
Título: Estudo, via simulação molecular, da interação de dois peptídeos da região 115-129 da miotoxina II do veneno da serpente *Bothrops asper* com membranas celulares.

Resumo

As ligações de hidrogênio (LH), fundamentais na determinação da estrutura da água, proteínas, etc., são muito importantes no reconhecimento molecular e nos mecanismos de reações enzimáticas. A determinação da energia das LHs intramoleculares em proteínas e intermoleculares entre uma proteína e o solvente água, porque fornece informações sobre a estrutura secundária, terciária e quaternária das proteínas. Um método para quantificar e qualificar as LHs foi desenvolvido utilizando critérios de distância, geométricos e energéticos a partir das trajetórias obtidas por simulações de dinâmica molecular. O método foi testado com o monômero de uma fosfolipase A2 homodimérica, sem atividade catalítica, isolada do veneno da *Bothrops asper* (BaspMT-II). No dímero, a análise das LHs mostrou que elas são também essenciais na manutenção da estrutura quaternária. Essa análise permitiu identificar movimentos do tipo “dobradiça” acompanhados da formação transitória, na interface dimérica, de LHs controladas pelo triptofano na posição 77. Esses movimentos podem estar associados à ação danosa às membranas, uma vez que podem promover a inserção da região C-terminal na membrana. Estudos prévios mostraram que o peptídeo sintético (3Y codificado pelos aminoácidos 115-129 da BaspMT-II) apresenta atividade bactericida e citolítica. Um outro peptídeo (3W), mutante de 3Y, no qual três resíduos tirosina são substituídos por triptofano, apresenta um aumento do dano às membranas e do efeito miotóxico. Os mecanismos de ação desses peptídeos e as suas estruturas foram estudados por dinâmica molecular, dicroísmo circular (DC), microscopia de fluorescência e monocamadas de Langmuir (Mlang). As adsorções dos peptídeos em monocamadas de ácido dimiristoil fosfatídico (DMPA) e dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) se processam por mecanismos diferentes ocasionados pelas diferentes naturezas físico-químicas dos resíduos tirosina e triptofano. A microscopia de fluorescência acoplada a Mlang de DMPA com 3W adsorvido mostra um aumento da fluidez da monocamada, enquanto que o 3Y modifica os domínios do DMPA para pequenas estruturas circulares. Foram realizadas simulações dos peptídeos 3Y e 3W em meio aquoso e nas regiões

interfaciais água/n-hexano e água/bicamadas de DMPC. Os resultados confirmam os obtidos por Mlang, demonstrando que os peptídeos interagem diferentemente com as membranas por adotar conformações alternativas definidas previamente. Essas conformações, diferentes das observadas em meio aquoso, dependem da natureza da interface. As estruturas encontradas no final das simulações corroboram o mecanismo proposto por Mlang, assim como as estruturas sugeridas por DC. Isso sugere que a atividade biológica reduzida do peptídeo 3Y ocorre porque os seus dois resíduos Leu se adsorvem na interface sem penetrá-la. Ao contrário de 3W, os resíduos carregados do peptídeo 3Y não estão localizados corretamente para promover uma interação suficientemente atrativa para permitir a sua inserção na membrana celular.

Palavras chave.

Dinâmica Molecular, ligações de hidrogênio, fosfolipase A2, estrutura de proteínas, dicroísmo circular, microscopia de fluorescência, monocamadas de Langmuir e peptídeos bactericidas.