



# SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS DO POLÍMERO METACRILATO DE DIMETILAMINOETILA (PDMAEMA) PARA CARREAMENTO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS

Vinicius Firmino dos Santos<sup>1</sup>, Denys Ewerton da Silva Santos<sup>1</sup>, Thereza Amélia Soares da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Modelagem de BioMateriais, Departamento de Química Fundamental, UFPE

\*viniciushadar@gmail.com

## INTRODUÇÃO

As escovas poliméricas constituem uma classe de polímeros covalentemente ligados a uma superfície por uma das extremidades da cadeia polimérica, seja em estado solvatado onde o polímero forma uma camada de polímero e solvente, ou em estado fundido onde as cadeias poliméricas ocupam inteiramente a superfície de adesão.<sup>1</sup> Em regimes de alta densidade de cadeias poliméricas, a repulsão estérica leva ao estiramento da cadeia, e uma conformação do tipo escova é adotada. Em sistemas de baixa densidade, as cadeias poliméricas podem adotar inúmeros arranjos, e.g. cogumelo, panqueca, etc. Além disso, o comportamento de escovas poliméricas pode ser modulados por diferentes solventes, e condições do meio.

Previamente foi demonstrado que a escova molecular de metacrilato de dimetilaminoetila captura eficientemente siRNA and miRNA. A adsorção de RNA com comprimento entre 20 and 30 bases é mais estável do que observado para moléculas de DNA de dimensões similares.<sup>2,3</sup> As bases moleculares desta preferência não são conhecidas. O presente trabalho tem como objetivo investigar estes processos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para investigar a possível influência da sequência genética nas interações entre o PDMAEMA e cadeias de DNA/RNA, foram realizadas simulações de dinâmica molecular atomística da escova molecular em contato com ribonucleotídeos.

A topologia e as coordenadas para a escova molecular de PDMAEMA foram obtidas de trabalhos anteriores realizados no grupo de Modelagem de BioMateriais - BioMat@ufpe (Santos *et al.*)<sup>4</sup>. A estrutura inicial da escova molecular de PDMAEMA consistiu em um sistema, já equilibrado, de 16 cadeias poliméricas com 96 monômeros por cadeia. Uma camada fina, composta por grupos éster com os átomos de carbono espacialmente restritos, simulou a superfície de polimerização funcionalizada. Cada cadeia polimérica estava ligada covalentemente a um grupo éster. Os grupos amino do polímero foram protonados aleatoriamente em uma proporção 50:50 para simular suas propriedades no pKa (7,4 < pH < 7,8)<sup>5</sup>.

Estruturas para os ribonucleotídeos desoxiadenilato (dA), desoxicitidilato (dC), desoxiguanilato (dG) e uridilato (U) foram obtidas no Protein Data Bank e alteradas para serem monômeros livres. Considerando o pH desejado<sup>6</sup>, foi adicionado um átomo de hidrogênio aos grupos fosfato, resultando em uma carga líquida de -1 para cada molécula.

Cinco sistemas diferentes foram simulados (tabela 1). Na estrutura inicial a escova molecular de PDMAEMA foi posta em contato próximo com 16 cópias de um ribonucleotídeo (dA, dC, dG ou U). Os sistemas foram solvatados em solvente explícito, usando o modelo de água SPC (Simple Point Charge)<sup>7</sup>. Foram adicionados íons de cloro e sódio

em número suficiente para obter a eletroneutralidade do sistema (767 Cl<sup>-</sup> e 16 Na<sup>+</sup>).

Todas as simulações e análises foram realizadas utilizando o pacote de programas Gromacs, versão 4.6.7<sup>8</sup>, e o conjunto de parâmetros GROMOS 54A7<sup>9</sup>. Foram aplicadas condições periódicas de contorno (PBC). Interações eletrostáticas foram calculadas via potencial de Coulomb até um raio de corte de 1,4 nm, além do qual o tratamento eletrostático de longa distância *Reaction-Field* foi aplicado com uma constante dielétrica de 66<sup>10,11</sup>. Após uma etapa de relaxamento das forças atuando em cada partícula, os sistemas foram simulados por 20 ns em *ensemble* NPT, mantendo uma temperatura de 300 K e pressão de 1 bar com acoplamento de pressão semi-isotrópico.

Tabela 1. Sistemas simulados.

