zwitteriônicas (em vermelho) nota-se que o HOMO e LUMO dos dipeptídeos podem ser, em certo grau, estimados com base na disposição relativa dos níveis de fronteira dos AA constituintes: o HOMO do composto tende a ter energia próxima à unidade com o maior HOMO, enquanto que o LUMO do dipeptídeo tende a apresentar energias próximas às das unidades com menor LUMO. A posição dos níveis de fronteira destas estruturas (não zwitteriônicas) tendem a apresentar uma fraca dependência com a posição relativa dos AA na sequência peptídica com uma leve tendência de aumento do HOMO/LUMO em casos onde a glicina situa-se nas proximidades do C-terminal, exceto para as combinações GD e DG, onde nota-se uma leve tendência de redução dos níveis de energia.

No caso das estruturas zwitteriônicas, nota-se que o alinhamento de ambos os orbitais de fronteira não apresentam um comportamento passível de predição com base na posição dos níveis de energia dos AA constituintes. Por exemplo, nota-se altos valores de E_{HOMO} (energia do HOMO) para o sistema GD, o qual não é compatível com a posição do HOMO, tanto da glicina como do ácido aspártico, sugerindo que nestes sistema possam ocorrer alterações significativas devido a processo de transferência de carga entre as unidades/terminações que devem ser melhor estudadas. Tal comportamento anômalo das estruturas zwitteriônicas pode ser atribuído à assimetria imposta pela formação das estruturas diméricas. De fato, ao se confeccionar os

dipeptídeos zwitteriônicos temos a junção de duas unidades que não são exatamente os AA em sua forma zwitteriônica, uma vez que estão diretamente em contato com apenas uma terminação carregada (NH_3^+ ou COO^-). Tal assimetria faz com que a disposição dos níveis de energia destes sistemas seja mais sensível à posição específica dos AA na cadeia, ou seja, se os mesmos se encontram ligados ao N-terminal ou C-terminal. Em particular, nossos resultados indicam um aumento da energia do HOMO quando o grupo dominante (de maior HOMO) se encontra ligado ao C-terminal (ou seja, quando a glicina se encontra associada ao N-terminal) e um menor HOMO no caso oposto (grupo dominante ligado ao N-terminal). Um mesmo efeito é observado para o LUMO, mas em menor grau. Em especial os sistemas GM e MG apresentam HOMO quase inalterados.

Os resultados obtidos para estes dipeptídeos evidenciam a relevância da ordem considerada dos AA (em relação ao N e C terminais) na formação da estrutura eletrônica dos dipeptídeos, em especial em se tratando de estruturas zwitteriônicas. Tal influência tem sido de fato notada em sequências peptídicas maiores avaliadas pelo nosso grupo, conforme evidenciado na Figura 21. De forma geral, a presença de terminações NH_3^+ acaba por deslocar a reatividade dos peptídeos para os grupos mais reativos localizados nas suas proximidades. Com base nos resultados acima apresentados, tal efeito pode ser atribuído ao deslocamento dos níveis de fronteira destas unidades.

Figura 21. IFCA calculados para diferentes peptídeos bioativos carregados (NH_3^+) e não carregados (NH_2).



Fonte: Batagin-Neto (comunicação pessoal)

Como um exemplo de interesse, tomemos o caso da Salamandrina I. Note que após a protonação, a reatividade do sistema em relação a agentes nucleofílicos (f^+),

inicialmente centrada unicamente sobre o AA Triptofano (W), é deslocada para a Fenilalanina (F). Um efeito menos significativo é observado sobre f^- , o qual ainda permanece sobre o W. Tal resultado reforça a hipótese de que a posição relativa dos AA em relação aos grupos terminais protonados pode influenciar apreciavelmente a reatividade do sistema. Em especial, a forte influência sobre f^+ , indica que a presença do grupo protonado deve alterar a posição relativa do LUMO do sistema (capacidade de receber elétrons ou interagir com agentes externos nucleofílicos), influenciando mais fortemente o grupo vizinho Fenilalanina (F) e deslocando a reatividade do sistema.

É importante notar que tal efeito não é observado nos sistemas não protonados (ou seja, sem o NH_3^+ terminal), nem em casos onde a Fenilalanina se encontrava mais afastada da terminação carregada (no sistema PWLFPe), onde a reatividade da sequência pode ser *a priori* predita por meio da análise dos níveis de energia de fronteira dos AA constituintes (Figura 6).

A fim de melhor avaliar como a reatividade das unidades é alterada mediante a formação de estruturas mais estendidas, buscou-se avaliar os IFCA dos dipeptídeos selecionados. As Figuras 22 e 23 ilustram os mapas de coloração dos índices de reatividade, seguindo-se o mesmo padrão empregado para os AA.

Figura 22. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos dipeptídeos não-zwitteriônicos.

