



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Parametrização e validação da quitosana no campo de força
OPLS-AA para caracterizar a remoção de íons fosfato**

Lourival Rodrigues de Sousa Neto

UBERLÂNDIA-MG

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO

**Parametrização e validação da quitosana no campo de força
OPLS-AA para caracterizar a remoção de íons fosfato**

Dissertação de mestrado apresentada à
coordenação do Curso de Pós Graduação
em Química, como parte dos requisitos
para obtenção do Título de MESTRE EM
QUÍMICA
Área de Concentração: Físico-Química

Orientador: Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

UBERLÂNDIA-MG
2018



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 279/PPQUI.

DATA: 23/02/2018

DISCENTE: Lourival Rodrigues de Sousa Neto

MATRÍCULA: 11612QMI008

TÍTULO DO TRABALHO: Parametrização e validação do campo de força OPLSAA para a quitina e quitosana para caracterizar a remoção de íons fosfato.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Ciência de Materiais: Química do Estado Sólido

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Controle molecular na descontaminação ambiental e criação de produtos biotecnológicos utilizando nanopartículas de quitosana e complexos metálicos

Às quatorze horas do dia vinte e três de fevereiro do ano dois mil e dezoito, no(a) Auditório Prof. Dr. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones, piso superior do Bloco 5I no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof. Dr. Fábio Augusto do Amaral, Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Dr. Osmair Vital de Oliveira, Instituto Federal de São Paulo e Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

PARAMETRIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA QUITOSANA
NO CAMPO DE FORÇA OPLSAA PARA CARACTERIZAR
A REMOÇÃO DE ÍONS FOSFATO

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Fábio Augusto do Amaral

Prof. Dr. Osmair Vital de Oliveira

Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S725p
2018

Sousa Neto, Lourival Rodrigues de, 1989-
Parametrização e validação da quitosana no campo de força OPLS-
AA para caracterizar a remoção de íons fosfato [recurso eletrônico] /
Lourival Rodrigues de Sousa Neto. - 2018.

Orientador: Eduardo de Faria Franca.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.1173>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. 2. Quitina. 3. Quitosana. 4. Dinâmica molecular. I.
Franca, Eduardo de Faria, (Orient.) II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Maria Salete de Freitas Pinheiro - CRB6/1262

O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca, pois sem a sua orientação esse trabalho não seria possível de ser realizado. Eu tenho gratidão eterna por ele que além de orientador é meu amigo.

A CAPES por me fornecer o auxílio financeiro através da bolsa de mestrado.

A FAPEMIG por auxílio financeiro em congressos o que facilitou o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, principalmente ao mestre Roberto Ribeiro Faria, ao mestre Renan Faria Guerra e ao Dr. Moacir Ferreira Junior que sempre me ajudaram bastante.

A Universidade Federal de Uberlândia que por meio dela eu consegui suporte estrutural e financeiro para desenvolver meus estudos desde a graduação até o fim do meu mestrado. Não poderia faltar os agradecimentos ao instituto de química, ao programa de pós graduação em química e aos professores do instituto que tanto contribuíram pra minha formação.

A toda minha família (pais, irmãos, tios (as), primos (as) e etc) principalmente à minha mãe por ter me gerado e cuidado de mim por toda a minha vida. Aos meus avós por várias vezes terem sido a minha base.

Aos meus professores do ensino básico por contribuírem muito pra que eu pudesse chegar até aqui.

A minha namorada Marcela por sempre me incentivar, ser minha amiga e me ouvir nas horas que precisei.

Resumo

O presente trabalho consiste na Parametrização e validação da quitosana no campo de força OPLS-AA (*do inglês, Optimized Potentials for Liquid Simulations All Atoms*) para caracterizar a remoção de íons fosfato. A reparametrização da quitosana no OPLS-AA foi ajustada de acordo com os parâmetros já validados na literatura para o campo de força GROMOS53a6. As cargas RESP foram obtidas usando a metodologia HF (Hartree-Fock) e função de base 6-31G* usando o programa NWCHEM 5.1. Após a inserção dos parâmetros de topologia (ligações químicas, ângulos, ângulos diedrais e cargas) terem sido adicionados no OPLS-AA foram realizadas simulações com a quitosana no vácuo e em solução aquosa para a validação dos novos parâmetros topológicos. Assim sendo, a quitosana foi validada com base nos resultados energéticos e estruturais obtidos nos 2 sistemas. Em seguida foi modelado a adsorção de fosfato por quitosana utilizando os cálculos de dinâmica molecular para elucidar as interações do biopolímero com o(s) íon(s). Os cálculos por dinâmica molecular mostraram a ocorrência de interações íon dipolo do fosfato com o grupo hidroxila da quitosana. Em seguida foram obtidos dados fora do equilíbrio para a interação específica entre o fosfato e os grupos interagentes da quitosana através do potencial de força média (PMF) utilizando a metodologia Umbrella Sampling em solução aquosa contendo 1 fosfato, 1 decâmero de quitosana e cloreto de sódio Afim de analisar possíveis eventos moleculares ignorados pela Dinâmica molecular . Os resultados da aplicação desta metodologia mostraram que além da interação com a hidroxila (resultados obtidos por dinâmica molecular), os grupos amino protonados da quitosana também formaram interações íon-dipolo com o íon fosfato. Sendo assim, as interações entre a quitosana e o fosfato foram caracterizadas no campo de força OPLS-AA e o seu potencial como quelante de íons *fosfato* para o tratamento da hiperfosfatemia foi confirmado.

Palavras chaves: *Parametrização, validação, Quitosana, dinâmica molecular, Umbrella Sampling , adsorção, fosfato e hiperfosfatemia.*

Abstract

The present work consists of the parametrization and validation of chitosan in the OPLS-AA (Optimized Potentials for Liquid Simulations all atoms) force field of force to characterize the removal of phosphate ions. The reparametrization of the chitosan in the OPLS-AA was adjusted according to parameters already validated in the literature for the GROMOS53a6 (Groningen Molecular Simulation) force field. The RESP loads were obtained using the HF (Hartree-Fock) methodology and the 6-31G * base function using the NWCHEM 5.1 program. After insertion of the topology parameters (chemical bonds, angles, dihedral angles and charges) were added in the OPLS-AA simulations were performed with chitosan in vacuum and in aqueous solution for the validation of the new topological parameters. Thus, chitosan was validated based on the energy and structural results obtained in the two systems. Then the phosphate adsorption by chitosan was modeled using molecular dynamics calculations to elucidate the interactions of the biopolymer with the ion (s). Molecular dynamics calculations showed the occurrence of dipole ion interactions of the phosphate with the hydroxyl group of chitosan. Afterwards the data were out of balance for the specific interaction between the phosphate and the interacting groups of chitosan through the medium force potential (PMF) using the Umbrella Sampling method in aqueous solution containing 1 phosphate, 1 chitosan decaner and sodium chloride In order to analyze possible molecular events ignored by molecular dynamics. The results of the application of this methodology showed that in addition to the interaction with hydroxyl (results obtained by molecular dynamics), the protonated amino groups of chitosan also formed ion-dipole interactions with the phosphate ion. Therefore, the interactions between chitosan and phosphate were characterized in the OPLS-AA force field and its potential as a phosphate ion chelator for the treatment of hyperphosphatemia was confirmed.

Keywords: *Parameterization, Validation, Chitosan, Molecular Dynamics, Umbrella Sampling, adsorption, Phosphate e hyperphosphatemia*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação do monômero de quitina destacando os grupos acetato presentes nos grupamentos N-acetilglicosamina, sendo n o grau de polimerização da biomacromolécula	14
Figura 2 Representação tridimensional de 10 monômeros da Quitina unidos por ligações glicosídicas do tipo β (1-4). “Os hidrogênios foram omitidos para melhor visualização.....	14
Figura 3 Representação em duas dimensões dos dímeros da Quitina e da Quitosana, respectivamente, destacando em vermelho os grupamentos GlcNAc e GlcN, sendo n o grau de polimerização de ambas (Faria et al., 2016; Österberg & Norinder, 2001)	16
Figura 4 Representação do fragmento do copolímero de Quitosana. Cada átomo é identificado pelo símbolo do elemento seguido de um algarismo	17
Figura 5 Representação tridimensional dos dímeros de Quitina e de Quitosana e suas respectivas superfícies de van der Waals, com a enumeração dos átomos de carbono das cadeias glicosídicas, sendo n o grau de polimerização de ambas (Faria et al., 2016)	18
Figura 6 Representação de um monômero da Quitosana mostrando a geometria linear da ligação glicosídica existente no grupo etóxi (Österberg & Norinder, 2001; Thakur & Thakur, 2014) (Spessard, 1998; Osterberg e Norinder, 2001; Thakur e Thakur, 2014)	21
Figura 7 Representação das ligações de hidrogênio intermolecular água...biopolímero, água...água e representação esquemática dos polimorfos de Quitina e Quitosana. As cadeias poliméricas são representadas por setas. Arranjos: a) antiparalelo b) paralelo e c) invertida	25

Figura 8 Nanopartículas de a) α -Quitina e b) β -Quitina.....	26
Figura 9 Nanopartículas de a) α -Quitosana e b) β - Quitosana.....	27
Figura 10 - Representação da molécula de água em que os átomos de Hidrogênio se ligam ao de Oxigênio por forças elásticas.....	32
Figura 11 Representação esquemática do potencial angular ($V\Theta$) em função de Θ . Do estiramento angular sofrido por 3 átomos.....	34
Figura 12 Representação geométrica do ângulo de torção (Faria et al., 2016)	36
Figura 13 Gráfico representativo do potencial de Lennard Jones (V) em função da distância (r) entre os átomos i e j	38
Figura 14 Condições periódicas de contorno em 3 dimensões.....	44
Figura 15 Representação do raio de corte esférico para um sistema periódico em duas dimensões.	45
Figura 16 Construção de um sistema de células periódicas no método de Ewald	46
Figura 17 Representação das variáveis para o cálculo de $g(r)$ em duas dimensões. As partículas azuis (claro e escuro) são utilizados para realizar o cálculo da densidade.....	48
Figura 18 Resíduos da Quitina, CHTC (verde), CHIT (azul) e CHTO (vermelho).	73
Figura 19 Resíduos da Quitosana desprotonada, NGUO, NGLU e NGUC (conferir os resíduos de acordo com a figura).	74
Figura 20 Resíduos da Quitosana protonada, NGPC, NGLP e NGPO (conferir os resíduos de acordo com a figura).	74
Figura 21 Estrutura tridimensional do íon Fosfato molecular	76

Figura 22 (a) Estrutura da Quitina no campo de força GROMOS53a6 (b) Estrutura da Quitina no campo de Força OPLS-AA.	86
Figura 23 Figura 19: (a) Estrutura da Quitosana no campo de força GROMOS53a6. (b) Estrutura da Quitosana no campo de Força OPLS-AA....	87
Figura 24 Raiz quadrada do desvio quadrático médio da quitosana nos diferentes campos de força. Cor preta é a quitosana no GROMOS53a6 e vermelha é a quitosana no OPLS-AA.....	89
Figura 25 Raiz quadrada do desvio quadrático médio da Quitina nos diferentes campos de força Cor preta é a quitina no GROMOS53a6 e vermelha é a quitina no OPLS-AA.....	90
Figura 26 Raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas da Quitina nos diferentes campos de força. A curva em vermelho refere-se ao campo de força OPLS-AA enquanto a curva preta refere-se ao campo de força GROMOS53a6.....	91
Figura 27 Raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas da Quitosana nos diferentes campos de força. A curva em vermelho refere-se ao campo de força OPLS-AA enquanto a curva preta refere-se ao campo de força GROMOS53a6.....	92
Figura 28 a) Perspectiva longitudinal da sobreposição dos anéis b) Perspectiva equatorial dos ciclos de quitosana	97
Figura 29 Perfil Energético de energia total de Quitina nos diferentes campos de força. Em preto o GROMOS53a6 e em vermelho o OPLS-AA.....	100
Figura 30 Perfil Energético de energia total de Quitosana nos diferentes campos de força. A curva em vermelho refere-se ao campo de força OPLS-AA enquanto a curva preta refere-se ao campo de força GROMOS53a6.	101

Figura 31 a) Substâncias do sistema aquoso com quitosana (Licorice), fosfatos (Licorice) e cloreto de sódio (VDW) b) sistema aquoso com quitosana, fosfatos e cloreto de sódio na caixa cúbica.	102
Figura 32 Decâmero de quitosana e seus respectivos resíduos de 1 a 10 (NGPC, CHIT, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, CHIT E NGUO, respectivamente).....	103
Figura 33 a) g (r) entre o O6 (O6HO6) do resíduo 2 com 20º íon fosfato, referência ao centro de massa da quitosana. B) g (r) entre o O6 (O6HO6) do resíduo 2 com o fosfato 1, com referência ao centro de massa do NGPC 2..	106
Figura 34 RMSD da quitosana em solução aquosa contendo íons fosfato, íons sódio e íons cloreto (perfil médio em vermelho).....	108
Figura 35 Análise do RMSF dos átomos da Quitosana, em destaque os grupos acetilados e o restante da molécula foram representados numa perspectiva de sombra.	109
Figura 36 Representação do sistema antes do puxamento do íon fosfato. Estão mostrados somente a quitosana e o íon fosfato. As moléculas de água e os íons sódio e cloreto estão implícitos.....	110
Figura 37 Representação das interações íon-dipolo entre o fosfato e os 3 resíduos NGLP da Quitosana em solução aquosa.....	111
Figura 38 Evolução temporal da força aplicada no afastamento do íon PO_4^{3-} que interagiram com os grupos aminos protonados. O afastamento do íon foi realizado com o sistema em pH=6,5.	112
Figura 39 Representação do desligamento do íon fosfato da quitosana após o seu desprendimento da concavidade onde havia interações do tipo íon-dipolo.	113