Sistema	Nucleotídeos	Cl <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	Tempo (ns)	Ensemble
A	Desoxiadenilato	767	16	20	NPT
B	Desoxicitidilato	767	16	20	NPT
C	Desoxiguanilato	767	16	20	NPT
D	Uridilato	767	16	20	NPT

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1a mostra como os sistemas foram inicialmente configurados. Foi observado um comportamento semelhante entre os ribonucleotídeos testados (dA, dC, dG e U); durante a simulação todos aderiram fortemente à escova molecular, fig. 1b. Uma vez em contato com o polímero, os ribonucleotídeos não voltam a ficar livres em solução durante o tempo simulado.

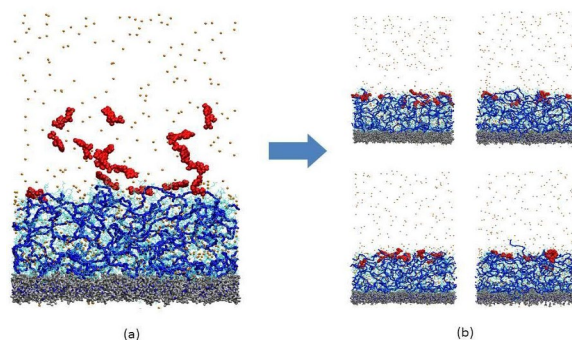
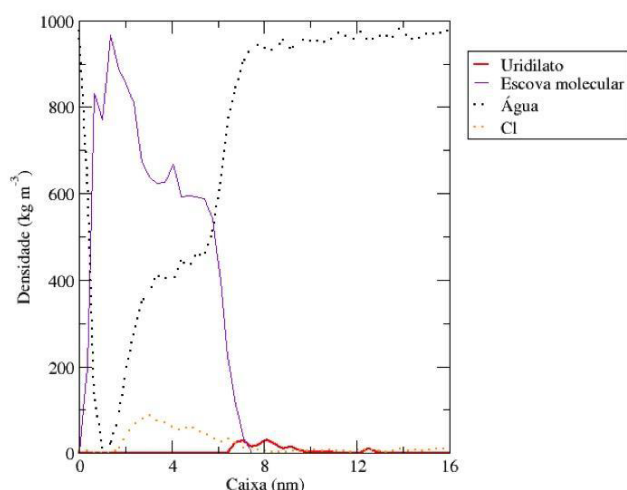


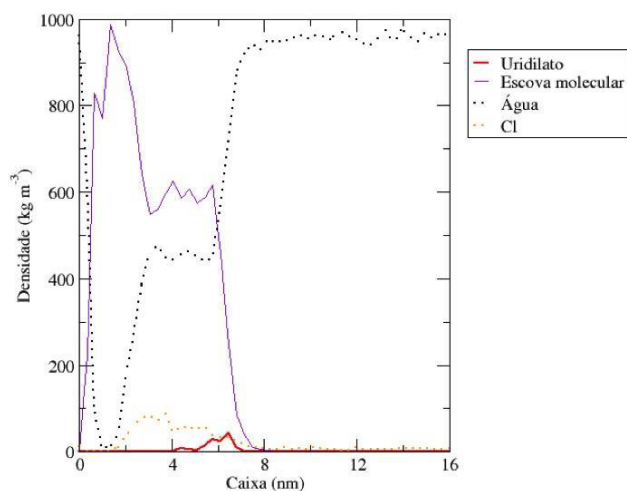
Figura 1. Sistemas simulados. Grupos éster em cinza, polímero em azul (Backbone destacado), nucleotídeos em vermelho e íons em laranja. As moléculas de água foram ocultadas para melhor visualização. (a) Estrutura inicial do sistema A. Os demais sistemas foram montados da mesma forma. (b) Durante a simulação os ribonucleotídeos aderiram à superfície do polímero. De cima para baixo e da esquerda para a direita, estruturas finais dos sistemas A, B, C e D.

Favorecendo a hipótese de que o principal fator de atração no sistema é a interação eletrostática, a posição dos nucleotídeos em relação à escova molecular influencia na velocidade de adesão. Os nucleotídeos mais próximos do polímero logo aderem a sua superfície, enquanto que os mais distantes, além do raio de corte, difundem livremente pela solução.

Os perfis de densidade parcial do uridilato, figura 2, confirmam a penetração dos ribonucleotídeos (curva vermelha) na superfície polimérica. Como resultados semelhantes foram obtidos para os demais sistemas, esses perfis são representativos dos comportamentos dos outros ribonucleotídeos testados.



(a)



(b)

**Figura 2.** Perfis de densidade parcial para o sistema E (a) antes da simulação e (b) após 20 ns de dinâmica molecular.