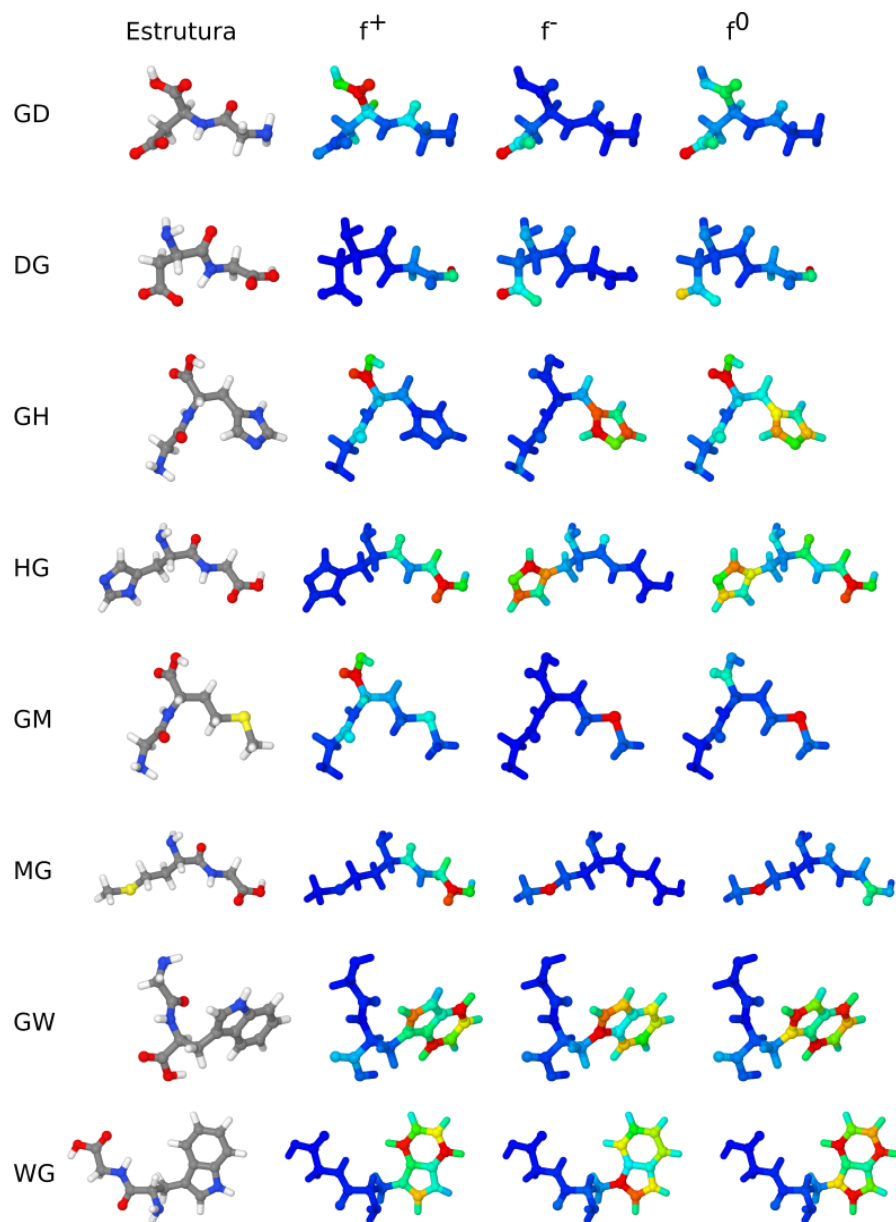
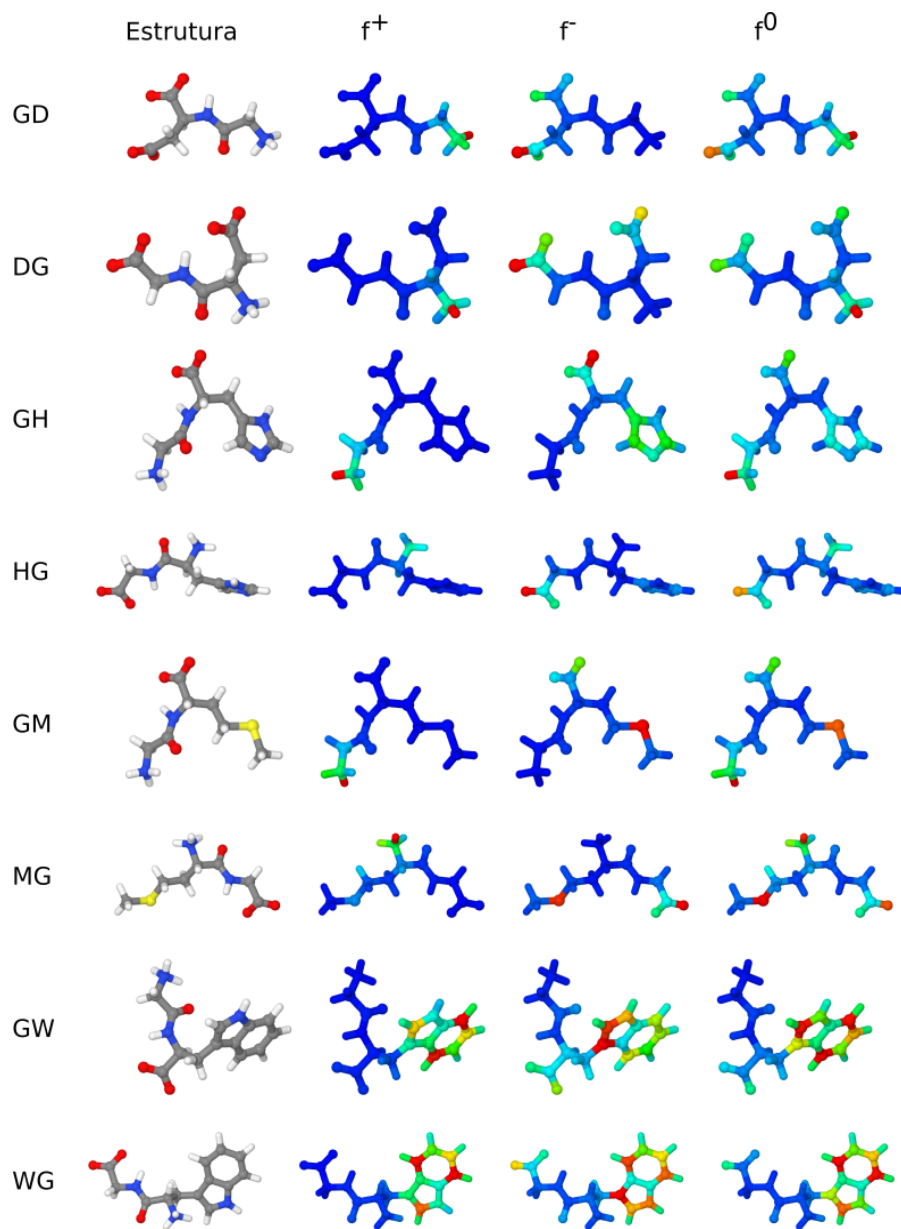


Figura 23. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos dipeptídeos zwitteriônicos.