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	13
1.1. A Quitina e os Polímeros	13
1.2 Quitosana	15
1.3 Hiperfosfatemia	21
2 OBJETIVOS	27
2.1 Objetivos Gerais	28
2.2 Objetivos Específicos	28
3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	29
3.1 Mecânica Molecular (MM)	30
3.1 a O campo de força e o potencial harmônico linear (V_d) ou potencial de ligação.....	33
3.1 b Potencial Harmônico Angular (V_θ)	34
3.1 c Potencial Torsional ou diedral (V_ϕ).....	34
3.1 d Potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}) ou Van der Waals e Potencial de Coulomb (V_c)36	
3.2 Dinâmica Molecular (DM).....	38
3.2.1 O Algoritmo de Integração <i>Leap-Frog</i>	40
3.2.2 Algoritmos de restrições (LINCS)	41
3.2.3 Condições periódicas de Contorno	43
3.2.4 Imagem Mínima e Raio de Corte	44
3.2.5 Ferramentas de Análise dos Dados: Função de Distribuição Radial de Pares (RDF).....	47
3.3 Mecânica Quântica	49
3.4 Teoria Funcional da Densidade (DFT)	55
3.5 Teoria da Perturbação.....	66
4 METODOLOGIA COMPUTACIONAL	72

4.1 Parametrização do íon fosfato	72
4.2 Otimização do Íon Fosfato.....	72
4.3 Determinação da Carga RESP.....	72
4.4 Parametrização dos trimeros de Quitina e Quitosana	73
4.5 Otimização de Geometria da Quitina.....	75
4.6 Determinação das Cargas RESP da Quitina e da Quitosana.....	75
4.7 Simulação, por Dinâmica Molecular, do Íon Fosfato no vácuo	75
4.8 Simulação, por Dinâmica Molecular, da Quitina no vácuo	77
4.9 Simulação da Quitosana no vácuo	78
4.10 Simulação da quitosana com íons fosfato em solução aquosa.....	79
4.11 Potencial de força média	81
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	82
5.1 Análise das cargas RESP dos biopolímeros nos campos de força OPLS-AA e GROMOS53a6.	82
5.2 Análise do melhor método para o cálculo da carga RESP do íon fosfato no Campo de Força OPLS-AA.	84
5.3 Análises Estruturais das Dinâmicas Moleculares dos Biopolímeros Simulados no Vácuo no Campo de Força OPLS-AA e no GROMOS53a6	85
5.4 Análises Energéticas das Dinâmicas Moleculares dos Biopolímeros Simulados no Vácuo no Campo de Força OPLS-AA e no GROMOS53a6	99
5.5 Análises das energias de Coulomb e Lennard Jones do sistema aquoso contendo a quitosana, o íon Fosfato e cloreto de sódio.....	102
5.6 Análise das interações entre a quitosana e o íons fosfato.....	105
6 CONCLUSÕES	115
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

1.1.A Quitina e os Polímeros

Os polímeros são cadeias moleculares formadas por um grande número de átomos (milhares ou até mesmo milhões). As unidades formadoras dos polímeros são moléculas menores chamadas de monômeros que podem ser iguais ou diferentes originando homopolímeros e copolímeros, respectivamente (Wan & Galembeck, 2001).

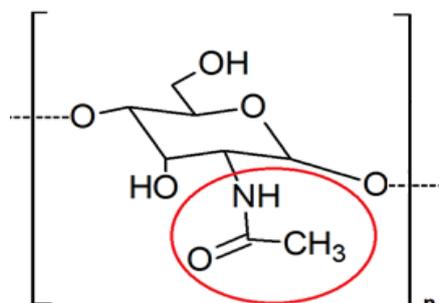
O acúmulo no meio ambiente de materiais poliméricos derivados do petróleo é cada vez mais crescente, devido a sua dificuldade de degradabilidade natural realizada por microrganismos (biodegradabilidade), pois são materiais pouco solúveis em água e de alta massa molar. Então, a extração e utilização de materiais vindos de fontes não renováveis deve ser progressivamente substituída pelos materiais biodegradáveis e provindos de fontes renováveis (Mara, Franchetti, & Marconato, 2006) .

No século XIX já se tinha conhecimento básico do biopolímero chamado Quitina, porém suas propriedades químicas eram pouco conhecidas. Os derivados da Quitina possuem grande importância comercial. Um derivado muito importante é a Quitosana que está inserida em vários ramos da pesquisa e do mercado mundial (Campana-filho et al., 2007).

A extração da quitosana enfrenta vários desafios devido à formação de subprodutos. A rota de formação da Quitosana também enfrenta obstáculos, pois a polimerização não é homogênea (Campana-filho et al., 2007).

A Figura 1 representa a Quitina que é um polissacarídeo formado por monômeros contendo grupos funcionais representantes das funções álcool, éter e Amida. O grupamento Éter é formado a partir da formação da ligação glicosídica que é característica de carboidratos, compostos que geralmente obedecem a fórmula $C_n(H_2O)_n$ (Faria, Guerra, De Sousa Neto, Motta, & Franca, 2016). Na Figura 6, é mostrado a disposição linear da ligação glicosídica.

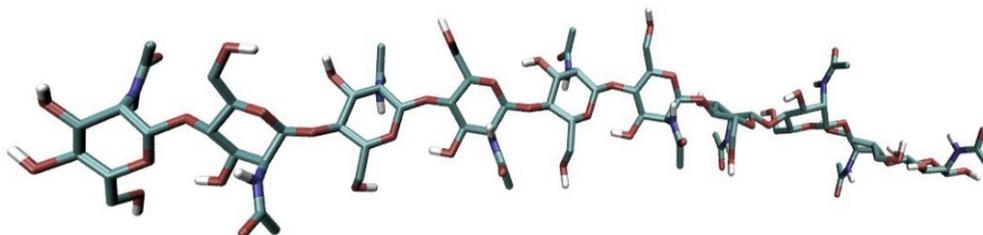
Figura 1 Representação do monômero de quitina destacando os grupos acetato presentes nos grupamentos N-acetilglicosamina, sendo n o grau de polimerização da biomacromolécula



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Spessard, 1998)

A Quitina e a Quitosana possuem importantes propriedades, tais como: biocompatibilidade e biodegradabilidade, tornando-os produtos inofensivos ao meio ambiente, não apresentando citotoxicidade e sendo fisiologicamente inertes; além disso, são bactericidas, quelantes de íons de metais pesados e possuem muita afinidade por determinadas proteínas (Krajewska, 2004). Na Figura 2 há uma representação tridimensional da Quitina composta por 10 Monômeros *N-acetilglicosamina*

Figura 2 Representação tridimensional de 10 monômeros da Quitina unidos por ligações glicosídicas do tipo β (1-4). “Os hidrogênios foram omitidos para melhor visualização.



Fonte: Autor, através do programa Visual Molecular Dynamics (William Humphrey, Dalke, & Schulten, 1996),(Faria et al., 2016).

A Quitina e a Quitosana possuem propriedades valiosas, tais como: biocompatibilidade e biodegradabilidade, tornando-os produtos inofensivos ao meio ambiente, não apresentando citotoxicidade e são fisiologicamente inertes; além disso, são bactericidas, quelantes de íons de metais pesados e possuem muita afinidade por determinadas proteínas.

Os polímeros sintéticos derivados do petróleo são produzidos e aplicados industrialmente, no entanto eles são, na maioria das vezes, agentes de problemas ambientais por não serem biodegradáveis e por gerarem subprodutos em sua síntese. Os biopolímeros são polissacarídeos naturais de estruturas e formas diferentes que atuam como agentes estruturais de células vegetais e animais. Os biopolímeros podem ser usados como adesivos, emulsificantes, adsorventes, lubrificantes, cosméticos, aditivos na área farmacêutica, materiais estruturais além da versatilidade nas aplicações em tecnologia de alimentos, medicina dentre outros. A Quitina possui importantes propriedades, tais como adsorventes antimicrobianas e emulsificantes (Pacheco et al., 2009) .

A Quitina é um biomaterial que sustenta, envolve e fornece proteção aos organismos em que elas ocorrem. A Quitina atua como exoesqueleto de invertebrados tais como artrópodes, anelídeos, moluscos e celenterados, em algas diatomáceas e também na parede celular de alguns fungos tais como, ascomycetos, zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos(Campana-filho et al., 2007) .

1.2 Quitosana

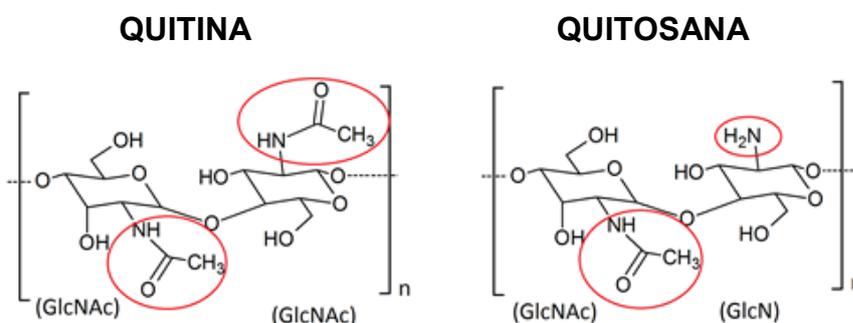
A desacetilação parcial da Quitina, em condições alcalinas leva a formação da Quitosana, um derivado da Quitina. A quitosana é um importante polímero natural, mas sua maior fonte é a quitina que é muito abundante.

A Quitosana, cujo nome é β (1-4)-2-acetamino-2-deoxi-D-glicopiranosose e β (1-4)-2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose, possui uma estrutura semelhante à molécula de quitina, a não ser pelo fato dela ser composta por unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose, ou seja, a conversão dos grupos funcionais da

função amida em grupos funcionais da função amina, define a formação da Quitosana a partir da Quitina.

Pouco abundante na natureza, como por exemplo na formação da parede celular de alguns fungos a Quitosana precisa ser sintetizada a partir da desacetilação (retirar grupos N-acetil) da Quitina. A Figura 3 representa a modificação que ocorre no dímero de Quitina formando um monômero de Quitosana. A Quitosana por ser um copolímero, polímero no qual os monômeros não são idênticos, ela possui dois tipos de ciclos, um *N*-acetilada (GlcNAc) e um desacetilada (GlcN), como mostrado na Figura 3.

Figura 3 Representação em duas dimensões dos dímeros da Quitina e da Quitosana, respectivamente, destacando em vermelho os grupamentos GlcNAc e GlcN, sendo *n* o grau de polimerização de ambas (Faria et al., 2016; Österberg & Norinder, 2001)



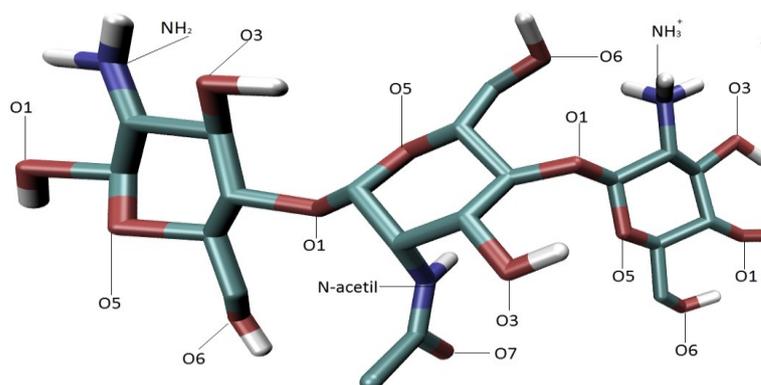
Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013 (Spessard, 1998) .

Na Figura 3 mostra-se a conversão de *N*-Acetil glucosamina em *N*-glucosamina grupos da função amida (GlcNAc) em grupos da função amina (GlcN). Nota-se que houve a preservação de um grupamento *N*-Acetil, ou seja, o G.A = 50% nesse caso.

A Figura 4 representa tridimensionalmente um fragmento de Quitosana que foi gerado no programa de visualização de Dinâmica Molecular (Visual

Molecular Dynamics-VMD). Nessa representação a quitosana está com G.A= 33% pois somente 1 a cada 3 monômeros estão acetilados.

Figura 4 Representação do fragmento do copolímero de Quitosana. Cada átomo é identificado pelo símbolo do elemento seguido de um algarismo

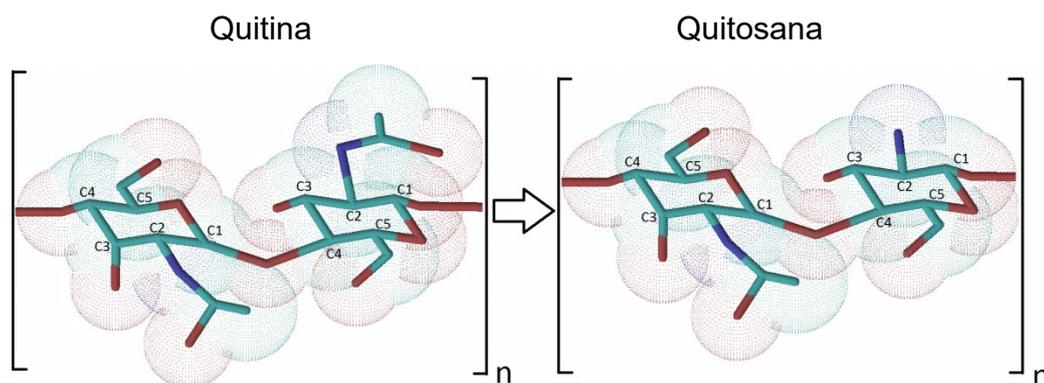


Fonte: Autor, através do programa Visual Molecular Dynamics (Faria et al., 2016; W Humphrey, Dalke, & Schulten, 1996) .

A desacetilação da quitina (remoção dos grupos *N*-Acetil) pode ser total (igual a 100%) ou parcial (menor do que 100%). O grau de acetilação (G.A) pode ser definido como a porcentagem acetilada da quitosana (Uberl, De, Qu, & Mestrado, 2015). Ao utilizarmos um polímero de quitina totalmente acetilado, o seu grau de acetilação será considerado 100%. Se somente metade dos monômeros forem acetilados o seu G.A = 50%. As moléculas que possuem $G.A \leq 50\%$ são consideradas moléculas de quitosana.

Na Figura 5 é mostrado uma representação tridimensional dos dímeros de Quitina e de Quitosana e suas respectivas superfícies de Van der Waals, com a enumeração dos átomos de carbono das cadeias glicosídicas

Figura 5 Representação tridimensional dos dímeros de Quitina e de Quitosana e suas respectivas superfícies de van der Waals, com a enumeração dos átomos de carbono das cadeias glicosídicas, sendo n o grau de polimerização de ambas (Faria et al., 2016)



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013(Spessard, 1998) .