Ao final dos 20 ns de simulação alguns ribonucleotídeos ainda estavam se movendo através da escova molecular. Espera-se que, com maiores tempos de simulação, tal difusão progrida fornecendo maiores informações sobre a natureza das interações PDMAEMA-ribonucleotídeo.

## CONCLUSÕES

Todos os ribonucleotídeos simulados apresentaram forte adesão à escova molecular de PDMAEMA. A interação eletrostática mostrou

ser um fator de grande importância. No entanto, os resultados obtidos são de caráter preliminar e não evidenciam grandes diferenças nas interações entre o PDMAEMA e os diferentes ribonucleotídeos testados. Análises mais detalhadas e tempos de simulação mais longos fazem-se necessários. Também é de interesse realizar simulações com outros ribonucleotídeos.

## REFERÊNCIAS

1. KRISHNAMOORTHY, M.; HAKOBYAN, S.; RAMSTEDT, M.; GAUTROT, J. E. Surface-Initiated Polymer Brushes in the Biomedical Field: Applications in Membrane Science, Biosensing, Cell Culture, Regenerative Medicine and Antibacterial Coatings. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 114, n. 21, p. 10976–11026, oct. 2014.
2. KRISHNAMOORTHY, M.; LI, D.; SHARILI, A. S.; GULIN-SARFRAZ, T.; ROSENHOLM, J. M.; GAUTROT, J. E. Solution Conformation of Polymer Brushes Determines Their Interactions with DNA and Transfection Efficiency. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 18, n. 12, p. 4121–4132, oct. 2017.
3. LI, D.; SHARILI, A. S.; CONNELLY, J.; GAUTROT, J. E. Highly Stable Rna Capture by Dense Cationic Polymer Brushes for the Design of Cytocompatible, Serum-Stable Sirna Delivery Vectors. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 19, n. 2, p. 606–615, jan. 2018.
4. SANTOS, D. E. S.; LI, D.; RAMSTEDT, M.; GAUTROT, J. E.; SOARES, T. A. Conformational Dynamics and Responsiveness of Weak and Strong Polyelectrolyte Brushes: Atomistic Simulations of Poly(dimethyl aminoethyl methacrylate) and Poly(2-(methacryloyloxy)ethyl trimethylammonium chloride). **Langmuir**, [s.l.], v. 35, n. 14, p. 5037–5049, mar. 2019.
5. VAN DE WETERING, P.; ZUIDAN, N. J.; VAN STEENBERGEN, M. J.; VAN DER HOUWEN, O. A. G. J.; UNDERBERG, W. J. M.; HENNINK, W. E. A Mechanistic Study of the Hydrolytic Stability of Poly(2-(Dimethylamino)Ethyl Methacrylate). **Macromolecules**, [s.l.], v. 31, n. 23, p. 8063–8068, nov. 1998.
6. SAENGER, Wolfram. Principles of nucleic acid structure. New York: Springer-verlag, 1984. 556 p. (Springer Advanced Texts in Chemistry).
7. BERENDSEN, H. J. C.; GRIGERA, J. R.; STRAATSMA, T. P. The missing term in effective pair potentials. **The Journal Of Physical Chemistry**, [s.l.], v. 91, n. 24, p. 6269–6271, nov. 1987.
8. HESS, B.; KUTZNER, C.; VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E. GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. **Journal Of Chemical Theory And Computation**, [s.l.], v. 4, n. 3, p. 435–447, feb. 2008.
9. SCHMID, N.; EICHENBERGER, A. P.; CHOUTKO, A.; RINIKER, S.; WINGER, M.; MARK, A. E.; VAN GUNSTEREN, W. F. Definition and testing of the GROMOS force-field versions 54A7 and 54B7. **European Biophysics Journal**, [s.l.], v. 40, n. 7, p. 843–856, jul. 2011.
10. TIRONI, I. G.; SPERB, R.; SMITH, P. E.; VAN GUNSTEREN, W. F. A generalized reaction field method for molecular dynamics simulations. **The Journal Of Chemical Physics**, [s.l.], v. 102, n. 13, p. 5451–5459, abr. 1995.
11. GLATTLI, A.; DAURA, X.; VAN GUNSTEREN, W. F. Derivation of an improved simple point charge model for liquid water: SPC/A and SPC/L. **The Journal Of Chemical Physics**, [s.l.], v. 116, n. 22, p. 9811–9828, may. 2002.