Por meio da análise dos IFCAs pode-se identificar os seguintes padrões de reatividade:

- Sistemas não zwitteriônicos tendem a apresentar maiores valores de f^+ sobre os grupos COOH terminais, enquanto que sistemas zwitteriônicos têm sua reatividade em relação a agentes nucleofílicos centrada sobre os grupos NH_3^+ . Uma importante

exceção são os sistemas baseados em Triptofano, os quais possuem reatividade associada a f^+ centrada sobre este AA aromático;

- Com relação a f^- (reatividade associada a agentes externos eletrofílicos) nota-se a dominância dos grupos i) D em GD e DG; ii) H em GH e HG; iii) M em GM e MG e iv) W em GW e WG. Tal dominância é observada tanto em sistemas não zwitteriônicos como zwitteriônicos, sendo também distribuídas sobre o grupo COO^- nas espécies zwitteriônicas;
- O Triptofano domina a reatividade, tanto com relação a f^+ , como f^- , em todos as condições.

Os resultados obtidos a análise dos IFCA sobre os dímeros, em conjunção com os dados de reatividade previstos para as sequências peptídicas apresentadas na Figura 21, sugerem que a análise do alinhamento relativo dos níveis de energia dos AA (Figura 6) possa ser empregada para se prever a posição de sítios reativos de uma dada sequência peptídica, principalmente no que tange à reatividade associada a agentes externos eletrofílicos (f^-). De fato, estruturas com maiores níveis de HOMO tendem a dominar a distribuição espacial de f^- , definindo-se como sítios preferenciais de reação. Por outro lado a reatividade associada a f^+ (com relação a agentes nucleofílicos) tende a ser dominada pelas terminações em ambos os casos (zwitteriônico e não zwitteriônico), e deste modo sendo mais associada à processos de troca iônica. Tal resultado pode estar associado à similaridade da posição do energética do LUMO na maioria dos AA, o que evidencia a dominância da reatividade dos AA aromáticos nestes casos.

Neste sentido, considerando-se os alinhamentos relativos apresentados na Figura 6, os seguintes AA tenderiam a dominar as reatividades de sequências peptídicas: i) M, F, Y, W, H, D e E para reações envolvendo espécies eletrofílicas; ii) F, Y e W para reações envolvendo espécies nucleofílicas.

Por fim, visando melhor avaliar a influência da formação dos dipeptídeos nas propriedades doador-aceitador das sequências, buscou-se comparar a capacidade eletrodoadora/eletroaceitadora das diferentes estruturas diméricas em relação ao seus AA constituintes. As Figuras 24 e 25 ilustram os DAMs destes sistemas.

Figura 24. Mapa doador-aceitador dos dipeptídeos e AA não-zwitteriônicos.

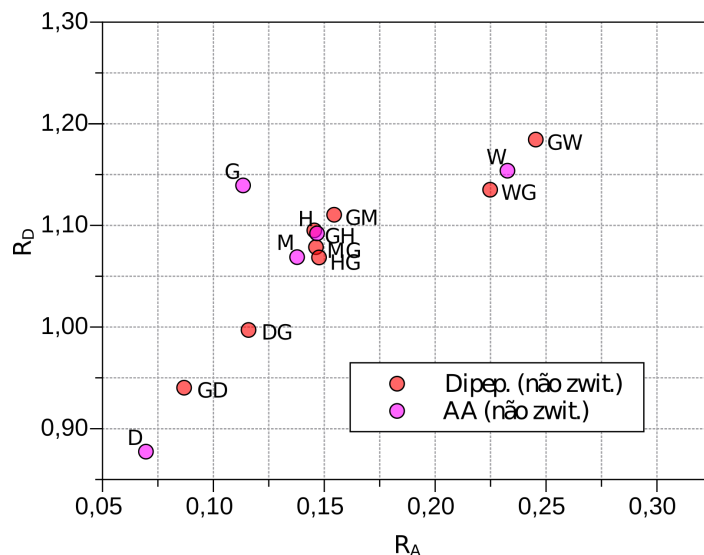
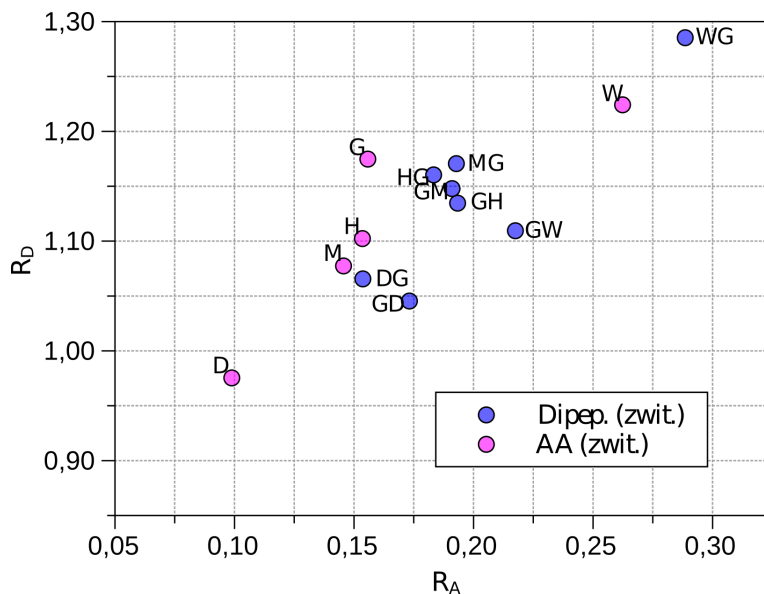


Figura 25. Mapa doador-aceitador dos dipeptídeos e AA zwitteriônicos.