A síntese da Quitosana ocorre com o tratamento da Quitina com NaOH 40% a quente (100 °C) e por 1 hora (Österberg & Norinder, 2001) . Uma rota alternativa para a obtenção do composto desacetilado seria a substituição do Hidróxido de Sódio por enzimas na qual ao invés de hidrólise alcalina ocorreria a hidrólise enzimática para a retirada do grupo N-acetil (Thakur & Thakur, 2014) . Experimentalmente, a maneira mais simples e rápida de se distinguir a Quitina da Quitosana é o teste de solubilidade em soluções aquosas ácidas diluídas. A quitina é muito seletiva em relação ao solvente, ou seja, poucos solventes conhecidos são capazes de solubilizá-la, enquanto a quitosana é solúvel em uma gama de soluções aquosas ácidas diluídas, tais como soluções de ácido acético e ácido clorídrico (Campana-filho et al., 2007) .

As reações adversas que ocorrem na desacetilação da Quitina são desafios que os grupos de pesquisas experimentais estão buscando vencer. A principal fonte de diminuição de rendimento se dá pela despolimerização que

pode ocorrer devido a condições reacionais severas e presença de oxigênio molecular.

As medidas como explosão a vapor, borbulhamento do meio reacional com gases inertes, adição de agentes redutores, irradiação com micro-ondas, ultrassom e a execução de ciclos térmicos de congelamento à temperatura do nitrogênio líquido e aquecimento à temperatura ambiente intercalados com sucção do reator com bomba de vácuo são medidas eficazes para diminuir a despolimerização do carboidrato (Campana-filho et al., 2007) .

A Quitosana está inserida nas Indústrias farmacêuticas, utilizada em cosméticos, indústria da estética, como produtos para emagrecimento, produto alimentício e na Agricultura como descontaminante ambiental. O potencial farmacêutico desse composto não é aceito em todos os casos pela “U.S. Food and Drug Administration (FDA)”. Porém a adição do carboidrato em alimentos já ocorre há praticamente duas décadas em países como Japão e Noruega (Campana-filho et al., 2007) .

A Quitosana possui propriedades importantíssimas para o meio ambiente por ser um polímero de fonte renovável e muito versátil em várias aplicações. A aplicação da Quitosana se dá em diferentes estados de agregação, tais como: partículas, nanopartículas, filmes, géis, membranas. As principais propriedades desse composto estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 Propriedades intrínsecas da quitosana

<p>Características e Propriedades Físicas e Químicas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Aminopolissacarídeo linear com elevada taxa de nitrogênio; • Estrutura D-glicosamina; baixa cristalinidade e hidrofiliçidade; • Capacidade para formar interaçõs de hidrogênio inter e intramoleculares e elevada viscosidade; • Grupos reativos com possibilidades de modificações químicas e ligações cruzadas (cross linking); • Formação de sais com ácidos orgânicos e inorgânicos; • Propriedade quelantes e complexantes;
<p>Propriedades Biológicas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade; • Baixa toxicidade aguda; • Biodegradabilidade; • Bioatividade; • Atividade antimicrobiana (fungos, bactérias, vírus); • Antiácido, antiúlcera e propriedades antitumorais; • Antiagreganteplaquetário; • Bioadesividade.

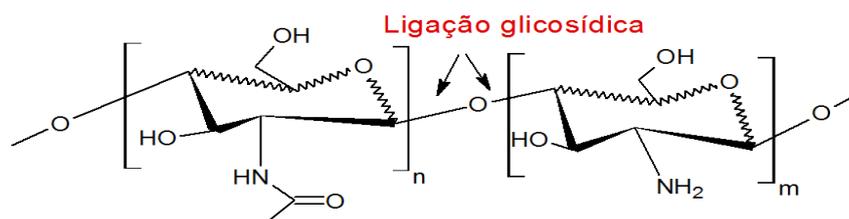
Fonte: Autor (Thakur & Thakur, 2014).

Essas características se estendem aos campos da biomedicina, incluindo a distribuição de drogas no organismo, engenharia de tecidos, no campo da indústria, incluindo a adsorção de íons metálicos e remoção de alguns corantes (Thakur & Thakur, 2014).

Na literatura há valores tabelados da capacidade de adsorção que a Quitina, Quitosana e derivados possuem em relação à remoção de íons metálicos, radionuclídeos e oxoânions metálicos. Na estrutura da Quitosana há ligações glicosídicas do tipo β - (1→4) num arranjo linear, como representado

na Figura 6, onde a nova ligação é chamada de ligação éterea ou glicosídica (ligação característica de carboidratos) (Thakur & Thakur, 2014).

Figura 6 Representação de um monômero da Quitosana mostrando a geometria linear da ligação glicosídica existente no grupo etóxi (Österberg & Norinder, 2001; Thakur & Thakur, 2014) (Spessard, 1998; Osterberg e Norinder, 2001; Thakur e Thakur, 2014)



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013(Spessard, 1998) .

Os sobescritos m e n representam o grau de polimerização de cada fragmento, ou seja, a quantidade de vezes que cada monômero repete, podendo ser iguais ou diferentes.

As hidroxilas pertencentes nos reagentes para a formação da ligação glicosídica estão na posição 1 de um anel e 4 do outro anel. Elas são classificadas bioquimicamente como hidroxilas anoméricas livres ou hidroxila potencialmente livre.

A literatura relata que a quitosana atua como um descontaminante ambiental, pois possui um importante potencial quelante de diversos íons metálicos, tais como: arsênio, cádmio além de herbicidas orgânicos (Beheshtian, Peyghan, & Bagheri, 2013).

No presente trabalho pretende-se avaliar o efeito quelante da quitosana sobre o fosfato, pois pessoas com hiperfosfatemia possuem altas concentrações séricas desse íon.

1.3 Hiperfosfatemia

A hiperfosfatemia se caracteriza por um nível elevado de Fosfato no sangue. Níveis mais elevados que o normal podem ser causados pela ingestão de alimentos ricos em Fosfatos, como produtos lácteos ou insuficiência renal (Shaman & Kowalski, 2016) .

O fósforo é o (Kooienga, Bellasi, & Block, 2017) segundo elemento mais abundante no corpo humano após o cálcio. A maioria (85%) de fósforo é encontrada no osso e nos dentes como hidroxapatita, 14% está localizado intracelularmente como compostos orgânicos de Fosfato; com os restantes 1% do Fosfato corporal total localizado extracelularmente, principalmente como Fosfato inorgânico. Dos 1% localizados no espaço vascular, 20% são ligados a proteínas (Shaman & Kowalski, 2016).

Em adultos saudáveis, a maioria dos laboratórios citam uma concentração normal de concentração de fosfato de 0,80 -1,45 mmol/L (Berndt & Kumar, 2013) . A hiperfosfatemia em pacientes com doença renal crônica (DRC) é uma condição potencialmente alteradora da vida que pode levar à calcificação cardiovascular, doença óssea metabólica (osteodistrofia renal) e ao desenvolvimento de hiperparatireoidismo secundário.

Para gerenciar eficazmente a hiperfosfatemia em pacientes com DRC, é importante não apenas considerar opções de tratamento farmacológicas e não farmacológicas, mas também compreender as vias fisiológicas subjacentes envolvidas na homeostase do fósforo.

Na doença renal terminal (*do inglês, end-stage renal disease - ESRD*), a hiperfosfatemia e o aumento do Fosfato (PO_4^{3-}) e de Cálcio sérico (Ca^{2+}) estão associados a calcificações vasculares, aterosclerose acelerada e eventos cardiovasculares, principais causas de aumento da morbidade e mortalidade por doença cardiovascular na ESRD (Indridason & Quarles, 2002).

Há comercialmente diferentes tipos de aglutinante de Fosfato como por exemplo, o cloridrato de Sevelamer. Esse fármaco possui atividades antiinflamatórias e efeitos benéficos sobre os perfis lipídicos através da redução da PCR (Berndt & Kumar, 2013) que conseqüentemente reduz a concentração de PO_4^{3-} . Além dos altos custos desse fármaco

(aproximadamente 1200 reais uma embalagem de 800mg <https://consultaremedios.com.br/cloridrato-de-sevelamer-fiocruz/p#bula>) a efetividade em porcentagem (50% atingem os níveis recomendados de PO_4^{3-} não é ideal, apesar de todas as possibilidades disponíveis no mercado para controlar a hiperfosfatemia, incluindo os agentes aglutinantes de Fosfato (Shaman & Kowalski, 2016).

Um aumento da excreção de PO_4^{3-} salivar foi relatado em pacientes com doença renal crônica (DRC) e pacientes em diálise que correlacionaram linearmente com creatinina sérica e taxa de filtração glomerular (GFR) em CKD (Larsson et al., 2018) e com níveis séricos de PO_4^{3-} em pacientes em diálise, que têm níveis salivares de PO_4^{3-} cinco vezes superiores aos no soro. É relatado na literatura que doentes que trataram com uma goma de mascar contendo quitosana tiveram uma redução considerável de Ca^{2+} e de PO_4^{3-} sérico, podendo considerar que foram atingidos níveis normais desses componentes no sangue (Anraku et al., 2014) .

Num estudo de caso os pacientes de diálise foram previamente tratados com hidrocloreto de sevelamer - hiper"resistentes"phatemia em quem o PO_4^{3-} sérico foi normalizado pela tratamento com uma goma de mascar carregada com Quitosana, uma Pasta de Fosfato salivary, como um complemento para sevelamer, para avaliar retrospectivamente o CRP altamente sensível (hs) e a relação com hiperfosfatemia e $\text{Ca}^{2+} \times \text{PO}_4^{3-}$ (Anraku et al., 2014),("CHITOSAN; A NOVEL SALIVARY PHOSPHORUS BINDER," 2015) .

A alta taxa de mortalidade causada pela hiperfosfatemia está intimamente associada à calcificação vascular. O descontrole do nível de Cálcio x Fosfato sérico gera uma alta taxa de mortalidade. As simulações por dinâmica molecular que foram desenvolvidas neste trabalho foram realizadas para avaliar as interações entre a quitosana e o íons fosfato, pois assim pode-se contribuir com a elucidação do efeito quelante do biopolímero sobre o fosfato e a diminuição e controle dos níveis dos íons e por conseguinte reduzir os efeitos colaterais produzidos nos pacientes, devido a ação dos fármacos utilizados, já que a quitosana é biocompatível (Shaman & Kowalski, 2016).

A literatura relata inúmeros sistemas em que a quitosana é utilizada como agente quelante de contaminantes ambientais, tais como metais pesados e demais contaminantes inorgânicos além de herbicidas orgânicos

No presente trabalho foi usado a modelagem molecular para caracterizar as propriedades físico químicas de nanopartículas de quitosana que apresentam grande potencial para atuar como agentes quelante de Fosfato no tratamento da hiperfosfatemia.

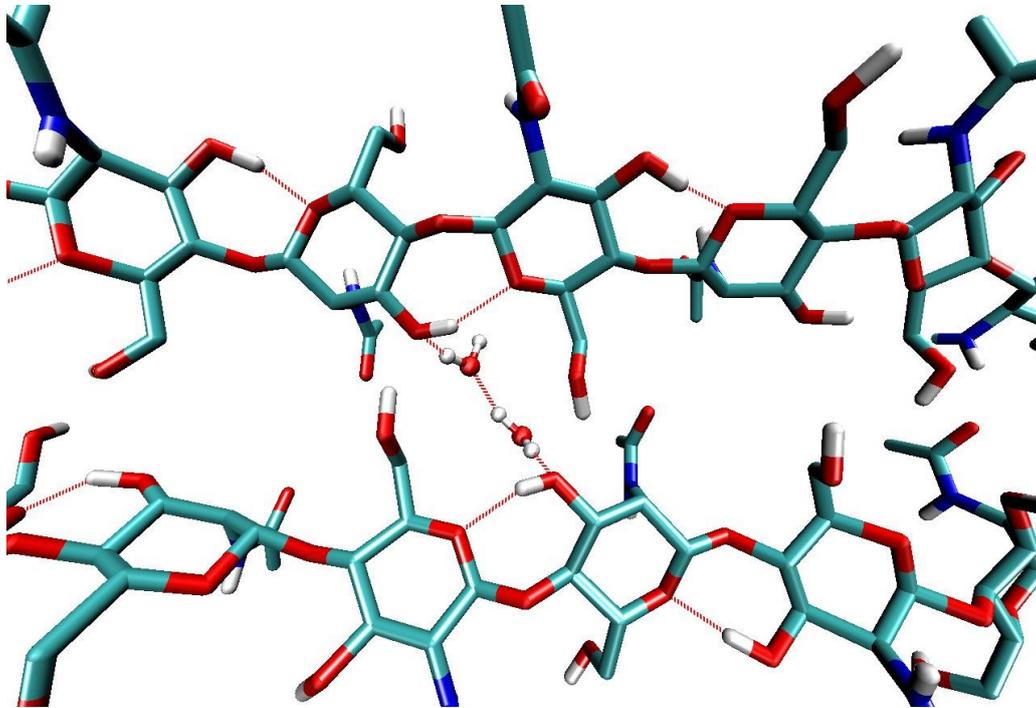
1.4 A Quitina no grupo de pesquisa desse trabalho

As pesquisas realizadas pelo grupo de pesquisa do Prof. Eduardo de Faria Franca (IQUFU) são realizadas utilizando simulações computacionais através da Dinâmica Molecular (DM) nas quais foram elucidadas as interações entre as cadeias do polissacarídeo que justificam os diferentes arranjos α - e β -Quitina devido à quantidade de moléculas de água entre as cadeias polissacarídicas, vide Figura 7, que são mantidas por ligação de hidrogênio intermoleculares entre as moléculas de água e as nanopartículas do polímero.

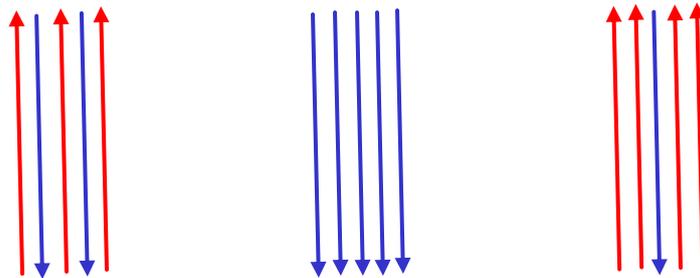
As conformações da quitina foram analisadas através das trajetórias percorridas pelos componentes do sistema contendo os filamentos do biopolímero. De uma maneira geral, foi realizada a análise das estruturas polimórficas do carboidrato em solução aquosa com o solvente explícito (Uberl et al., 2015).

