

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**PAULO DA SILVA FERREIRA NETO**

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE APLICAÇÃO DE NANOESTRUTURAS  
NO APRIMORAMENTO DE BIOCENSORES:  
DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO EFICIENTE DE DOENÇAS CARDÍACAS**

**ALFENAS / MG**

**2023**

**PAULO DA SILVA FERREIRA NETO**

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE APLICAÇÃO DE NANOESTRUTURAS  
NO APRIMORAMENTO DE BIOCENSORES:  
DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO EFICIENTE DE DOENÇAS CARDÍACAS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Física pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Física da Matéria Condensada. Orientador: Prof. Dr. Ihosvany Camps Rodríguez

**ALFENAS / MG**

**2023**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Ferreira Neto, Paulo da Silva.

Simulação computacional de aplicação de nanoestruturas no aprimoramento de biossensores : detecção e diagnóstico eficiente de doenças cardíacas / Paulo da Silva Ferreira Neto. - Alfenas, MG, 2023.

92 f. : il. -

Orientador(a): Ihosvany Camps Rodríguez.

Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Biossensor. 2. Cardiovascular. 3. Troponina T. 4. Infarto. 5. Nanotubo.  
I. Camps Rodriguez, Ihosvany. Orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

## PAULO DA SILVA FERREIRA NETO

### Simulação computacional de aplicação de nanoestruturas no aprimoramento de biossensores: Detecção e diagnóstico eficiente de doenças cardíacas

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Física pela Universidade Federal de Alfenas. Linha de pesquisa: Matéria Condensada

Aprovada em: 08 de dezembro de 2023.

Prof. Dr. Ihosvany Camps Rodriguez  
Presidente da Banca Examinadora  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Letícia Ribeiro Paiva  
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei

Prof. Dr. Anderson Antunes Nogueira  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Ihosvany Camps Rodriguez, Professor do Magistério Superior**, em 08/12/2023, às 10:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1154662** e o código CRC **71FC5277**.

Aos meus pais, Paulo e Regiani.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao professor Ihosvany Camps Rodríguez pela dedicação, generosidade no compartilhamento de conhecimento e pela condução durante todo o processo de elaboração do presente trabalho.

Aos meus pais e irmãos pela compreensão e pelo suporte nos momentos de dificuldade.

Agradeço a Deus pela possibilidade de manutenção da vida e por não me deixar desistir nessa jornada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Este trabalho sintetiza muito estudo, empenho e dedicação, portanto, fico feliz em compartilhá-lo.

Por que não podemos escrever  
os 24 volumes inteiros da Enciclopédia  
Britânica na cabeça de um alfinete?

Richard Phillips Feynman,  
29 de dezembro de 1959  
(Feynman, 1959 *apud* Schulz, 2018)

## RESUMO

O desenvolvimento de pesquisas em nanoestruturas tem chamado a atenção de instituições do mundo todo e a aplicação de nanotecnologia tem se mostrado promissora. A utilização de biossensores<sup>1</sup> para detecção rápida e confiável de marcadores biológicos, como a troponina T, acumula dados positivos.

Simulações de dinâmica molecular utilizando recursos computacionais resultam em dados de energia de ligação total entre diferentes nanotubos de carbono e troponina T para que seja possível comparar a capacidade de interação entre tais estruturas.

Por ano, segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) as doenças cardiovasculares são causadoras de dois milhões de mortes nas Américas, sendo a principal causa de morte de pessoas. Mais de 75% das mortes ocorrem em países de baixa e média renda. São fatos alarmantes que motivam e justificam o estudo.

De acordo com dados e estatísticas sobre doença cardíaca, acidente vascular cerebral e outras doenças cardiovasculares publicadas pela *American Heart Association* em 26 de janeiro de 2022:

- Entre 2017 e 2018, o custo total por causa de doenças cardiovasculares foi de US\$378,0 bilhões, sendo US\$226,2 bilhões em custos diretos e US\$151,8 bilhões em custos indiretos devido à perda de produtividade/mortalidade.
- Em 2020, as doenças cardiovasculares foram responsáveis por aproximadamente 19,05 milhões de mortes no mundo.

Nanotubos de carbono são estruturas com ampla aplicabilidade por possuírem a capacidade de terem suas propriedades alteradas com simples modificações na sua composição.

**Palavras-chave:** biossensor; cardiovascular; troponina T; infarto; nanotubo.

---

<sup>1</sup> Biossensores são dispositivos, pequenos, portáteis, implantáveis ou não, baseados em elementos orgânicos e que identificam alterações em determinado biomarcador.

## ABSTRACT

The development of research into nanostructures has attracted the attention of institutions all over the world and the application of nanotechnology has shown promise. The use of biosensors for faster and more reliable detection of biological markers, such as Troponin T, has accumulated positive data.

Molecular dynamics simulations using computational resources result in total binding energy data between different carbon nanotubes and troponin T, so that it is possible to compare the interaction capacity between these structures.

Every year, according to the Pan American Health Organization (PAHO), cardiovascular diseases cause two million deaths in the Americas, making them the leading cause of death. More than 75% of deaths occur in low- and middle-income countries, a fact that motivates and justifies the research and development of more efficient and smaller equipment so that it can be produced on a large scale, minimizing costs and facilitating transport and distribution to collaborate with medical teams.

According to data and statistics on heart disease, cerebrovascular accidents and other cardiovascular diseases published by the American Heart Association on January 26, 2022:

- Between 2017 and 2018, the total cost due to cardiovascular diseases was US\$ 378.0 billion, of which US\$ 226.2 billion in direct costs and US\$ 151.8 billion in indirect costs due to lost productivity/mortality
- In 2020, cardiovascular diseases were responsible for approximately 19.05 million deaths worldwide.

Carbon nanotubes are structures with wide applicability, because their properties can be altered with simple modifications to their composition.

**Keywords:** biosensors; cardiovascular; troponin T; infarction; nanotube.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura muscular com detalhamento do sarcômero .....	24
Figura 2 – Detalhamento da contração do sarcômero .....	25
Figura 3 - Tecido muscular cardíaco e suas características gerais .....	26
Figura 4 – Níveis dos marcadores cardíacos em relação ao tempo (em dias) após o IAM .....	27
Figura 5 – Estrutura esquemática do filamento fino de um sarcômero .....	29
Figura 6 – Estrutura esquemática do filamento fino .....	30
Figura 7– Esquemática com as três principais proteínas dos filamentos finos.....	31
Figura 8 – Linha do tempo dos biomarcadores para detecção de IAM .....	32
Figura 9 – Representação dos isótopos de carbono .....	36
Figura 10 – Nanoestruturas de alótropos de carbono .....	37
Figura 11 – Representação do grafeno .....	38
Figura 12 – Representação do nanotubo de carbono de parede simples .....	38
Figura 13 - Molécula de troponina T isolada .....	43
Figura 14 – Tamanho da molécula de troponina T - 73,24 Angstrom (Å).....	43
Figura 15 – Detalhe na medição da molécula de troponina T .....	44
Figura 16 – Detalhe na medição da molécula de troponina T .....	44
Figura 17 – Vista lateral do nanotubo de carbono com 170,02 Å.....	45
Figura 18 - Vista lateral, troponina T perpendicular ao nanotubo de carbono.....	45
Figura 19 - Vista frontal, troponina T perpendicular ao nanotubo de carbono.....	46
Figura 20 - Vista frontal, troponina T invertida e perpendicular ao nanotubo de carbono .....	46
Figura 21 - Vista lateral, troponina T invertida e perpendicular ao nanotubo de carbono .....	47
Figura 22 – Vista lateral, troponina T paralela ao nanotubo de carbono .....	47
Figura 23 – Vista frontal, troponina T paralela ao nanotubo de carbono.....	48
Figura 24 - Morfologia do nanotubos de carbono segundo a quiralidade.....	57
Figura 25 – Tipos de estruturas de acordo com a quiralidade .....	57
Figura 26 - Moléculas de troponina e 04CNT no tempo 0 ps .....	62
Figura 27 – Complexo tropo-04CNT após 100 ps de dinâmica molecular .....	63
Figura 28 – Evolução da dinâmica molecular do sistema tropo-04CNT .....	63

Figura 29 - <i>QR Code</i> para o vídeo do sistema tropo-04CNT .....	64
Figura 30 - Troponina perpendicular ao 26CNT .....	64
Figura 31 - Sistema tropo-26CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular .....	65
Figura 32 - Sistema tropo-26CNT nos 5 frames.....	65
Figura 33 - <i>QR Code</i> para o vídeo do sistema tropo-26CNT .....	66
Figura 34 - Sistema inicial com troponina T e 44CNT .....	66
Figura 35 – Sistema tropo-44CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular .....	67
Figura 36 - Sistema tropo-44CNT em 05 frames durante a dinâmica molecular.....	67
Figura 37 - <i>QR Code</i> para o vídeo sistema tropo-44CNT .....	68
Figura 38 - Sistema tropo-04CNT posicionada para início da dinâmica molecular a 323K.....	68
Figura 39 – Complexo tropo-04CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular .....	69
Figura 40 - Conformações do sistema tropo-04CNT a 323K no decorrer dos 100ps	69
Figura 41 - <i>QR Code</i> para vídeo do sistema tropo-04CNT a 323K.....	70
Figura 42 - Sistema com molécula de troponina e 26CNT no frame inicial da DM ...	70
Figura 43 - Sistema tropo-26CNT ao final da dinâmica molecular .....	71
Figura 44 - Sistema tropo-26CNT a 323K em 5 tempos durante a dinâmica molecular .....	71
Figura 45 - <i>QR Code</i> para o vídeo do sistema tropo-26CNT a 323K.....	72
Figura 46 – Complexo tropo-44CNT posicionado para início da dinâmica molecular .....	72
Figura 47 – Sistema com troponina e 44CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular a 323K .....	73
Figura 48 – 5 diferentes conformações do complexo tropo-44CNT a 323K após 100ps .....	73
Figura 49 – <i>QR Code</i> para vídeo complexo tropo-44CNT a 323K.....	74
Figura 50 – Troponina com menos concentração e posicionada paralelamente ao nanotubo 04NTC a 298K.....	78
Figura 51 - Troponina concentrada e envolvendo o nanotubo 26CNT perpendicularmente.....	78
Figura 52 - Troponina T posicionada diagonalmente em relação ao nanotubo 44CNT .....	79
Figura 53 - Gráfico de interações no sistema a 298K, não otimizado .....	80

Figura 54 - Gráfico de interações no sistema a 323K, não otimizado .....	81
Figura 55 - Gráfico de interações em sistema otimizado a 298K com 04CNT .....	81
Figura 56 - Gráfico de interações em sistema otimizado a 298K com 26CNT .....	82
Figura 57 - Gráfico de interações em sistema otimizado a 298K com 44CNT .....	83
Figura 58 - Comparação dos resultados obtidos.....	83
Figura 59 - Interação entre troponina T e nanotubo 04CNT, com sistema otimizado a 323K.....	84
Figura 60 - Interações em sistema otimizado a 323K com 26CNT .....	85
Figura 61 - Interações em sistema otimizado a 323K com 44CNTnanotubo <i>armchair</i> .....	85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Energia de cada estrutura .....	76
Tabela 2 - Energia de ligação.....	77

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>PROBLEMA DE PESQUISA</b>	<b>16</b>
2.1	HIPÓTESES	18
2.2	JUSTIFICATIVA	19
<b>3</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>20</b>
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
<b>4</b>	<b>REVISÃO TEÓRICA</b>	<b>22</b>
4.1	CONTRAÇÃO MUSCULAR	23
4.2	CAUSAS DE FALÊNCIA CARDÍACA	25
4.3	MARCADORES CARDÍACOS	26
4.4	COMPLEXO TROPONINA	28
4.5	TROPONINA T	31
4.6	NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA (N&N)	33
4.7	NANOTUBOS DE CARBONO	35
4.8	SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL	40
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>49</b>
5.1	MÉTODO DINÂMICA MOLECULAR	51
5.2	INTERAÇÕES MOLECULARES	53
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>56</b>
6.1	DINÂMICA MOLECULAR PARA 04CNT A 298K	62
6.2	DINÂMICA MOLECULAR PARA 26CNT A 298K	64
6.3	DINÂMICA MOLECULAR PARA 44CNT A 298K	66
6.4	DINÂMICA MOLECULAR PARA 04CNT A 323K	68

6.5	DINÂMICA MOLECULAR PARA 26CNT A 323K .....	70
6.6	DINÂMICA MOLECULAR PARA 44CNT A 323K .....	72
<b>7</b>	<b>ANÁLISE E DISCUSSÃO .....</b>	<b>75</b>
7.1	SISTEMAS OTIMIZADOS A 298K.....	76
7.2	SISTEMAS OTIMIZADOS A 323K.....	84
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>86</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Diversas instituições de pesquisa ao redor do mundo buscam meios, materiais e técnicas mais eficientes e rápidas na detecção de doenças com intuito de diagnosticar precocemente e aumentar as chances de cura de pacientes. Os biomarcadores podem ser células específicas, moléculas, genes, enzimas ou substâncias endócrinas “mensageiras” denominadas hormonas. Esses elementos são os responsáveis por indicar a possibilidade de surgimento ou a existência de doença. Estruturas produzidas com nanomateriais são capazes de sofrer alterações na presença destes biomarcadores, e tais alterações são indício de uma situação de alerta para doenças e infecções.

Com o desenvolvimento de biossensores cada vez mais eficientes e otimizados, a opção pela utilização desses dispositivos tende a ser cada vez mais difundida e disseminada de modo que a produção em larga escala viabilize a ampla aplicação.

## 2 PROBLEMA DE PESQUISA

O contexto mundial nos leva a repensar os cuidados com a saúde e a avaliar as condições de saneamento e cuidado. Métodos de detecção e tratamento tem influência direta nos resultados, quanto mais tardia, menos eficiente e complexa for a aferição dos indicadores da doença maiores são os números de insucesso. Eficiência e praticidade são fundamentais e podem ser promovidas por biossensores aliados a nanotecnologia. A simulação computacional facilita a obtenção de resultados de interações entre biomarcadores e nanomateriais. A análise dos resultados das simulações direciona o desenvolvimento de dispositivos com sensibilidade otimizada.

Nas últimas 02 (duas) décadas, as doenças cardíacas vêm se mantendo como a principal causa de morte em todo o mundo e estudos, com o publicado por Dhingra e Vasan (2017), confirmam as estatísticas. A respeito de doenças cardiovasculares (DCV), segundo publicação da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 10 de dezembro de 2020, a doença cardíaca permanece como a principal causa de morte em todo o mundo nos últimos 20 anos, no entanto, está matando mais pessoas do que nunca. O número de mortes por doenças cardíacas aumentou de 2 milhões desde o ano 2000 para quase 9 milhões de casos em 2019. Essa enfermidade representou 16% do total de mortes por todas as causas no mundo. Por outro lado, um dado interessante é que 53 países da região europeia da OMS apresentaram um declínio relativo a mortes por doença cardíaca, com diminuição de 15% no número de óbitos por esta causa, como consta no documento Estimativas Globais de Saúde de 2019 – OMS.

Portanto, visando eficiência na prevenção e tratamento de enfermidades provenientes de contágio ou de condições genéticas, a utilização de estruturas de nanomateriais tem se tornado alvo de pesquisas mundiais. De acordo com relatório realizado pelo site *Grand View Research*<sup>2</sup>, o mercado de nanotecnologia foi avaliado em 8,5 bilhões de dólares em 2019, há expectativa de crescimento anual de 13,1% entre os anos de 2020 e 2027, e a área da saúde teve a maior participação (29,1%) de mercado. A detecção rápida e correta colabora para o diagnóstico preciso e

---

<sup>2</sup> <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/nanotechnology-and-nanomaterials-market>

aumenta significativamente as chances de cura do paciente com doença cardiovascular. É importante destacar que há diversas doenças que são agrupadas como doenças cardiovasculares, esse grupo engloba as doenças do coração e dos vasos sanguíneos. Alguns tipos de doenças cardiovasculares (DCV) incluem a Doença Coronariana (doença dos vasos sanguíneos que irrigam o músculo cardíaco), a Doença Cerebrovascular (doença dos vasos sanguíneos que irrigam o cérebro), a Doença Arterial Periférica (doença dos vasos sanguíneos que irrigam os membros superiores e inferiores), a Doença Cardíaca Reumática (danos no músculo do coração e válvulas cardíacas devido à febre reumática, causada por bactérias estreptocócicas), a Cardiopatia Congênita (malformações na estrutura do coração existentes desde o momento do nascimento) e a Trombose Venosa Profunda e Embolia Pulmonar (coágulos sanguíneos nas veias das pernas, que podem se desalojar e se mover para o coração e pulmões).

Com foco nas doenças que se originam devido ao bloqueio de uma artéria coronária, seja por consequência de um coágulo sanguíneo ou pela formação de placa aterosclerótica na artéria coronária, temos o infarto do miocárdio crônico e o infarto agudo. Esses infartos acontecem devido ao bloqueio do fluxo sanguíneo, que interrompe o transporte de oxigênio e de nutrientes entre o coração e os vasos sanguíneos danificando as células do miocárdio situadas na superfície do coração.

Estudar métodos de otimizar a detecção com grande aplicabilidade para antecipação do início do tratamento de infarto agudo do miocárdio tem notável relevância pois é conhecida a alta taxa de mortalidade da doença. Estudos revelam que 30% dos pacientes vão a óbito, dos quais a metade dos casos ocorre nas primeiras duas horas do evento e 14% antes de receber atendimento. Por outro lado, os pacientes precocemente admitidos nos serviços de atendimento de emergência são os que mais se beneficiaram dos avanços terapêuticos das últimas décadas. (Pesaro; Serrano Jr.; Nicolau, 2004). Isto posto, especificamente o infarto agudo do miocárdio (em inglês *AMI, Acute Myocardial Infarction*) está fortemente ligado aos ataques cardíacos e paradas cardíacas, os quais, se não forem tratados com urgência, acumulam altos índices de letalidade. Na ânsia de diminuir os danos e mortes causadas pelo infarto agudo do miocárdio (IAM, sigla em português), é essencial e determinante, para o sucesso do tratamento, que o diagnóstico seja rápido

e assertivo. De acordo com departamentos de emergência, 60 minutos é o tempo para detecção de infarto agudo do miocárdio (IAM), no entanto para minimizar os danos aos órgãos, o tratamento deve ser realizado em até 30 minutos.

## 2.1 HIPÓTESES

O desenvolvimento de biossensores relaciona-se com nanoestruturas baseadas em carbono para analisar as alterações sofridas em caso de detecção de biomarcadores.

Para diagnosticar o infarto do miocárdio logo nas primeiras horas após início dos sintomas, um biomarcador promissor é a troponina cardíaca. O nível da enzima denominada PDIA1, da família das Proteínas Dissulfeto Isomerase (PDI), no plasma sanguíneo também pode indicar a predisposição para doenças cardiovasculares até mesmo em pessoas saudáveis. Nesse sentido, o uso de biomarcadores em exames para detecção precoce tem se mostrado eficiente. De acordo com a declaração de consenso entre especialistas no *Universal Definition of Myocardial Infarction (UDMI)*, tem-se a troponina cardíaca como um biomarcador eficiente e o infarto agudo do miocárdio como provocador de “elevação e/ou queda nos valores dos biomarcadores cardíacos (preferencialmente a Tn cardíaca) com, pelo menos, um valor acima do limite superior de referência (*URL*<sup>3</sup>) do 99º percentil”. Logo após a publicação deste documento, a antiga *National Academy of Clinical Biochemistry (NACB)* que atualmente é denominada *AACC Academy*<sup>4</sup>, esclareceu que essa elevação mencionada pelos especialistas responsáveis pelo *UDMI* é entendida como uma elevação de 20% em relação à linha de base no acompanhamento serial.

---

<sup>3</sup> URL, sigla em inglês para *Upper Reference Limit*

<sup>4</sup> A *National Academy of Clinical Biochemistry* é a *Academy of the American Association for Clinical Chemistry (AACC)*, instituição dedicada ao avanço da ciência e da prática da medicina laboratorial por meio de pesquisa, educação e desenvolvimento profissional.

## 2.2 JUSTIFICATIVA

A constante evolução de tecnologia proporciona melhora na qualidade de vida como um todo. O desenvolvimento de biossensores e o avanço nas pesquisas com nanomateriais propiciam diminuição do tempo de internação, administração assertiva de fármacos, amenizando os efeitos colaterais de tratamentos invasivos, mitiga o surgimento de efeitos colaterais e, conseqüentemente, sequelas oriundas da doença e/ou tratamento. O diagnóstico precoce e correto, de qualquer doença, viabilizando que as organizações públicas e privadas tenham menores gastos com tratamentos ineficazes. As enfermidades cardiovasculares de origem isquêmica continuam representando um enorme problema de saúde pública. A síndrome coronariana aguda, que apresenta elevada taxa de morbimortalidade, compreende a angina instável e o infarto agudo do miocárdio (IAM) (Berton; Palatini, 2003).

Pelo fato dos genes codificadores das troponinas I e T do músculo cardíaco e esquelético serem diferentes, em 2005 no artigo *Diagnosis of Acute Coronary Syndrome* (Achar; Kundu; Norcross, 2005), a Tn I e a Tn T foram descritas como “troponinas cardíacas” e “padrão-ouro” para a identificação de eventos isquêmicos do miocárdio. São os marcadores preferenciais para o diagnóstico de lesão miocárdica devido a sensibilidade e especificidade semelhantes conforme registrado em *Troponins in acute coronary syndromes*. (Scirica; Morrow, 2004)

### 3 OBJETIVO

Colaborar para a diminuição dos dados decorrentes da detecção tardia e não assertiva de doenças cardiovasculares. Contribuir para desenvolvimento de equipamentos mais eficientes e mais fáceis de serem utilizados. Dispositivos menores para que possam ser produzidos em larga escala, minimizando os custos, facilitando o transporte e a distribuição para colaborar com as equipes médicas no salvamento de pessoas.

Buscar interações otimizadas entre nanomaterial e biomarcador cardíaco com finalidade de assegurar um método eficiente na detecção de enfermidades, principalmente em estágio inicial, fazendo com que sejam significativamente aumentadas as chances de sucesso no tratamento. O interesse por biossensores associados a nanoestruturas deve-se ao fato destas estruturas apresentarem propriedades únicas como, por exemplo, capacidade de conduzir corrente elétrica com intensidade cerca de mil vezes superior ao cobre, resistência à tensão vinte vezes superior ao melhor aço, transmitir o dobro do calor do diamante puro, e apresentar estrutura estável até os 3000°C, entre outras. (Dresslhauss, 2001).

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente estudo tem como finalidade explorar, por meio de simulações computacionais, as associações entre nanomateriais e proteínas oriundas da ação danosa decorrente do infarto do miocárdio. Portanto, foi definido que a nanoestrutura utilizada nas simulações seria o nanotubo de carbono de parede simples com diferentes quiralidades, em associação à proteína cardíaca troponina T. De posse dos resultados das simulações, espera-se resultados que mostrem a tendência de atração devido às interações intermoleculares. A alteração das taxas de troponinas (Tn) no sangue pode ser identificada pela intensidade de interação com nanotubo, de tal sorte, que seja possível propor um biossensor que atenda as exigências para desenvolvimento de um dispositivo PoCT (*point-of-care test*) para realização de testes por profissionais de saúde fora de um ambiente de laboratório, e até mesmo possa

ser destinado ao autoteste auxiliando no autocuidado de pacientes com histórico de doenças cardíacas.

## 4 REVISÃO TEÓRICA

A realização de levantamento bibliográfico sobre os biomarcadores mais usados na detecção da doença infarto do miocárdio é baseada na literatura sobre o tema e em estudos de artigos relacionados, como o publicado por Miranda e Lima (2012).

Atualmente, para o procedimento de detecção de infarto agudo do miocárdio (IAM), a SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia orienta que sejam usados pelo menos dois marcadores; um precoce (mioglobina ou CK-MB) e um marcador tardio definitivo (CK-MB e as troponinas). Mesmo em ausência de elevação dos níveis da isoenzima MB da creatina quinase (CK-MB) encontrada principalmente no músculo cardíaco, é possível identificar alteração nos níveis de troponinas que podem indicar a ocorrência de pequenos (micro) infartos. Por isso as troponinas são conhecidas como biomarcadores “padrão-ouro”. De acordo com as DIRETRIZES de 2015, a SBC postulou que o marcador deve ser sensível, portanto, deve ter sua concentração aumentada no soro<sup>5</sup> logo após o início de uma lesão cardíaca e permanecer elevada após muitas horas, a fim de possibilitar sua aferição que deve ser de fácil e rápida execução laboratorial.

A eficiência dos testes convencionais de troponina esbarra na baixa sensibilidade, sendo ineficaz para o diagnóstico precoce de IAM. Tanto a Sociedade Europeia, a Sociedade Norte Americana quanto a Sociedade Brasileira de Cardiologia adotam a Definição Universal de Infarto do Miocárdio e, portanto, recomendam um nível de troponina acima do valor equivalente ao percentil 99 da população.