De modo geral nos dipeptídeos não zwitteriônicos (Figura 24) observa-se que as estruturas resultantes tendem a apresentar comportamentos intermediários em relação às suas unidades constituintes, com maior proximidade com a AA dominante. Assim a presença da unidade D leva a um aumento da capacidade doadora dos sistemas GD e DG em relação ao à G isolada, da mesma forma com que W aumenta a capacidade

aceitadora dos sistemas WG e GW em relação à G. As estruturas baseadas em H e M são muito similares entre si.

Um efeito similar é observado para as estruturas zwitteriônicas, com um efeito mais evidente da posição relativa entre os AA constituintes no caso WG e GW. De forma geral, os dipeptídeos tendem a apresentar capacidades aceitadora de elétrons superiores às de suas unidades constituintes (com exceção para o GW). A capacidade doadora pode ser mensurada como uma média dos AA constituintes (novamente com exceção para o GW).

De forma geral os resultados para as espécies zwitteriônicas reforçam a hipótese de que AA dominantes próximos ao C-terminal tenderiam a influenciar o HOMO, reduzindo R_D (como observado para as estruturas GD, GH e GM, em relação aos seus análogos), enquanto que AA dominantes próximos ao N-terminal tenderiam a influenciar o LUMO, aumentando R_A (como observado para o WG) contudo maiores estudos são ainda necessários. Um efeito oposto é observado para os sistemas não zwitteriônicos.

É importante ainda ressaltar que a estrutura eletrônica diferenciada do Triptofano (W) (alto HOMO e baixo LUMO) de fato interfere apreciavelmente nas propriedades antioxidantes de sistemas mais estendidos, como temos observado em outros sistemas.

5.3. Estudo de estruturas mais estendidas (tripeptídeos)

Conforme apresentado nas seções anteriores, pode-se observar certa influência da posição relativa dos AA na cadeia na reatividade local e disposição energética dos níveis de fronteira das estruturas mais estendidas. Visando melhor avaliar tal efeito, procurou-se investigar a configuração eletrônica de 2 sistemas modelo baseados em estruturas com 3 AA (trímeros ou tripeptídeos) em configurações distintas, sendo eles: i) Glicina e Triptofano: WGG, GWG, GGW; e ii) Glicina e Fenilalanina: FGG, GFG, GGF.

As Figuras 26 e 27 ilustram as disposições energéticas dos níveis de fronteira obtidos para os sistemas não zwitteriônicos (vermelho) e zwitteriônicos (azul).

Figura 26. Alinhamento dos níveis de energia dos tripeptídeos (WGG, GWG e GGW) em comparação com os aminoácidos utilizados, HOMO (inferior) e LUMO (superior).

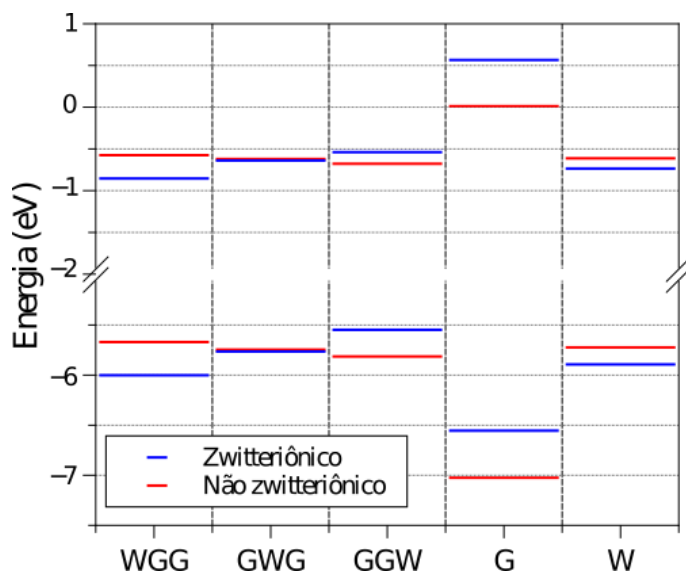
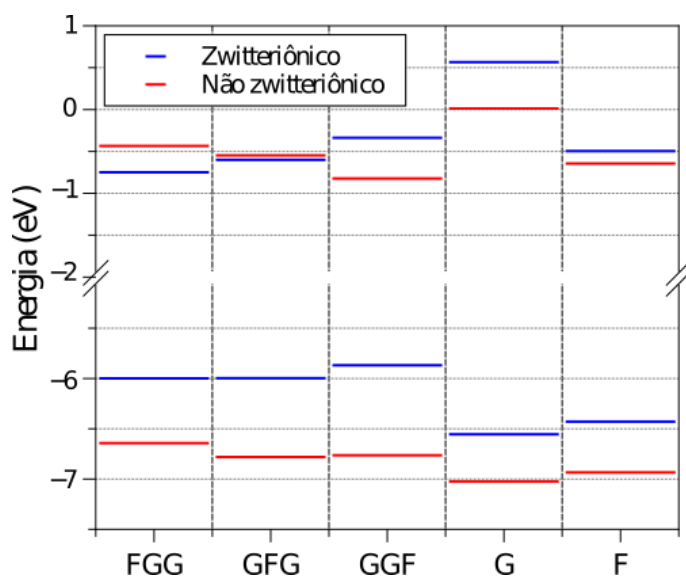


Figura 27. Alinhamento dos níveis de energia dos tripeptídeos (FGG, GFG e GGF) em comparação com os aminoácidos utilizados, HOMO (inferior) e LUMO (superior).