A estabilidade termodinâmica do sistema foi alcançada quando ele atinge o equilíbrio, tal fato ocorreu quando se obteve baixo desvio padrão para os valores médios da variação de energia livre. Os valores termodinâmicos entrópicos, entálpicos e de variação de energia livre foram fundamentais para o conhecimento do ponto de equilíbrio (Uberl et al., 2015).

Figura 7 Representação das ligações de hidrogênio intermolecular água·biopolímero, água·água e representação esquemática dos polimorfos de Quitina e Quitosana. As cadeias poliméricas são representadas por setas. Arranjos: a) antiparalelo b) paralelo e c) invertida



a) α -Quitina e α -Quitosana b) β -Quitina e β -Quitosana c) γ - Quitina e γ - Quitosana

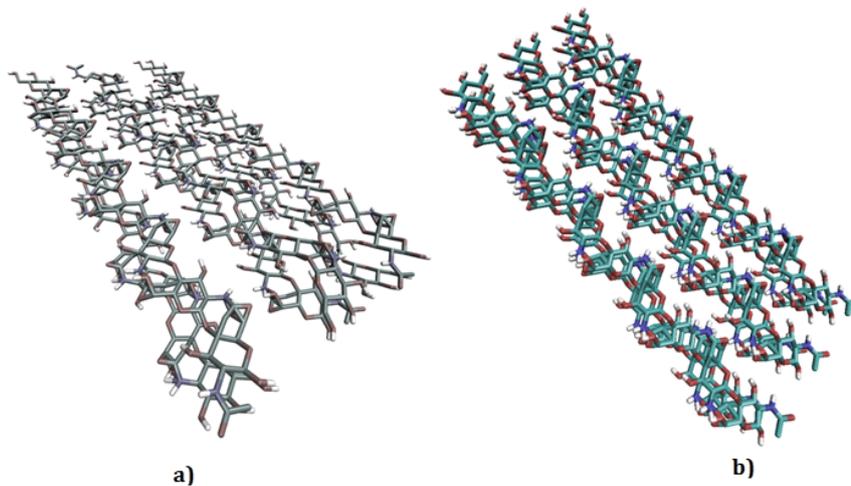


Fonte: Autor, através das formas disponíveis em Microsoft Word 2010, através do modelo de Campana, 2007 (Campana-filho et al., 2007).

Na estrutura da α – Quitosana, assim como no da α – Quitina o arranjo antiparalelo favorece a formação de Ligações de hidrogênio inter e intracadeias da mesma lamela e de lamela vizinha o que definirá o empacotamento mais

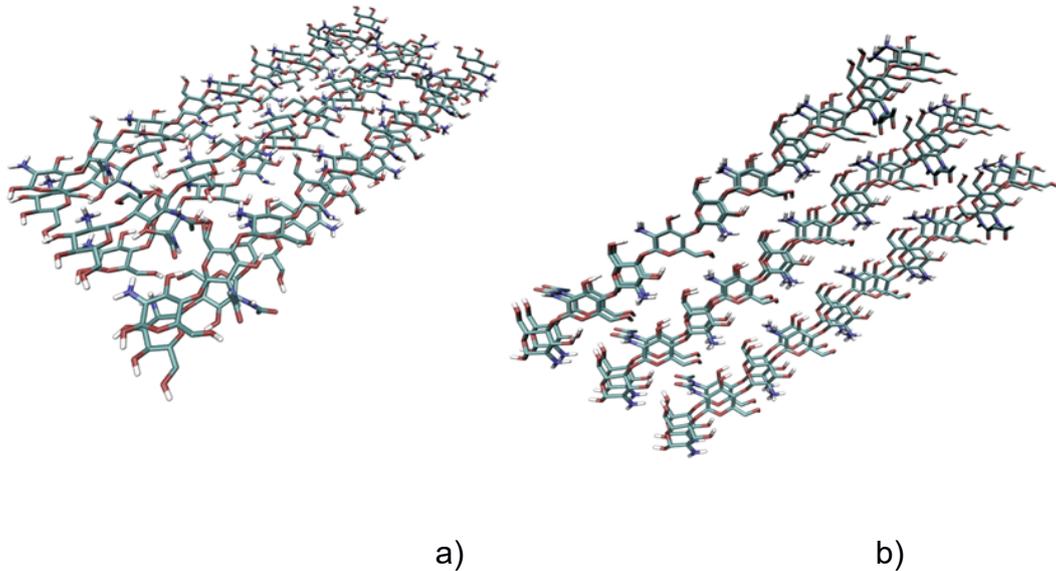
denso das 3 formas. A β -Quitosana com a disposição das cadeias em paralelo não favorece a formação de Ligações de hidrogênio entre as cadeias de lamelas adjacentes o que resultará num material menos densamente empacotado. A Figura 7 esquematiza os polimorfos da Quitosana, a Figura 8 ilustra os fragmentos polimorfos das nanopartículas de α - e β - Quitina e a Figura 9 representa a disposição da α - e β - Quitosana agregadas na forma de nanopartículas.

Figura 8 Nanopartículas de a) α -Quitina e b) β -Quitina.



Fonte: Autor, através do programa Visual Molecular Dynamics (W. Humphrey, Dalke, & Schulten, 1996a; Uberl et al., 2015)

Figura 9 Nanopartículas de a) α -Quitosana e b) β - Quitosana.



Fonte: Autor, através do programa Visual Molecular Dynamics (W. Humphrey et al., 1996a; Uberl et al., 2015).

Na estrutura da α – Quitosana, assim como no da α – Quitina o arranjo antiparalelo favorece a formação de Ligações de hidrogênio inter e intracadeias da mesma lamela e de lamela vizinha o que definirá o empacotamento mais denso das 3 formas, diferentemente da β -Quitosana na qual a disposição das cadeias em paralelo não favorece a formação de Ligações de hidrogênio entre as cadeias de lamelas adjacentes o que resultará num material menos densamente empacotado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo deste trabalho foi realizar simulações computacionais dos biopolímeros de Quitina, Quitosana e suas possíveis interações com o íon Fosfato.

2.2 Objetivos Específicos

O presente trabalho buscou validar a reparametrização da quitosana no OPLS-AA através de simulações por Dinâmica molecular do biopolímero no vácuo. Nesse estudo visou-se a modelagem molecular das interações entre o íon fosfato e a quitosana em solução aquosa. Outro objetivo desse estudo foi avaliar, utilizando a metodologia Umbrella Sampling, as possíveis interações específicas que não foram contabilizadas pela dinâmica molecular. Por fim buscou-se ampliar o espectro de simulações com a reparametrização do polímero num campo de força mais detalhístico (OPLS-AA em relação ao GROMOS53a6) assim como possibilitar a realização de cálculos híbridos de mecânica quântica e mecânica molecular (QM/MM, do inglês Quantum Mechanics e Molecular Mechanics) para caracterizar a nível eletrônico as interações observadas na Dinâmica molecular.

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

A modelagem molecular cria modelos teóricos em escala atômica, buscando justificar as propriedades macroscópicas em função das propriedades moleculares. Para sistemas em que há reações químicas, ou seja, quebra e formações de ligações químicas utilizam-se os Modelos baseados nos princípios da Mecânica Quântica (MQ) que relaciona as propriedades químicas com as características eletrônicas do sistema. A MQ estuda a estrutura eletrônica em orbitais para uma posição nuclear fixa. Outro método teórico e que foi usado no presente trabalho é a Mecânica Molecular (MM) que elucida as propriedades do sistema usando as leis da Mecânica clássica de Newton e da termodinâmica estatística. (E. F. Franca, Lins, Freitas, & Straatsma, 2008; Weitzel Coelho, Maria Amaral Junqueira, & Omar Machuca Herrera Sérgio de Paula Machado, 1999)

Um dos mais importantes avanços no planejamento e descoberta de novos fármacos tem sido a utilização da modelagem molecular. Ela tem se firmado como uma ferramenta indispensável não somente no processo de descoberta de novos fármacos, mas também na otimização de um protótipo já existente ou obtido pelo próprio estudo de modelagem molecular.

O avanço computacional impulsiona o desenvolvimento da modelagem molecular devido a devido à grande elucidação estrutural do sistema parametrizado e simulado. A descrição de ligações, ângulos entre 3 átomos e ângulos entre 4 átomos (diedros) além das análises das forças intermoleculares como Ligação de hidrogênio (L.H) e interações coulômbicas.

As aproximações usadas em modelagem molecular são: a aproximação clássica que se baseia na Mecânica Molecular e a aproximação Quântica que se baseia na Mecânica Quântica (MQ) que utiliza os métodos *ab initio* e semi-empíricos.

A modelagem se baseia em várias equações matemáticas que embasam cientificamente a descrição do sistema. A metodologia da mecânica quântica da equação de Erwi Schrodinger utiliza funções de onda para descrever propriedades que calculam a nível eletrônico os parâmetros de

topologia e estrutura eletrônica, podendo calcular valores de grandezas tais como: energia total do sistema, ângulos e ângulos diedrais, entre outras.

3.1 Mecânica Molecular (MM)

A Mecânica Molecular descreve processos físicos, ou seja, processos que não há reações químicas. A MM é útil em sistemas contendo grandes quantidades de átomos, pois métodos da MQ (Mecânica Quântica) exigiria muito recurso computacional, hardware, para descrever a estrutura eletrônica de tais sistemas. Os métodos da MQ geralmente não são utilizados em sistemas com grandes quantidades de átomos.

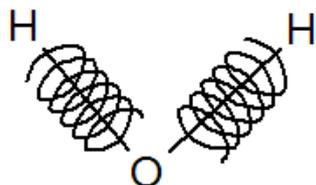
A MM considera os movimentos nucleares e trata os elétrons indiretamente e para isso utiliza-se a separação de Born-Oppenheimer que considera que todas as interações nucleares são aditivas. A separação de Born Oppenheimer utiliza uma série de equações derivadas empiricamente, cujo formalismo matemático se baseia no modelo de mecânica clássica de estrutura molecular. (Coelho, Junqueira, Machuca Herrera, Machado, & Machado, 1999)

Na MM considera-se que os átomos que se ligam quimicamente para formar as moléculas, interagindo por forças elásticas ou harmônicas, tais como molas, Figura 10, de acordo com a lei de físico inglês Robert Hook, Equação 1. Nesse método a energia das ligações está relacionada com a constante da mola que une os átomos, ou seja, quanto maior for o valor da constante da mola, mais rígida será a mola e maior será a energia necessária para romper a ligação química. (Coelho et al., 1999; E. F. Franca et al., 2008)

$$E = - K.x \qquad \text{Equação 1}$$

Sendo K , a constante elástica da mola e x , o deslocamento da mola.

Figura 10 - Representação da molécula de água em que os átomos de Hidrogênio se ligam ao de Oxigênio por forças elásticas



Fonte: Autor

Para a descrição de um sistema a MM utiliza-se do campo de força que é um conjunto de parâmetros que representa toda a energia potencial do sistema. A superfície de energia potencial é conhecida como a superfície de Born-Oppenheimer, obtida a partir dos resultados das diversas posições nucleares dos átomos do sistema. Essa superfície possui mínimos de energia local e global, sendo que o mínimo global corresponde a melhor aproximação da energia estrutural da molécula. No campo de força, os parâmetros de energia potencial da estrutura são determinados pelos comprimentos de ligação (r), ângulos de ligação (θ), ângulos diedros (φ) e interações não ligadas (d). Os parâmetros utilizados no campo de força são descritos a seguir.

A obtenção do potencial total do campo de força é resultado dos cálculos dos diversos tipos de potenciais, que são: potencial de ligação, potencial angular, potencial torsional, potencial de Lennard-Jones e potencial de coulomb. Assim sendo, consegue-se obter parâmetros energéticos e estruturais, tais como: energia total, RMSD que é a medida da raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD, do inglês, *Root Mean Square Deviation*), RMSDist que significa o cálculo da Raíz quadrada do desvio médio quadrático das distâncias atômicas (*do inglês, root mean square deviation of atom distances - RMSDist*), ângulos de ligação, distância de ligação dentre outros que serão mostrados nos resultados e discussões.

3.1 a O campo de força e o potencial harmônico linear (V_d) ou potencial de ligação

O potencial total (V_{total}) do campo de força é obtido pelo somatório do potencial harmônico linear (V_d), potencial harmônico angular (V_θ), potencial torsional (V_ϕ), interações não ligadas como o potencial de Lennard-Jones ou de van der Waals (V_{LJ}) e potencial de Coulomb (V_c), portanto a partir da equação 2, obtém-se o V_{total} .

$$V_{total} = V_d + V_\theta + V_\phi + V_{LJ} + V_c \quad \text{Equação 2}$$

O potencial harmônico linear é obtido pelo estiramento entre dois átomos. Ao distanciar, um átomo ligado a outro do ponto de equilíbrio a mola que os une exercerá uma força no sentido oposto, ou seja, de aproximá-los e o potencial necessário para distanciar-los será calculado pela equação 3.

$$V_d = \frac{1}{2} K_d (d - d_0)^2 \quad \text{Equação 3}$$

Sendo d o comprimento da ligação entre os 2 átomos, d_0 é o comprimento de equilíbrio e K_d é a constante elástica da força da mola. Os parâmetros do campo de força são os parâmetros d_0 e K_d . (Berendsen, Postma, van Gunsteren, DiNola, & Haak, 1984)

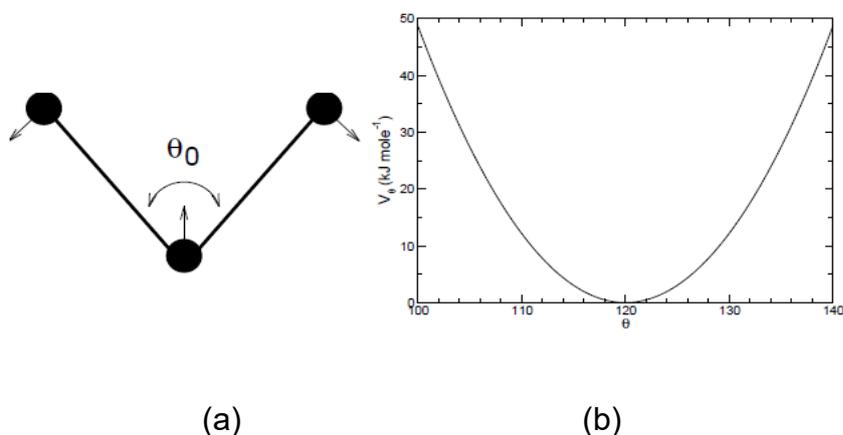
3.1 b Potencial Harmônico Angular (V_θ)

A energia associada ao desvio angular da posição de equilíbrio, é calculada pelo potencial harmônico Angular (estiramento angular), V_θ , dado por:

$$V_\theta = \frac{1}{2} K_\theta (\theta_n - \theta_0)^2 \quad \text{Equação 4}$$

Sendo θ o ângulo definido pela ligação, θ_0 é o ângulo de equilíbrio e K_θ é a constante elástica da força. A Figura 11a mostra o ângulo entre 3 átomos e 11b o gráfico do potencial angular em função de θ .