Nesse sentido vem sendo amplamente discutida a importância diagnóstica, a interpretação de sinais clínicos e testes de troponina com maior sensibilidade, uma vez que a troponina miocárdica também pode ser liberada em diversas outras ocasiões como: lesão miocárdica, miocardites, miosites, embolia pulmonar e insuficiência renal, dentre outras situações clínicas como apontado na I Diretriz de Dor Torácica na Sala de Emergência da Sociedade Brasileira de Cardiologia. O

---

<sup>5</sup> Soro é a porção do sangue sem fibrinogênio (proteína para coagulação). Plasma é a fração líquida do sangue composta principalmente por água (cerca de 90%) com proteínas, fibrinogênio, sais, lipídios, hormônios e vitaminas dissolvidas

desenvolvimento de simulações computacionais pode mostrar um caminho promissor para desenvolvimento de testes rápidos mais eficazes para serem utilizados em postos de atendimento. O uso de nanoestruturas é um meio promissor para aumentar a eficiência na detecção de pequena alteração das taxas de troponinas (Tn) focando em portabilidade, consumo de pequenas amostras de sangue, tempo reduzido para detecção e alta precisão são os objetivos maiores deste estudo.

Segundo dados da OMS, publicados em dezembro de 2020, as doenças cardíacas são a maior causa de mortes mundiais. Entre os anos 2000 e 2019 o número de mortes por doenças cardíacas aumentou em mais de 7 milhões, representando 16% do total de mortes, por toda e qualquer causa, no mundo.

Devido a importância do diagnóstico e tratamento em fase inicial, há diversas pesquisas sobre novos e mais eficientes biomarcadores. Estudo realizado por pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP), Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e do Instituto Butantan, Laurindo *et al.* (2019) relata que para a enzima denominada PDIA1:

“Nosso estudo mostrou que pessoas com baixo nível de PDIA1 no plasma têm um perfil de proteínas mais inflamatório, mais propenso a trombose. Por outro lado, indivíduos com plasma rico em PDIA1 têm mais proteínas do tipo que chamamos de *housekeeping*, relacionadas à adesão e à homeostase celular, ou seja, mais ligadas ao funcionamento normal do organismo”. (Laurindo *et al.*, 2019, p. 1)

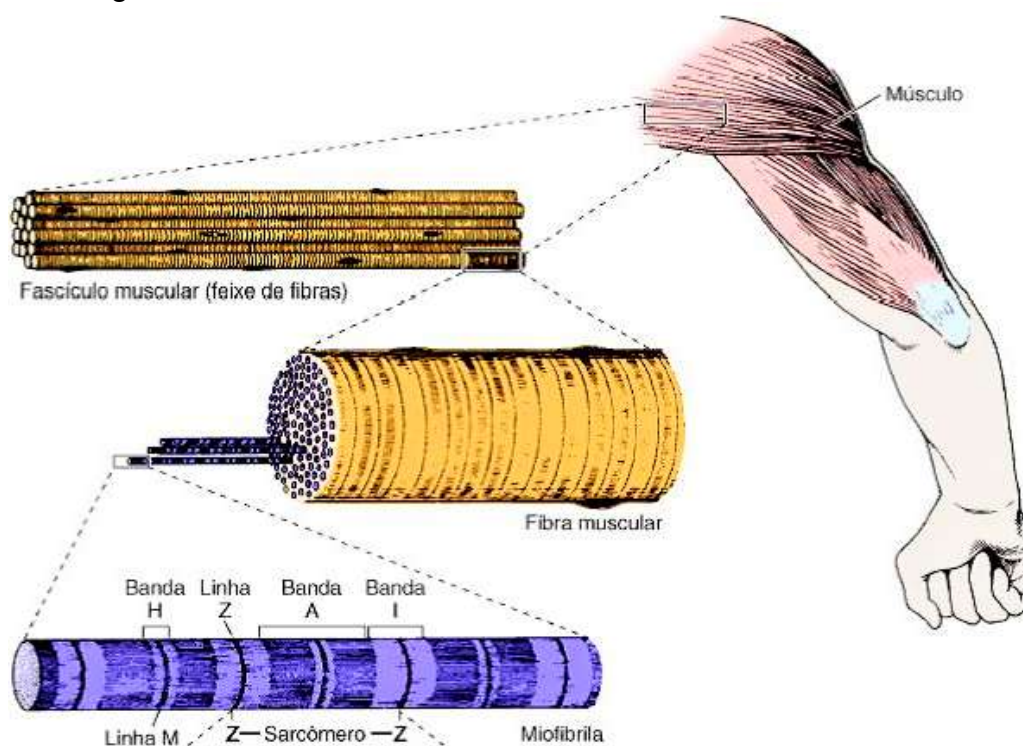
O que sugere um bom biomarcador para doenças cardiovasculares. Contudo, mais especificamente, devido a íntima e sensível relação de níveis de troponinas no sangue e os níveis de infarto agudo do miocárdio, as troponinas (Tn: TnI e TnT) são consideradas “*the gold standard*” sendo o padrão mais elevado para detecção desta doença.

#### 4.1 CONTRAÇÃO MUSCULAR

O tecido muscular é um dos quatro tecidos básicos que se caracteriza pela capacidade de se contrair utilizando a energia da hidrólise da adenosina trifosfato (ATP). Em uma breve síntese a respeito do funcionamento da contratilidade muscular,

é importante mencionar que fibrilas contráteis (actina e miosina), denominadas como miofibrilas, são constituídas por unidades que se repetem ao longo do comprimento da fibra muscular. Cada uma dessas unidades é denominada sarcômero que é constituída por um arranjo paralelo de filamentos finos e grossos. A distribuição dos filamentos de actina e miosina varia ao longo do sarcômero.

Figura 1 – Estrutura muscular com detalhamento do sarcômero

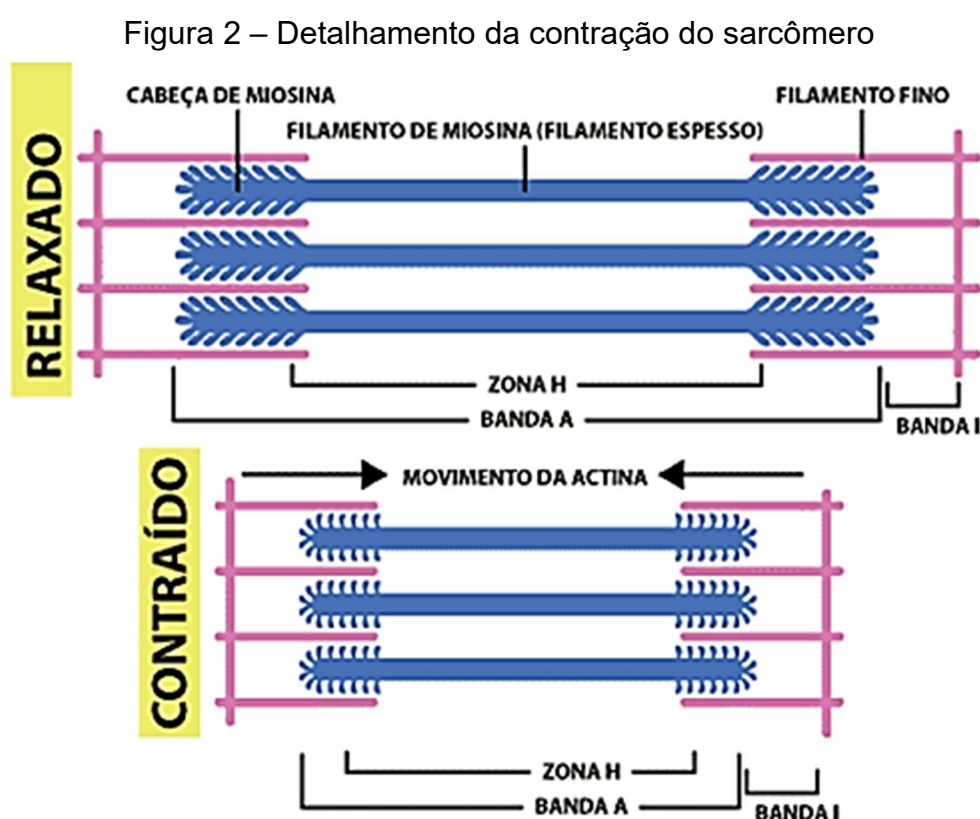


Fonte: Adaptado de Universidade Federal de Alfenas (2022)

Como ilustrado na imagem acima, observa-se a faixa chamada de Banda I aparece nas extremidades mais claras do sarcômero e contém apenas filamentos de actina. Nesta seção existe uma linha mais escura, denominada linha Z, que corresponde a várias uniões entre dois filamentos de actina. A Banda A, cujas extremidades são formadas por filamentos de actina e miosina sobrepostos, aparece na faixa central do sarcômero. Na região mediana dentro desta banda existe uma faixa (Banda H) que contém apenas miosina e está representada em uma cor mais clara. Compreendido pela união das bandas situadas entre duas linhas Z, apresenta-se cada sarcômero. É assim que se apresenta cada unidade contrátil da fibra muscular, que é

a menor porção da fibra muscular com capacidade de contração, relaxamento e distensão.

Em suma, o movimento de contração muscular ocorre devido ao deslizamento dos filamentos de actina sobre os filamentos de miosina, assim o sarcômero diminui devido à aproximação das duas linhas Z, e a zona H chega, praticamente, a desaparecer durante esse movimento.



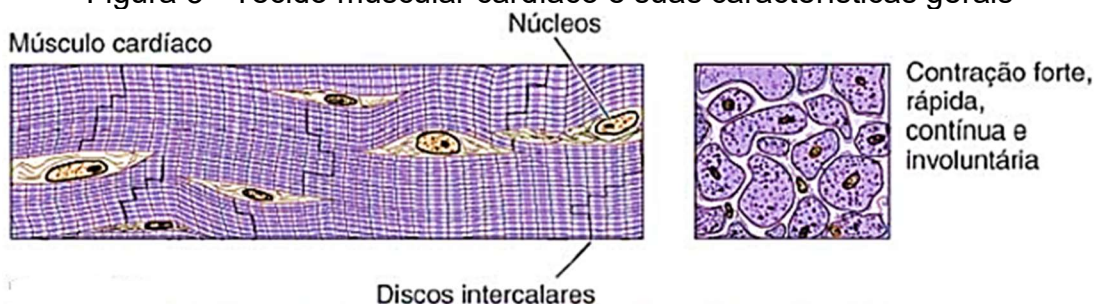
Fonte: Adaptado de Karp (1996)

#### 4.2 CAUSAS DE FALÊNCIA CARDÍACA

O infarto acontece na condição de hipoxia, ou seja, quando células ou a região de um tecido é afetada pela ausência momentânea ou definitiva de oxigenação, geralmente decorrente da obstrução de vasos sanguíneos. Há a possibilidade de mesmo que com fluxo sanguíneo normal aconteça o quadro de hipoxia. Essa condição pode levar a complicações graves que muitas vezes chegam a ser fatais. Quando a

falta de oxigenação ocorre no músculo cardíaco, temos o quadro denominado infarto do miocárdio.

Figura 3 - Tecido muscular cardíaco e suas características gerais



Fonte: Adaptado de Junqueira e Carneiro (2008).

Com ausência de oxigenação o músculo miocárdio deixa de funcionar corretamente. Essa situação, sem dilatar nem contrair a fim de manter o bombeamento sanguíneo suficiente para irrigar todos os órgãos e tecidos do corpo humano, ocasiona o óbito do paciente.

O infarto é, em grande parte dos casos, decorrente de poucos cuidados com a saúde, além de poder ser devido a predisposição genética.

O Infarto Agudo do Miocárdio (I.A.M) é considerado a “etapa final” de falência cardíaca, que também pode decorrer de diversas causas como: anemias, arritmias, dieta inadequada, fadiga física e mental, estresse, fatores ambientais, infecções, inflamações, gravidez, embolia, hipertensão, doença reumática e tireotoxicose.

#### 4.3 MARCADORES CARDÍACOS

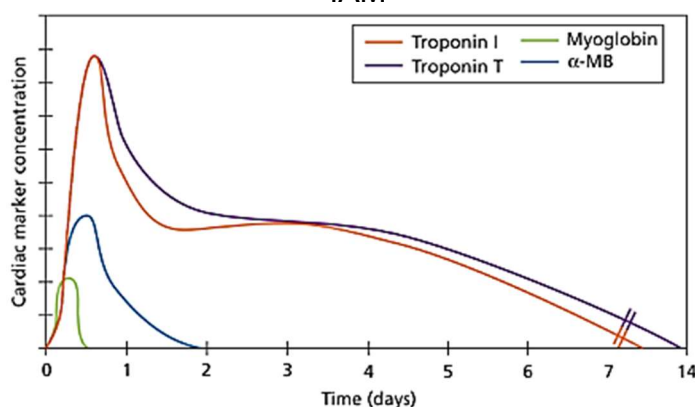
Para o correto diagnóstico, além da utilização de procedimentos para detecção de alteração nos níveis de biomarcadores, é necessária a realização de exames clínicos, como o eletrocardiograma (ECG).

Como as alterações bioquímicas podem decorrer de outros fatores, a prática clínica e o acompanhamento médico do paciente com doença cardíaca devem ocorrer para conclusões, diagnóstico e intervenção mais precisos. A utilização de marcadores bioquímicos auxilia, facilita e agiliza a detecção de infarto do miocárdio que é

decorrente de isquemia, ou seja, da redução ou bloqueio súbito do fluxo sanguíneo para o coração.

Troponina é marcador quantitativo, nesse sentido quanto maior o valor medido de troponina maior a probabilidade e gravidade do IAM. Troponina I e Troponina T são específicas do coração e são consideradas altamente sensíveis. Troponina I é mais aprimorada nas primeiras horas, enquanto a Troponina T se mantém mais elevada por mais tempo sendo melhor em diagnóstico mais tardio após o início das lesões.

Figura 4 – Níveis dos marcadores cardíacos em relação ao tempo (em dias) após o IAM



Fonte: Adaptado de Randall e Feather (2011)

Do ponto de vista prático não faria muita diferença a utilização das duas troponinas, porém a detecção de Troponina T tem mostrado resultados mais precisos. A troponina cardíaca T (TnT) faz parte de um complexo de três proteínas (I, C e T) envolvidas no processo de contração dos músculos esquelético e cardíaco. Quando há lesão cardíaca a TnT é liberada na corrente sanguínea, sendo considerada um ótimo biomarcador para auxílio na identificação de infarto agudo do miocárdio (IAM). Há muitas proteínas liberadas na circulação pelo sistema cardíaco, como a mioglobina, BNP, TnC (ligação ao cálcio), TnI (bloqueio da interação actina-miosina) e TnT (ligação à tropomiosina).

#### 4.4 COMPLEXO TROPONINA

Em músculos vertebrados esqueléticos e cardíacos, a proteína de ligação  $\text{Ca}^{2+}$  com troponina C (TnC) é uma subunidade do complexo ternário de troponina que, através de sua associação com actina e tropomiosina<sup>6</sup> no filamento fino, inibe a interação da actomiosina nas concentrações submicromolares de  $\text{Ca}^{2+}$  e estimula a interação nas concentrações micromolares de  $\text{Ca}^{2+}$ . As troponinas formam um complexo que regula a interação cálcio-dependente da miosina com a actina. Como a TnC não interage diretamente com a actina ou tropomiosina, o sinal de ligação  $\text{Ca}^{2+}$  deve ser transmitido ao filamento fino através das outras duas subunidades de troponina: Troponina I (TnI), a subunidade inibitória, e Troponina T (TnT), a subunidade que se liga à tropomiosina. Assim, o complexo de troponina é um dispositivo molecular sensível a  $\text{Ca}^{2+}$  e suas estruturas e as interações entre seus componentes têm sido de grande interesse por muitos anos. Embora a estrutura cristalina de TnC seja conhecida há quase uma década, as estruturas moleculares de TnI e TnT não eram conhecidas e, portanto, modelos da organização do complexo de troponina e as mudanças induzidas por  $\text{Ca}^{2+}$  em sua estrutura foram divulgadas há pouco tempo e motivam muito estudos.

Como definido na publicação *Troponin I: inhibitor or facilitator. molecular and cellular biochemistry* (Perry, 1999), sabe-se que o complexo de troponina é composto por três subunidades proteicas com funções específicas: troponina T (TnT), troponina C (TnC) e troponina I (TnI).

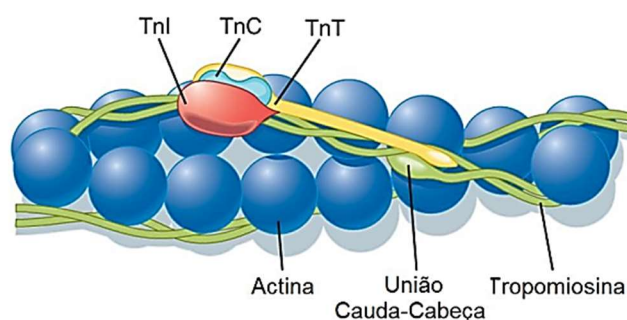
A troponina T (TnT) é a subunidade ligante à tropomiosina. A troponina C tem grande afinidade pelo íon  $\text{Ca}^{2+}$ . A troponina I se liga a actina, provocando a inibição do sítio ativo de interação com a miosina, segundo descrito em *A common motif of two adjacent phosphoserines in bovine, rabbit and human cardiac troponin I* (Mittmann; Jaquet; Heilmeyer, 1990). A ligação do  $\text{Ca}^{2+}$  na TnC aumenta a interação entre TnC e TnI (causa alteração conformacional nas proteínas troponina e tropomiosina), enfraquecendo a ligação da TnI nos filamentos de actina e aumentando o movimento

---

<sup>6</sup> Tropomiosina é uma proteína alongada filamentosa composta por duas cadeias peptídicas helicoidais, que se estende sobre sete moléculas de actina

da tropomiosina sobre a superfície da actina. Esse movimento acaba expondo o local de ligação da miosina<sup>7</sup> nos filamentos da actina que estava previamente ocupado pela tropomiosina, aumentando a probabilidade da ligação da miosina nestes filamentos da actina, o que leva a contração muscular conforme descrito em *Regulation of Contraction in Striated Muscle* (Gordon; Homsher; Regnier, 2000).

Figura 5 – Estrutura esquemática do filamento fino de um sarcômero



Fonte: Adaptado de Koeppen e Stanton (2009).

Como ilustrado na figura 5, o filamento fino é formado pelas duas cadeias fibrilares de actina entrelaçadas por duas moléculas de tropomiosina, que no estado de repouso ocupam o sulco do filamento de actina, e por três moléculas de troponina; troponina I (TnI), troponina C (TnC) e troponina T (TnT).

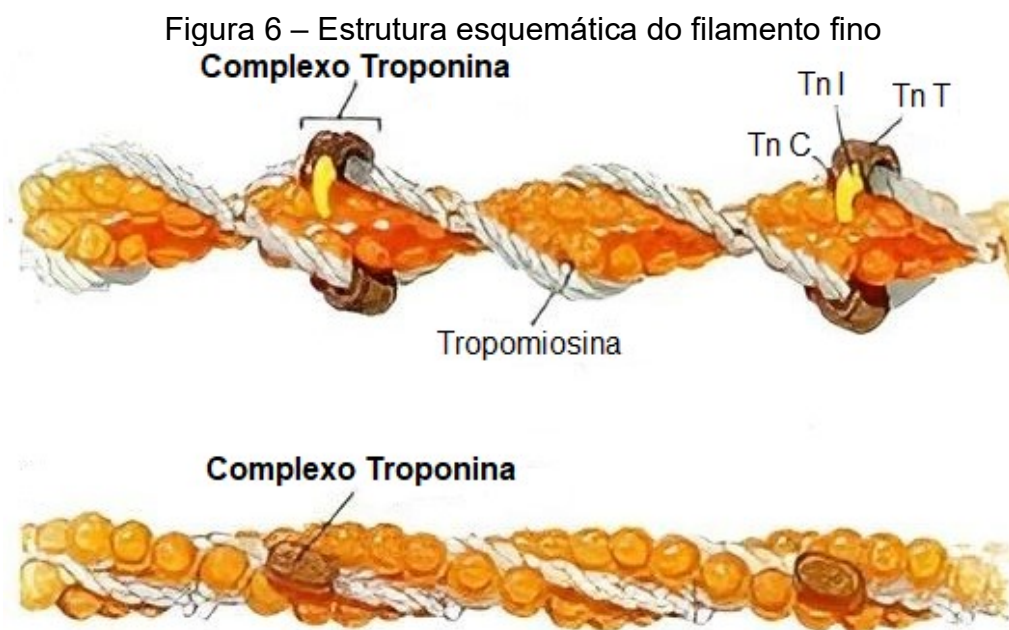
Nos movimentos de contração muscular, de acordo com Gordon, Homsher e Regnier (2000) e Tobacman (1996), para converter o sinal celular do transiente citosólico  $Ca^{2+}$  originado da atividade elétrica da sarcolema (membrana celular) para movimentos do miofilamento<sup>8</sup> durante cada ciclo de excitação-contração-relaxamento, a troponina funciona através de interações cooperativas entre as três subunidades e com a tropomiosina. Enquanto a TnC é um parente da família do gene da calmodulina (Swanljung-Collins; Collins, 1991) e funciona como o receptor  $Ca^{2+}$  do sistema regulador do filamento fino no músculo estriado, a TnI e a TnT são proteínas específicas do músculo estriado codificadas por genes intimamente ligados e se

<sup>7</sup> Miosina é uma molécula grande em forma de bastão formada por dois peptídeos enrolados em hélice

<sup>8</sup> O tecido muscular é constituído por células alongadas, em forma de fibras, que se dispõem agrupadas em feixes, tais células tem a função de contração e distensão das fibras musculares. Miofilamentos finos (actina, tropomiosina e troponina) e miofilamentos grossos (miosina).

desenvolveram em três pares de isoformas<sup>9</sup> específicas do tipo fibra (Chong; Jin, 2009; Jin *et al.*, 2008).

Além de ancorar o complexo de troponina ao filamento fino, a TnT interage diretamente com múltiplas proteínas no sistema regulador do filamento fino para desempenhar um papel organizador no complexo de troponina (Perry, 1999).



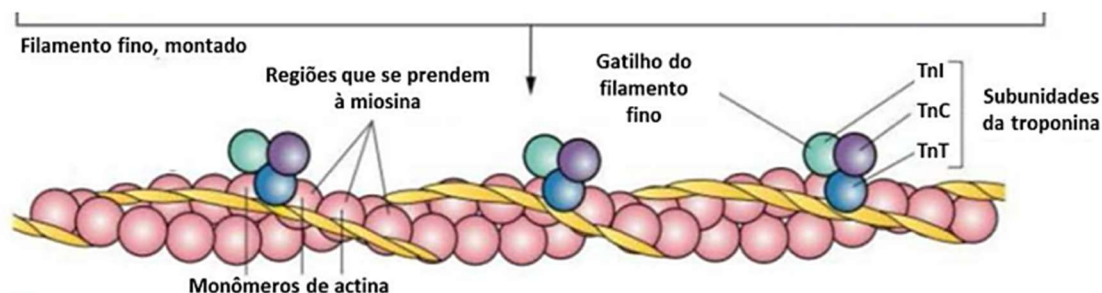
Fonte: Adaptado de Koeppen e Stanton (2009).

Na figura acima está representado um filamento fino e sua mudança de conformação durante a contração muscular. Os filamentos de actina, representados na figura 6 por esferas na cor laranja, formam a estrutura básica dos filamentos finos, são polímeros de moléculas globulares que se enrolam em formato de hélice. (Rawn, 1989).

---

<sup>9</sup> Isoformas são estruturas quase idênticas, produzidas pelo mesmo gene

Figura 7– Esquemática com as três principais proteínas dos filamentos finos



Fonte: Adaptado de Junqueira e Carneiro (2013).

#### 4.5 TROPONINA T

A Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2004 e 2005, considerava ao menos 03 (três) critérios para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (IAM), sendo:

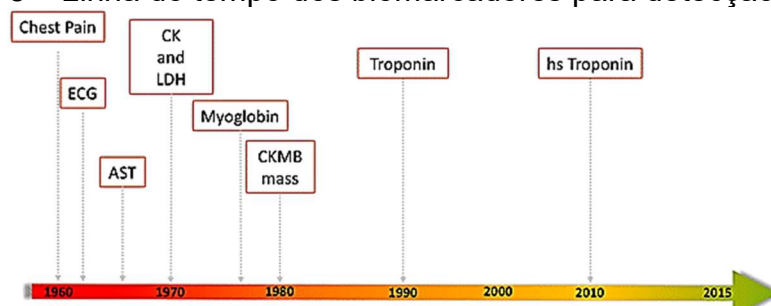
- dor torácica de características isquêmicas,
- alterações eletrocardiográficas sugestivas e
- aumento sérico da atividade catalítica da CK e da CK-MB.