Note que tanto o W como o F tendem a dominar as propriedades eletrônicas dos tripeptídeos, dado o alinhamento relativo dos orbitais de fronteira (alto HOMO e baixo LUMO), o que é mais evidente no caso do Triptofano. É importante também notar que a posição dos níveis de energia dos orbitais de fronteira dos sistemas apresenta, de fato,

uma pequena dependência com a posição relativa dos AA em relação aos grupos terminais, a qual é mais pronunciada nos sistemas zwitteriônicos.

Nos sistemas não zwitteriônicos observa-se um aumento dos níveis de energia quando os AA dominantes situam-se nas proximidades do N-terminal, e uma redução destes quando o mesmo situa-se próximo ao C-terminal. Um efeito oposto é observado no caso dos sistemas zwitteriônicos.

É interessante ressaltar que a redução observada no LUMO da espécie zwitteriônica FGG juntamente com a ausência de alterações significativas do LUMO do trímero GWG (em relação ao W isolado) permite compreender a alteração da reatividade das sequências apresentadas na Figura 21. Para estes sistemas nota-se um deslocamento da reatividade, inicialmente centrada sobre o grupo Triptofano (do centro da cadeia), para a Fenilalanina quando esta situa-se nas proximidades dos N-terminais protonados. De acordo com as Figuras 26, 27 e 6, tal alteração tenderia a aproximar o LUMO da F do LUMO do W, fazendo com o esta unidade pudesse, eventualmente, dominar a reatividade do sistema como um todo em relação a espécies químicas nucleofílicas (o que é descrito por f^+). Tal resultado é de grande valia na identificação e predição da posição de centros reativos em sistemas polipeptídicos.

Visando melhor avaliar estas considerações, realizamos, por fim, a análise da influência da posição dos AA na reatividade dos tripeptídeos. As Figuras 28-31 ilustram mapas de cor dos IFCA dos diferentes trímeros, seguindo-se o mesmo padrão empregado para os AA e dipeptídeos.

Figura 28. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos WGG, GWG e GGW não-zwitteriônicos.

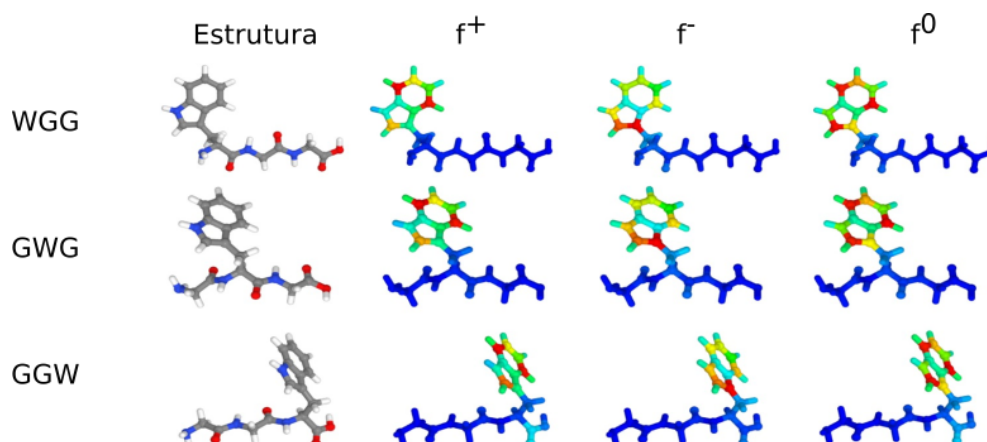


Figura 29. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos WGG, GWG e GGW zwitteriônicos.

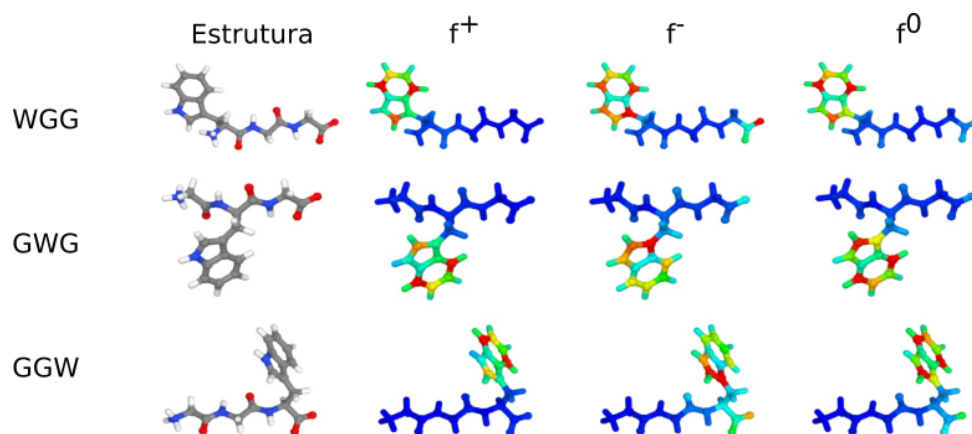


Figura 30. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos FGG, GFG e GGF não-zwitteriônicos.