Figura 11 Representação esquemática do potencial angular (V_θ) em função de θ . Do estiramento angular sofrido por 3 átomos.



3.1 c Potencial Torsional ou diedral (V_ϕ)

Um conjunto de 4 átomos, i, j, k e l, ligados sofrem torsão e a energia associada a torsão das ligações covalentes, Figura 12, entre os átomos i e l é calculada pelo potencial torsional, V_ϕ .

As expressões matemáticas que representam o Potencial Torsional variam de um campo de força para o outro. A Equação 5a refere-se ao campo de força OPLS-AA e a Equação 5b refere-se ao campo de força GROMOS53a6, que foram os campos de força usados nesse trabalho.

O ângulo diedro, φ , é o ângulo formado entre os átomos a, b, c e d. A diferença de fase formada entre os pares atômicos k, l e i, j é denotada por δ na equação 5b, que pode ser 0° e 180° , dependendo se este valor for um máximo ou de mínimo.

$$V_\varphi = \sum_{\varphi} \left(\frac{V_1}{2} [1 + \cos (\varphi - \varphi_1)] + \frac{V_2}{2} [1 - \cos (2\varphi - \varphi_2)] \right. \\ \left. + \frac{V_3}{2} [1 + \cos (3\varphi - \varphi_3)] + \frac{V_4}{2} [1 - \cos (4\varphi - \varphi_4)] \right]$$

Equação 5a

$$V_\varphi = K_\varphi [1 + \cos (n\varphi + \delta)]$$

Equação 5b

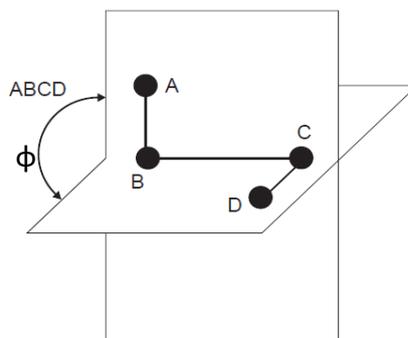
Na equação 5b, V_φ é a constante que define a altura da barreira de rotação e n (1,2,3,4) o número de mínimos para a torção de uma ligação química específica. A Figura 12 representa geometricamente o ângulo de torção. Os diedros impróprios, que são Utilizados para manter grupos planos no plano (por exemplo, anéis aromáticos) ou para prevenir que moléculas deformem-se em suas imagens espectrais também podem ser tratados da mesma forma que as deformações angulares, onde a contribuição para a energia potencial molecular é dada pela equação 5c.

$$V(\varphi_{ABCD}) = \frac{1}{2} k_{ABCD} (\varphi_{ABCD} - \varphi_{ABCD,eq})^2$$

Equação 5c

em que φ é o ângulo diedro (Cramer, 2004)(Jensen, 2007) (Hinchliffe, 2008)

Figura 12 Representação geométrica do ângulo de torção (Faria et al., 2016)



Fonte (Hinchliffe, 2008)

3.1 d Potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}) ou Van der Waals e Potencial de Coulomb (V_c)

O potencial de Lennard-Jones ou de Van der Waals é usado para calcular os potenciais de átomos não ligados covalentemente, nesse caso as interações podem ser intramolecular, separados por 3 ou mais ligações covalentes ou para descrever a interação intermolecular, entre átomos de moléculas vizinhas. Esse potencial é utilizado para interações de curto alcance (interações dipolo instantâneo – dipolo induzido, dipolo permanente – dipolo permanente e etc..), que em geral possuem menor intensidade que as interações de longo alcance (interações de coulomb).

As interações entre cargas, eletrostáticas, interações de longo alcance, entre dois átomos i e j é representada pelo potencial de Coulomb. Sendo r_{ij} a distância entre os átomos i e j , q_i e q_j são as cargas parciais, ϵ_0 a permissividade no vácuo e ϵ a constante dielétrica do meio.

Geralmente, os parâmetros empregados no campo de força podem ser obtidos tanto por cálculos mecânico quânticos quanto por ajustes a dados obtidos experimentalmente por técnicas como: cristalografia de raios X, espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear, entre outras.

No campo de força OPLS-AA calcula-se a soma dos potenciais (V) das interações não ligadas (Lennard-Jones e Coulomb) entre dois átomos *i* e *j* através da equação 6a e para o campo de força GROMOS53a6 a mesma somatória é dada pela equação 6b, abaixo.

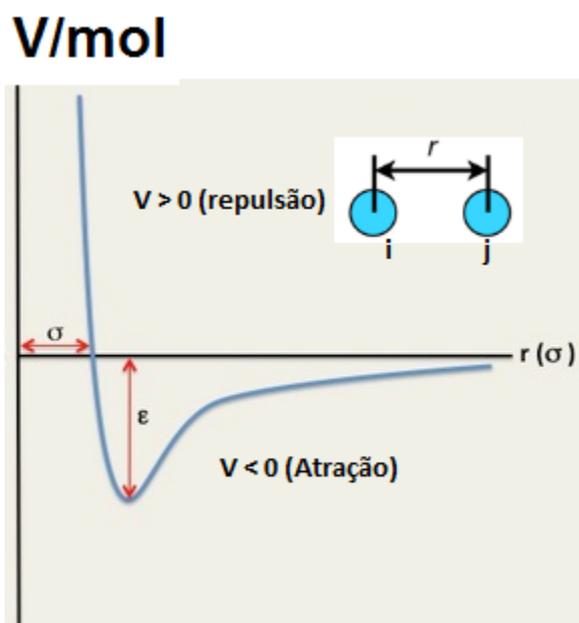
$$V_{\text{não ligados}} = \sum_{\substack{\text{pares } i,j \\ \text{não ligados}}} \left(\frac{C_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^6}{r_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right) \quad \text{Equação 6a}$$

Na equação 6ª $C_{ij} = \sqrt{C_{ii}C_{jj}}$ (Chang & Sandler, 2004) onde C_{ij}^{12} corresponde à repulsão para curtas distâncias entre dois átomos *i* e *j* e C_{ij}^6 refere-se ao termo atrativo na equação.

$$V_{\text{não ligados}} = 4\epsilon \left[\frac{\sigma^{12}}{(r_{ij})^{12}} - \frac{\sigma^6}{(r_{ij})^6} \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad \text{Equação 6b}$$

Na equação 6b, o primeiro termo (σ^{12}) corresponde à repulsão para curtas distâncias entre dois átomos *i* e *j*, o segundo termo (σ^6) descreve a contribuição de suas atrações, e ϵ corresponde à profundidade do poço de energia potencial, quanto maior o valor de ϵ , maior a interação entre duas partículas. O parâmetro σ indica o diâmetro de Lennard-Jones. O termo r_{ij} é a distância entre os átomos *i* e *j*. A Figura 13 representa graficamente a dependência do potencial de Lennard Jones (V) com a distância (r) entre os átomos *i* e *j*. Nela está representado o mínimo de energia potencial que é o valor necessário para a formação da interação de Van der Waals.

Figura 13 Gráfico representativo do potencial de Lennard Jones (V) em função da distância (r) entre os átomos i e j .



Na Figura 13 valores positivos de V representam repulsão entre as moléculas e valores negativos de V , indicam atração entre as moléculas. Na Figura 13 a distância da curva ao eixo Y refere-se ao termo σ e ele aumenta com o aumento do raio molecular. O poço de energia potencial é denotado pela letra ϵ que representa o “fundo do poço do potencial” e possui maior valor quanto mais estável forem as interações entre os átomos não ligados covalentemente.

3.2 Dinâmica Molecular (DM)

A dinâmica molecular (MD, do inglês, Molecular Dynamics) é um dos métodos da MM e é uma técnica amplamente utilizada em simulação computacional. Nesse tipo de simulação, os efeitos de temperatura não são desprezados. A DM pode simular sistemas químicos, físicos e biológicos contendo elevada quantidade de átomos e moléculas (10^3 entidades).

A energia desses sistemas são da ordem de grandeza de $k_b T$, em que k_b é a constante de Boltzmann e T é a temperatura em Kelvin. A realização da

simulação é feita conhecendo os valores das coordenadas cartesianas iniciais de cada átomo do sistema.

Para caracterizar eventos moleculares o intervalo de tempo típico utilizado entre um passo e o passo seguinte da dinâmica molecular é da ordem de grandeza de femtossegundos (10^{-15} s). O número de passos utilizados nesse trabalho foi da ordem de 10^6 passos. Sendo assim, obteve-se a trajetória do sistema num intervalo de tempo ao redor de 10^{-9} segundos que é nanossegundos (ns). A dinâmica molecular possibilita a obtenção das trajetórias dos componentes do sistema a partir da integração das leis de movimento de Isaac Newton. A trajetória fornece as posições e as velocidades das partículas do sistema em relação à variação do tempo. A equação a ser integrada é a Equação 7:

$$\frac{d^2 x_i}{dt^2} = \frac{F_{xi}}{m_i} \quad \text{Equação 7}$$

A equação 8 descreve o movimento da partícula de massa m_i ao longo da coordenada x_i , sendo F_{xi} a força da partícula nessa coordenada. Para um sistema contendo N partículas a integração sucessiva da Equação 7 para cada um dos átomos do sistema fornecerá o potencial total, V_{total} . A integração definirá cada passo do sistema e a trajetória obtida será o conjunto de todos os passos obtidos. A cada novo passo deve-se acrescentar um novo Δt , o que acarreta a alteração da velocidade e da posição atômica em função do tempo. A energia potencial do sistema é obtida integrando a força em relação ao espaço, como mostrado na Equação 8.

$$E_p(r) = - \int_{r_0}^r F dr \quad \text{Equação 8}$$

As propriedades macroscópicas do sistema são extraídas do conjunto de trajetórias em equilíbrio.

3.2.1 O Algoritmo de Integração *Leap-Frog*

A física newtoniana subsidia fundamentalmente a simulação por Dinâmica Molecular. As equações que são utilizadas para calcular as posições, velocidades e demais parâmetros do sistema molecular são expressas a seguir.

Um integrador é necessário para resolver as equações diferenciais na simulação de Dinâmica Molecular. O algoritmo *leap-frog* consiste num método numérico simples de resolver as equações de movimento de Newton (Bastug, Chen, Patra, & Kuyucak, 2008; Franca, Eduardo de Faria, Leite, Fábio L., & Amarante, 2010; Park, Khalili-Araghi, Tajkhorshid, & Schulten, 2003). O algoritmo calcula os valores das posições e velocidades alternadamente, um valor dependendo do outro, os valores de posições e velocidades são lançados ao longo do tempo t , r é a posição atômica, v é a velocidade dos átomos.

O aspecto numérico e a falta das velocidades explícitas no algoritmo de Verlet pode ser remediado pelo algoritmo *leap-frog*. (Allen & Tildesley, 1989) Desenvolvendo expansões análogas às equações 9 e 10 com a metade de um intervalo de tempo seguido por subtração gera,

$$r_{i+1} = r_i + v_{i+\frac{1}{2}}\Delta t \quad \text{Equação 9}$$

A velocidade é obtida pela expansão análoga para dar a equação 10.

$$v_{i+\frac{1}{2}} = v_{i-\frac{1}{2}} + a_i\Delta t \quad \text{Equação 10}$$

As equações 9 e 10 definem o algoritmo de *leap-frog*, e se observa que as atualizações das posições e velocidades estão fora de fase pela metade do intervalo de tempo, ou seja, as velocidades são atualizadas em tempos intermediários àqueles em que são atualizadas as posições. Em termos de precisão teórica ele é também de terceira ordem, como o algoritmo de Verlet, mas a precisão numérica é melhor. Além disso, a velocidade aparece diretamente, o que facilita um acoplamento com um banho térmico externo. A

desvantagem é que as posições e velocidades não são conhecidas ao mesmo tempo, por eles estarem sempre fora de fase pela metade do intervalo de tempo. A última anormalidade pode ser removida pelo algoritmo de velocidade de Verlet, onde as equações utilizadas para propagar os átomos são dadas na equação 11 (Jensen, 2007; Namba, Da Silva, & Da Silva, 2008)

$$\begin{aligned}r_{i+1} &= r_i + v_i \Delta t + \frac{1}{2} a_i \Delta t^2 \\v_{i+1} &= v_i + \frac{1}{2} (a_i + a_{i+1}) \Delta t\end{aligned}\quad \text{Equação 11}$$

O intervalo de tempo empregado é um parâmetro de controle importante para a simulação. O intervalo de tempo máximo que pode ser utilizado é determinado pela velocidade do processo mais rápido no sistema, ou seja, tipicamente uma ordem de magnitude menor do que o processo mais rápido. Movimentos moleculares (rotações e vibrações) ocorrem caracteristicamente em frequências que variam entre 10^{11} - 10^{14} s^{-1} (correspondente a comprimentos de ondas de 3-3300 cm^{-1}), e intervalos de tempo da ordem de femtossegundos (10^{-15} s) ou menos são necessários para modelar tais movimentos com precisão suficiente.

3.2.2 Algoritmos de restrições (LINCS)

A vantagem dos modelos com restrições é clara, porém esses modelos utilizados para reproduzir a dinâmica de sistemas sem restrições possui limitações. Van Gunsteren e Karplus (Berendsen et al., 1984) mostraram por simulações no vácuo, da proteína bovina tripsina, inibidora pancreática, (BPTI do inglês, *bovine pancreatic trypsin inhibitor*) que o uso de comprimentos de ligação fixados não altera significativamente as propriedades dinâmicas do sistema, enquanto que fixando os ângulos de ligação, ocorrem alterações significativas (Sant'Anna, 2009).