Com o passar do tempo e a evolução nos estudos, constatou-se que mesmo em situação de infarto, muitos pacientes não apresentavam os três critérios conforme orientação da OMS, no entanto foram diagnosticados sintomas até então não característicos de isquemia do músculo cardíaco. Logo, esses critérios vêm se mostrando ineficientes para avaliação e diagnóstico, sendo indispensável que seja realizado o eletrocardiograma (ECG) com maior aprofundamento e atenção a outros indicativos para diagnóstico possibilitando que o tratamento seja mais eficaz. Cerca de 30% de pacientes com IAM apresentam traçados não característicos no ECG, de difícil interpretação, dificultando o diagnóstico (Antman, 2002).

A imagem abaixo deixa claro a continuidade e o progresso nas pesquisas para otimizar a detecção de infarto agudo do miocárdio. Ao longo da linha do tempo do

desenvolvimento observa-se o surgimento de biomarcadores cardíacos<sup>10</sup> - (Garg *et al.*, 2017)

Figura 8 – Linha do tempo dos biomarcadores para detecção de IAM



Fonte: Adaptado de Garg *et al.* (2017)

A enzima aspartato transaminase (AST) tornou-se o primeiro biomarcador usado no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio, foi amplamente utilizada na década de 1960 sendo incorporada à definição de IAM da Organização Mundial da Saúde. Porém, a AST não é específica para o músculo cardíaco e danos cardíacos. Pouco tempo depois, em 1965, uma nova proteína constituinte do aparelho miofibrilar cardíaco, foi descoberta e, muitos anos mais tarde, passou a ser conhecida como troponina. Somente na década de 1990, com o desenvolvimento de um radioimunoensaio sensível e confiável, passou a ser possível detectar a troponina sérica como biomarcador de injúrias cardíacas.

Seguindo o postulado no estudo *Cardiac markers: present and future* (Plebani; Zaninotto, 1999) a detecção de troponina permite reconhecer necrose miocárdica mesmo em pequenas proporções bem como detectar pequenos infartos do miocárdio até mesmo em pacientes que não apresentam o sintoma da dor no peito causada pela diminuição do fluxo de sangue no coração, denominada angina. Quadros de injúrias coronarianas não seriam reconhecidos se fossem utilizados métodos de detecção de outros marcadores.

No intuito de otimizar a detecção do infarto e facilitar o diagnóstico médico, novos marcadores, em especial as troponinas cardíacas, permitem cobrir uma parte importante das necessidades clínicas tanto na avaliação diagnóstica (Herkner; Waldenhofer; Laggner, 2001) e na estratificação do risco, como na orientação quanto

<sup>10</sup> Aspartato aminotransferase (AST), Creatinina Fosfoquinase (CK), Lactato desidrogenase (LDH), Creatina Fosfoquinase fração MB (CK-MB), Troponina hipersensível (hs Troponin)

ao procedimento em caso de síndrome coronariana aguda (SCA), uma vez que quando não há necrose miocárdica aguda ou subaguda, as concentrações das troponinas cardíacas no plasma são indetectáveis.

No artigo *Troponin*, (Stark; Kerndt; Sharma, 2022) os pesquisadores descreveram que, mesmo em indivíduos saudáveis, pela movimentação normal dos miócitos cardíacos há uma quantidade basal de troponina na circulação. Normalmente, dentro de 2 a 3 horas após o início da dor torácica, começa a elevação dos níveis de troponina, podendo atingir um pico, geralmente entre 12 e 48 horas. E entre 4 e 10 dias os níveis voltam a cair para a concentração normal. A elevação e a queda nos níveis de concentração da troponina são fatores importantes utilizados para distinguir o infarto do miocárdio de outras possíveis causas da variação das taxas.

Mais especificamente, pesquisadores concordam que em relação com a cinética de liberação, os níveis séricos<sup>11</sup> das TnT e TnI podem ser mensurados após 2 a 4 horas do início dos sintomas clínicos do infarto e continuam elevados por cerca de 4 a 7 dias para a TnI, e 10 a 14 dias para a TnT. (Herkner *et al.*, 2001; Sarko; Pollack, 2002).

#### 4.6 NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA (N&N)

No livro *Nanotechnology: A Gentle Introduction to the Next Big Idea*, (Ratner, 2002), o autor definiu nanociência e nanotecnologia com a seguinte frase:

“A nanociência é, em sua forma mais simples, o estudo dos princípios fundamentais das moléculas e estruturas com pelo menos uma dimensão, aproximadamente entre 1 e 100 nanômetros. Estas estruturas são conhecidas, talvez de forma pouco criativa, como nanoestruturas. Nanotecnologia é a aplicação dessas nanoestruturas em dispositivos úteis de nanoescala. Essa não é uma explicação muito atraente ou que satisfaz a definição, e certamente não é uma definição capaz de explicar o frenesi. Para explicar isso, é importante entender que a nanoescala não é apenas pequena, é um tipo especialmente pequeno.” (Ratner, 2002, p. 11)

Em outros termos, pode-se definir a nanociência como sendo o estudo das propriedades de materiais e arranjos em nano escala, e a nanotecnologia como

---

<sup>11</sup> Nível sérico é um termo para referir a quantidade de uma determinada substância no sangue.

desenvolvimento de dispositivos em escalas especial e extremamente pequenas para aplicações diversas. Após décadas de estudos, tem-se que os nanotubos de carbono (NTC) tradução do inglês *carbon nanotube (CNT)*, são estruturas tubulares formadas por alótropos do carbono com proporções nanométricas. A saber que 1 (um) nanômetro corresponde à bilionésima parte de 1 (um) metro, ou seja,  $1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$ .

É importante ressaltar que as ideias que suportam a nanotecnologia e a nanociência têm registros datados décadas antes dos anos 2000. No ano 1959, o físico norte-americano Richard Phillips Feynman, durante uma palestra intitulada “Há muito espaço lá embaixo”, sugeriu ações como “manipular e controlar coisas em escala atômica”, “arranjar os átomos um por um da forma que desejamos” (Feynman, 1959 *apud* Schulz, 2018), que são procedimentos executados atualmente no desenvolvimento da nanotecnologia. Porém, somente em 1987, os termos nanomateriais, nanociência e nanotecnologia, foram agregados à base de dados do *Information Sciences Institute (ISI)*, Instituto de Informações Científicas da Universidade do Sul da Califórnia (USC). Naquele mesmo ano, um estudo intitulado *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology* (Drexler, 1986) foi publicado e passou a ser referenciado como sendo o primeiro a fazer menção ao termo *nano* e, nos anos seguintes, o estudo *[n]Staffanes: a molecular-size "Tinkertoy" construction set for nanotechnology. Preparation of end-functionalized telomers and a polymer of [1.1.1]propellane* (Kaszynski; Michl, 1988) e o estudo *Nanotechnology – wherein molecular computers control tiny circulatory submarines* (Dewdney, 1988) foram publicados dando início ao crescente número de publicações tratando do tema.

A evolução da nanociência e da nanotecnologia abre espaço para compreensão de fenômenos naturais, físicos e químicos ao mesmo tempo que possibilita uma infinidade de aplicações em praticamente todos os ramos de atividade existentes hoje em dia e potencializa atividades num futuro próximo. Setores de bens de consumo, agricultura, meio ambiente, energia, construção civil, saúde e medicina, manufatura, transporte, eletrônica, tecnologia da informação, indústria de cosméticos, têxteis, comunicação e lazer estão sendo e serão continuamente beneficiados pelo avanço de estudos destes temas.

Pesquisas com biossensores e nanomateriais são mundialmente desenvolvidas e levam em consideração diferentes critérios de avaliação: alteração de propriedades eletrônicas, atração química, mudanças de corrente elétrica e intensidade da detecção de luz são algumas das propriedades analisadas. A aplicação da nanotecnologia na saúde tem potencial de criar métodos portáteis, baratos, rápidos sem necessidade de procedimentos laboratoriais. A associação de óxido de grafeno com biomarcadores para disfunção renal utilizado amostras de urina, detecção de doenças causadas por vírus (Covid-19), detecção de doenças infecciosas (Zica), doenças como hanseníase, mutações genéticas, doenças complexa e multifatorial (câncer) são alguns exemplos de estudos que vêm sendo desenvolvidos nesta área. Ratificando a potencialidade de nanoestruturas na aplicação de biossensores, é importante citar que a utilização de nanomateriais é capaz de promover o aumento da transferência de elétrons e diminuição do potencial de trabalho do sensor, podendo consequentemente contribuir para a estabilidade do elemento biológico, que os tornam potencialmente úteis para aplicação em sensores eletroquímicos (Jubete *et al.*, 2009). Nessa linha, diversos estudos têm sido desenvolvidos empregando o uso de nanomateriais para aumentar a área eletroativa e, consequentemente, a sensibilidade destes dispositivos detectores. E diversos tipos de nanomateriais, incluindo nanopartículas metálicas, nanotubos de carbono e micropartículas poliméricas estão sendo utilizadas em estudos (Liu; Lin, 2007).

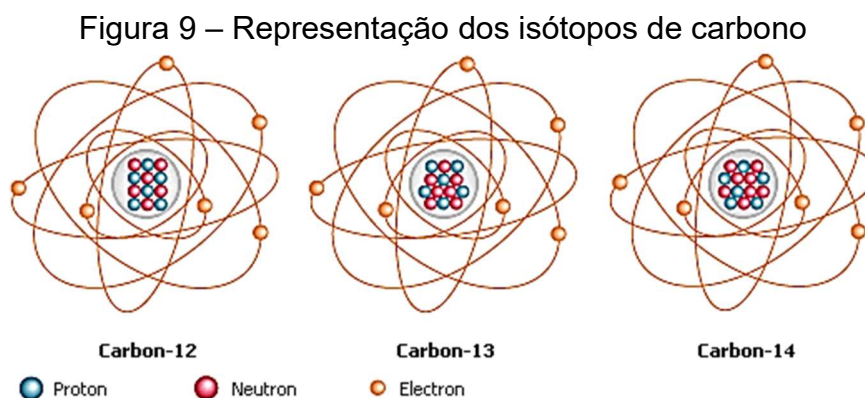
#### 4.7 NANOTUBOS DE CARBONO

Muito embora o carbono e o diamante estejam presentes nos mais antigos escritos da humanidade, tendo, o primeiro, sido citado na Bíblia no ano 1000 a. C., em Provérbios 26:21: “Como o carvão é para o borralho, e a lenha para o fogo, assim é o homem contencioso para acender rixas.”; e o segundo, sendo citado nas escrituras do Vedas, que são um compilado de dados, ensinamentos e argumentos filosóficos escritos ao longo de milhares de anos por várias pessoas de origem hindu.

O carbono, como elemento químico, só veio a ser reconhecido, depois de muitos anos, aos poucos e pelo trabalho de muitos pesquisadores. No ano de 1789,

Antoine Lavoisier publicou o livro *Elements of Chemistry*, quando denominou o elemento, do latim *carbo* que significa carvão, e no mesmo ano, o geólogo Abraham Gottlob Werner (1750-1817) e o mineralogista Dietrich Ludwig Gustav Karsten (1749-1817) propuseram o nome grafite, da palavra grega 'escrever', para uma das formas alotrópicas<sup>12</sup> do carbono. Na temperatura ambiente, o carbono é encontrado no estado sólido, possui ponto de fusão a 6.422 graus Fahrenheit (3.550°C) e ponto de ebulição em 6.872 F (3.800°C).

Os isótopos, que são átomos de um mesmo elemento químico, possuem o mesmo número de prótons e, geralmente, apresentam as mesmas propriedades químicas devido ao mesmo número atômico (a solubilidade é um exemplo), mas por terem número de massa e de nêutrons distintos, apresentam diferentes propriedades físicas devido a diferença em suas massas (a densidade é um exemplo). O carbono tem 15 isótopos, sendo que os mais conhecidos são o carbono-12 que possui 6 prótons, 6 nêutrons e 6 elétrons, o carbono-13 que possui 6 prótons, 7 nêutrons e 6 elétrons e o carbono-14 que possui 6 prótons, 8 nêutrons e 6 elétrons.



Fonte: Adaptado de Salazar-García e Silva-Pinto (2017).

Sabe-se que os isótopos de carbono que ocorrem naturalmente são: o carbono-12 constituindo quase 98,89% do carbono existente no mundo; o carbono-13 representando entre 1,01% e 1,11%; e, por fim, o carbono-14, que é radioativo e corresponde a uma quantidade ínfima (de 0,01% a 0,1%), porém tem grande

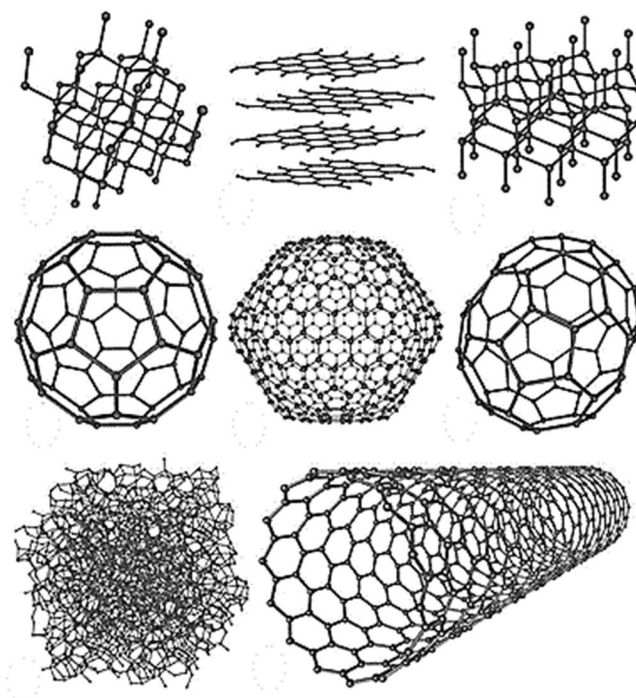
---

<sup>12</sup> Alotropia é a propriedade química que permite a formação de uma ou mais substâncias simples diferentes a partir de um mesmo elemento químico.

importância, principalmente, em processo de datação de objetos orgânicos e artefatos geológicos.

A relevância da formação estrutural de cada material está registrada no livro Fundamentos da Moderna Engenharia e Ciência dos Materiais na frase “As propriedades de um dado material são determinadas por sua estrutura”. (Newell, 2010). Atualmente, dentre todos os elementos químicos conhecidos, somente quatro (carbono, oxigênio, enxofre e fósforo) tem capacidade de dar origem a substâncias simples com arranjos geométricos diferentes. O fenômeno de gerar diferentes variedades estruturais formadas pelo mesmo elemento químico é denominado alotropia. O carbono apresenta, ao menos, sete alótropos, sendo que a grafite e o diamante são os mais populares. Existem os fulerenos e os nanotubos, que são materiais sintéticos feitos exclusivamente com átomos de carbono.

Figura 10 – Nanoestruturas de alótropos de carbono

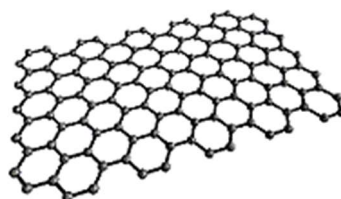


Fonte: Adaptado de Nicolet CZ (2021)

A figura 10 apresenta algumas das estruturas alótropas do carbono atualmente conhecidas que têm a estrutura cristalina bem definida. Porém, há outras estruturas de carbono que possuem baixo grau de cristalinidade, e, portanto, são amorfas.

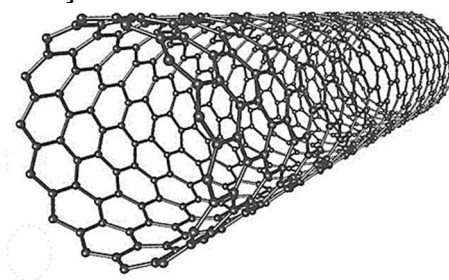
Composto inteiramente de átomos de carbono com hibridização<sup>13</sup>  $sp^2$ , como ocorre na grafite, os integrantes da família de alótropos denominados nanotubos de carbono, são formados a partir da ligação de uma ou mais folhas de grafeno enroladas de forma concêntrica originando nanoestruturas tubulares, cujos comprimentos variam de alguns micrômetros a centímetros.

Figura 11 – Representação do grafeno



Fonte: Adaptado de Valim (2021)

Figura 12 – Representação do nanotubo de carbono de parede simples



Fonte: Adaptado de Valim (2021)

Dentre a gama de materiais desenvolvidos e aprimorados pela nanociência, os nanomateriais de carbono são, sem dúvida, uma das descobertas mais fascinantes. Trata-se de novas estruturas baseadas em um dos elementos químicos mais versáteis encontrados na natureza, presente em compostos orgânicos naturais (minerais e proteínas, por exemplo), compostos sintéticos como tecidos, plásticos e fármacos, presente na atmosfera terrestre fazendo parte de ciclos vitais, como da fotossíntese e da respiração celular. Ou seja, é o elemento responsável pela maioria dos compostos

---

<sup>13</sup> Hibridização é um fenômeno que ocorre quando orbitais atômicos incompletos, de um determinado elemento químico, unem-se permitindo mais ligações covalentes por átomo.

existentes e está presente nos principais ciclos biológicos. O carbono é o elemento não metálico que é a base da química orgânica.

Desde o final da década de 50 há registros de estruturas que, somente anos mais tarde, passaram a ser conhecidas como nanotubos de carbono. Já no ano de 1952, no artigo russo *About the structure of carbono formed by termal decomposition of carbon monoxide on iron substrate* (Radushkevich; lukyanovich, 1952) foram feitas menções às estruturas de carbono. E no ano de 1976, no artigo *Filamentous growth of carbon through benzene decomposition* de origem japonesa (Oberlin; Endo; Koyama, 1976) também foram mencionadas as nanoestruturas. Porém, somente em 1991, por Sumio Iijima, foram sistematicamente descritas as principais propriedades dos nanotubos de carbono. A descrição do material feita por Iijima é considerada de extrema importância, pois foi acompanhada de um estudo estrutural completo que até então não havia sido apresentado.

Essas estruturas formadas por átomos de carbono tem a espessura de apenas um átomo e são invisíveis até em microscópios ópticos. Os nanotubos, a princípio, são subdivididos em nanotubos de carbono de paredes simples (*Single Walled Carbon Nanotubes*, sigla em inglês *SWCNTs*) nos quais a estrutura é formada por uma única folha de grafeno; e os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (*Multi Walled Carbon Nanotubes*, sigla em inglês *MWCNTs*) que são estruturas compostas folhas de grafeno concêntricamente enroladas e separadas umas das outras por uma distância muito parecida com aquela observada entre as folhas de grafeno no grafite (aproximadamente 3,4 Angstrom (Å)).

Geralmente as propriedades de um mesmo material em escala macroscópica e em escala nanométrica podem ser muito diferentes. Os nanotubos de carbono são extremamente resistentes à tração, podendo ter diversas aplicações na indústria de construção civil, aeronáutica, bélica, espacial, inclusive vestuário estando mais próxima do alcance da população em geral. Por apresentarem ótimas propriedades de condução térmica, têm aplicação tanto na indústria eletrônica como em processos de transmissão de energia, sistemas de energia solar e fotovoltaicos. Em outra linha, devido ao fato de serem estruturas extremamente reduzidas em tamanho e peso, os NTC possuem imensurável potencial de utilização na medicina, podendo ter acesso

ao interior de células e serem utilizados como biossensores para diagnósticos e tratamentos médicos.

Segundo Askeland e Wright (2015), no livro *Ciência e Engenharia dos Materiais*, mesmo que a composição do material não seja alterada, uma pequena alteração na sua estrutura influencia muitas de suas propriedades.

Na publicação do artigo *Interactions of lead with carboxyl and hydroxyl-decorated(10, 0) single-walled carbon nanotubes: First-principle calculations*, (Bastos; Camps, 2013) foi ratificado a grande estabilidade das ligações C-C e a capacidade não reativa dos nanotubos de carbono. Logo, por esses motivos, para que seja possível obter melhor interação dos NTCs com outra superfície faz-se uso da funcionalização. Tal processo consiste, basicamente, na inserção de grupos funcionais nas paredes e extremidades do material

Como, descrito no artigo *Functionalized Carbon Nanotubes: Properties and Applications* (Sun *et al.*, 2002) a funcionalização é a modificação química e solubilização de nanotubos de carbono e representa uma área emergente na pesquisa de materiais baseados em nanotubos.

A funcionalização de um material consiste na inserção química ou térmica de elementos externos aos átomos do material (Yun *et al.*, 2007).

No livro *Carbon Nanotubes - Properties and Applications* (O'Connell, 2006) o pesquisador Michael J. O'Connell descreve que a funcionalização ocorre em locais com defeito ao longo das paredes laterais e extremidades dos tubos, que também são facilmente oxidados para formar tubos abertos. A adição de grupos funcionais tais como flúor, carboxilatos e vários grupos orgânicos permitiu melhorar a solubilidade dos nanotubos de parede simples em diferentes solventes e a processabilidade em materiais compostos. A funcionalização covalente pode distorcer ou até mesmo destruir as propriedades únicas, de modo que a funcionalização também foi utilizada.

#### 4.8 SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

Já há alguns anos, após a Segunda Guerra Mundial, a simulação computacional tornou-se uma ótima ferramenta com aplicação científica para estudos

em física nuclear e desde então vem se mostrando indispensável e com extensa utilização em astrofísica, física das partículas ciência dos materiais, engenharia, mecânica dos fluidos, ciência climática, meteorologia, biologia evolutiva, ecologia, economia, teoria da decisão, medicina, sociologia, epidemiologia, e em muitas outras áreas de pesquisa e desenvolvimento de tecnologias. A pesquisa brasileira promove e contribui para o avanço de estudos, inclusive em parceria com diversas universidades e centros de pesquisas internacionais. Vale citar, as relevantes publicações de estudos avançados de Mahir Saleh Hussein (1945-2019) e Ihosvany Camps Rodriguez, físicos, professores e pesquisadores entusiastas que colaboraram e continuam desenvolvendo a ciência utilizando simulação computacional.

Eric Winsberg, por meio de documento publicado em 2003 na revista *Philosophy of Science* da Universidade de Cambridge, registou que:

“Muitos sistemas complexos nas ciências físicas são estudados desenvolvendo modelos de sua física fundamental em um computador e usando métodos computacionalmente intensivos para aprender sobre o comportamento desses sistemas. Estes métodos são chamados de "simulações" ou "experimentos numéricos"; nomes que evocam fortemente a metáfora da experimentação. Ao mesmo tempo, os modelos matemáticos que impulsionam estes tipos de simulações são motivados pela teoria.” (Winsberg, 2003, p. 105)

Esta ferramenta permite que sejam realizadas diversas análises, de forma antecipada à realização do próprio procedimento fisicamente, prevenindo impactos ambientais, riscos de acidentes de trabalho e ou retrabalhos em alterações que, recorrentemente, demandam altos investimentos.

O uso de simulação computacional torna mais viável a realização de experimentos garantindo a minimização de riscos, custos e tempo. As experimentações tradicionais - sem uso de computação - muitas vezes, são circundadas de riscos e variáveis complexas, de difícil controle que poderiam inviabilizar o procedimento empírico.

E isto é possível através da utilização de *softwares* que processam modelos matemáticos capazes de imitar um processo ou um sistema do mundo real fazendo mais facilmente a implementação de alterações de variáveis a serem analisadas inclusive com ganho de produtividade nos processos simulados. Dependendo da finalidade de cada estudo, determina-se o programa computacional mais apropriado, ao mesmo tempo em que há possibilidade de alternância entre diversos *softwares*

com a mesma finalidade, até que se chegue ao resultado com mais dados e informações relevantes para que a equipe de pesquisadores possa realizar comparações e estudos com finalidade de refinar e interpretar os dados obtidos.

Esta é mais ou menos a definição de estudos sobre simulação computacional feita por Eric Winsberg, *Simulated Experiments: Methodology for a Virtual World*, na qual definiu:

“De fato, há duas características verdadeiras das simulações que eu argumento que as distinguem significativamente do mero cálculo da força bruta, de maneiras que as conectam à prática experimental de uma forma interessante:

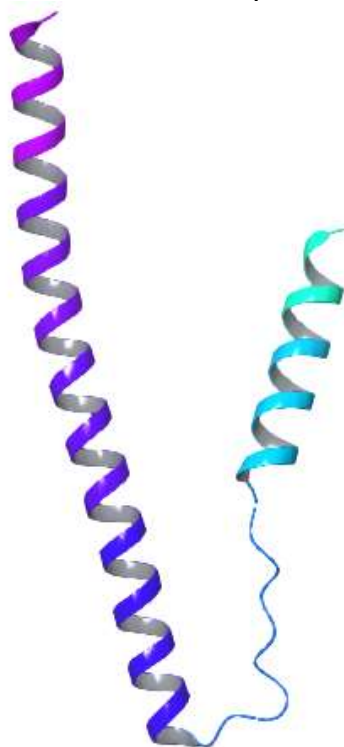
Estudos de simulação bem sucedidos fazem mais do que calcular números. Eles fazem uso de uma variedade de técnicas para extrair inferências a partir destes números.

Ao contrário dos cálculos simples que podem ser realizados em um computador, os resultados das simulações não são automaticamente confiáveis. Muito esforço e perícia são empregados para decidir quais resultados das simulações são confiáveis e quais não são". (Winsberg, 2003, p. 110)

Utilizando-se o *software* MAESTRO, fez-se o isolamento da troponina T e procedimentos necessários para início das simulações.