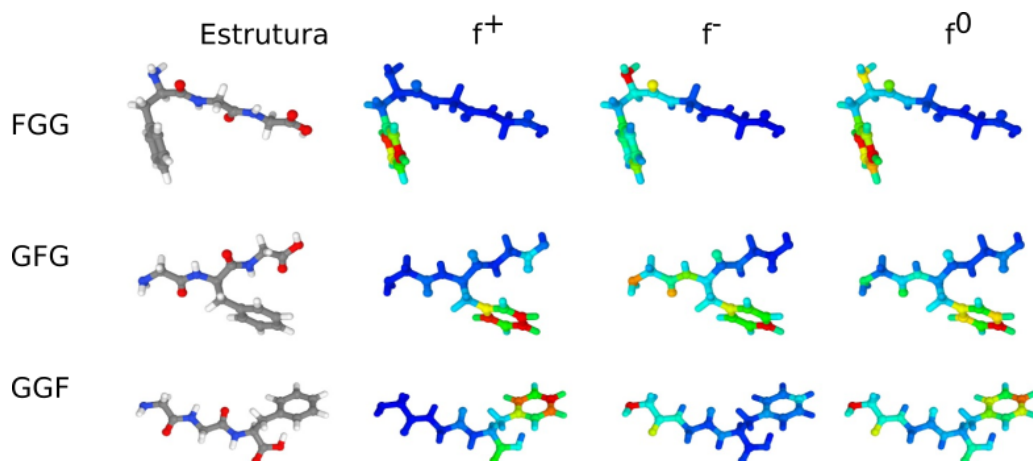
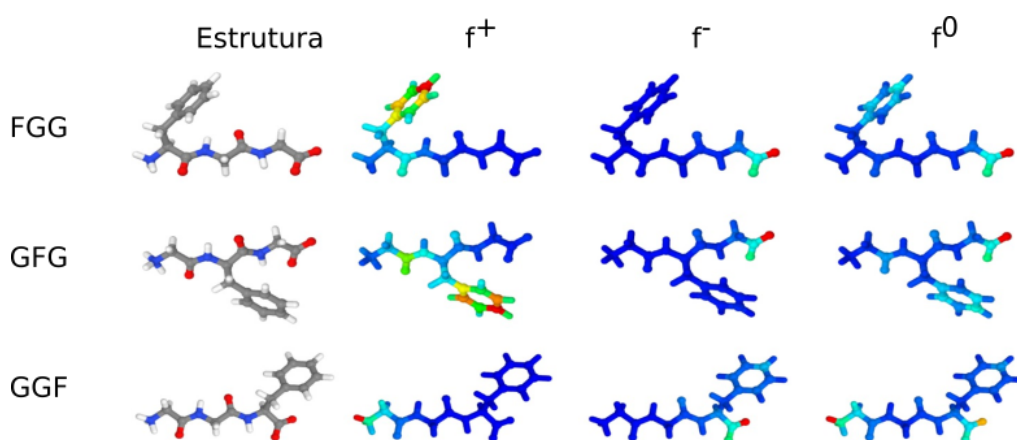


Figura 31. Índices de Fukui Condensados sobre os átomos dos tripeptídeos FGG, GFG e GGF zwitteriônicos.



Nos sistemas WGG, GWG e GGW é evidente o domínio da unidade W na reatividade dos tripeptídeos, independentemente da ordem do AA dominante (W, o qual apresenta menores energias de LUMO e maiores energias de HOMO). Tal resultado sugere que esta unidade deve desempenhar um importante papel no mecanismo de atuação de peptídeos bioativos, como de fato já tem sido relatado na literatura (EHRENSHAFT; DETERDING; MASON, 2015; FUENTES-LEMUS et al., 2016; PLÁCIDO et al., 2020). A ausência de alterações significativas na reatividade dos sistemas baseados em W e sua presença nos sistemas contendo F, indicam que a

influência das alterações dos níveis de energia de fronteira no primeiro caso não são capazes de alterar a dominância dos AA constituintes (e/ou das terminações) na reatividade do sistema.

Por outro lado, a evolução da reatividade nos sistemas FGG, GFG e GGF pode ser compreendida com base na análise dos níveis de fronteira dos sistemas (Figura 27). Primeiramente é importante ressaltar a dominância esperada da F em relação às G no que tange a formação do LUMO da estrutura tripeptídica, uma vez que tal AA apresenta um menor valor de LUMO tanto nos sistemas não zwitteriônicos, como zwitteriônicos. Tal dominância, no entanto, não é tão evidente em se tratando do HOMO. Devido a isso, e à baixa dependência do LUMO com a posição do AA dominante nas estruturas, a reatividade do sistema associada à f^+ é geralmente dominada pela Fenilalanina na estrutura trimérica. Uma importante exceção é o sistema GGF zwitteriônico, neste tripeptídeo nota-se a reatividade centrada sobre o grupo NH_3^+ do N-terminal, o que pode ser associado ao aumento mais significativo da energia do LUMO quando o AA dominante (F) situa-se nas proximidades do C-terminal (vide GGF zwitteriônico da Figura 27), levando a uma resposta similar à observada para os dímeros com altos LUMOs (Figura 23), sugerindo que o LUMO da F não mais domina a reatividade do sistema.

Em especial, a concentração da reatividade nas terminações NH_3^+ (para f^+) e COO^- (para f^-) observadas apenas para alguns sistemas específicos, sugere a existência de um limiar de valores do LUMO (para f^+) e HOMO (para f^-) a partir dos quais estas terminações passam a dominar a reatividade dos sistemas. Dado o papel dominante do W em todos os casos, e o domínio transiente da F nos sistemas tripeptídicos, pode-se estimar este valor para as estruturas zwitteriônicas como estando entre -0.75 e -0,34 eV no caso do LUMO (região onde situa-se o LUMO dos trímeros FGG e GGF), onde observamos a transição da reatividade da F para o NH_3^+ ; e ao redor -6,00 eV no caso do HOMO, onde nota-se a tendência do COO^- passar a dominar a reatividade do WGG e da F começar a apresentar certa reatividade no sistema GGF.

Um efeito similar é notado nos sistemas não zwitteriônicos, com f^+ centrado sobre o grupo COOH do C-terminal e f^- sobre o NH_2 do N-terminal, contudo com

diferentes alterações dos níveis de fronteira. Tais fenômenos, no entanto, carecem ainda de maiores investigações.

6. CONCLUSÕES

Propriedades eletrônicas, estruturais e de reatividade local de AA, dipeptídeos e tripeptídeos foram avaliadas por meio de cálculos de estrutura eletrônica, numa abordagem DFT, a fim de se identificar padrões de reatividade e associados ao alinhamento dos níveis de fronteira destes sistemas.