Os sistemas moleculares das simulações computacionais por DM podem se tornar instáveis quando as vibrações das ligações são muito elevadas, por causa da intensidade das forças externas. Uma maneira de evitar tal instabilidade seria manter as ligações e os ângulos entre os átomos restringidos, eliminando os modos vibracionais de maior frequência, o algoritmo LINCS permite esta possibilidade.

O algoritmo LINCS restringe o movimento dos átomos, ao nível das ligações e ângulos, aplicando multiplicadores de Lagrange às forças de restrição, o que permite integrar as equações de Newton com $\Delta t > 1\text{fs}$. Esses multiplicadores são resolvidos aproximando o inverso do Jacobiano a cada iteração. Desta forma, o algoritmo opera sempre que o sistema se torna instável.

Uma grande vantagem das simulações por Dinâmica Molecular é a possibilidade de utilizar o modelo de solvatação explícita. A utilização deste tipo de modelo permite uma descrição mais precisa de várias propriedades que são diretamente dependes da interação com solventes, no entanto aumenta o custo computacional das simulações. Conforme a dependência do sistema em interagir com o solvente, opta-se por um modelo mais ou menos preciso. Os modelos de solventes aquosos explícitos mais utilizados são o SPC, TIP3P, TIP4P e TIP5P (Van Der Spoel et al., 2005). Descrições mais detalhadas sobre o método de simulação por dinâmica molecular podem ser encontradas facilmente em várias biografias (Allen & Tildesley, 1989; Berendsen et al., 1984; Morgon & Coutinho, 2007)

3.2.3 Condições periódicas de Contorno

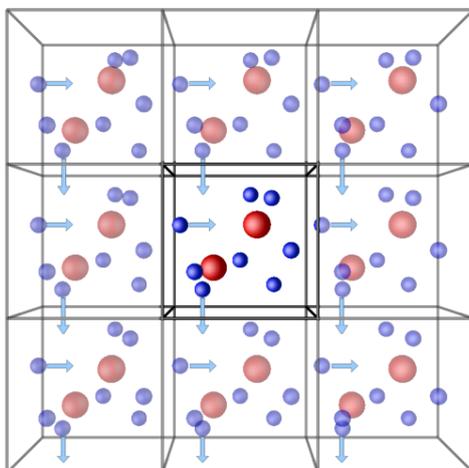
O sistema molecular simulado pode ser em solução ou em vácuo. Os componentes simulados nesse trabalho foram inseridos em uma caixa de simulação que consiste num cubo de dimensões definidas pelo programador durante a execução da simulação por dinâmica molecular. A caixa cúbica contém geralmente uma quantidade de átomos entre (10^3 e 10^5 átomos).

Em solução aquosa a caixa de simulação é completamente preenchida, sendo que aproximadamente metade de seus componentes se situam em regiões periféricas da caixa de simulação. Os componentes localizados na superfície do sistema podem estar sob efeitos de forças externas, como por exemplo a tensão superficial que produziria artificialidades no sistema. Nesse caso as forças atuantes na superfície da caixa seriam diferentes das forças que atuam no centro dela (Izrailev, Stepaniants, Balsera, Oono, & Schulten, 1997)

Afim de eliminar essas artificialidades é aplicado ao sistema o que é conhecido como condições periódicas de contorno.

Na Figura 14 é representado as condições periódicas de contorno que consiste em “clones” da caixa de simulação em todas as 3 dimensões. Essas réplicas são caixas virtuais que impedem que o número de moléculas na caixa real seja alterado, ou seja, essa condição é necessário para que o sistema respeite o princípio de Lavoisier da conservação da massa.

Figura 14 Condições periódicas de contorno em 3 dimensões.



Fonte: <http://isaacs.sourceforge.net/phys/pbc.html> acessado em 11/01/2018

Nesse processo as moléculas que eventualmente migrarem pra caixa virtual na vizinhança serão inseridas na caixa de simulação real pelo lado oposto de onde ela emergiu. (Park et al., 2003)

O número de moléculas a serem usadas na caixa de simulação depende das propriedades de interesse na investigação do sistema. Para saber a quantidade mínima de partículas a se utilizar em um sistema, basta analisar o comportamento de uma propriedade em simulações com quantidades crescentes de moléculas. Quando não houver mais variação da propriedade ao aumentar o número de moléculas, ou seja, quando tornar-se independentemente do tamanho do sistema, estará determinado o número mínimo de moléculas.

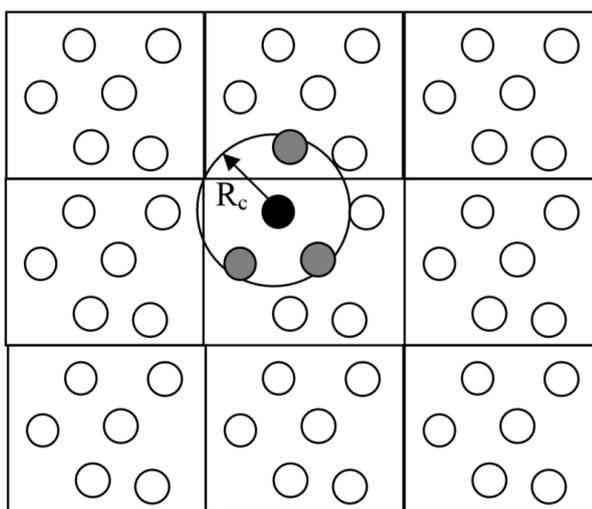
3.2.4 Imagem Mínima e Raio de Corte

O sistema simulado que possui as condições periódicas de contorno teria um número infinito de moléculas, já que são criadas infinitas caixas virtuais. Afim de avaliar somente as interações no interior da caixa real, ou seja, deve-se considerar somente o número de moléculas do sistema real, utiliza-se o conceito da *Imagem Mínima e do Raio de Corte!*

Nesse conceito consegue-se analisar as influências apenas dos vizinhos de uma partícula de interesse através do truncamento desse componente. Esse truncamento é realizado utilizando o raio de corte que consiste em criar uma esfera que engloba os compostos a serem analisados, esta deverá possuir raio igual ou menor do que a metade da aresta da caixa cúbica de simulação, Figura 15 (De Amarante, Dos Santos, Nunes, & Ribeiro, 2003). Essa medida é válida, pois assim evita-se que uma molécula interaja com sua imagem virtual. Nesse caso a quantidade de interações contabilizadas não incluirá as interações entre as moléculas virtuais, diminuindo o custo computacional.

O uso do raio de corte também é vantajoso por encurtar o tempo computacional para analisar as interações não ligadas, cujos cálculos exigem elevado tempo computacional. (Zhang, Zheng, Li, & Zhang, 2012).

Figura 15 Representação do raio de corte esférico para um sistema periódico em duas dimensões.



Fonte (E. de F. Franca, 2009) (Lemkul & Bevan, 2010)

As interações que ocorrem entre as moléculas que estão próximas umas das outras são chamadas interações de curto alcance. As interações entre todas as partículas restritas no raio de corte são denominadas de curto

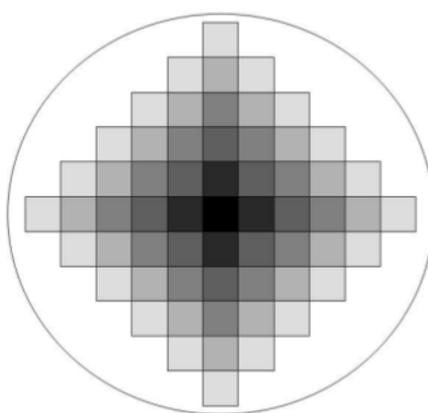
alcance. As demais partículas, na influência das interações de longo alcance, recebem um tratamento especial, por um campo de reação (do inglês, *Reaction Field*) ou da soma de Ewald para não ficarem restritas ao raio de corte. (Lemkul & Bevan, 2010).

As interações que ocorrem entre moléculas que estão distantes umas das outras são chamadas de interações de longo alcance, mais precisamente pode-se dizer que são as interações eletrostáticas, - potencial de Coulomb, pois o potencial delas decresce com a distância que é menor do que r^{-d} (d é a dimensão do sistema).

Essas interações não podem ser avaliadas pelo truncamento do raio de corte, pois geralmente gera artificialidades no sistema. A soma de Ewald (George, Prasad, Mahmood, & Shukla, 2010) e a aproximação do campo de reação (Tironi, Sperb, Smith, & van Gunsteren, 1995) são métodos consolidados na contabilização desses potenciais.

Na soma de Ewald, uma partícula interage com todas as outras partículas na caixa de simulação e com todas as suas imagens num arranjo infinito de células periódicas, sendo que no limite, a geometria do arranjo das células é considerada esférica, Figura 16.

Figura 16 Construção de um sistema de células periódicas no método de Ewald



Fonte: (Leach, 2001).

A contribuição da interação carga-carga para a energia potencial atribuída a todos os pares de cargas na caixa de simulação central pode ser escrita como,

$$V = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi \epsilon_0 r_{ij}} \quad \text{Equação 12}$$

onde r_{ij} é a distância mínima entre as cargas i e j , e ϵ_0 é a permissividade no vácuo. Já a contribuição da interação carga-carga entre as cargas na caixa central e todas as imagens de todas as partículas das seis caixas vizinhas é dado por:

$$V = \frac{1}{2} \sum_{n_{caixa}=1}^6 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi \epsilon_0 |r_{ij} + r_{caixa}|} \quad \text{Equação 13}$$

Existe portanto, uma contribuição para a energia total a partir das interações na caixa central somado às interações entre a caixa central e todas as suas caixas imagens (Hinchliffe, 2008; Namba et al., 2008). O método de Ewald é largamente usado em sistemas altamente polares ou carregados.

Existem variantes do método original de Ewald como o método PME (do inglês, Particle Mesh Ewald)(Darden, York, & Pedersen, 1993) (Darden et al., 1993) que utiliza procedimentos de interpolação por splines para tratar os termos no espaço recíproco. Por ser muito eficiente em termos de precisão e velocidade de processamento, o método PME encontra-se implementado em vários pacotes comerciais de simulação e de domínio público. (Morgon & Coutinho, 2007)

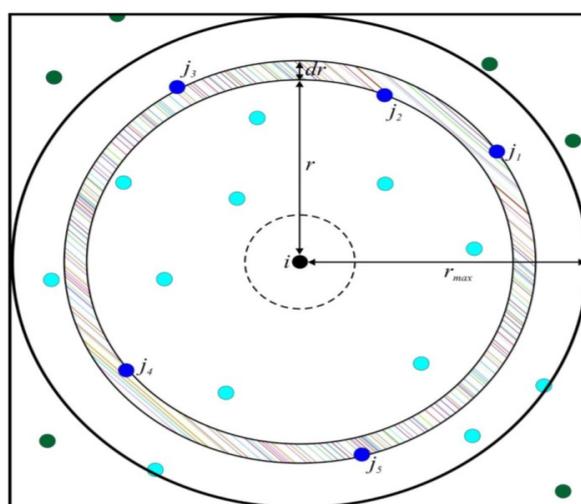
3.2.5 Ferramentas de Análise dos Dados: Função de Distribuição Radial de Pares (RDF)

A função de distribuição radial de pares (RDF), representada por $g(r)$ pode fornecer características e a intensidade de interações entre dois grupos atômicos. Considerando uma distância r do átomo i , a RDF descreve a variação na distribuição dos átomos j a esta distância em relação à densidade total de átomos j (Figura 17'). A equação a seguir descreve esta função:

$$g(r) = \frac{N_{ij}(r, r+\Delta r)}{4\pi r^2 \Delta r \rho_j} \quad \text{Equação 13'}$$

A Figura 17 representa a definição bidimensional das variáveis desta equação. Onde $N_{ij}(r, r+\Delta r)$ corresponde ao número médio de átomos j entre r e $r+\Delta r$ centrada no átomo i ; r indica a separação entre os átomos; $4\pi r^2 \Delta r$ descreve o elemento de volume da camada esférica; ρ_j se trata da densidade de átomos j .

Figura 17 Representação das variáveis para o cálculo de $g(r)$ em duas dimensões. As partículas azuis (claro e escuro) são utilizados para realizar o cálculo da densidade.



Fonte: (Uberl et al., 2015)

A função $g(r)$ apresenta um pico bem definido quando a distância r for mínima e o valor for máximo. Basta considerar constante o número médio de átomos j ao redor de i para uma mínima variação da distância r entre os átomos i e j , mostrando forte interação entre o par atômico. (Izrailev et al., 1997)

A função $g(r)$ consiste na média temporal dos valores extraídos em todos os intervalos da simulação. Cada ocorrência do par de átomos em função da distância r é armazenada em um histograma, que é normalizado para o número de moléculas e o número de passos para o cálculo de $g(r)$. O centro de massa de alguns grupos pode ser tomado como referência para o $g(r)$. A Dinâmica molecular não considera os elétrons do sistema (não resolve a equação de Schrödinger) e para isso é necessário usar a mecânica quântica.

3.3 Mecânica Quântica

A mecânica quântica descreve as moléculas em termos de interações entre o núcleo e os elétrons, e a geometria molecular em termos de arranjos de mínimos de energia dos núcleos. Todos os métodos mecânico-quânticos fundamentalmente remontam da equação de Schrödinger, na qual para o caso especial do átomo de hidrogênio (partícula única em três dimensões) pode ser resolvido de maneira exata, equação 14,

$$\left[\frac{-1}{2} \nabla^2 - \frac{Z}{r} \right] \psi(r) = E\psi(r) \quad \text{Equação 14}$$

onde, a quantidade entre colchetes representa a energia potencial e cinética de um elétron a uma distância r do núcleo de carga Z (1 para o hidrogênio). E é a energia eletrônica em unidades atômicas e Ψ , uma função das coordenadas dos elétrons r , é uma função de onda descrevendo o movimento do elétron.