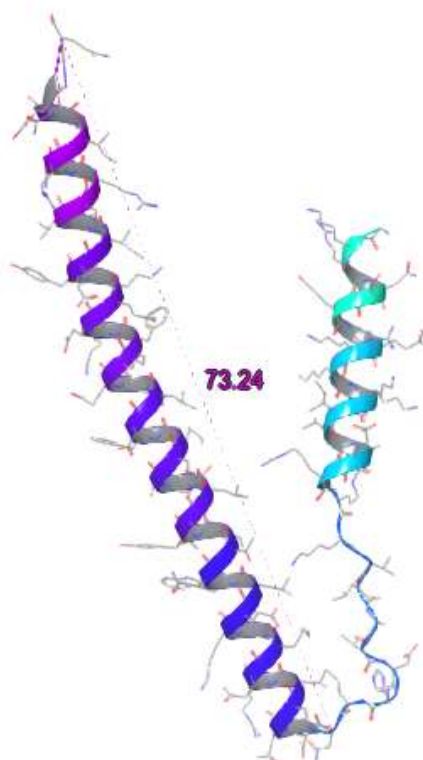
As imagens a seguir mostram algumas informações da molécula de troponina T que são relevantes para definição dos parâmetros iniciais da simulação, inclusive para determinação do tamanho do nanotubo de carbono de parede simples que precisa ser gerado para que os dados computacionais representem o comportamento mais refinado possível. Tal refinamento é importante para que eventuais fases empíricas pós simulação computacional sejam orientadas de forma mais precisa.

Figura 13 - Molécula de troponina T isolada



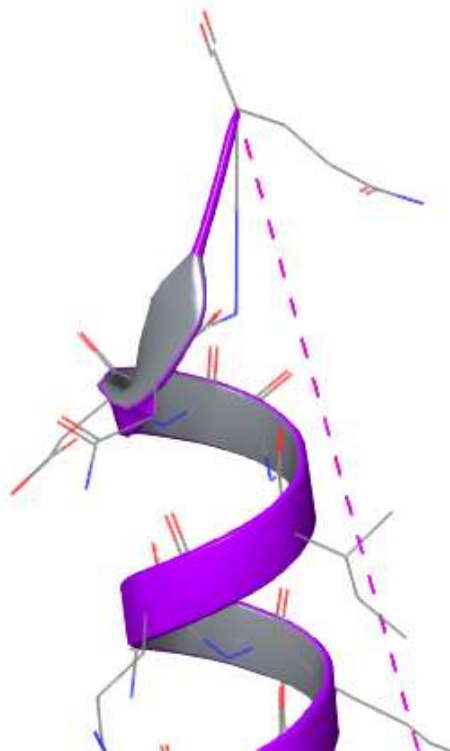
Fonte: De autoria própria.

Figura 14 – Tamanho da molécula de troponina T - 73,24 Angstrom (Å)



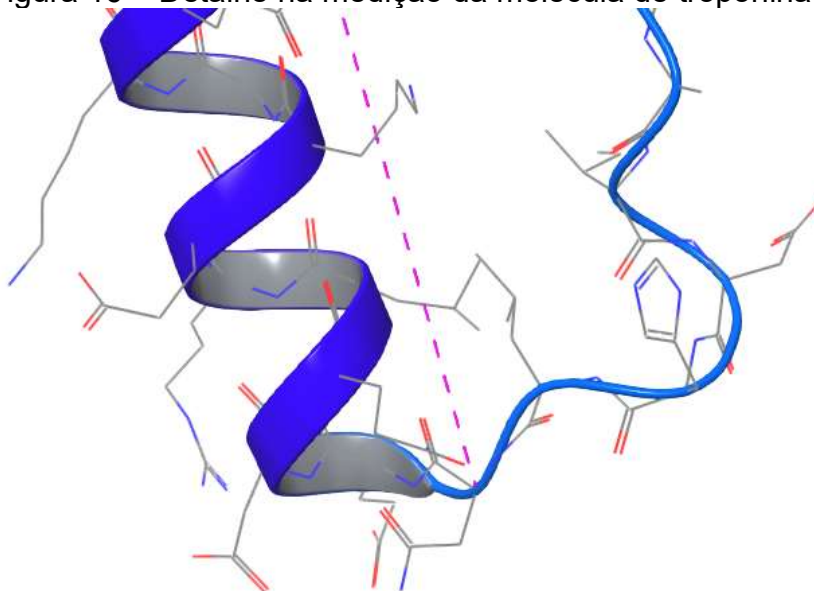
Fonte: De autoria própria.

Figura 15 – Detalhe na medição da molécula de troponina T



Fonte: De autoria própria.

Figura 16 – Detalhe na medição da molécula de troponina T



Fonte: De autoria própria.

O presente estudo definiu o comprimento do nanotubo de carbono como tendo o dobro do comprimento da molécula do troponina T, para garantir que haja área para

interação entre ambos. Portanto o nanotubo de carbono foi gerado com 170,02 Angstrom (Å) de comprimento para as simulações.

Figura 17 – Vista lateral do nanotubo de carbono com 170,02 Å

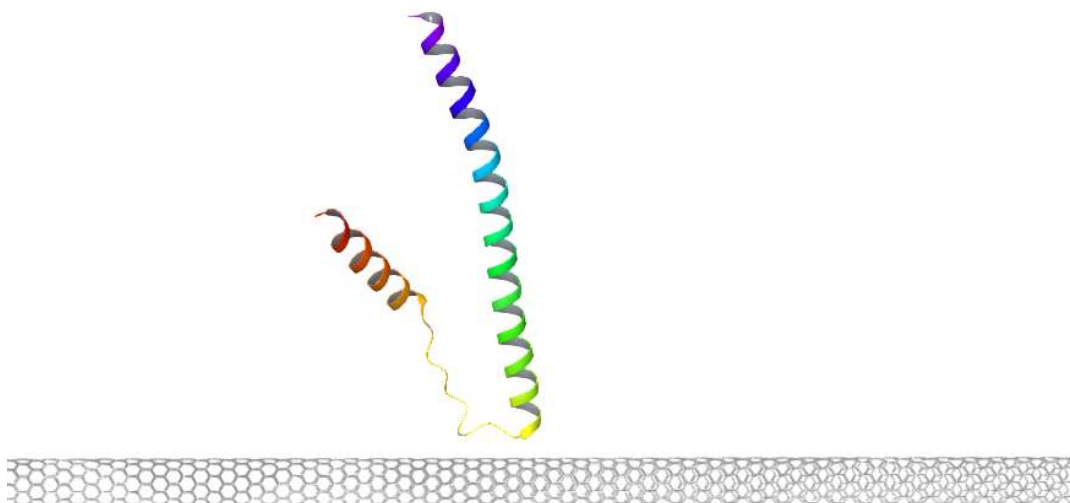


Fonte: De autoria própria.

O objetivo deste estudo é avaliar as condições de interação entre nanotubos de carbono e o biomarcador troponina T, portanto se fez necessário diversificar a orientação do nanotubo em relação à molécula de troponina, e a seguir as imagens ilustram os pontos de partida para as diferentes simulações.

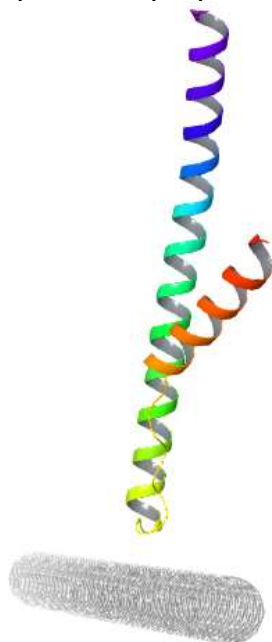
Observa-se a molécula de troponina T posicionada perpendicularmente ao nanotubo de carbono:

Figura 18 - Vista lateral, troponina T perpendicular ao nanotubo de carbono



Fonte: De autoria própria.

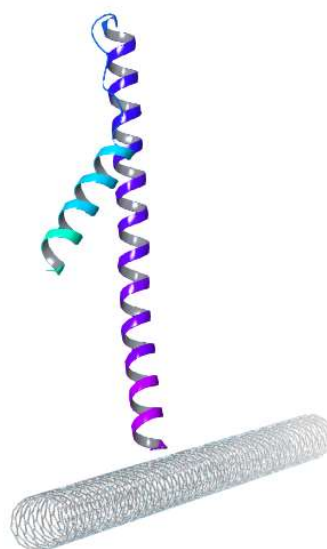
Figura 19 - Vista frontal, troponina T perpendicular ao nanotubo de carbono



Fonte: De autoria própria.

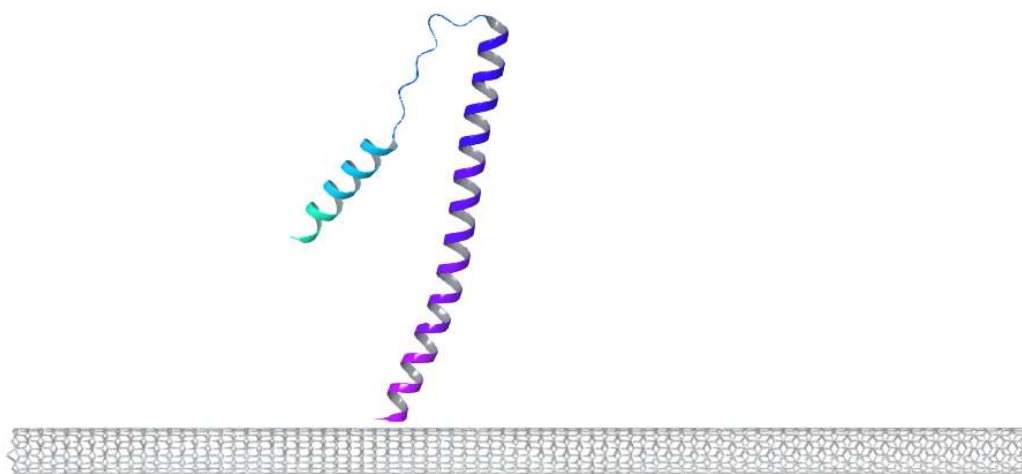
Com intuito de diferenciar as condições a serem simuladas, foram feitas algumas alterações para obtenção de quantidade maior de dados a serem analisados e aumentando a possibilidade de otimização dos resultados. Portanto, a seguir, pode-se observar que a molécula de troponina T foi rotacionada em  $180^\circ$  no próprio eixo em relação a posição da situação inicialmente testada.

Figura 20 - Vista frontal, troponina T invertida e perpendicular ao nanotubo de carbono



Fonte: De autoria própria.

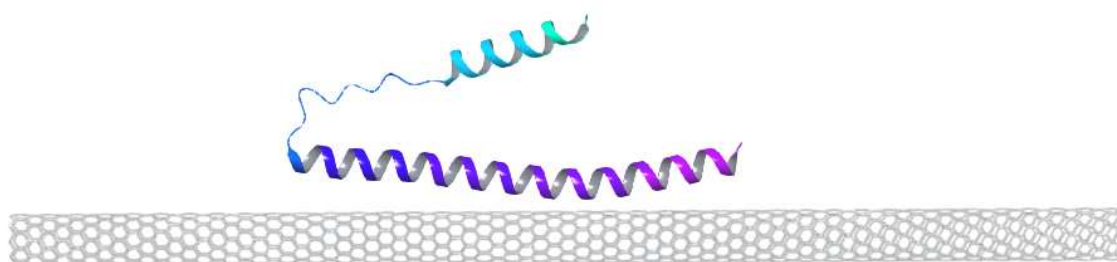
Figura 21 - Vista lateral, troponina T invertida e perpendicular ao nanotubo de carbono



Fonte: De autoria própria.

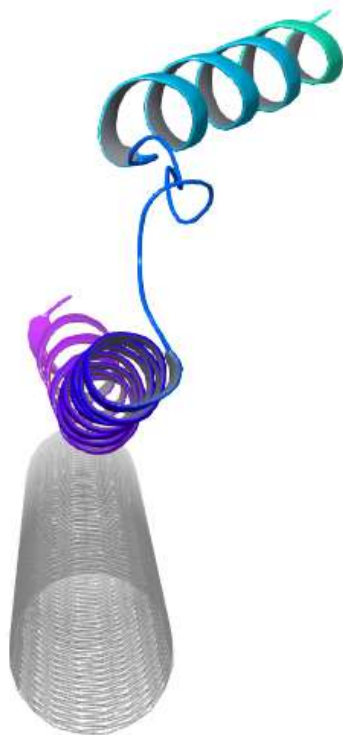
Nas próximas imagens reproduzindo a tela do MAESTRO, pode-se observar que a molécula de troponina T foi posicionada paralelamente ao eixo do nanotubo de carbono.

Figura 22 – Vista lateral, troponina T paralela ao nanotubo de carbono



Fonte: De autoria própria.

Figura 23 – Vista frontal, troponina T paralela ao nanotubo de carbono



Fonte: De autoria própria.

## 5 METODOLOGIA

Utilizando ferramentas computacionais para estudar propriedades de proteínas e analisar as interações e alterações em estruturas de nanomateriais é possível propor novos biossensores. *Softwares* atuais são capazes de realizar simulações de sistemas com milhares de átomos de tal forma que é possível definir melhores materiais a serem utilizados. Fazendo a simulação da interação entre as nanoestruturas e os marcadores específicos é possível determinar se há interações de *Coulomb*, de *Van der Waals*, interações hidrofílicas e formação de enlace; e contabilizando essas informações têm-se dados de energia entre as estruturas estudadas.

Em relação aos possíveis métodos de modelagem molecular, os mais adequados a serem utilizados no desenvolvimento deste estudo, tem-se o método dinâmica molecular, o método *DFT* e o método semiempírico.

A Teoria do Funcional da Densidade (tradução do inglês, *Density Functional Theory*) é uma das mais populares teorias da mecânica quântica. Os cálculos de *DFT* são *ab initio* (de primeiros princípios), não usam parâmetros experimentais ou empíricos e têm grande impacto na ciência dos materiais por seu poder de prever situações sem altas exigências computacionais e grandes investimento financeiro.

Conforme Michael Gaus “nos últimos anos mostraram que métodos quânticos aproximados formam uma parte essencial no repertório de métodos computacionais para uma compreensão atomística de uma ampla gama de problemas físicos, químicos e biológicos.” (Gaus *et al.*, 2011) Embora a aproximação seja menos precisa, se comparadas a outros métodos, tem a vantagem de ser realizada com maior agilidade inclusive permitindo a simulação de grandes sistemas com moléculas maiores com simulação de dinâmica molecular.

O objetivo da dinâmica molecular (DM) é simular a evolução do sistema através da resolução de equações clássica de movimento (segunda lei de Newton), durante um determinado período de tempo, sob um estímulo cinético, mensurado por uma determinada temperatura. A agitação das moléculas causada pelo fornecimento de energia ao sistema acarreta a alteração nos posicionamentos dos átomos. Ao longo do período simulado, várias conformações são exploradas possibilitando a obtenção

de geometrias moleculares energeticamente favoráveis, chegando o mais próximo do ponto energético de equilíbrio global do sistema, e desse modo, de um modelo mais real (Rino; Studart, 2001).

Do processo da Mecânica Molecular utilizamos o conceito de Campo de Força para resolver as equações de movimento no tempo. Logo, a resolução dessas equações para N partículas interagentes através do potencial U é base da Dinâmica Molecular. A realização da dinâmica molecular, na qual os átomos e moléculas são submetidas à interação sob uma determinada temperatura durante um período de tempo, é regida pelas leis da física: “A variação de movimento é proporcional à força motriz aplicada; e dá-se na direção da reta segundo a qual a força está aplicada” (Newton, 1687), por definição, a taxa de variação no tempo do momento linear da partícula é igual à força. Notar que a massa e a aceleração não são citadas na Segunda Lei de Newton.

Logo:

$$\vec{F} = \frac{\Delta \vec{p}}{\Delta t} \quad (1)$$

E sabendo que, há variação da massa do sistema no decorrer do tempo:

$$\vec{F} = \frac{d(m\vec{v})}{dt} = m \frac{d\vec{v}}{dt} + \frac{dm}{dt} \vec{v} \quad (2)$$

$$\vec{F} - \frac{dm}{dt} \vec{v} = m \frac{d\vec{v}}{dt} \quad (3)$$

Observar que o segundo termo da equação acima é a taxa de variação da massa no tempo, multiplicada pela velocidade da massa variante, portanto este termo, tem dimensão de força. Logo:

$$\vec{F} - I = m \frac{d\vec{v}}{dt} \quad (4)$$

Alguns *softwares* de simulação computacional que utilizam aos cálculos de dinâmica molecular consideram os sistemas sem variação de massa. Com isso, na literatura dos estudos de DM, é frequentemente mencionada a famosa fórmula da segunda lei de Newton.

$$\vec{F} = m \cdot \vec{a} \quad (5)$$

sendo  $\vec{F}$  representa a força,  $m$  representa a massa e  $\vec{a}$  representa a aceleração.

Calculando a força resultante sobre cada partícula do sistema através do gradiente do potencial é possível calcular o potencial de interação entre as partículas que compõe o sistema, sabendo que:

$$\vec{F} = -\vec{\nabla}U \quad (6)$$

onde  $\vec{F}$  é a força resultante sobre cada partícula e o potencial  $U$  é a soma de todas as interações entre partículas.

## 5.1 MÉTODO DINÂMICA MOLECULAR

A movimentação dos átomos e moléculas é determinada por equações de movimento de Newton para um determinado sistema de partículas em interação, no qual as forças entre as partículas e suas energias potenciais são calculadas usando potenciais interatômicos e/ou campos de força da mecânica molecular.

A simulação da dinâmica molecular de um sistema requer a definição de uma função potencial ou uma descrição dos termos pelos quais as partículas na simulação devem interagir, geralmente denominada como campo de forças na química e como potencial interatômico em física de materiais. Os potenciais podem ser definidos em muitos níveis de precisão física; sendo que os mais utilizados na química são baseados na mecânica molecular e são tratados com princípios da mecânica clássica na avaliação das interações podem reproduzir mudanças estruturais, e geralmente não reproduzem reações químicas.

Há a possibilidade de fazer a análise da energia potencial do sistema por meios da aplicação de conceitos da mecânica quântica, e para isso é necessário que seja realizada a por meio de duas aproximações principais. A primeira é a aproximação de *Born-Oppenheimer*, que é aproximação matemática mais conhecida em química quântica e física molecular. Born-Oppenheimer afirma que a dinâmica dos elétrons é tão rápida que pode ser considerado como que se reagissem instantaneamente ao movimento de seus núcleos. (Born; Oppenheimer, 1927) Como consequência, os elétrons e núcleos devem ser tratados separadamente. A segunda aproximação trata os núcleos, que são muito mais pesados que os elétrons, como partículas pontuais

que seguem a dinâmica newtoniana clássica. Na dinâmica molecular clássica, o efeito dos elétrons é geralmente representando no seu estado estacionário, ou seja, de menor energia. A energia do *ground state*, na mecânica quântica é conhecida como a energia de ponto zero do sistema.

Como os sistemas moleculares normalmente consistem em um vasto número de partículas, é impossível determinar analiticamente as propriedades de sistemas tão complexos; a simulação de dinâmica molecular contorna esta complexidade usando métodos numéricos. Entretanto, para resultados mais satisfatórios, as simulações de dinâmica molecular de sistemas maiores dependem da seleção mais assertiva de algoritmos e parâmetros.

Neste contexto de modelagem molecular, a forma funcional para calcular a energia potencial do sistema, baseia-se no cálculo do campo de força. Para que isto seja possível, um grupo de parâmetros é responsável pela modelagem e cálculo de energia potencial do sistema. Tais parâmetros, que podem ser derivados de trabalhos experimentais ou de cálculos de mecânica quântica, normalmente incluem a massa molecular, o raio de *Van der Waals*, a carga parcial para os átomos individuais, a distância linear de equilíbrio para as ligações entre dois tipos de átomos, o ângulo de equilíbrio entre três tipos de átomos, ângulos de equilíbrio do diedro formado entre quatro tipos de átomos e a constante de mola correspondente para cada um desses potenciais.

Calculando a energia potencial do sistema torna-se possível executar otimizações e outras análises. A mecânica molecular baseia-se em funções de energia potencial e essas funções possuem termos referentes às ligações covalentes dos átomos ligantes e termos referentes à outras contribuições energéticas não-covalentes de elementos não ligantes.

$$E_{Total} = E_{Covalente} + E_{N\grave{a}o-Covalent} \quad (7)$$

$$E_{Covalente} = E_{ligação} + E_{angular} + E_{diedral} \quad (8)$$

$$E_{N\grave{a}o-Covalente} = E_{eletrostático} + E_{van\ der\ Walls} \quad (9)$$

Na função de Energia covalente, a Energia de Ligação (ou estiramento) é referente à distância linear entre os átomos de uma ligação, Energia Angular (ou deformação angular) é referente ao ângulo entre três átomos ligados

consecutivamente, e a Energia Diedral (rotação diedral) é referente ao diedro formado entre quatro átomos ligados consecutivamente.

E na função de Energia não-covalente, a Energia de potencial eletrostático geralmente é calculada utilizando-se as leis de *Coulomb*, e a Energia de *Van der Waals* geralmente é calculada utilizando-se o potencial de *Lennard-Jones*. As interações entre pares de átomos não ligados covalentemente (i, j) são descritas por potenciais compostos pelos termos de *Van der Waals* e eletrostático, representados respectivamente pelos potenciais de *Lennard-Jones*

$$U_{vdW} = 4\varepsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (10)$$

e de *Coulomb*

$$U_{elet} = \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 \varepsilon_r r_{ij}} \quad (11)$$

Na equação de *Lennard-Jones*,  $\varepsilon_{ij}$  é a profundidade do potencial entre a barreira atrativa e a repulsiva, e  $\sigma_{ij}$  é a distância finita na qual o potencial interpartícula é zero. Ambos são parâmetros ajustados experimentalmente ou por cálculos teóricos.

No caso das interações eletrostáticas da equação de *Coulomb*,  $q_i$  e  $q_j$  correspondem à magnitude das cargas pontuais de cada átomo,  $r_{ij}$  a distância entre as cargas,  $\varepsilon_0$  a permissividade do espaço livre e  $\varepsilon_r$  a constante dielétrica relativa do meio.

## 5.2 INTERAÇÕES MOLECULARES

De acordo com Mancini *et al.* (2004) há uma distância padrão, dada em Angstroms, para calcular as interações entre dois átomos, cujos parâmetros são:

- Empilhamento aromático (*Aromatic stacking*): de 1,5 a 2,8 Å;
- Interação hidrofóbica (*Hydrophobic interaction*): de 2,0 a 3,8 Å;
- Interação repulsiva (*Repulsive interaction*): de 2,0 a 6,0 Å;
- Pontes de hidrogênio (*Hydrogen bond*): de 2,0 a 3,2 Å;
- Ponte salina ou interação atrativa (*Salt bridge*): de 2,0 a 6,0 Å.

As possíveis interações não covalentes existentes entre o alvo biológico e o ligante são: ligações de hidrogênio, interações iônicas, interações hidrofóbicas, interação  $\pi$ -cátion, interações  $\pi$ -stacking e complexação por metais. Neste estudo foi identificado que as interações mais relevantes foram as interações hidrofóbicas,  $\pi$ -cátion e  $\pi$ -stacking, sendo a força crescente nessa ordem.

A coesão entre as moléculas de água resultantes da ligação de hidrogênio (*H-bonding*) tende a excluir menos moléculas polares, facilitando assim as interações soluto-soluto e a transferência de um ligante apolar para um local de proteína apolar. Este fenômeno conhecido como efeito hidrofóbico é frequentemente a contribuição mais importante para a energia das interações proteína-ligante no meio aquoso. As interações hidrofóbicas são importantes na manutenção da estrutura das proteínas, são interações fracas e ocorrem em função da interação em cadeias ou subunidades apolares. A aproximação das superfícies hidrofóbicas promove o colapso da estrutura organizada de água, permitindo assim a interação ligante-receptor através de ganho entrópico associado à desorganização do sistema.

As ligações  $\pi$ -cátion são determinadas por força eletrostática, envolvendo a ligação entre espécies catiônicas com compostos aromáticos. Geralmente resíduos de aminoácidos positivamente carregados costumam interagir com aminoácidos dotados de anel aromático.

Em 2012, Dennis Dougherty, ao publicar a pesquisa *The Cation- $\pi$  Interaction* na revista *Accounts of Chemical Research* escreveu que a comunidade química reconhece a interação  $\pi$ -cátion como uma força importante para o reconhecimento molecular, unindo-se ao efeito hidrofóbico, a ligação de hidrogênio e o par de íons na determinação da estrutura macromolecular e das interações entre os receptores de drogas. (Dougherty, 2012)

Apesar de ser bastante recorrente em sistemas biológicos, não é exatamente fácil reforçar a contribuição singular das ligações cátion- $\pi$  por conta da complexidade da interação, que decerto envolvem forças de *Van der Waals* e efeitos de polarização, ou seja, a dificuldade advém do número de interações que ocorrem ao mesmo tempo.