Os resultados evidenciam as diferentes propriedades dos AA, as quais influenciam a reatividade de sequências peptídicas. Em especial um papel bastante relevante pode ser identificado para os AA aromáticos, carregados, e a Metionina (M) no que tange a reatividade com relação a agentes externos eletrofílicos e AA aromáticos com relação a agentes externos eletrofílicos. Dados obtidos do estudo de AA permitem compreender resultados de reatividade observados em sequências de peptídeos bioativos recentemente reportadas. Análise de mapas doador-aceitador indicam apreciáveis atividades antiradicalares para todas as unidades, em especial para os AA aromáticos.

Os resultados obtidos do estudo de dipeptídeos selecionados indicam a influência da posição relativa dos AA na reatividade das sequências, especialmente em sistemas zwitteriônicos, a qual é compatível com dados anteriormente observados pelo grupo. Os dados sugerem uma forte interação eletrônica entre as unidades, de modo que as posições dos níveis de energia podem ser apenas marginalmente estimados com base na combinação dos AA constituintes, contudo, pode-se identificar quais AA dominam a reatividade dos sistemas resultantes. Em geral, para estruturas maiores não zwitteriônicas nota-se um leve aumento dos níveis de energia quando os AA dominantes (com baixo LUMO ou alto HOMO) situam-se nas proximidades do C-terminal, efeito este contrário ao observado nas estruturas zwitteriônicas onde efeitos mais expressivos são observados. Tais resultados foram confirmados pela análise de estruturas triméricas selecionadas.

Este trabalho apresentou ferramentas relevantes na identificação de sítios de reatividade de polipeptídeos e avaliação de possíveis mecanismos antioxidantes destes compostos. Permitem também avaliar de forma qualitativa sistemas antioxidantes promissores auxiliando na bioprospecção de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, G. G. B. et al. Reactivity of eumelanin building blocks: A DFT study of monomers and dimers. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 98, p. 107609, jul. 2020.
- ASHCROFT, N.; NERMIN, N. D. **Física do estado sólido**. 1ª edição ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.
- BARBOSA, E. A. et al. Structure and function of a novel antioxidant peptide from the skin of tropical frogs. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 115, p. 68–79, 1 fev. 2018.
- BARBOSA, E. A. ET AL. Artigo em elaboração (comunicação pessoal). **The water to land transition in an amphibian is accompanied by the secretion of a peptide with antioxidant activity**, 2021.
- BARBOZA, B. H.; GOMES, O. P.; BATAGIN-NETO, A. Polythiophene derivatives as chemical sensors: a DFT study on the influence of side groups. **Journal of Molecular Modeling**, v. 27, n. 1, p. 17, 7 jan. 2021.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.
- BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 123–130, ago. 1999.
- Biopropectum**. Uptec, 2021. Disponível em: <<https://uptec.up.pt/pt-pt/empresas/biopropectum/>>. Acesso em: 8 abr. 2021
- CAMPBELL, M.; FARREL, S. **Bioquímica**. 2ª edição ed. [s.l.] Cengage Learning, 2015.
- CARICATO, M.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. Solvent polarity scales revisited: A ZINDO-PCM study of the solvatochromism of betaine-30. **Molecular Physics**, v. 104, p. 875–887, 1 mar. 2006.
- DAMASCENO, C. S. B. et al. Peptídeos Bioativos de Soja Glycine Max (L.) Merrill: uma Breve Revisão. **Revista Processos Químicos**, v. 10, n. 19, p. 89–98, 4 jan. 2016.
- DEMATEI, A. et al. Mechanistic Insights into the Leishmanicidal and Bactericidal Activities of Batroxidin, a Cathelicidin-Related Peptide from a South American Viper (Bothrops atrox). **Journal of Natural Products**, v. 84, n. 6, p. 1787–1798, 25 jun. 2021.
- DHALIWAL, J. S.; SINGH, H. Free Radicals and Anti-oxidants in Health and Disease. v. 2, n. 3, p. 3, 2015.
- DO AMARAL RODRIGUES, J. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for the incorporation of alkaloid epiisopiloturine. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 965–972, 1 maio 2019.
- DO NASCIMENTO DIAS, J. et al. Mechanisms of action of antimicrobial peptides ToAP2 and NDBP-5.7 against Candida albicans planktonic and biofilm cells. **Sci Rep**, p. 10327–10327, 2020.
- EHRENSHAFT, M.; DETERDING, L. J.; MASON, R. P. Tripping up Trp: Modification of protein tryptophan residues by reactive oxygen species, modes of detection, and biological consequences. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 89, p. 220–228, dez. 2015.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61–68, mar. 1997.
- FERREIRA, C. D. et al. **Fundamentos da Nutrição**. 1ª edição ed. [s.l.] Editora Sanar, 2015.
- FONTOURA, R. et al. Characterization of a novel antioxidant peptide from feather keratin hydrolysates. **New Biotechnology**, v. 49, p. 71–76, 25 mar. 2019.
- FRISCH, M. et al. Gaussian 09 (Revision A02). **Gaussian Inc. Wallingford CT**, 1 jan. 2009.
- FUENTES-LEMUS, E. et al. Oxidation of free, peptide and protein tryptophan residues

mediated by AAPH-derived free radicals: role of alkoxyl and peroxy radicals. **RSC Advances**, v. 6, n. 63, p. 57948–57955, 15 jun. 2016.

FUKUI, K. Role of Frontier Orbitals in Chemical Reactions. **Science**, v. 218, n. 4574, p. 747–754, 19 nov. 1982.

GOMES, O. P.; BATAGIN-NETO, A.; LISBOA-FILHO, P. N. The evaluation of anchoring processes and chemical stability of zwitterionic molecules via local reactivity indexes. **Computational Materials Science**, v. 193, p. 110418, 1 jun. 2021.

GUEVARA-LEVEL, P. et al. First principles investigation of the spectral properties of neutral, zwitterionic, and bis-cationic azaacenes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 21, n. 41, p. 22910–22918, 24 out. 2019.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 81–98, 2010.