A equação 15 representa a equação de Schrödinger generalizada para sistemas complexos

$$H\Psi = E\Psi \quad \text{Equação 15}$$

O termo Ψ , é uma função de onda para vários elétrons e H é chamado operador Hamiltoniano, no qual as unidades atômicas são dadas pela equação 16:

$$\hat{H} = \frac{-1}{2} \sum_i^{\text{elétrons}} \nabla_i^2 - \frac{1}{2} \sum_A^{\text{núcleo}} \frac{1}{M_A} \nabla_A^2 - \sum_i^{\text{elétrons}} \sum_A^{\text{núcleo}} \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum \sum_{i < j}^{\text{elétrons}} \frac{1}{r_{ij}} + \sum \sum_{A < B}^{\text{núcleo}} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Equação 16

onde Z é a carga nuclear, M_A é a razão entre a massa do núcleo A e a massa do elétron, R_{AB} é a distância entre o núcleo A e o núcleo B, r_{ij} é a distância entre os elétrons i e j e r_{iA} é a distância entre o elétron i e o núcleo A.

A equação de Schrödinger para sistemas complexos não pode ser resolvida exatamente (ou, pelo menos, ainda não foi resolvida), mesmo para um sistema simples de dois elétrons, tais como o hélio ou a molécula de hidrogênio.

A complexidade da equação de Schrödinger para sistemas polieletrônicos resultaram no desenvolvimento de várias aproximações para fornecer métodos práticos. Uma maneira de simplificar a equação para sistemas moleculares é assumir que o núcleo se move muito lentamente quando comparado com a velocidade na qual os elétrons se movem. Esta é chamada aproximação de Born-Oppenheimer e conduz à equação “eletrônica” de Schrödinger.

$$\hat{H}^{el} \Psi^{el} = E^{el} \Psi^{el} \quad \text{Equação 17}$$

$$\hat{H}^{el} = \frac{-1}{2} \sum_i^{\text{elétrons}} \nabla_i^2 - \sum_i^{\text{elétrons}} \sum_A^{\text{núcleo}} \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum \sum_{i < j}^{\text{elétrons}} \frac{1}{r_{ij}} \quad \text{Equação 18}$$

O termo na equação 16 descrevendo a energia cinética não aparece na equação 18 (o termo é igual a zero), e o termo de Coulomb referente ao núcleo-núcleo na equação 16 é uma constante. Este último, precisa ser

adicionado à energia eletrônica, E_{el} , para se obter a energia total, E , do sistema.

$$E = E^{el} + \sum \sum_{A < B}^{n\u00facleos} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad \text{Equa\u00e7\u00e3o 19}$$

A equa\u00e7\u00e3o eletr\u00f4nica de Schr\u00f3dinger ainda \u00e9 intrat\u00e1vel e outras aproxima\u00e7\u00f5es s\u00e3o necess\u00e1rias. Neste sentido, admite-se que os el\u00e9trons se movem independentemente uns dos outros. Na pr\u00e1tica, os el\u00e9trons individuais est\u00e3o confinados a fun\u00e7\u00f5es denominadas orbitais moleculares, cada uma das quais \u00e9 determinada assumindo que o el\u00e9tron est\u00e1 em movimento dentro de um campo m\u00e9dio **UHF** (do ingl\u00eas, *Unrestricted Hartree-Fock*) resultante da presen\u00e7a dos demais el\u00e9trons, ou seja, cada movimento do el\u00e9tron pode ser descrito por uma simples fun\u00e7\u00e3o (orbital molecular) que n\u00e3o depende explicitamente do movimento instant\u00e2neo dos outros el\u00e9trons.

Essa \u00e9 a proposta do m\u00e9todo de Hartree-Fock, uma metodologia aproximada para a determina\u00e7\u00e3o de fun\u00e7\u00f5es de onda e energia no estado fundamental de sistemas qu\u00e2nticos de muitos corpos. A fun\u00e7\u00e3o de onda eletr\u00f4nica antissim\u00e9trica \u00e9 dada por um determinante de Slater, que \u00e9 a fun\u00e7\u00e3o de onda antissim\u00e9trica mais simples que pode ser usada para descrever o estado fundamental de sistemas de N el\u00e9trons. A fun\u00e7\u00e3o de onda total \u00e9 escrita como

$$\psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \chi_2(x_1) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \chi_2(x_2) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_2) \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \chi_1(x_N) & \chi_2(x_N) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad \text{Equa\u00e7\u00e3o 20}$$

Aqui, χ_i s\u00e3o fun\u00e7\u00f5es das coordenadas espaciais e spin de um \u00fanico el\u00e9tron, chamadas spin-orbitais moleculares. Admitindo que os χ_i 's s\u00e3o ortonormais, o fator $1/\sqrt{N!}$ \u00e9 uma **constante de normaliza\u00e7\u00e3o** para Ψ .

Tr\u00eas importantes propriedades para um sistema composto de N el\u00e9trons s\u00e3o reunidas nesta fun\u00e7\u00e3o, sendo todas provenientes das propriedades dos

determinantes. Trocando-se os elétrons da primeira e da segunda coluna, obtém-se:

$$\psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_2(x_1) & \chi_1(x_1) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_1) \\ \chi_2(x_2) & \chi_1(x_2) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_2) \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \chi_2(x_N) & \chi_1(x_N) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad \text{Equação 21}$$

Este determinante é igual ao original, porém com sinal oposto, ou seja, **verifica-se que a função é antissimétrica para a troca de duas partículas:**

$$\psi(1,2) = -\psi(2,1) \quad \text{Equação 22}$$

Escrevendo igualmente a primeira e a segunda coluna por exemplo, o determinante será igual a zero, portanto, não mais do que um elétron pode ocupar um spin-orbital, impondo assim algebricamente o **Princípio da Exclusão de Pauli**.

Os elétrons são indistinguíveis e desta forma, o determinante garante que todos possam ocupar todos os orbitais com a mesma probabilidade.

O conjunto de orbitais que levam à menor energia são obtidos por um processo referido como campo autoconsistente (**método SCF**, do inglês, Self-Consistent-Field), que é capaz de obter soluções para as funções de onda do sistema a partir de uma função tentativa. Essa função tentativa é obtida a partir de uma estimativa inicial da função de onda, a qual é aperfeiçoada até convergir. A ideia básica do método SCF é simples, por um “chute” inicial dos orbitais de spin, pode-se calcular o campo médio experimentado por cada elétron, e em seguida, resolve-se a equação de Hartree-Fock para um novo conjunto de spin-orbitais. Usando estes novos orbitais de spin, tem-se um novo campo. Repete-se este procedimento até a autoconsistência ser alcançada. O arquétipo do método SCF é o método de Hartree-Fock. A equação de Hartree-Fock (HF) é uma equação de autovalor da forma:

$$f(i)\chi(x_i) = \varepsilon\chi(x_i) \quad \text{Equação 23}$$

em que $f(i)$ pode ser escrito,

$$f(i) = \frac{-1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + v^{HF}(i) \quad \text{Equação 24}$$

onde $f(i)$ é o operador de Fock de um elétron efetivo, x_i são as coordenadas spin e espacial do elétron i , χ_i é o spin-orbital e $v^{HF}(i)$ é o potencial médio experimentado pelo elétron i devido à presença dos outros elétrons. A natureza do potencial médio UHF depende da metodologia SCF.

O método de Hartree-Fock, em resumo, representa cada elétron por uma função de onda que possui dependência apenas nas coordenadas daquele elétron. A probabilidade de se encontrar um elétron em um dado ponto nas vizinhanças de um núcleo é determinada apenas pela posição em relação ao núcleo, mas não em relação aos outros elétrons. Há interação de um determinado elétron apenas com o campo médio dos outros elétrons, mas não há dependência mútua nas equações SCF, e não se considera as interações instantâneas entre esses elétrons, ou seja, os movimentos não estão correlacionados. O método de Hartree-Fock é o ponto de partida para todos os outros métodos quânticos *ab initio* (dos Santos, 2009; Hehre, 2003) .

Os métodos *ab initio* tentam derivar informações pela resolução da equação de Schrödinger sem ajustar parâmetros pelos dados experimentais. Na verdade, estes métodos também usam dados experimentais, porém de uma forma mais sutil. Existem muitos métodos diferentes de aproximação para resolver a equação de Schrödinger, e normalmente o escolhido para determinado problema se dá pela comparação entre o seu desempenho e dados experimentais conhecidos. Desta forma, os dados experimentais orientam a seleção do modelo computacional mais propriamente do que participam diretamente do procedimento computacional.

Uma das aproximações inerentes a essencialmente todos os métodos *ab initio* é a introdução de um conjunto de bases, que é um conjunto de funções matemáticas a partir do qual a função de onda é construída,

(Cramer, 2004) ou seja, é o conjunto de funções usados para descrever a forma dos orbitais em um átomo. Orbitais moleculares e funções de onda são criados por combinações lineares das funções de base e funções angulares. O tipo de cálculo executado e o conjunto de bases escolhido são os dois fatores mais determinantes na precisão dos resultados. (Young, 2001)

3.4 Teoria Funcional da Densidade (DFT)

A teoria do funcional de densidade (DFT, *do inglês, Density Functional Theory*) emergiu como uma alternativa aos tradicionais métodos *ab initio* e semi-empíricos no estudo de propriedades do estado fundamental de sistemas moleculares. A premissa subjacente à DFT é que a **energia da molécula pode ser determinada a partir da densidade eletrônica** que, descreve a distribuição de carga em uma molécula, **ao invés da função de onda**. Portanto, a densidade eletrônica deve ser adotada como o “**observável**” **mecânico-quântico**, o que possibilita uma formulação conceitual mais acessível em termos de química descritiva, contrariamente ao caráter abstrato da função de onda multieletrônica total que aparece nos outros métodos da química quântica. (Young, 2001),(Custodio & Morgon, 1995).

Para estudar e prever as propriedades dos sistemas atômicos e moleculares (incluindo a matéria sólida), é preciso usar a Mecânica Quântica. Para os sistemas moleculares, as mudanças de energia causadas pela presença de dipolos magnéticos dos elétrons e núcleos são pequenas em comparação com as energias de ligação química e geralmente podem ser tratadas com sucesso pela teoria da perturbação.

Além disso, como o foco da química está nos elétrons de valência, os elétrons próximos ao núcleo podem ser tratados por aproximações e, portanto, os efeitos relativistas, que afetam principalmente o núcleo, podem ser negligenciados. Para a química, então, a caracterização básica da estrutura e reatividade pode ser obtida a partir da equação não-relativista de Schrödinger sem efeitos magnéticos.

Para a caracterização da estrutura, utiliza-se a equação de Schrödinger independente do tempo, porém avaliar a interação de sistemas moleculares com radiação eletromagnética, necessita da equação de Schrödinger dependente do tempo.

A discussão a seguir é restrita à equação Schrödinger independente do tempo na aproximação de Born-Oppenheimer em que a estrutura eletrônica é calculada em posições nucleares fixas, isso porque a massa do núcleo é

imensamente maior do que a massa dos elétrons. Para um sistema molecular, é;

$$H \Psi (\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \dots, \mathbf{x}_N; \mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_{N_n}) = E \Psi (\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \dots, \mathbf{x}_N; \mathbf{R}_1, \dots, \mathbf{R}_{N_n}) \quad \text{Equação 25}$$

Onde x_1, x_2, \dots, x_N representam a rotação e as coordenadas cartesianas dos elétrons N na molécula, e R_1, \dots, R_{N_n} são as coordenadas nucleares dos núcleos N_n na molécula. O operador hamiltoniano é administrado por,

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{T}_n + \hat{V}_{en} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{nn} \quad \text{Equação 26}$$

onde as energias cinéticas e potenciais de N elétrons (e) e núcleos N_n (n) são dadas por,

$$\begin{aligned} \hat{T}_e &= -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{\mu=1}^{N_e} \nabla_{\mu}^2 & \hat{T}_n &= -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{k=1}^{N_n} \frac{\nabla_k^2}{m_k} \\ \hat{V}_{en} &= -\sum_{\mu=1}^{N_e} \sum_{k=1}^{N_n} \frac{Z_k e^2}{4\pi\epsilon_0 |\mathbf{r}_{\mu} - \mathbf{R}_k|} & \hat{V}_{ee} &= \sum_{\mu=1}^{N_e} \sum_{\nu > \mu}^{N_e} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 |\mathbf{r}_{\mu} - \mathbf{r}_{\nu}|} \\ \hat{V}_{nn} &= \sum_{j=1}^{N_n} \sum_{k > j}^{N_n} \frac{Z_k Z_j e^2}{4\pi\epsilon_0 |\mathbf{R}_j - \mathbf{R}_k|} \end{aligned} \quad \text{Equação 27}$$

Como já informado no método de Hartree-Fock, as soluções para esta equação devem ser obtidas com várias restrições importantes.

Primeiro, a função de onda Ψ deve ser normalizável e, em segundo lugar, deve ser antissimétrica em relação à troca de qualquer par de coordenadas de rotação de elétrons x_i, x_j porque os elétrons são Férmions. Este requisito é equivalente ao princípio de exclusão de Pauli geralmente declarado: nenhum elétron da mesma rotação (mesmos números quânticos) pode ocupar o mesmo ponto espacial ao mesmo tempo. Equivalentemente, $\Psi(x_1, x_1, \dots) = 0$. Isso implica que dois elétrons da mesma rotação são automaticamente mantidos afastados um do outro pelo requisito de

antissimetria e não se movem independentemente um do outro. Seu movimento está correlacionado, independentemente do fato de serem objetos carregados eletricamente.

A mecânica quântica nos diz que todas as possíveis propriedades mensuráveis do sistema molecular isolado estão contidas nas funções de onda $\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N; R_1, \dots, R_{N_n})$ para todos os estados da molécula. Para que toda essa informação seja contida, a função de onda é muito complexa. A função de onda de N elétrons depende de $3N$ coordenadas (x, y, z de cada elétron) e 3 coordenadas nucleares N_n . Para uma molécula como o benzeno, com 12 núcleos e 42 elétrons, o determinante tem $42! = 1.4 \times 10^{51}$ termos.

São muitas informações a serem contabilizadas e a computação trivial não conseguiria mensurar com boa precisão. Em primeiro lugar, a maioria do espaço de armazenamento pode ser evitada usando um conjunto de funções de base, geralmente centrado em torno dos núcleos, para expandir a função de onda desconhecida. Então, apenas um conjunto menor de coeficientes e parâmetros são necessários. O problema restante, no entanto, é que a representação matemática requer o uso de um conjunto infinito de funções de base e, na prática, devemos usar apenas um conjunto finito. A escolha do conjunto de bases torna-se um ponto de partida crucial.