De acordo com Gung e Amicangelo:

Forças fracas não-covalentes como  $\pi$ - $\pi$  stacking são importantes no reconhecimento biomolecular e na engenharia de cristais. Interações  $\pi$ - $\pi$

*stacking* também desempenham um papel significativo nos resultados da estereoseletividade nas reações orgânicas sintéticas. Não surpreendentemente, tem havido um interesse generalizado na magnitude e origem das interações  $\pi$ - $\pi$ . (Gung; Amicangelo, 2006, p.1)

As ligações  $\pi$  *stacking* ou  $\pi$ - $\pi$  *stacking* são outro tipo de interação de alta relevância. São ligações não covalentes entre duas moléculas aromáticas cujas ligações  $\pi$  se encontram paralelas ao plano. Além disso são interessantes por estabilizarem conformações estruturais com a agregação de cadeias laterais de proteínas e de ácidos nucleicos, e atuam no reconhecimento de receptores, tendo em vista a recorrente presença de anéis aromáticos na estrutura química de fármacos em geral. Interações *stacking* do tipo fracas são resultantes das repulsões elétron-elétron que ocorrem em moléculas ricas em elétrons devido ao aumento de densidade eletrônica sobre o anel. Com a presença de grupos retiradores de elétrons, a densidade eletrônica diminui e conseqüentemente as repulsões entre elétrons diminui, aumentando a força da interação. Por outro lado, moléculas menos favorecidas em elétrons têm sua interação *stacking* elevada com a presença de grupos eletrodoadores, e no caso da presença de grupos retiradores de elétrons, se diminui significativamente a força de interação  $\pi$ - $\pi$ .

## 6 RESULTADOS

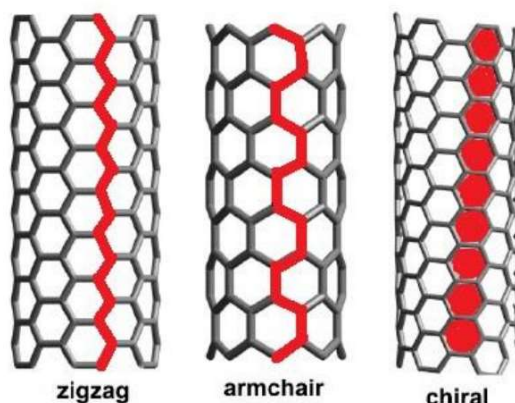
Para o desenvolvimento deste trabalho, a base utilizada foi a estrutura do Laboratório de Modelagem Computacional - LaModel da Unifal/MG, onde são desenvolvidos estudos das propriedades eletrônicas, ópticas e de transporte de nanoestruturas, desenho racional de fármacos, e de novos fármacos, engenharia de cristais e polimorfismo de sólidos farmacêuticos. No desenvolvimento de pesquisas utiliza-se a simulação computacional, e dentre outros, os métodos mais utilizados são: semiempíricos, *ab initio* DFT, *docking* molecular e mecânica molecular.

As propriedades dos NTC podem ser influenciadas por vários fatores, como a constituição das suas paredes (SWCNT ou MWCNT), o número de camadas concêntricas (no caso dos MWCNT), o seu diâmetro e pela maneira como a folha de grafeno se enrola em torno do eixo de simetria para dar origem aos NTC.

Para iniciar a simulação foi feito o isolamento da estrutura da molécula da troponina T, retirando todos os elementos que pudessem interferir no resultado da simulação. Neste estudo, foram criados sistemas de nanotubos associados à troponina T, e para cada um desses sistemas foi utilizado um nanotubo diferente. Conforme Rebeca Gonçalves publicou, como parte de sua tese de doutorado em Física pela Universidade Federal da Paraíba, o estudo denominado Propriedades estruturais e eletrônicas de nanotubos e nanofitas  $B_xC_yN_z$ : um estudo por primeiros princípios, sabe-se que:

Podemos formar diferentes estruturas em função das coordenadas  $(n,m)$ , Figura 1.13. Os tubos com  $m = n$  são comumente referidos como tubos *armchair*, por terem um formato parecido com o braço de uma poltrona no decorrer da circunferência. Os tubos com  $m = 0$  são chamados zigzag, por terem um formato zigzag. Os restantes, com  $m \neq n$  são chamados de tubos quirais e apresentam helicidades no decorrer do tubo ao longo do eixo. (Gonçalves, 2013, p. 12)

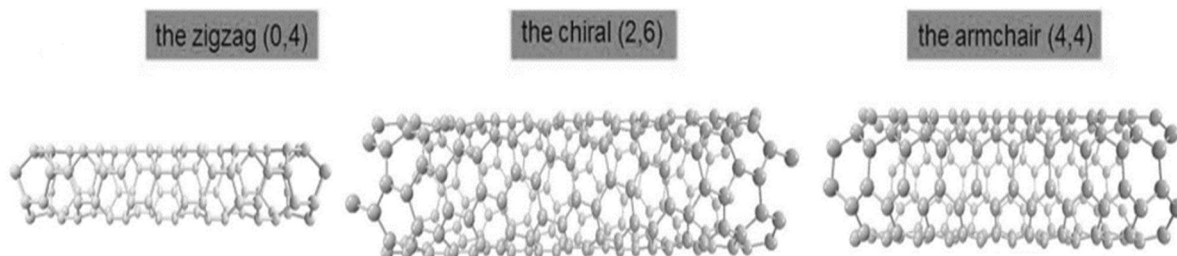
Figura 24 - Morfologia do nanotubos de carbono segundo a quiralidade



Fonte: Baratas Moreno (2014, p. 6)

Portanto, existem tipos de nanotubos que são estruturalmente distintos em forma e propriedades de acordo com a quiralidade com que são gerados, e neste estudo foram utilizados todos os modelos com respectivas quiralidades (0,4), (2,6) e (4,4) e com estruturas denominados *zigzag*, *chiral* e *armchair*, conseqüentemente.

Figura 25 – Tipos de estruturas de acordo com a quiralidade



Fonte: Adaptado de Charoenpakdee, Suntijitrungruang e Boonchui (2020)

A definição pela utilização dos nanotubos com 03 estruturas diferentes foi baseada no estudo das conclusões e considerações do artigo que descreve a análise das diferenças nas propriedades eletrônicas de acordo com a alteração da quiralidade dos nanotubos. (Charoenpakde; Suntijitrungruang; Boonchui, 2020)

Na sequência, cada sistema de nanotubo *zigzag*, *chiral* e *armchair* identificados, respectivamente, como 04CNT, 26CNT e 44CNT, foi associado à troponina T compondo, assim, os complexos identificados como tropo-04CNT, tropo-26CNT e tropo-44CNT, os quais foram submetidos à 02 (duas) temperaturas diferentes - 298K e 323K - totalizando 06 (seis) sistemas a serem simulados. As

temperaturas para o experimento foram definidas criteriosamente com base na temperatura ambiente ( $298\text{K} = 24,85^\circ\text{C}$ ), uma vez que, em termos laboratoriais,  $25^\circ\text{C}$  é temperatura mais usual; e considerando uma temperatura mais elevada ( $323\text{K} = 49,85^\circ\text{C}$ ) foi definido por estar acima da temperatura do corporal humana em condições normais ( $35,1^\circ\text{C}$  a  $37,7^\circ\text{C}$ ), além de superar temperatura de estado febril ( $37,8^\circ\text{C}$  a  $41^\circ\text{C}$ ) e hipertemia ( $+41^\circ\text{C}$ ). Todos os cálculos foram feitos por Dinâmica Molecular e os resultados estarão representados e serão discutidos na sequência deste documento.

Os resultados apresentados abaixo foram alcançados utilizando o programa xTB<sup>14</sup>. Para execução das simulações pelo método de dinâmica molecular, mostrou-se a melhor alternativa e gerou resultados apresentados neste estudo.

A simulação de Dinâmica Molecular (DM) é uma das técnicas computacionais mais versáteis para o estudo de sistemas complexos e macromoléculas biológicas modelados no nível atômico, e usa as equações de movimento de Newton.

Trata-se de um tipo de experimento virtual, capaz de prever, com precisão, o possível comportamento de moléculas reais. A observação de sistemas reais, com alterações extremas das condições de temperatura e pressão, demanda longo período de tempo, nem sempre é possível e muitas vezes acaba inviabilizado esse tipo procedimento, por isso, lança-se mão da simulação matemática e modelagem computacional. Ou seja, a resolução das equações de movimento (segunda lei de Newton) com dependência temporal e ajuste da temperatura do sistema são características de destaque da DM. A simulação por DM (dinâmica molecular) permite o acompanhamento das propriedades cinéticas e termodinâmicas de um conjunto de átomos em interação durante a evolução do tempo. Os resultados gerados pela resolução numérica das equações são precisos e que podem ser refinados com o ajuste dos parâmetros comprovando seu potencial cada vez maior de contribuição. A energia total de um sistema depende exclusivamente da posição dos átomos do sistema, então é dada via potencial nuclear dependente das posições, denominação de campo de força. Assim em um sistema conservativo, a força do sistema pode ser obtida a partir da energia potencial calculada utilizando-se a segunda lei de Newton.

---

<sup>14</sup> O xTB é um *software* livre, disponibilizado gratuitamente, para simulações por métodos semiempíricos baseados na mecânica quântica

Com isso é possível encontrar a aceleração e, conseqüentemente, obter as velocidades e posições integrando as equações.

Para Namba, Silva e Silva (2008) *et al.*, discorrendo sobre simulação computacional por dinâmica molecular:

A metodologia da DM é fundamentada nos princípios da Mecânica Clássica e fornece informações sobre o comportamento dinâmico microscópico, dependente do tempo, dos átomos individuais que compõem o sistema.

Com base na Mecânica Molecular (MM), as moléculas são tratadas como uma coleção de átomos que pode ser descrita por forças newtonianas, ou seja, são tratadas como uma coleção de partículas mantidas unidas por forças harmônicas ou elásticas. Um conjunto completo dos potenciais de interação entre as partículas é referido como “campo de força”. (Namba; Silva, V.; Silva, C., 2008, p. 13)

O cálculo do campo de força é base de cálculo da energia do sistema, ou seja, a energia das interações entre todas as partículas que compõem a estrutura estudada. O campo de força é conhecido em função da energia potencial total do sistema  $U(r)$ , que é descrito como a soma de vários termos de energia, incluindo os termos para átomos ligados (comprimentos e ângulos de ligação, ângulos diedros) e os termos para átomos não ligados (interações de *Van der Waals* e de *Coulomb*),

$$U(r) = \sum U_l + \sum U_\theta + \sum U_\phi + \sum U_{vdW} + \sum U_{elet} \quad (12)$$

onde:

$U_l$  é a energia de estiramento da ligação em relação a seu valor de equilíbrio (ou ideal),

$U_\theta$  é a energia de deformação do ângulo de ligação em relação a seu valor de equilíbrio,

$U_\phi$  é a energia devido à torção em torno de uma ligação,

$U_{vdW}$  representa a energia das interações de *Van der Waals*,

$U_{elet}$  representa as energias de atração ou repulsão eletrostática entre duas cargas.

Lançando mão da aproximação de Bohr-Oppenheimer, portanto considerando a separação entre o movimento dos núcleos e dos elétrons, e o fato da massa do núcleo ser muito maior do que a massa dos elétrons, pode-se adotar que a movimentação dos elétrons siga o movimento dos núcleos. Dessa forma, é possível tratar os átomos de moléculas como se estivessem ligados por uma mola e a força

dependendo da variação do estiramento das ligações, o que pode ser descrito pela Lei de Hooke.

Baseando-se na Lei de Hooke ( $F = k \cdot \Delta x$ ), é possível representar os potenciais harmônicos conforme as oscilações dos comprimentos e dos ângulos de ligação com relação aos valores de equilíbrio.

Logo:

$$U_l = k_l (l - l_0)^2 \quad (13)$$

$$U_\theta = k_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (14)$$

Onde:

$l$  é comprimento das oscilações,

$\theta$  é o ângulo de ligação.

O potencial aumenta quadraticamente com o deslocamento da distância  $l$  ou do ângulo de ligação  $\theta$  em relação aos valores de equilíbrio. Retomando as duas equações de potenciais acima, tem-se respectivamente, que  $l_0$  e  $\theta_0$  são os correspondentes valores de equilíbrio e  $k_l$  e  $k_\theta$  são as constantes de força.

É possível utilizar a aproximação harmônica somente para pequenas distorções com relação aos valores de equilíbrio, com isso o potencial de energia de torção pode ser representado pela equação:

$$U_\emptyset = \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\emptyset - \gamma)) \quad (15)$$

Onde:

$v_n$  é a barreira de energia para a torção,

$n$  é o número de energia em uma torção completa, depende do tipo de torção considerada e, geralmente, não excede o valor 3,

$\emptyset$  é o ângulo diedro,

$\gamma$  é o ângulo de fase (defasagem no ângulo diedro que pode gerar um ponto de mínimo ou de máximo na posição  $\emptyset = 0$ ).

Conhecendo a teoria, os programadores do *software* xTB desenvolveram cálculos e definiram fórmulas que podem ser acessados no documento *Supporting Information - Robust Atomistic Modeling of Materials, Organometallic, and Biochemical Systems* para mais detalhes. Juntamente com as fórmulas, há parâmetros

necessários para a execução dos cálculos da Dinâmica Molecular no software xTB, os dados de entrada necessários para os cálculos são inseridos via arquivo *input* conforme abaixo:

```
$md
temp=298.15 # in K
time= 50.0 # in ps
dump= 50.0 # in fs
step= 4.0 # in fs
velo=false
nvt =true
hmass=4
shake=2
sccacc=2.0
$end
```

Onde os parâmetros mais importantes e seus significados são:

temp = temperatura determinada em Kelvin

time= tempo de duração da simulação em picosegundos

nvt= determinado como verdadeiro (true), define que o conjunto canônico (canonical ensemble) deve manter o (N) número de partículas, (V) volume e (T) temperatura constantes durante toda a simulação.

hmass= sendo 4, determina que a massa do hidrogênio seja considerada como tendo massa 4 x maior que a real, diminuindo a volatilidade deste átomo.

shake= limita as ligações

sccacc= determina a precisão do cálculo

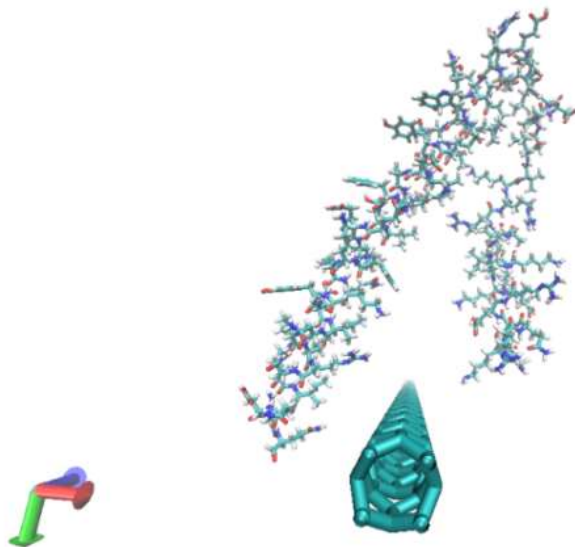
Com a execução dos cálculos de dinâmica molecular de acordo com os parâmetros acima mencionados, chegou-se aos resultados que estão apresentados na sequência.

## 6.1 DINÂMICA MOLECULAR PARA 04CNT A 298K

O primeiro sistema a ser submetido aos cálculos de DM, foi determinado sendo composto por troponina T e nanotubo de carbono de parede simples com quiralidade zigzag (sigla em inglês, *SWNTs*<sub>0,4</sub>). Realizou-se a simulação computacional cujo resultado pode ser observado nas imagens abaixo. Com o *software* VMD podemos observar a movimentação da molécula de troponina T aproximando e envolvendo o nanotubo de carbono.

Da mesma forma dos outros sistemas deste estudo, a troponina T foi inicialmente posicionada perpendicularmente sobre o nanotubo *zigzag* e no tempo 0 ps, apresenta-se da seguinte forma:

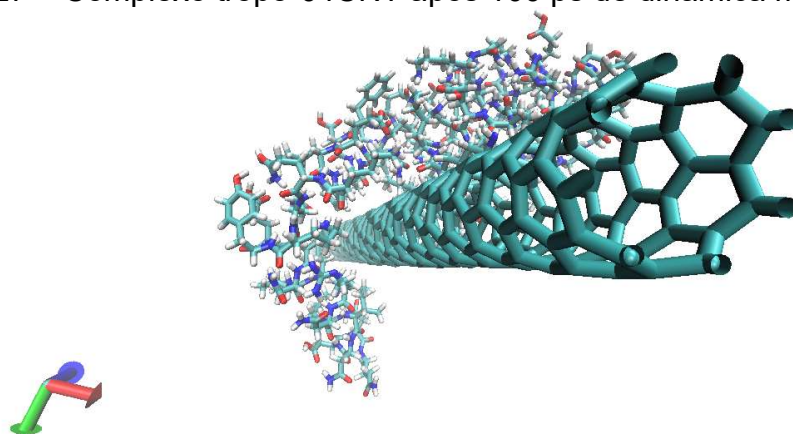
Figura 26 - Moléculas de troponina e 04CNT no tempo 0 ps



Fonte: De autoria própria.

Após 100 ps de simulação, está posicionada próxima ao nanotubo *zigzag* envolvendo-o circunferencialmente, como na imagem abaixo:

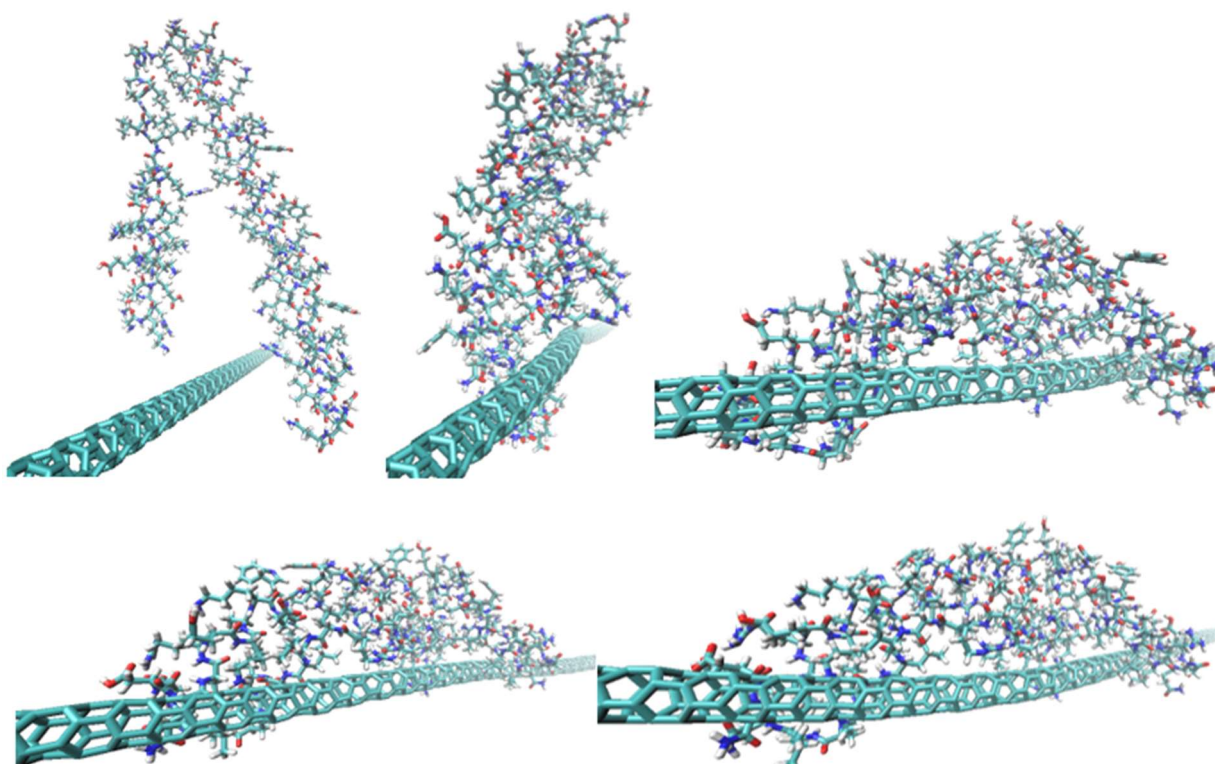
Figura 27 – Complexo tropo-04CNT após 100 ps de dinâmica molecular



Fonte: De autoria própria.

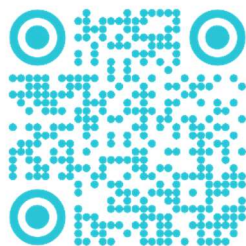
Para facilitar o entendimento da movimentação das partículas serão mostrados alguns estágios com a conformação do sistema em 5 determinados frames sendo, tempo inicial 0 ps, 25 ps, 50 ps, 75 ps e 100 ps :

Figura 28 – Evolução da dinâmica molecular do sistema tropo-04CNT



Fonte: De autoria própria.

Figura 29 - QR Code para o vídeo do sistema tropo-04CNT



Fonte: De autoria própria.

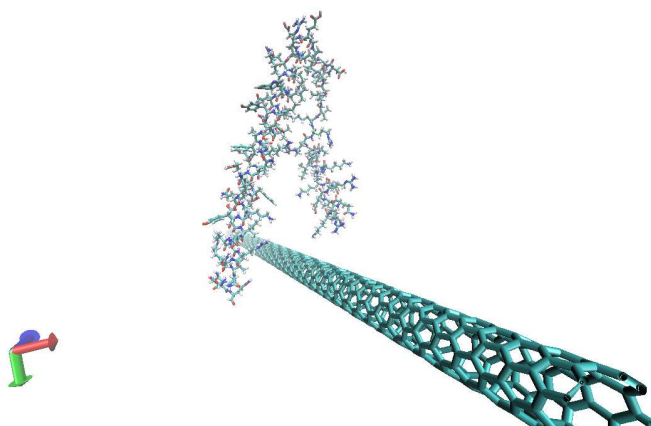
Neste sistema com nanotubo *zigzag* a troponina aproximou-se e manteve-se posicionada paralelamente ao eixo z, no sentido do comprimento do NTC.

## 6.2 DINÂMICA MOLECULAR PARA 26CNT A 298K

Nas imagens a seguir, reproduzidas do *software* VMD podemos observar a movimentação da molécula de troponina T aproximando e envolvendo o nanotubo de carbono de parede simples com estrutura *chiral*, ou seja, determinada pela quiralidade (2,6), mantendo a temperatura de 298K para realização da simulação por dinâmica molecular.

No início da simulação, ou seja, em  $t=0$  ps:

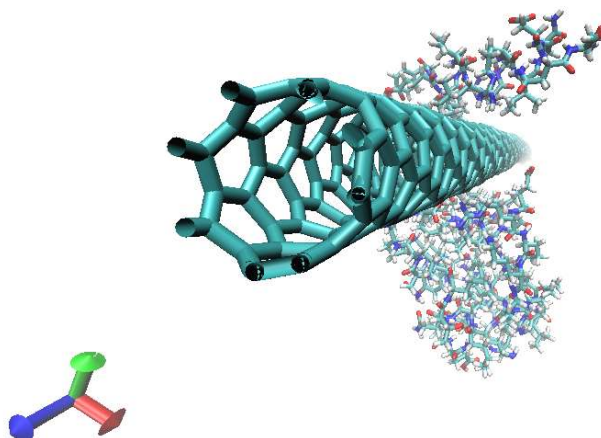
Figura 30 - Troponina perpendicular ao 26CNT



Fonte: De autoria própria.

E, ao final, com 100 ps temos:

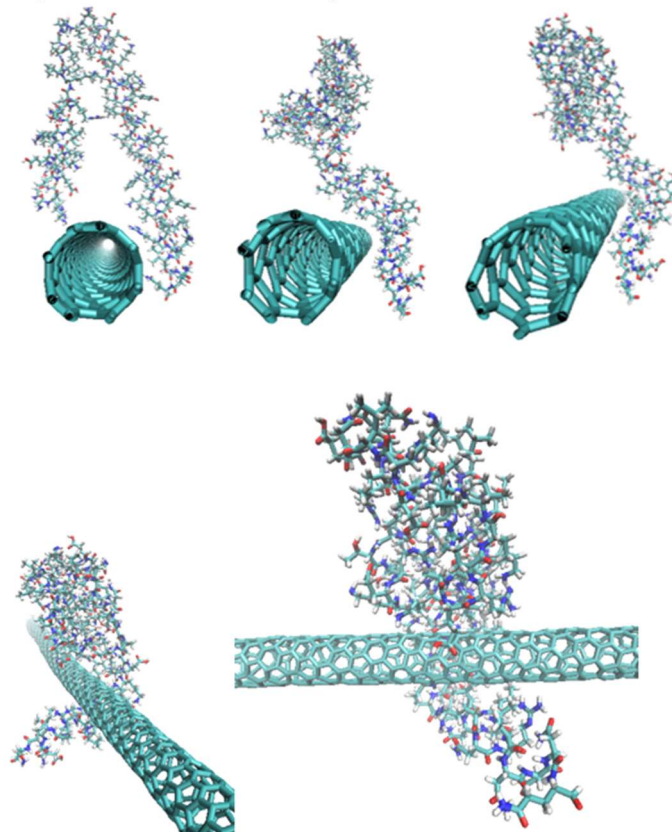
Figura 31 - Sistema tropo-26CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular



Fonte: De autoria própria.