HANWELL, M. D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of Cheminformatics**, v. 4, n. 1, p. 17, dez. 2012.

HERREZ, A. **How to Use Jmol to Study and Present Molecular Structures**. Morrisville, NC: Lulu.com, 2008.

JÚNIOR, A. A. J. et al. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 31, n. 3, p. 434–449, 30 set. 1998.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133–A1138, 15 nov. 1965.

LASCANE, L. G. et al. Polyfuran-based chemical sensors: Identification of promising derivatives via DFT calculations and fully atomistic reactive molecular dynamics. **EUROPEAN POLYMER JOURNAL**, v. 141, 2020.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 15 jan. 1988.

LEWARS, E. G. **Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics**. 2nd ed. 2011 edition ed. Dordrecht Netherlands ; London ; New York: Springer, 2011.

LUNA-VITAL, D. A. et al. Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. **Food Research International**, Grain legumes - Science, Technology and Impacts on Human Health. v. 76, p. 39–50, 1 out. 2015.

MACHADO, A. et al. Sínteses química e enzimática de peptídeos: princípios básicos e aplicações. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 781–789, out. 2004.

MAIA, R. A.; VENTORIM, G.; BATAGIN-NETO, A. Reactivity of lignin subunits: the influence of dehydrogenation and formation of dimeric structures. **Journal of Molecular Modeling**, v. 25, n. 8, p. 228, 17 jul. 2019.

MANDÚ, L. O. [UNESP]; BATAGIN-NETO, A. [UNESP. Chemical sensors based on N-substituted polyaniline derivatives: reactivity and adsorption studies via electronic structure calculations. **Journal of Molecular Modeling**, 1 jul. 2018.

MARTÍNEZ, A. et al. Donator Acceptor Map for Carotenoids, Melatonin and Vitamins. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 112, n. 38, p. 9037–9042, 25 set. 2008.

MARZZOCO, A. **Bioquímica Básica**. 4ª edição ed. [s.l.] Guanabara Koogan, 2015.

NELSON, D. L. et al. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7ª edição ed. [s.l.] Artmed, 2018.

NETTO, L. E. S. et al. Reactive cysteine in proteins: protein folding, antioxidant defense, redox signaling and more. **Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP**, v. 146, n. 1–2, p. 180–193, ago. 2007.

OLIVEIRA FILHO, J. et al. PEPTÍDEOS BIOATIVOS NO DESENVOLVIMENTO DE FILMES

ATIVOS E BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS. In: [s.l: s.n.]. p. 91–102.

PEDONE, A.; BARONE, V. Unraveling solvent effects on the electronic absorption spectra of TRITC fluorophore in solution: a theoretical TD-DFT/PCM study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, n. 11, p. 2722–2729, 2 mar. 2010.

PEDRON, C. N. et al. Arg-substituted VmCT1 analogs reveals promising candidate for the development of new antichagasic agent. **Parasitology**, v. 147, n. 14, p. 1810–1818, dez. 2020.

PepCalc.com - Peptide calculator. Disponível em: <<https://pepcalc.com/>>. Acesso em: 11 ago. 2021.

PLÁCIDO, A. et al. The Antioxidant Peptide Salamandrin-I: First Bioactive Peptide Identified from Skin Secretion of Salamandra Genus (*Salamandra salamandra*). **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 512, abr. 2020.

PLÁCIDO, A., ET AL. Artigo em elaboração (comunicação pessoal). **A novel tryptophyllin peptide from the skin secretion of the Iberian green frog (*Pelophylax perezi*) protects microglia cells against oxidative stress.**, 2021.

RODRIGUES DE ARAÚJO, A. et al. Antifungal and anti-inflammatory potential of eschweilenol C-rich fraction derived from *Terminalia fagifolia* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 240, p. 111941, 10 ago. 2019.

SILA, A.; BOUGATEF, A. Antioxidant peptides from marine by-products: Isolation, identification and application in food systems. A review. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 10–26, 1 mar. 2016.

SILVA, P. G. DA et al. Purificação e caracterização de peptídeos bioativos isolados do veneno de bothrops moojeni úteis para terapia de malária e leishmaniose. In: IX SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA & II SIMPÓSIO DE INOVAÇÃO, PROPRIEDADE INTELECTUAL E TECNOLOGIA. IX SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA & II SIMPÓSIO DE INOVAÇÃO, PROPRIEDADE INTELECTUAL E TECNOLOGIA. **Anais...** 8 maio 2018. Disponível em: <http://www.eventos.unir.br/index.php/viii_spgp_i_sipitt/ixsemppiisintec/paper/view/1622>. Acesso em: 4 abr. 2021.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002a.

SOARES, S. E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002b.

SPADOTI, L. M. et al. Peptídeos bioativos obtidos de proteínas do soro de queijo: potenciais ingredientes de alimentos promotores de saúde. p. 4, 2011.

STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **Journal of Molecular Modeling**, v. 13, n. 12, p. 1173–1213, 20 out. 2007.

STEWART, J. J. P. A method for predicting individual residue contributions to enzyme specificity and binding-site energies, and its application to MTH1. **Journal of Molecular Modeling**, v. 22, n. 11, p. 259, 6 out. 2016.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 8, p. 2999–3094, 1 ago. 2005.

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, p. 1200, 1 ago. 1980.

WU, A.; GAO, Y.; ZHENG, L. Zwitterionic amphiphiles: their aggregation behavior and

applications. **Green Chemistry**, v. 21, n. 16, p. 4290–4312, 12 ago. 2019.

YANG, W.; MORTIER, W. The Use of Global and Local Molecular Parameters for the Analysis of the Gas-phase Basicity of Amines. **J Am Chem Soc**, v. 108, n. 19, p. 5708–5711, 1986.