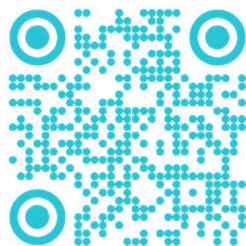
Da mesma forma, para esse sistema, a movimentação das partículas será mostrada nos mesmos 5 estágios da simulação.

Figura 32 - Sistema tropo-26CNT nos 5 frames



Fonte: De autoria própria.

Figura 33 - QR Code para o vídeo do sistema tropo-26CNT



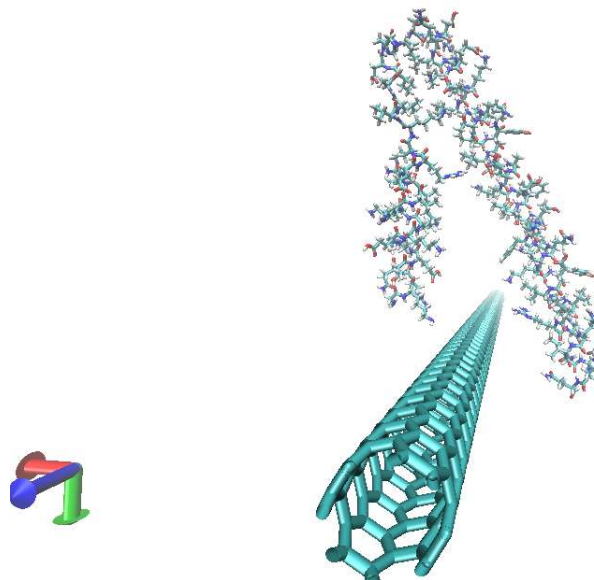
Fonte: De autoria própria.

### 6.3 DINÂMICA MOLECULAR PARA 44CNT A 298K

Nas próximas imagens, produzidas no *software* VMD podemos observar a movimentação da molécula de troponina T aproximando e envolvendo o nanotubo de carbono de parede simples com estrutura *armchair*, ou seja, determinada pela quiralidade (4,4), cuja simulação foi feita com temperatura de 298K como nas anteriores.

Em  $t=0$  ps, para dinâmica molecular entre a troponina T e o nanotubo *armchair* temos:

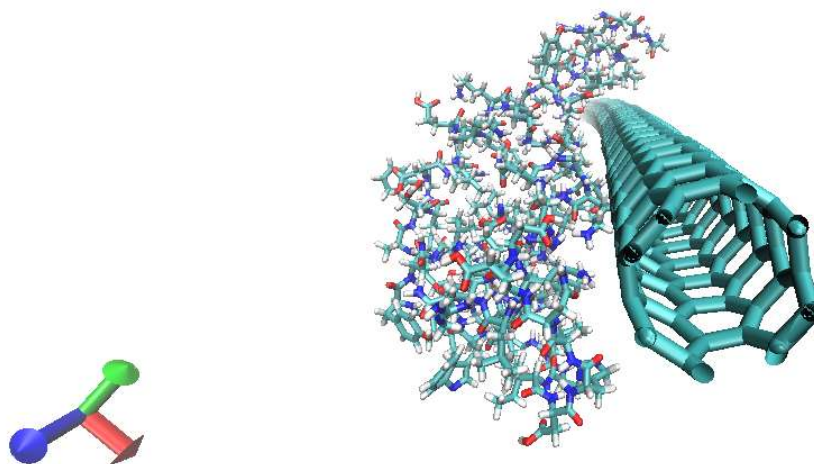
Figura 34 - Sistema inicial com troponina T e 44CNT



Fonte: De autoria própria.

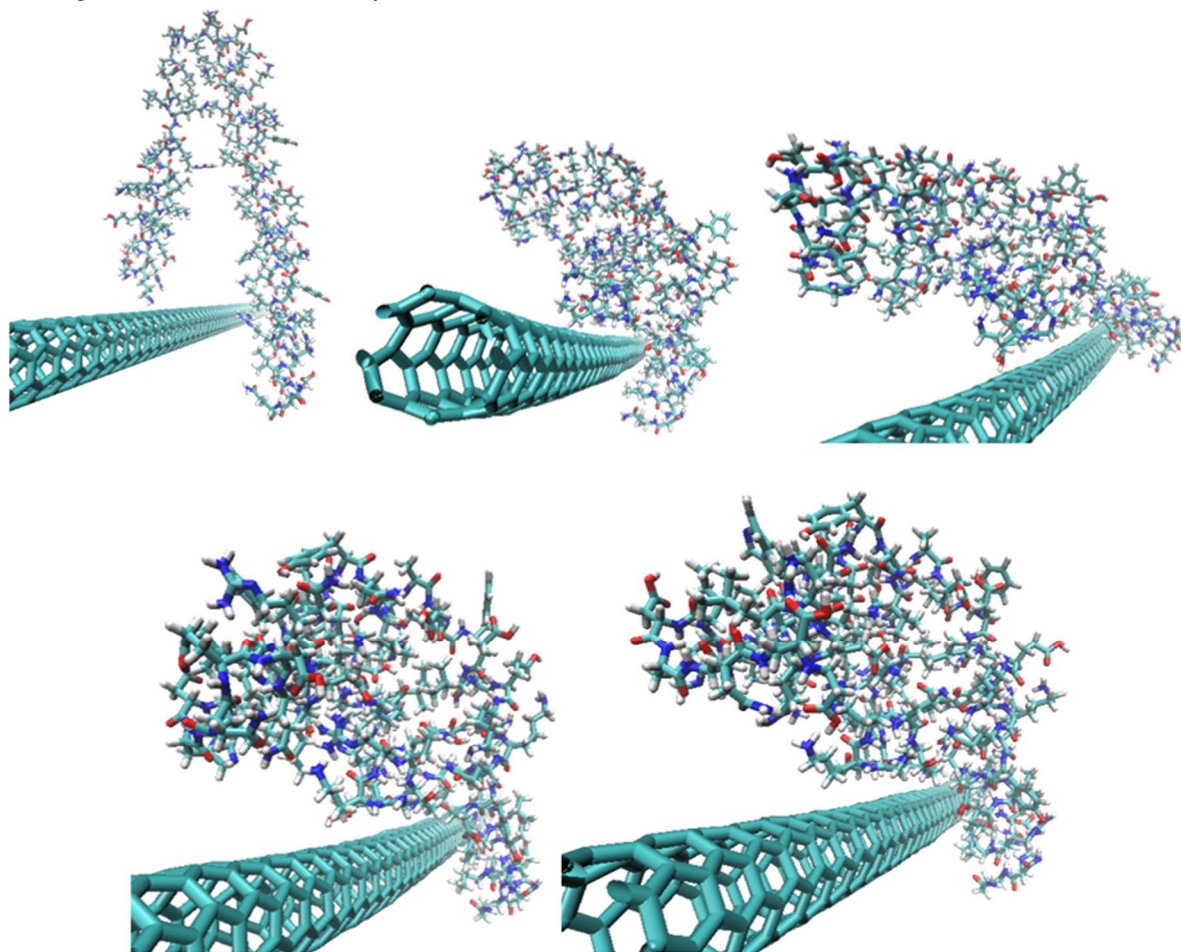
E ao final da simulação, em  $t=100$  ps temos:

Figura 35 – Sistema tropo-44CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular



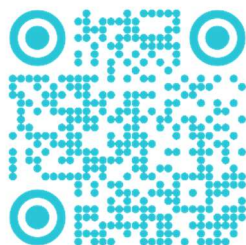
Fonte: De autoria própria.

Figura 36 - Sistema tropo-44CNT em 05 frames durante a dinâmica molecular



Fonte: De autoria própria.

Figura 37 - QR Code para o vídeo sistema tropo-44CNT



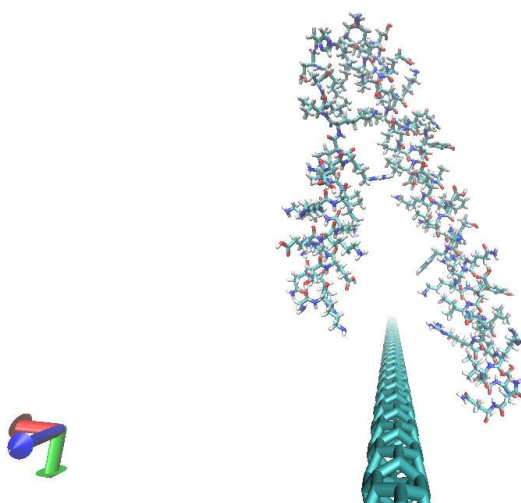
Fonte: De autoria própria.

#### 6.4 DINÂMICA MOLECULAR PARA 04CNT A 323K

Nas imagens a seguir, reproduzidas da tela do *software* VMD podemos observar a movimentação da molécula de troponina aproximando e envolvendo o nanotubo de carbono de parede simples com estrutura zigzag, ou seja, determinada pela quiralidade (0,4), mantendo a temperatura de 323K para realização da simulação por dinâmica molecular.

No tempo zero da simulação, ou seja, em  $t=0$  ps temos a disposição abaixo:

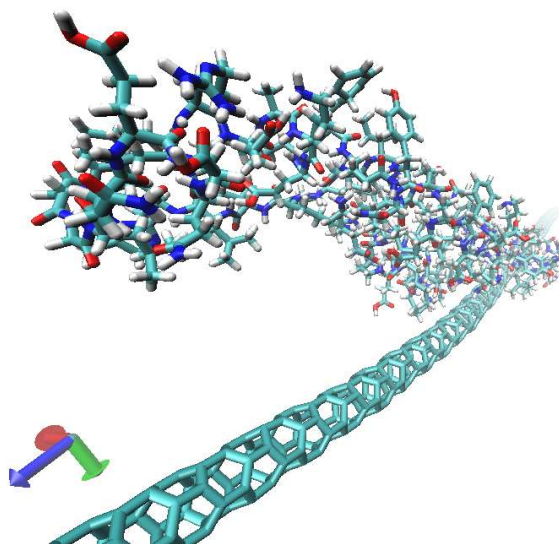
Figura 38 - Sistema tropo-04CNT posicionada para início da dinâmica molecular a 323K



Fonte: De autoria própria.

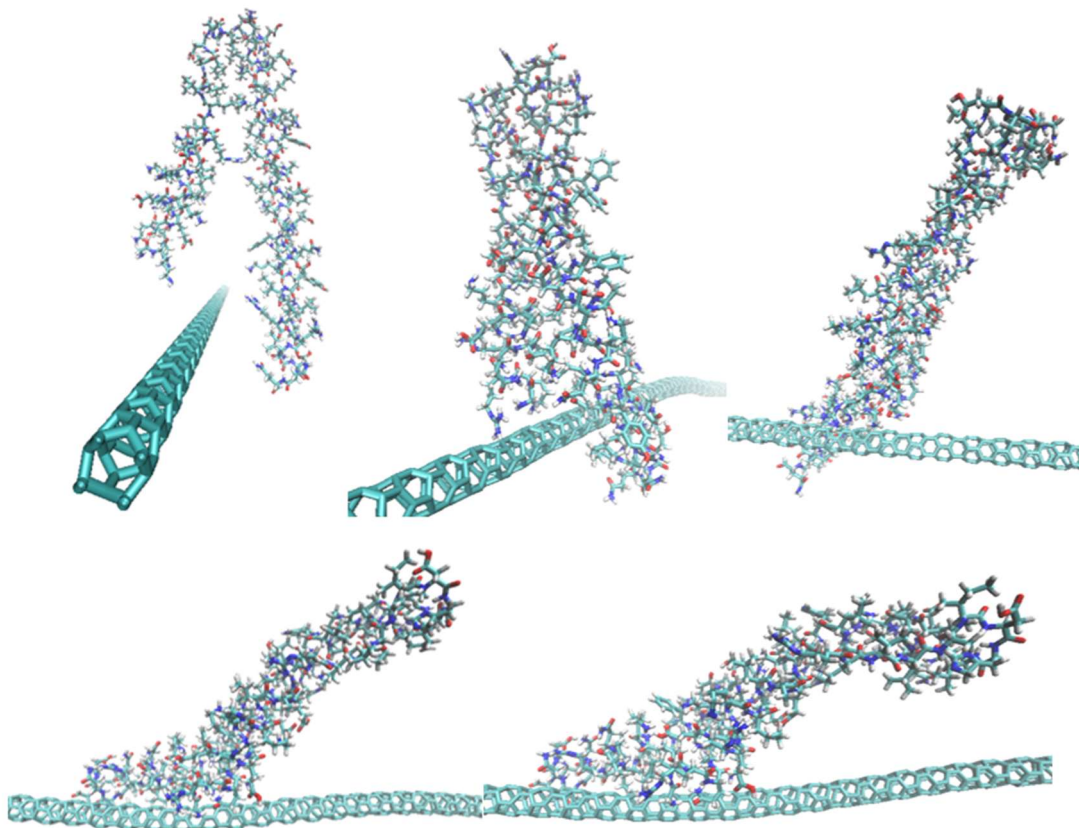
Decorridos 100 ps de dinâmica molecular computacional, tem-se o resultado a seguir:

Figura 39 – Complexo tropo-04CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular



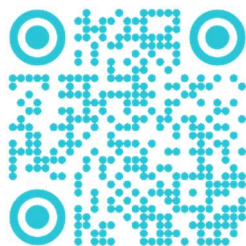
Fonte: De autoria própria.

Figura 40 - Conformações do sistema tropo-04CNT a 323K no decorrer dos 100ps



Fonte: De autoria própria.

Figura 41 - QR Code para vídeo do sistema tropo-04CNT a 323K



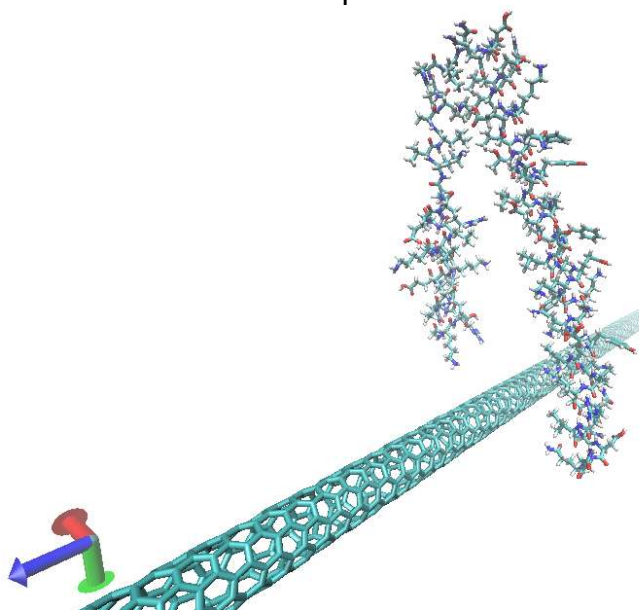
Fonte: De autoria própria.

## 6.5 DINÂMICA MOLECULAR PARA 26CNT A 323K

Nas imagens a seguir, reproduzidas da tela do *software* VMD podemos observar a movimentação da molécula de troponina aproximando e envolvendo o nanotubo de carbono de parede simples com estrutura *chiral*, ou seja, determinada pela quiralidade (2,6), mantendo a temperatura de 323K para realização da simulação por dinâmica molecular.

Com 0 ps a troponina está sobre o nanotubo, como observa-se na figura 38:

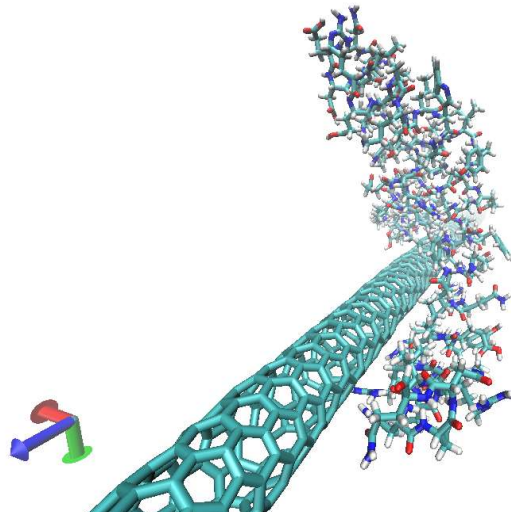
Figura 42 - Sistema com molécula de troponina e 26CNT no frame inicial da DM



Fonte: De autoria própria.

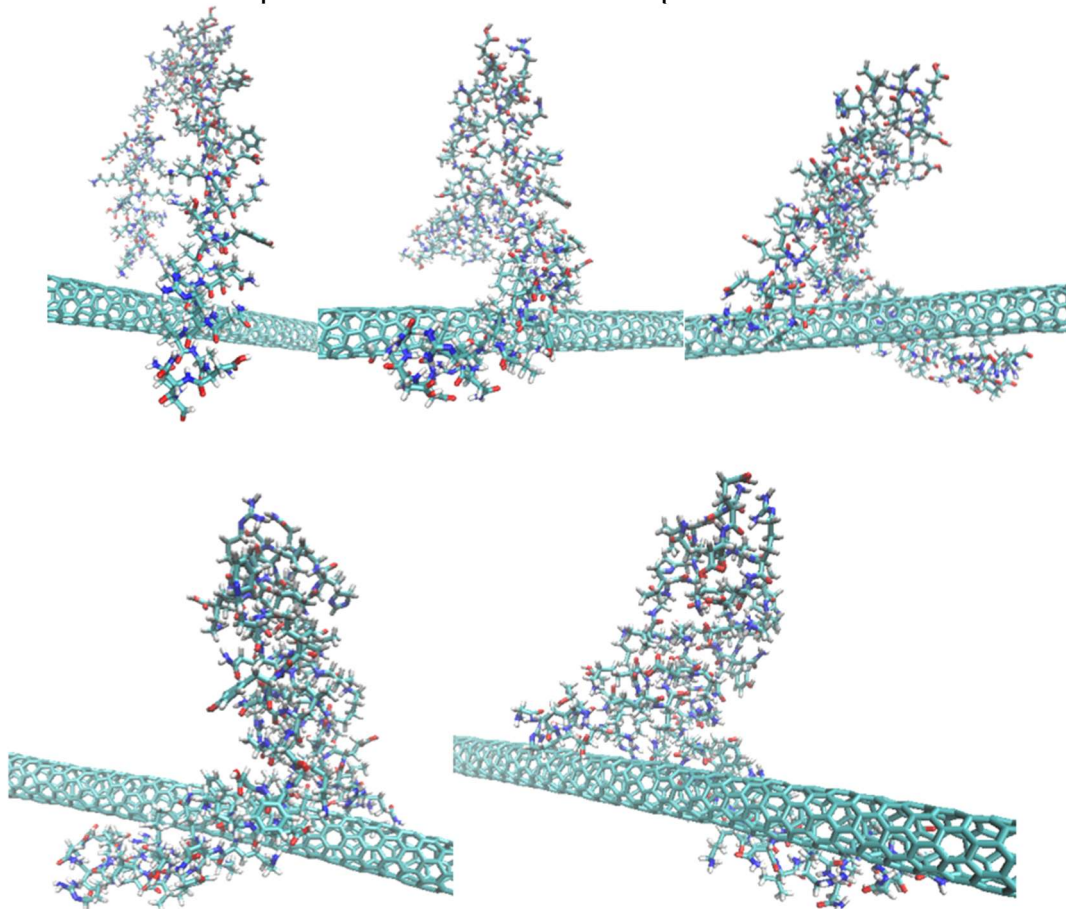
Ao final da simulação, passados 100 ps de dinâmica molecular, a troponina está mais próxima ao nanotubo:

Figura 43 - Sistema troponina-26CNT ao final da dinâmica molecular



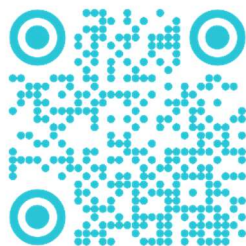
Fonte: De autoria própria.

Figura 44 - Sistema troponina-26CNT a 323K em 5 tempos durante a dinâmica molecular



Fonte: De autoria própria.

Figura 45 - QR Code para o vídeo do sistema tropo-26CNT a 323K.



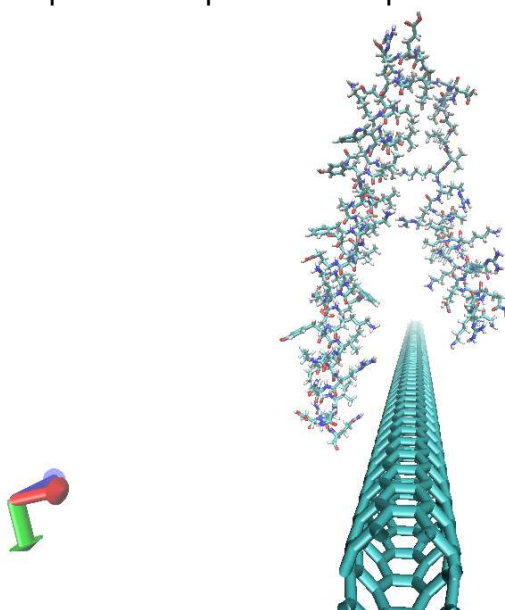
Fonte: De autoria própria.

## 6.6 DINÂMICA MOLECULAR PARA 44CNT A 323K

Nas imagens a seguir, reproduzidas da tela do *software* VMD podemos observar a movimentação da molécula de troponina aproximando e envolvendo o nanotubo de carbono de parede simples com estrutura *armchair*, ou seja, determinada pela quiralidade (4,4), mantendo a temperatura de 323K para realização da simulação por dinâmica molecular.

No início dos cálculos da simulação, o comportamento da interação entre as estruturas, em 0 os é representado como a seguir:

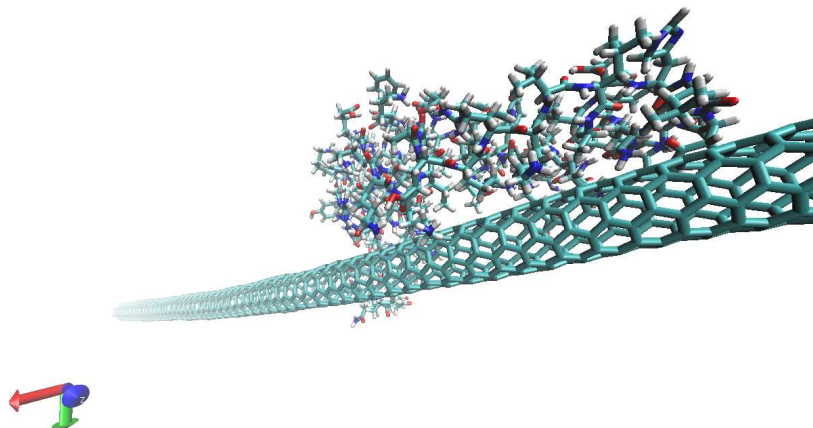
Figura 46 – Complexo tropo-44CNT posicionado para início da dinâmica molecular



Fonte: De autoria própria.

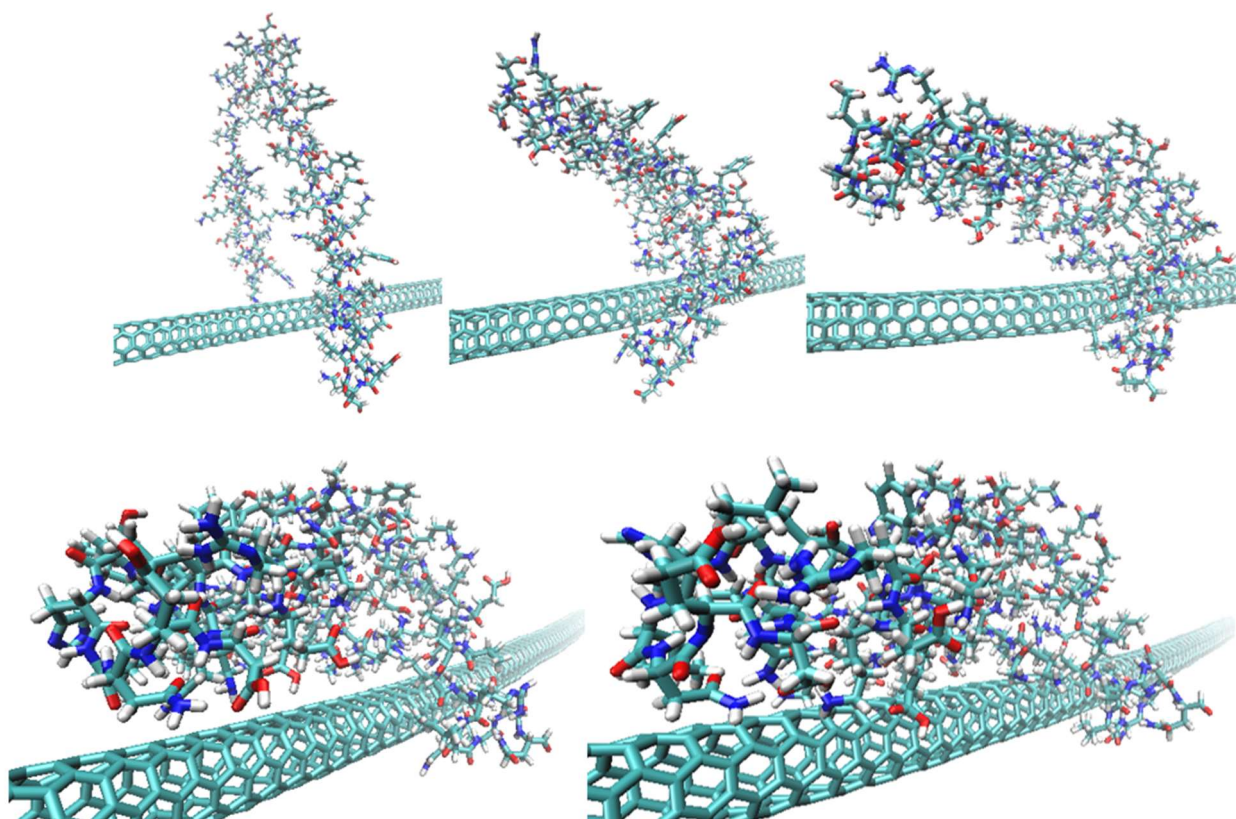
Decorridos 100 ps de dinâmica molecular, tem-se que as estruturas estão dispostas como segue:

Figura 47 – Sistema com troponina e 44CNT decorridos 100 ps de dinâmica molecular a 323K



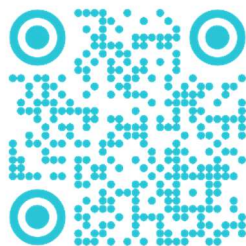
Fonte: De autoria própria.

Figura 48 – 5 diferentes conformações do complexo troponina-44CNT a 323K após 100ps



Fonte: De autoria própria.

Figura 49 – QR Code para vídeo complexo tropo-44CNT a 323K



Fonte: De autoria própria.

## 7 ANÁLISE E DISCUSSÃO

Um biossensor de troponina T é projetado para detectar e medir a presença desta proteína liberada na corrente sanguínea quando há danos ao músculo cardíaco. Esse dispositivo deve ser altamente sensível e específico, permitindo a detecção mesmo em baixas concentrações de certa forma que minimiza falsos positivos causados por outras moléculas. Idealmente, um biossensor deve entregar resultados rapidamente, em poucos minutos, e deve ser compatível com as amostras de sangue ou soro normalmente usadas em ambientes clínicos, sem exigir etapas complexas de preparação da amostra.

No contexto de interações moleculares, especialmente em eventos de ligação entre um elemento de reconhecimento e sua molécula-alvo (como a troponina T), a força de ligação é frequentemente expressa em termos de energia de ligação que é tipicamente medida em unidades de quilocalorias por mol (kcal/mol). Quanto mais alta a energia de ligação indica uma interação mais forte entre as duas estruturas. O nível de energia esperado em termos de energia de ligação pode variar consideravelmente, porém, como forma geral de orientação geral podemos definir três faixas de energia. Logo temos que:

Na faixa considerada de baixa energia, ocorrem as interações mais fracas dentro de uma faixa de aproximadamente 1,0 a 5,0 kcal/mol. Estas interações podem envolver ligações transitórias e/ou mais fracas, tais como ligações dipolo-dipolo e forças de van der Waals.

Na faixa de energia moderada, as interações que são geralmente ficam entre 5,0 e 10,0 kcal/mol. Estes podem incluir ligações de hidrogênio um pouco mais estáveis, interações eletrostáticas ou interações hidrofóbicas moderadamente fortes.

Na terceira faixa, de energias mais altas, as interações são mais fortes, muitas vezes indicam alta afinidade entre estruturas, e ficam acima de 10,0 kcal/mol. Nesta faixa estão as ligações estáveis como ligações fortes de hidrogênio, ligações covalentes e por fim as ligações iônicas com sendo as mais fortes.

A avaliação da força de interação entre um biossensor e a troponina T envolve medir ou estimar as energias de ligação através de métodos experimentais ou

modelagem computacional. Os valores reais de energia de ligação podem ser influenciados por diversos fatores, no entanto é esperado que reproduzam os resultados obtidos neste trabalho.

Com os resultados das dinâmicas moleculares executadas no xTB e fazendo a análise das interações para as estruturas otimizadas no PLIP foi possível obter as imagens, as energias, a conformação do sistema e tipos de interações entre as moléculas. Com a otimização dos parâmetros experimentais, os resultados obtidos foram bastante satisfatórios para o objetivo proposto de mostrar a interação entre as estruturas estudadas. É possível que seja uma alternativa viável com boa sensibilidade de detecção, pouco tempo de diagnóstico do infarto agudo do miocárdio.

## 7.1 SISTEMAS OTIMIZADOS A 298K

A energia de ligação total do sistema simulado é dada pela diferença entre a energia final do sistema simulado subtraída da energia do nanotubo e da energia da troponina:

$$Energia_{Total} = Energia_{sistema} - Energia_{nanotubo} - Energia_{troponina T} \quad (16)$$

Com a simulação, é possível calcular as energias de cada estrutura, a seguir a tabela com os dados:

Tabela 1 - Energia de cada estrutura

Estrutura	Energia
Nanotubo zigzag - 04CNT	-838742,9504 (kcal/mol)
Nanotubo <i>chiral</i> - 26CNT	-1514192,8055 (kcal/mol)
Nanotubo <i>armchair</i> - 44CNT	-1461022,6303 (kcal/mol)
Troponina T	-1237715,2670 (kcal/mol)
tropo-04CNT	-2076580,5485 (kcal/mol)
tropo-26CNT	-2752050,1682 (kcal/mol)
tropo-44CNT	-2698878,1913 (kcal/mol)

Fonte: De autoria própria.

Conhecendo as energias de cada estrutura, é possível calcular a energia de ligação de cada sistema.

$$Energia_{ligação} = Energia_{complexo} - Energia_{nanotubo} - Energia_{troponina T} \quad (17)$$

Os cálculos de dinâmica molecular para o sistema de interação entre troponina T e nanotubo *chiral* (2,6) de carbono com parede simples resultou na maior energia de ligação (*Binding Energy* = -142,0956 kcal/mol) entre todos os sistemas simulados a 298K.

A tabela a seguir contém as energias totais dos sistemas simulados:

Tabela 2 - Energia de ligação

Sistema	Temperatura	Energia de ligação total
tropo-04CNT	289K	-122,3310 (kcal/mol)
tropo-26CNT	289K	-142,0956 (kcal/mol)
tropo-44CNT	289K	-140,2940 (kcal/mol)

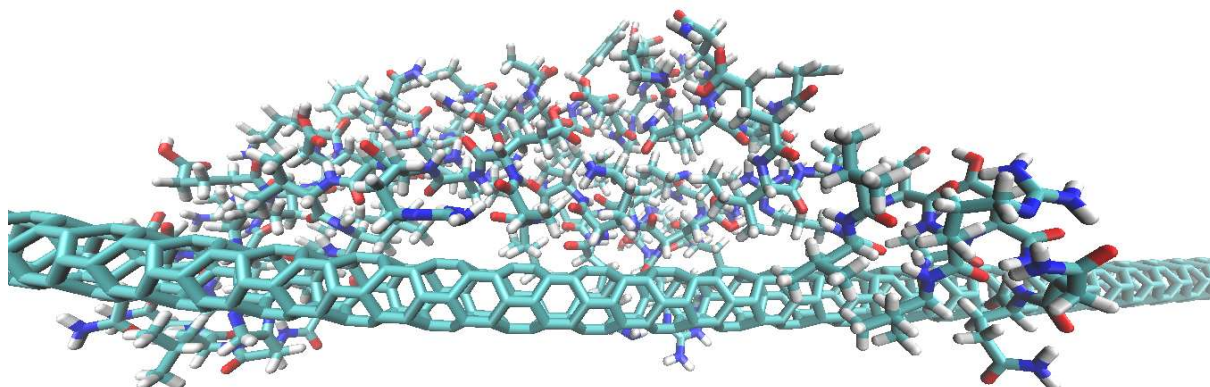
Fonte: De autoria própria.

Observa-se que quando mais negativa for a energia mais favorável é a ligação entre as estruturas, portanto as energias totais confirmam o que é observado nas imagens obtidas no último frame das simulações. Decorridos 100 ps as diferenças são visualmente perceptíveis, ou seja, a aproximação entre troponina T e NTC é mais intensa quando a 298K o nanotubo de carbono tem estrutura *chiral*.

Para melhor ilustrar o resultado dos três sistemas, utilizando a estrutura no último frame, ou seja, em 100 ps de simulação por dinâmica molecular, com as estruturas com geometrias otimizadas e para temperatura em 298K ao final da simulação, para serem comparados. Sobre essas estruturas foram calculadas as energias de ligação e as interações para essas estruturas.

Nanotubo de parede simples estrutura zigzag 04CNT:

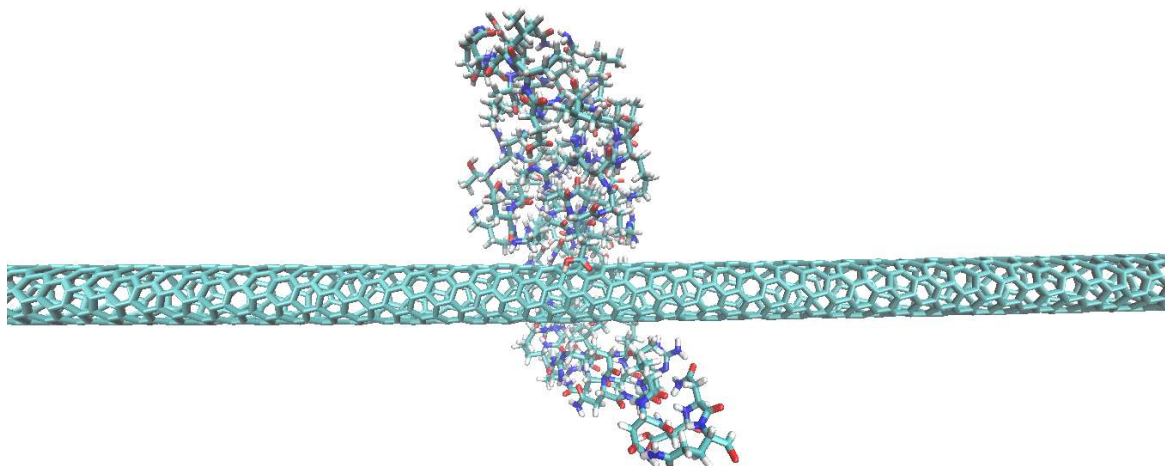
Figura 50 – Troponina com menos concentração e posicionada paralelamente ao nanotubo 04NTC a 298K



Fonte: De autoria própria.

Nanotubo de parede simples estrutura *chiral* 26CNT:

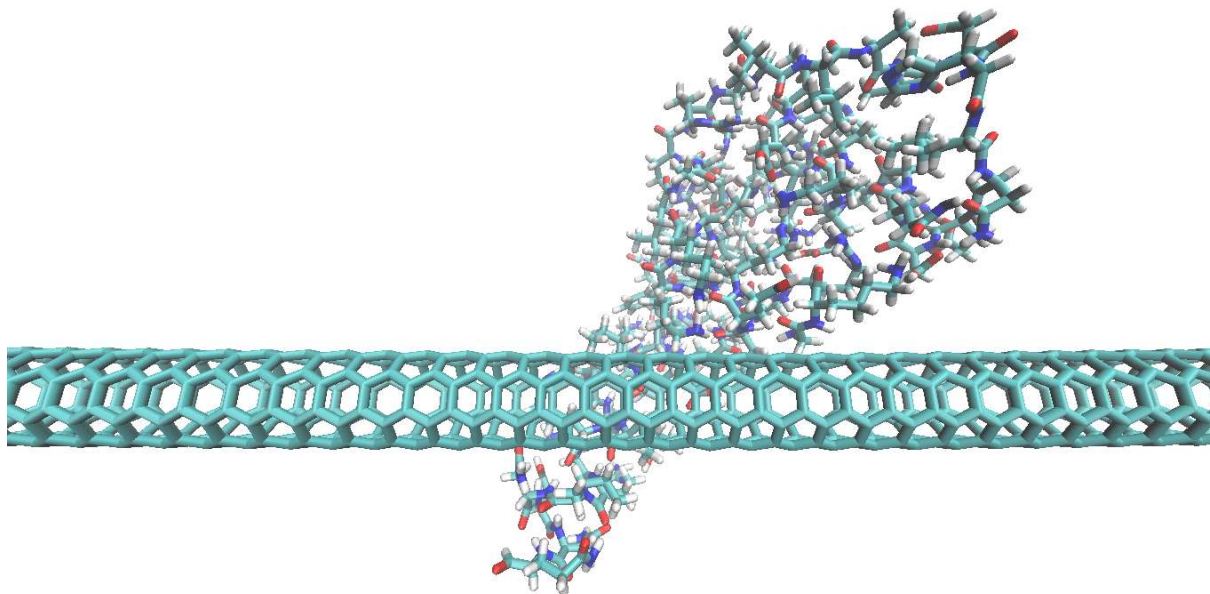
Figura 51 - Troponina concentrada e envolvendo o nanotubo 26CNT perpendicularmente



Fonte: De autoria própria.

Nanotubo de parede simples estrutura *armchair* 44CNT:

Figura 52 - Troponina T posicionada diagonalmente em relação ao nanotubo 44CNT



Fonte: De autoria própria.

Nas simulações para as quais manteve-se a temperatura em 298K é possível perceber pelas imagens acima apresentadas que no sistema com nanotubo *chiral* (tropo-26CNT) o enlace com a molécula de troponina T foi maior. A interação entre as estruturas foi mais intensa de tal forma que se aproximaram mais e o nanotubo foi mais envolvido pela troponina T.

A imagem resultante da DM para o último sistema otimizado (tropo-44CNT) mostra a troponina T condensada ao redor do nanotubo *armchair* (44CNT), mas com ligeira inclinação em relação ao eixo do comprimento no NTC com menor envolvimento. Ao final da simulação, o primeiro sistema (tropo-04CNT), mostra a troponina próxima do nanotubo zigzag (04CNT) e posicionada paralelamente a este, é o sistema otimizado que apresentou menor interação quando comparado aos outros dois sistemas simulados.

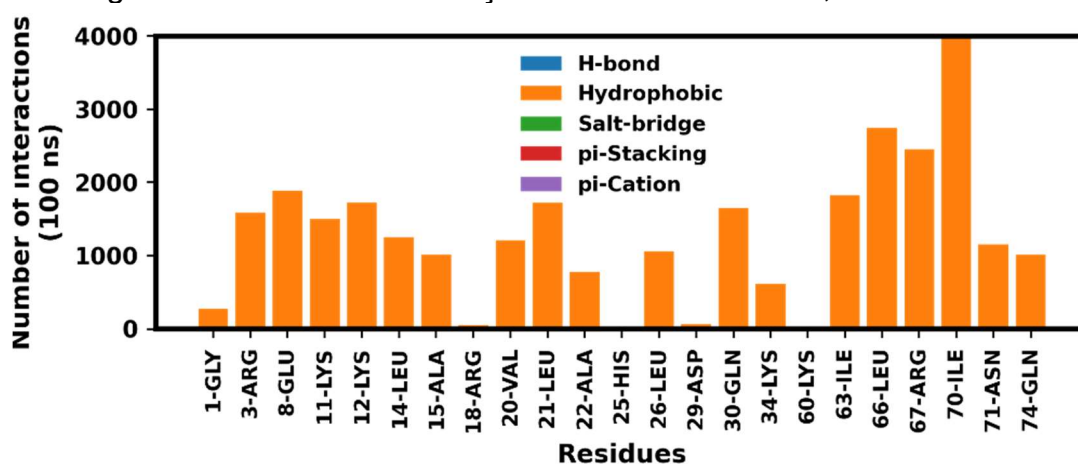
Para calcular as interações moleculares dos sistemas estudados neste trabalho, o *software* utilizado foi o PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*). (Salentin *et al.*, 2015)

Com o *software* citado acima, é possível gerar os gráficos onde são visíveis todos os dados sobre as interações, como tipo, quantidade e resíduos no qual ocorrem. Analisando todas as ligações dos sistemas de nanotubo de carbono zigzag com troponina T, sem otimização, para temperaturas diferentes temos o primeiro

gráfico cujos cálculos foram feitos com temperatura de 298K e o segundo o sistema com temperatura 323K. Ambos os gráficos mostram todas as interações para o tempo total da simulação (100 ps).

Para o sistema troponina T com 04CNT a 298K temos que ocorreram até 4.000 interações em uma única molécula da troponina (resíduo 70-ILE). Nota-se que no sistema não otimizado, apenas interações hidrofóbicas foram detectadas, logo não há muitos dados a serem confrontados. Tal fato incentiva a realização da otimização com intenção de produzir mais dados a serem analisados.

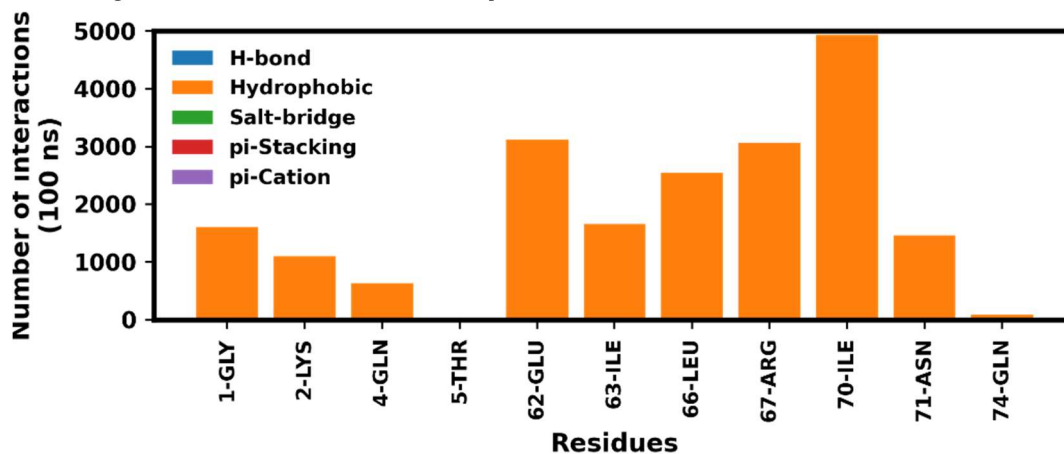
Figura 53 - Gráfico de interações no sistema a 298K, não otimizado



Fonte: De autoria própria.

Para o sistema troponina T associado ao nanotubo de parede simples com estrutura zigzag a 323K temos que ocorreram até 5.000 interações em uma única molécula da troponina (resíduo 70-ILE). Semelhante ao que ocorre no gráfico acima nota-se que, para o sistema não otimizado, apenas interações Hidrofóbicas foram detectadas tanto a 323K quanto a 298K.

Figura 54 - Gráfico de interações no sistema a 323K, não otimizado

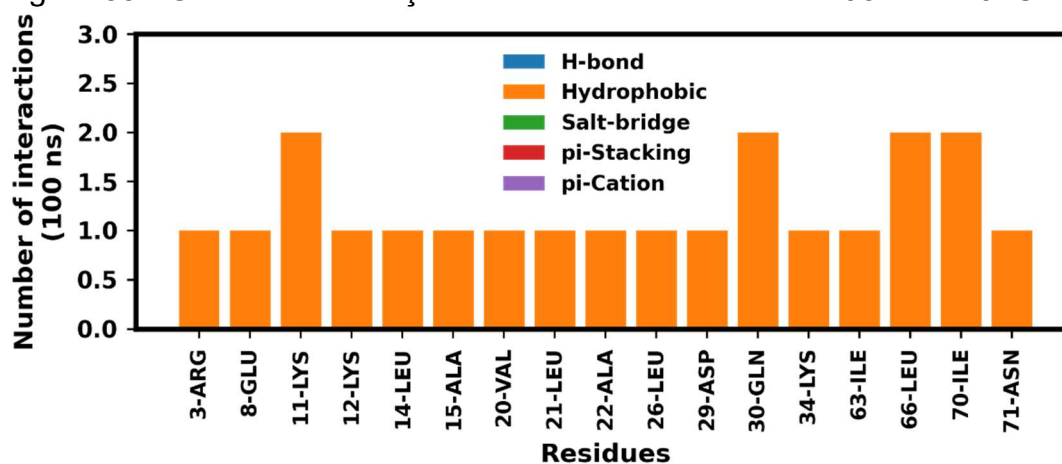


Fonte: De autoria própria.

Em um segundo passo, com intuito de refinar o estudo, os sistemas foram otimizados. E, a partir desta premissa, novos gráficos foram gerados no PLIP. Como resultado da simulação com as estruturas otimizadas para temperatura de 298K, tem-se as informações sobre as interações no último frame, ou seja, após 100 ps de dinâmica molecular.

Com isso, para o sistema troponina T com 04CNT a 298K temos que no frame final da simulação (100 ps), ocorre no máximo 2 interações hidrofóbicas entre a molécula da troponina e o nanotubo, sendo que duas ligações são observadas somente nos resíduos 11-LYS, 30-GLN, 66-LEU e 70-ILE.

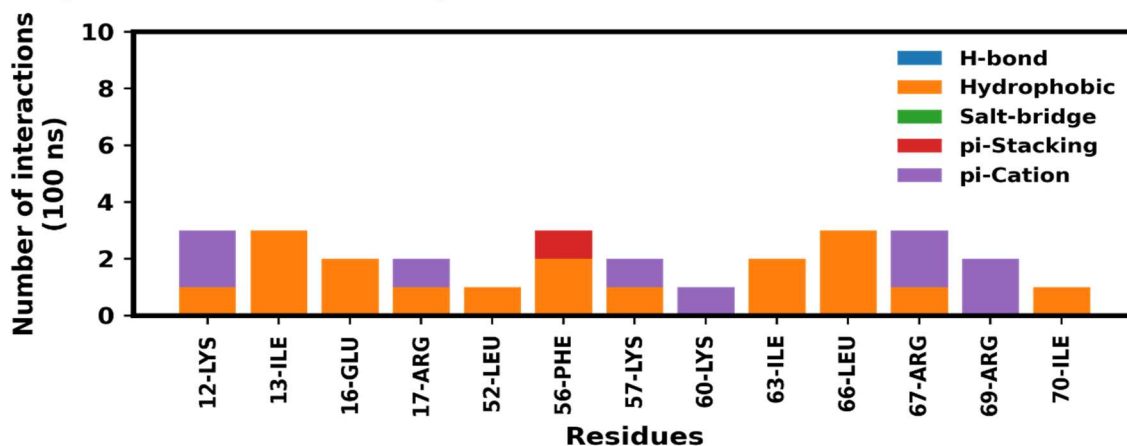
Figura 55 - Gráfico de interações em sistema otimizado a 298K com 04CNT



Fonte: De autoria própria.

Para o sistema troponina T com 26CNT a 298K temos que no frame final da simulação aconteceu, no máximo, 3 interações. É importante salientar que além das hidrofóbicas, aparecem ligações mais fortes como as interações  $\pi$ -cátion e  $\pi$ -stacking. No resíduo 56-PHE aparece uma interação  $\pi$ -stacking junto com duas interações hidrofóbicas, nos resíduos 12-LYS e 67-ARG são duas interações  $\pi$ -cátion junto de uma interação hidrofóbica. Na molécula 69-ARG observa-se duas interações  $\pi$ -cátion.

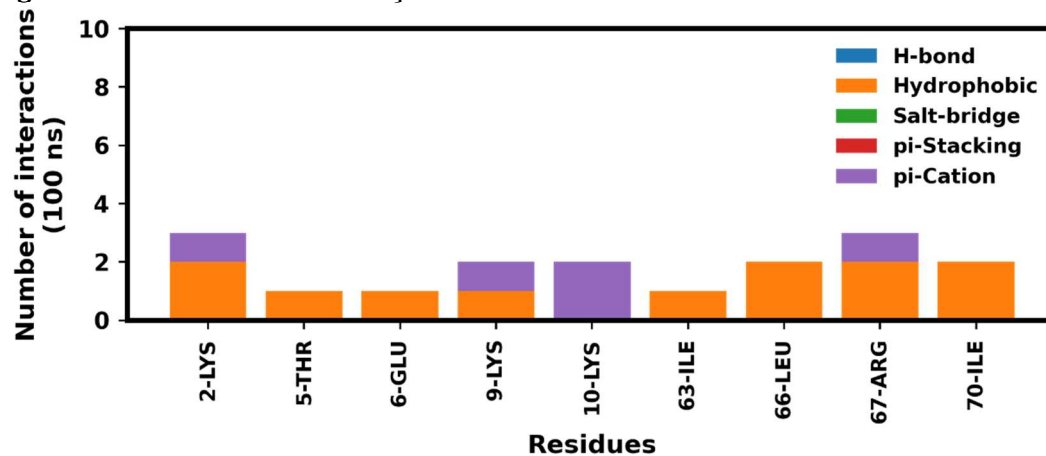
Figura 56 - Gráfico de interações em sistema otimizado a 298K com 26CNT



Fonte: De autoria própria.

No gráfico a seguir é possível notar que para o sistema troponina T com 44CNT a 298K existem apenas 2 tipos de interações entre moléculas da troponina e o nanotubo de carbono. Nesse caso, no frame final da simulação, a quantidade máxima de interações não passou de 3 ocorrências. Nas moléculas 2-LYS e 67-ARG ocorreu uma interação  $\pi$ -cátion juntamente de duas interações hidrofóbicas, e no resíduo 10-LYS foram somente duas interações  $\pi$ -cátion.

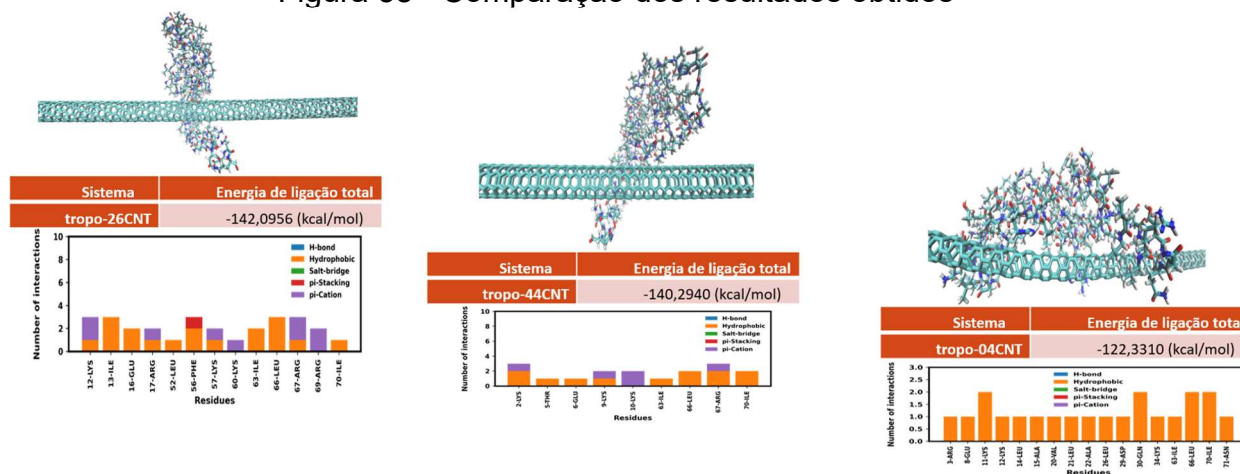
Figura 57 - Gráfico de interações em sistema otimizado a 298K com 44CNT



Fonte: De autoria própria.

Reforçando o resultado de energia total e a observação visual da dinâmica molecular, os gráficos gerados no PLIP demonstram que o sistema com nanotubo de carbono tipo *chiral* (26CNT), lado esquerdo da Figura 58, tem maior quantidade e tipos diversos de ligações (*pi-stacking*, *pi-cation* e hidrofóbica). No centro da Figura 58, observa-se que o sistema *armchair* (44CNT), resultou em 3 interações variando entre os tipos  $\pi$ -cátion e hidrofóbica. Enquanto o sistema com nanotubo zigzag (04CNT) apresentou somente duas ligações e apenas interações hidrofóbicas, lado direito da Figura 58.

Figura 58 - Comparação dos resultados obtidos



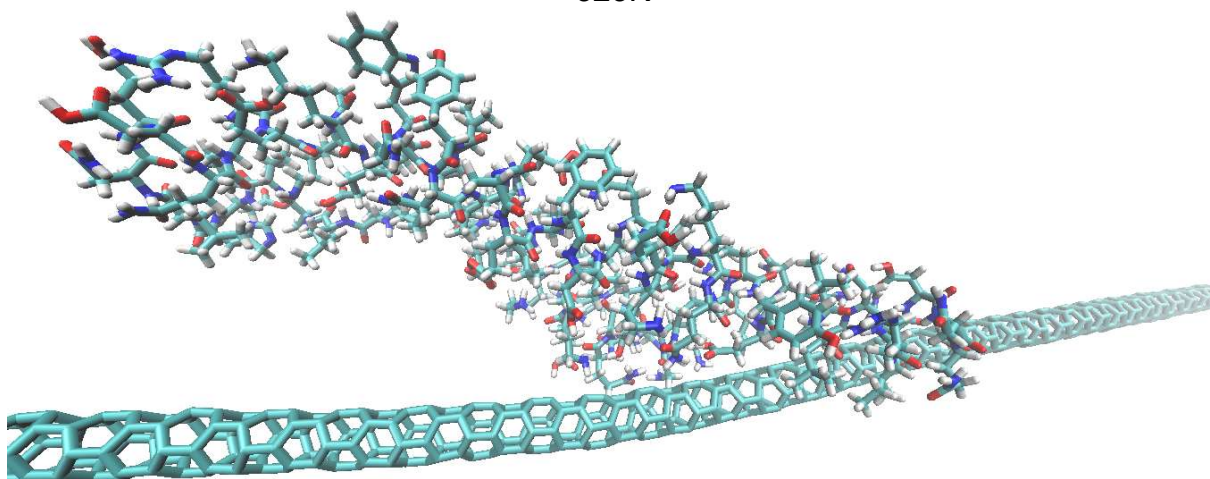
Fonte: De autoria própria.

## 7.2 SISTEMAS OTIMIZADOS A 323K

Os sistemas estudados têm entre 2000 e 2500 átomos, portanto são sistemas grandes e que demandam muito tempo para conclusão das simulações mesmo para centros computacionais utilizando computadores com alto poder de processamento. No entanto, por motivos, até o momento, desconhecidos, a análise das interações para todo o tempo de simulação (100 ps), não é executada pelo *software* PLIP. Mesmo após dias de execução que não mantém a sequência nos cálculos e o processamento trava sem gerar resultados.

Fazendo comparação dos três sistemas a 323K temos que, para a quiralidade 0,4 (nanotubo de carbono de parede simples estrutura zigzag) a troponina se aproxima do nanotubo, não se condensa tanto e fica posicionada paralelamente comprimento do nanotubo. Situação que pode ser observada na imagem a seguir:

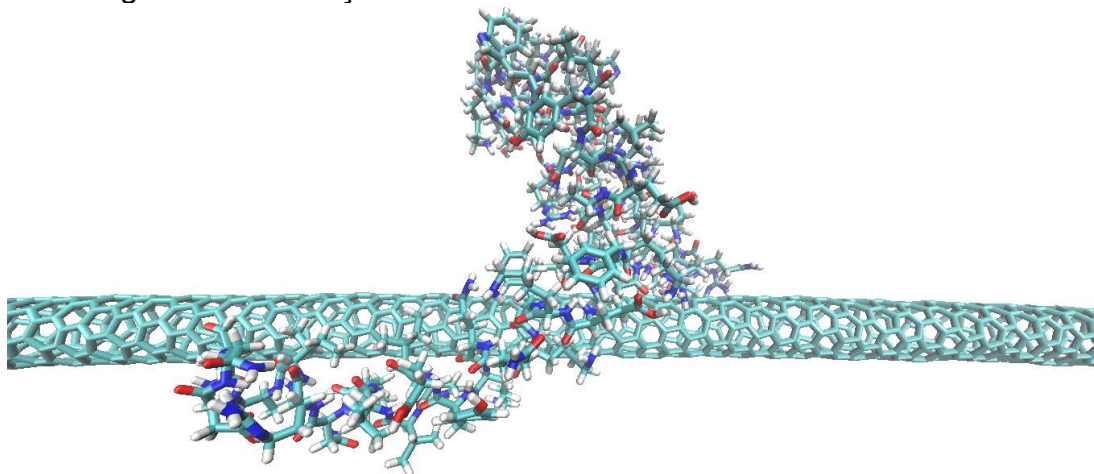
Figura 59 - Interação entre troponina T e nanotubo 04CNT, com sistema otimizado a 323K



Fonte: De autoria própria.

No NTC tipo *chiral* (26CNT) a troponina envolve o nanotubo quase integralmente no sentido da circunferência, porém também se espalha ao longo do comprimento no nanotubo de carbono, conforme pode ser observado na imagem abaixo:

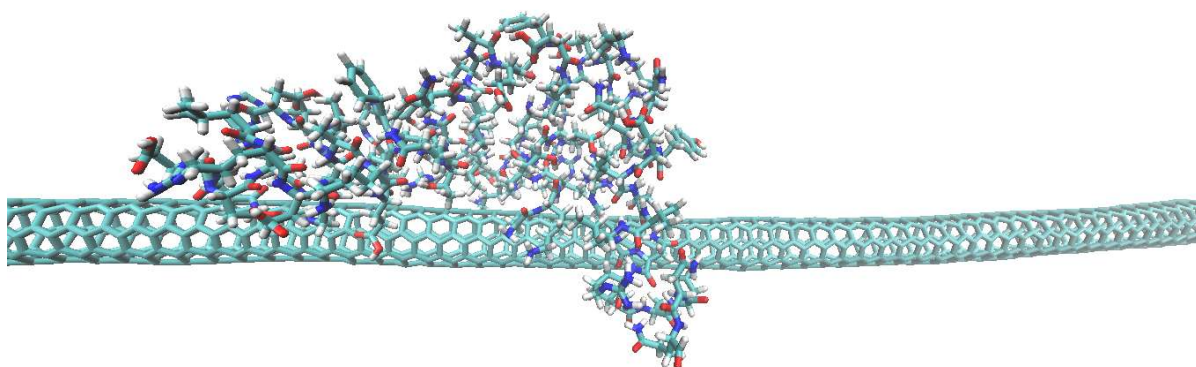
Figura 60 - Interações em sistema otimizado a 323K com 26CNT



Fonte: De autoria própria.

No nanotubo de carbono tipo *armchair* (44CNT) a 323K, percebe-se na molécula de troponina aproxima-se do nanotubo apresentando-se mais condensada em relação aos 2 sistemas anteriores, apresentados acima. A molécula de troponina T ficou condensada, situando-se paralelamente ao comprimento do nanotubo de carbono, fato que é facilmente observado na imagem abaixo.

Figura 61 - Interações em sistema otimizado a 323K com 44CNTnanotubo *armchair*



Fonte: De autoria própria.

## 8 CONCLUSÃO

As questões relativas aos problemas cardíacos são amplamente discutidas em diversas áreas, muitas pesquisas buscam soluções que possam melhorar a saúde, os cuidados e tratamentos de pacientes com tais injúrias.

Como apresentado, neste estudo obtivemos uma energia de ligação total de 142,0956kcal/mol a qual é indicativa de uma interação muito forte entre as moléculas das estruturas dos nanotubos de carbono e da troponina T. A magnitude desta energia de ligação sugere uma associação robusta e estável com ligações *pi-stacking*, *pi-cation* e interações hidrofóbicas.

Portanto, os resultados do presente estudo mostram grande potencial de interação entre troponina T e nanotubo *chiral* (2,6) de carbono com parede simples a 298K. A alta energia de ligação e os tipos de interações mais fortes indicam tendência de aproximação entre as moléculas deste sistema.

Por outro norte, o aumento da temperatura do sistema para 323K provocou diferente resultado, sugerindo que o sistema com nanotubo *armchair* apresenta mais atração intermolecular, o que poderá ser comprovado com a obtenção da energia de interação e dos tipos de ligações intermoleculares. A realização de simulações com sistemas otimizados considerando a temperatura de 323K e a obtenção de resultados dos cálculos das interações para todas as temperaturas durante a dinâmica molecular podem trazer dados complementares relevantes.

Dentre outras sugestões, estudar as condições de interação utilização de nanotubos de carbono de parede simples (NTCPS) funcionalizados com agrupamentos orgânicos carboxila (*SWCNT-COOH*) e hidroxila (*SWCNT-OH*), pode gerar bons resultados de energia de ligação com troponina T. A interação entre a troponina T e nanomateriais funcionalizados pode ser examinada dentro de uma matriz biológica mais complexa e um ambiente mais realista, como o soro sanguíneo.

Também é possível optar pela realização de testes laboratoriais utilizando nanotubos de carbonos, há empresas que produzem e comercializam nanotubos de acordo com a estrutura, dimensões e materiais determinados. No ano deste trabalho, o valor de cada grama de nanotubos de carbono de parede simples é comercializada por, aproximadamente, 250 dólares americanos, tais são condições não impeditivas.

É importante indicar que outros nanomateriais podem ser estudados como biossensores para detectar a troponina T. Os materiais à base de grafeno que com propriedades elétricas, mecânicas e estruturais os tornam promissores para aplicações de biossensores. Outro ponto interessante é a utilização de nanopartículas de ouro (AuNP) na construção de biossensores que vem sendo vastamente reportada na literatura que descreve, entre várias vantagens, o aumento da sensibilidade e a facilidade de transferência de elétrons. Apesar da complexidade de sintetização para simulação dos nanoestruturas com esse material, é interessante investir em estudos com nanotubos (Au nanotubes), nanosespigas (Au nanopikes), nanofitas (Au nanoribbon) e com nanoestrelas (Au nanostars).

## REFERÊNCIAS

- ACHAR, S. A.; KUNDU, S.; NORCROSS, W. A. Diagnosis of acute coronary syndrome. **American Family Physician**, v. 72, n. 01, p. 119-126, 2005.
- ANTMAN, E. M. Decision making with cardiac troponin tests. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 26, p. 2079–2082, 2002.
- ASKELAND, R. R.; WRIGHT W. J. **Ciência e Engenharia dos Materiais**. Tradução da 3ª Edição Norte-Americana. São Paulo: Cengage, 2015.
- BARATAS MORENO, Juan Antonio. **Textiles conductores de algodón con nanotubos de carbono**. Tutor: Javier Pozuelo de Diego. 2014. 54 f. Trabajo Fin de Grado (Grado en Ingeniería Mecánica) - Escuela Politécnica superior, Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, 2014. Disponível em: [https://e-archivo.uc3m.es/bitstream/handle/10016/26629/TFG\\_Juan\\_Antonio\\_Baratas\\_Moreno.pdf](https://e-archivo.uc3m.es/bitstream/handle/10016/26629/TFG_Juan_Antonio_Baratas_Moreno.pdf). Acesso em: 16 jan. 2021.
- BASSAN, R.; PIMENTA, L.; LEÃES, P. E.; TIMERMAN, A. Sociedade Brasileira de Cardiologia – I Diretriz de dor torácica na sala de emergência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, supl. II, p.1, 2002.
- BASTOS, M. **Modelagem computacional de nanotubos de carbono como nanofiltros e nanosensores para controle ambiental: um estudo de primeiros princípios**. 2013.114 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2013.
- BASTOS, M.; CAMPS, I. Interactions of lead with carboxyl and hydroxyl-decorated(10, 0) single-walled carbon nanotubes: First-principle calculations. **Applied Surface Science**, v. 285, p. 198–204, 2013.
- BBC. Global markets and technologies for carbon nanotubes. Nanotechnology. **BCC Publishing**, Boston, NAN024F, p. 1-476, 2015.
- BORN, M.; OPPENHEIMER, R. Zur Quantentheorie der Molekeln. **Annalen der Physik**, v. 389, n. 20, p. 457-484, 1927.
- CHAROENPAKDEE, J.; SUNTIJITRUNGRUANG, O.; BOONCHUI, S. Chirality effects on an electron transport in single-walled carbon nanotube. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.
- CHONG, S. M.; JIN, J.-P. to investigate protein evolution by detecting suppressed epitope structures. **Journal of molecular evolution**, v. 68, n. 5, p. 448-460, 2009.
- CUREM. **Troponina aumentada é sinônimo de infarto agudo do miocárdio?**. 2021. Disponível em: <https://blog.curem.com.br/topicos/cardiologia/troponina-aumentada-e-sinonimo-de-infarto-agudo-do-miocardio/>. Acesso em: 21 fev. 2022.

DEWDNEY, A. K. Nanotechnology: Wherein molecular computers control tiny circulatory submarines. **Scientific American**, v. 258, p. 100-103, 1988.

DHINGRA, R.; VASAN, R. S. Biomarkers in cardiovascular disease: Statistical assessment and section on key novel heart failure biomarkers. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 27, n. 2, p. 123–133, 2017.

DOUGHERTY, D. A. The cation- $\pi$  interaction. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, n. 4, p. 885–893, 2013.

DRESSELHAUS, M.; DRESSELHAUS, G.; AVOURIS, P. **Carbon nanotubes: synthesis, structure, properties and applications**. Heidelberg: Springer, 2001.

DREXLER, K. E. **Engines of creation : The coming era of nanotechnology**. Doubleday: Anchor Press, 1986.

GARG, P. MORRIS, P. FAZLANIE A.L., VIJAYAN S., DACO B., DASTIDAR, A.G., PLEIN, S. MUELLER, C., HAALF, P. Cardiac biomarkers of acute coronary syndrome: from history to high-sensitivity cardiac troponin. **Internal and Emergency Medicine**, v. 12, n. 2, p. 147–155, 2017.

GAUS, M.; CUI, Q.; ELSTNER, M. DFTB3: Extension of the self-consistent-charge density-functional tight-binding method (SCC-DFTB). **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 4, p. 931–948, 2012.

GONÇALVES, R. D. **Propriedades estruturais e eletrônicas de nanotubos e nanofitas BxCyNz: um estudo por primeiros princípios**. 2013. 105 f. Tese (Doutorado em Física) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

GORDON, A. M.; HOMSHER, E.; REGNIER, M. Regulation of Contraction in Striated Muscle. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 2, p. 853–924, 2000.

GUNG, B. W.; AMICANGELO, J. C. Substituent effects in C<sub>6</sub>F<sub>6</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>X stacking interactions. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 25, p. 9261–9270, 2006.

HERKNER, H. *et al.* Clinical application of rapid quantitative determination of cardiac troponin-T in an emergency department setting. **Resuscitation**, v. 49, n. 3, p. 259–264, 2001.

IJIMA, S. Synthesis of Carbon Nanotubes. **Nature**, v. 354, p. 56-58, 1991.

JIN, J.-P.; ZHANG, Z.; BAUTISTA, J. A. Isoform diversity, regulation, and functional adaptation of troponin and calponin. **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**, v. 18, n. 2, p. 93–124, 2008.

- JUBETE, E. *et al.* Nanotechnology: A tool for improved performance on electrochemical screen-printed (bio)sensors. **Journal of Sensors**, v. 2009, p. e842575, 2009.
- KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Berne & Levy: fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
- KARP, G. **Cell and molecular biology**. 1. ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 1996.
- KASZYNSKI, P.; MICHL, J. [n]Staffanes: a molecular-size “tinkertoy” construction set for nanotechnology. preparation of end-functionalized telomers and a polymer of [1.1.1]propellane. **Journal of the American Chemical Society**, v. 110, n. 15, p. 5225–5226, 1988.
- LAURINDO, F.R.M. *et al.* Protein disulfide isomerase plasma levels in healthy humans reveal proteomic signatures involved in contrasting endothelial phenotypes. **Redox biology**, v. 22, 2019.
- LIU, G.; LIN, Y. Nanomaterial labels in electrochemical immunosensors and immunoassays. **Talanta**, v. 74, n. 3, p. 308-317, 2007.
- MANCINI, A. L. *et al.* STING Contacts: a web-based application for identification and analysis of amino acid contacts within protein structure and across protein interfaces. **Bioinformatics**. Oxford, England, v. 20, n. 13, p. 2145–2147, 2004.
- MIRANDA, M. R.; LIMA, L. M. Marcadores bioquímicos do infarto agudo do miocárdio. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 24.1, 2012.
- MITTMANN, K.; JAQUET, K.; HEILMEYER, L. M. A common motif of two adjacent phosphoserines in bovine, rabbit and human cardiac troponin I. **FEBS letters**, v. 273, n. 1–2, p. 41–45, 1990.
- NAMBA, A. M.; SILVA, V. B. DA; SILVA, C. H. T. P. DA. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Química**, v. 33, p. 13 - 24, 2008.
- NEWELL, J. **Fundamentos da Moderna Engenharia e Ciência dos Materiais**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC. 2010. 316p.
- NEWTON, I.; STREATER, J.; BURNDY LIBRARY, DONOR D. **Philosophiae naturalis principia mathematica**. Londini : Jussu Societatis Regiae ac Typis Josephi Streater. Prostat *apud* plures bibliopolas, 1687. 510p.
- NICOLET CZ. **Carbon nanoapplications**, 2021. Disponível em: <https://nicoletcz.cz/en/solutions/science-research-education/carbon-nano-applications/>. Acesso em: 22 jan. 2022.
- OBERLIN, A.; ENDO, M.; KOYAMA, T. Filamentous growth of carbon through benzene decomposition. **Journal of Crystal Growth**, v. 32, p. 335–349, 1976.

OPAS/OMS. **Doenças cardiovasculares continuam sendo principal causa de morte nas Américas**. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/29-9-2021-doencas-cardiovasculares-continuam-sendo-principal-causa-morte-nas-americas>. Acesso em: 02 jan. 2022.

OPAS/OMS. **OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019**. 2020 Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>. Acesso em: 27 mar. 2021

O'CONNELL, M. **Carbon nanotubes: properties and applications**. 1. ed. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2006. 360 p.

PERRY, S. V. Troponin I: inhibitor or facilitator. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 190, n. 1–2, p. 9–32, 1999.

PESARO, A. E. P.; SERRANO JR., C. V.; NICOLAU, J. C. Infarto agudo do miocárdio: síndrome coronariana aguda com supradesnível do segmento ST. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 2, p. 214–220, 2004.

PIEGAS, L. *et al.* V Diretriz da sociedade brasileira de cardiologia sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento st. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 105, n. 2, 2015.

PLEBANI, M.; ZANINOTTO, M. Cardiac markers: present and future. **International Journal of Clinical & Laboratory Research**, v. 29, n. 2, p. 56–63, 1999.

RADUSHKEVICH, L.V.; LUKYANOVICH, V.M. About the structure of carbon formed by thermal decomposition of carbon monoxide on iron substrate. **Russian Journal of Physical Chemistry**. V.26, p88-95, 1952.

RANDALL, D.; FEATHER, A. **Clinical Medicine: A Clerking Companion**. 1. ed. Oxford: Oxford University Press, 2011. 432 p.

RAWN, J. D. **Biochemistry**. Burlington: Neil Patterson Publishers, 1989. 1105 p.

RINO, J. P.; STUDART, N. Um potencial de interação para o estudo de materiais e simulações por dinâmica molecular. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 838–845, 2001.

SALAZAR-GARCÍA, D.; SILVA-PINTO, V. **Isótopos en la Prehistoria y Arqueología Valencianas**. Saguntum. v. Extra-19. p. 75-91, 2017.

SALENTIN, S. *et al.* PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. W1, p. W443-447, 2015.

SARKO, J.; POLLACK, C. V. Cardiac troponins. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 23, n. 1, p. 57–65, 2002.

SCIRICA, B. M.; MORROW, D. A. Troponins in acute coronary syndromes. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 47, n. 3, p. 177-188, 2004.

SCHULZ, P. A. Seção especial - Celebrando os 100 anos de nascimento de Richard P. Feynman. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, .v. 40, n. 4, e. 4129, Limeira, 2018.

SPICHER, S.; GRIMME, S. Robust Atomistic Modeling of Materials, Organometallic, and Biochemical Systems. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 59, n. 36, p. 15665–15673, 2020.

SUN, Y.-P.; Fu, K.; Lin, Y.; HUANG, W. Functionalized Carbon Nanotubes: Properties and Applications. **Accounts of Chemical Research**, v. 35, n. 12, p. 1096–1104, 2002.

SWANLJUNG-COLLINS, H.; COLLINS, J. H. Ca<sup>2+</sup> stimulates the Mg<sup>2+</sup>(+)-ATPase activity of brush border myosin I with three or four calmodulin light chains but inhibits with less than two bound. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 2, p. 1312–1319, 1991.

TOBACMAN, L. S. Thin filament-mediated regulation of cardiac contraction. **Annual Review of Physiology**, v. 58, p. 447-481, 1996.

UNIFAL. **Tecido Muscular** - Histologia Interativa, 2022. Disponível em: <https://www.unifal-mg.edu.br/histologiainterativa/tecido-muscular/>. Acesso em: 20 dez. 2022

VALIM, P. **Alotropia** - Ciência em ação, 2021. Disponível em: <https://cienciaemacao.com.br/alotropia/>. Acesso em 17 nov. 2021

WINSBERG, E. Simulated Experiments: Methodology for a Virtual World. **Philosophy of Science**, v. 70, n. 1, p. 105–125, 2003.

YUN, Y.; DONG, Z; SHANOV, V.; HEINEMAN, W. R.; HALSALL, H. B.; BHATTACHARYA, A.; CONFORTI, L.; NARAYAN, R.; BALL, W.; SCHULZ, M. Nanotube electrodes and biosensors. **Nano Today**, v. 2, n. 6, p. 30–37, 2007.