Além disso, o comportamento fundamental dos elétrons é repelir-se em um sistema multielétron. O movimento dos elétrons está altamente correlacionado. Os elétrons da mesma rotação são automaticamente mantidos afastados uns dos outros pelo requisito de antissimetria (correlação de troca ou correlação de Fermi), mas os elétrons de rotação diferente devem ser mantidos afastados um do outro pela forma espacial da função de onda (correlação de Coulomb).

Nos métodos baseados em função de onda, o tratamento mais simples com precisão utilizável é o método Hartree-Fock. Neste método, assume-se que a função de onda pode ser escrita como a combinação antissimétrica de orbitais de um elétron (um determinante de Slater) e, assim, substitui o Hamiltoniano exato da equação 26 por um conjunto de "elétrons" que não interagem, onde cada um se move no campo médio do resto deles (uma Teoria Média de Campo). Os orbitais obedecem equações de Fock

integro-diferencial não-lineares e a solução deve ser obtida por métodos iterativos até a consistência de si mesmo (um método SCF), como já fundamentado nas equações 20 à 24.

O método Hartree-Fock satisfaz perfeitamente os requisitos de troca, mas não trata dos efeitos de correlação eletrônica. Para obter precisão química, os métodos pós-Hartree-Fock devem ser usados adicionalmente, como a teoria da perturbação de Moller-Plesset (MP), a Interação de Configuração (IC) ou os Métodos de Conjunto de Cluster. Estes são computacionalmente caros, limitando o tamanho do sistema ao qual podem ser aplicados, e de aplicação muito limitada aos metais de transição.

Ao invés da função de onda, seria possível utilizar outro conceito mais prático, Pode-se obter as propriedades do estado fundamental do sistema molecular sem construir explicitamente a função de onda muito complexa. Em 1964, Hohenberg & Kohn demonstraram que, surpreendentemente, a importância é que a densidade eletrônica possui, para qualquer sistema molecular; ela é função de apenas três coordenadas espaciais (para um determinado conjunto de posições nucleares)! A densidade eletrônica pode ser definida como:

$$\rho(\mathbf{r}_1) = N \int |\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N; \{\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_{Nn}\})|^2 d\sigma_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N \quad \text{Equação 28}$$

Esta é a integral sobre todas as coordenadas cartesianas e de rotação de elétrons, exceto os cartesianos do elétron 1, da distribuição de probabilidade definida pela função de onda, multiplicada pelo número de elétrons no sistema. A integral da densidade sobre todo o espaço é igual a N. (Profa, Helena, & Petrilli, 2015)

As propriedades do estado fundamental são completamente determinadas pela densidade eletrônica, assim como mostrada nos teoremas de Hohenberg e Kohn:

Teorema 1: O potencial externo (Ven) é determinado, até uma constante aditiva pela densidade eletrônica. Uma vez que $\rho(\mathbf{r}_1)$ determina o número de elétrons N, a densidade também determina a função de onda do estado fundamental e todas as outras propriedades eletrônicas do sistema.

Prova por contradição: Suponha que existem dois potenciais externos diferentes $V = V_{en} + V_{nn}$ e $V' = V_{en}' + V_{nn}'$ que ambos dão a mesma densidade eletrônica $\rho(r_1)$. Então temos dois Hamiltonianos, H e H' com a mesma densidade de estado fundamental e diferentes Ψ e Ψ' . Agora, usamos o princípio variacional, tomando Ψ' como uma função de teste para o H Hamiltoniano, para obter:

$$E_0 \langle \Psi | \hat{H}' | \Psi \rangle = \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle + \langle \Psi | (\hat{H}' - \hat{H}) | \Psi \rangle = E_0 + \langle \Psi | (V' - V) | \Psi \rangle$$

Equação 29

Além disso, podemos levar o Ψ como uma função de teste para o H' Hamiltoniano, para obter:

$$E_0' \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle = \langle \Psi | \hat{H}' | \Psi \rangle + \langle \Psi | (\hat{H} - \hat{H}') | \Psi \rangle = E_0' + \langle \Psi | (V - V') | \Psi \rangle$$
 Equação 30

Agora reconhece-se que o valor de expectativa da diferença nos potenciais externos diferem apenas no sinal porque assumimos que a densidade eletrônica é a mesma.

Quando adicionamos as duas equações, obtemos a desigualdade:

$$E_0 + E_0' < E_0' + E_0$$
 Equação 31

Assim, existe um mapa exclusivo entre o potencial externo V e a densidade do estado fundamental. Isso implica que todas as energias, incluindo a energia total, são funcionais da densidade. Denota-se $E = E[\rho]$. A densidade determina o hamiltoniano e, assim, a função de onda.

Uma definição intuitiva comparando a situação com a noção mais familiar de função. Uma função $f: R \rightarrow R$ é um mapa (ou atribuição) entre um número do conjunto R (os números reais) para outro número do conjunto R . Normalmente, denota-se essa atribuição por $y = f(x)$, e para cada valor de x corresponde apenas um valor de y . Por outro lado, um funcional é um mapa

entre um conjunto de funções e um número; $F: \{f(x)\} \rightarrow \mathbb{R}$, e denotamos isto por: $F[f(x)] = y$. Um exemplo simples é o operador de integração definitiva

$$F[g] = \int_a^b g(x) dx$$

A especificação da função integrável $g(x)$ produz um número definido em termos das constantes a e b .

Para discutir o teorema 2 (Princípio Variacional) suponha que haja uma densidade de ensaio ρ' . Então, essa densidade define sua própria função de onda Ψ' , e o valor de expectativa do verdadeiro hamiltoniano satisfaz o princípio variacional:

$$\langle \Psi' | H | \Psi' \rangle = T[\rho] + V_{ee}[\rho] + \int \rho(\vec{r}) V(\vec{r}) d\vec{r} = E[\rho'] \quad E_0[\rho_0] = \langle \Psi_0 | H | \Psi_0 \rangle.$$

Equação 32

Assim, a densidade correta é aquela que produz energia mínima. **Thomas, Fermi e Dirac** utilizando o gás de elétron mostraram um sistema no qual seria possível escrever explicitamente a energia funcional. Segue o modelo desenvolvido por eles.

O gás de elétron uniforme consiste em elétrons $N = Z$ em um volume que é uniformemente positivo de modo a manter todo o sistema eletricamente neutro. Para este sistema, Thomas e Fermi (1927) calcularam a energia cinética, e Dirac (1930) calculou a energia de correlação de troca:

$$E_{TFD}[\rho] = C_F \int \rho^{5/3}(\vec{r}) d\vec{r} - Z \int \frac{\rho(\vec{r})}{r} d\vec{r} + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + C_X \int \rho^{4/3}(\vec{r}) d\vec{r}$$

Equação 33

Os valores das constantes C são de ordem unitária. Este modelo reproduz a Regra de Madelung para o enchimento de energia orbital de elétrons em átomos, mas não é precisa, e quando aplicado a moléculas, não produz bons resultados. No entanto, para o gás eletrônico, a correlação de

Coulomb também pode ser calculada, embora numericamente (Ceperley, 1980) e esta está incluída em muitos funcionais modernos.

Um dos principais problemas da teoria de Thomas-Fermi-Dirac é que a energia cinética funcional não é representativa da densidade eletrônica não muito homogênea em átomos e moléculas. O método KS (Kohn e Sham) baseia-se na introdução de um sistema de referência fictício de elétrons que não interagem, (Seidl, Görling, Vogl, Majewski, & Levy, 1996) construído para ter a mesma densidade eletrônica que o sistema de interesse. Esses elétrons devem se mover em um potencial complexo que leva em consideração as formas reais de correlação de elétrons e a diferença entre a energia cinética funcional do sistema de referência e o sistema real.

O sistema de referência de partículas fictícias não interagentes tem uma solução rigorosa em termos de funções de ondas de elétrons únicos ou orbitais moleculares. Estes são chamados de orbitais Kohn-Sham. Assim, pode-se expressar a energia cinética exatamente para o sistema de referência como a soma do valor de expectativa do Laplaciano para cada "elétron".

$$T_s[\rho_s] = -\frac{1}{2} \sum_{j=1}^N \langle \chi_j | \nabla_j^2 | \chi_j \rangle \quad \text{Equação 34}$$

desde que a densidade do sistema real

$$\rho = \rho_\Sigma = \sum_{j=1}^N \sum_{\sigma} |\chi_j(\vec{r}, \sigma)|^2$$

Então a energia funcional do Sistema real é:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + V_{nn} + \text{Exc}[\rho] \quad \text{Equação 35}$$

Onde todas os termos desconhecidos são coletadas. Na energia da Correlação de troca,

$$\text{Exc}[\rho] = T[\rho] - T_s[\rho] + E_{ee}[\rho] - J[\rho]. \quad \text{Equação 36}$$

A expressão acima para a energia de correlação de troca inclui o erro na energia cinética, os efeitos de correlação e também a correção para a auto-interação do elétron que foi incluída no original J. Coulomb.

Agora, deve-se aplicar o princípio variacional e as variáveis a serem ajustadas são os próprios orbitais da KS. Na prática, isso é feito exatamente como no método HF, uma expansão de conjunto base é usada para representar os orbitais KS. Assim, motores de computação similares são necessários tanto para a DFT quanto para a teoria HF e não é, então, uma surpresa que os pacotes computacionais os tenham, muitas vezes, disponíveis como opções. Nós escrevemos toda a energia funcional em termos dos orbitais do KS

$$E[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_{j=1}^N \langle \chi_j | \nabla_j^2 | \chi_j \rangle + \frac{1}{2} \sum_{j=1}^N \sum_{i=1}^N \iint \langle \chi_j \chi_i | \frac{1}{r_{12}} | \chi_j \chi_i \rangle + \text{Exc}[\rho] -$$

$$\sum_{a=1}^{N_n} \sum_{j=1}^N Z_a \langle \chi_j | \frac{1}{r_{a1}} | \chi_j \rangle + \sum_{a=1}^{N_n} \sum_{b=1}^{N_n} \frac{Z_a Z_b}{r_{ab}} \quad \text{Equação 37}$$

Onde o termo Exc remete ao termo troca (*do inglês*, Exchange). A definição da derivada funcional dessa expressão em zero produz as equações que os orbitais KS devem satisfazer para fornecer a mesma densidade para ambos os sistemas:

$$\left\{ -\frac{1}{2} \nabla_j^2 - \sum_{a=1}^{N_n} \frac{Z_a}{r_{aj}} + V_{\text{KS}}(x_j) \right\} \chi_j = \varepsilon_j \chi_j \quad \text{Equação 38}$$

Observe que a equação 38 é idêntica (em forma matemática) às equações de HF satisfeitas pelos orbitais de Hartree-Fock. Assim, os mesmos métodos são usados para resolvê-los. Uma vez que a densidade desconhecida é necessária para escrever o potencial KS, as equações também são equações de pseudo-autovalor e devem ser resolvidas por um método SCF. A diferença fundamental está na forma do potencial V_{KS} versus o potencial V_{HF} . Cada um deles tem um termo comum de repulsão de Coulomb e um termo de troca. No

caso da HF, os termos de troca são conhecidos e exatos para o modelo, enquanto falta o termo de correlação Coulomb.

No caso DFT, o termo V_{xc} (potencial de exchange-correlação) inclui formas funcionais desconhecidas para a correlação Coulomb, correlação de troca e a correção para a energia cinética.

Pode não parecer vantajoso porque já era de se esperar que seria necessário incluir todos esses efeitos de correlação e adicionar um termo desconhecido nas equações, mas é um grande evolução. A razão pela qual representa um avanço fundamental é que não é preciso adivinhar completamente o que colocar para o V_{xc} porque há a equação 33 do gás de elétron que é exatamente solúvel.

A aproximação mais simples que se pode fazer é imaginar que, em cada ponto do espaço, podemos usar o valor da densidade que o gás de elétrons uniforme teria nesse ponto e permitir que ele varie de ponto a ponto. Isso é chamado de Aproximação de Densidade Local – LDA (*do inglês*, Local Density Approach). Mais detalhadamente, escreve-se:

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}(\rho(\vec{r})) d\vec{r} \quad , \quad \varepsilon_{xc}(\rho(\vec{r})) = \varepsilon_x(\rho(\vec{r})) + \varepsilon_c(\rho(\vec{r}))$$

Equação 39

Onde $\varepsilon_x(\rho(\vec{r})) = -\frac{3}{4} \left(\frac{3\rho(\vec{r})}{\pi} \right)^{1/3}$ é a energia de troca Dirac / Slater do gás.

A peça de correlação de Coulomb (Vide Anexo) é obtida a partir de interpolações dos dados de Monte Carlo de Ceperly e Alder (1980). A aproximação típica de LDA é a implementação de SWVN que implica a troca de Slater Exchange e correlação de Coulomb obtida por Vosko, Wilk & Nussair (1980). (Brooks & Johansson, 1983; Langreth & Vosko, 1987; Shapiro & Wilk, 1965). Perdew & Wang (1992) realizaram uma implementação mais precisa.

A LDA por si só não contém precisão suficiente para aplicações químicas. É necessário incluir termos que explicitamente levem em consideração a variação espacial da densidade. Esta é a formulação de funcionais dentro da Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA), o que

tornou possível a boa teoria funcional da densidade de precisão. (Car & Parrinello, 1985; Liechtenstein, Katsnelson, Antropov, & Gubanov, 1987) Como acima, as aproximações são feitas separadamente para as partes de troca e Coulomb. As expressões de Coulomb são bastante complexas e iremos ignorá-las. As escolhas populares são:

LYP : Lee, Parr & Yang (1988) PW91: Perdew & Wang (1991)
 P86: Perdew (1986)

Duas opções comumente usadas para o Exchange funcional são: (Brooks & Johansson, 1983)

Becke (1988):
$$F^B = \frac{\beta s_G}{1 + 6\beta s_G \text{Sinh}^{-1}(s_G)}$$
 Equação 40

Perdew (1986):
$$F^{86} = (1 + 1.296x^2 + 14x^4 + 0.2x^6)^{1/15}$$
 Equação 41

$$x = \frac{s_G}{(24\pi^2)^{1/3}}$$

O parâmetro b na forma Becke é adequado para densidades precisas de um grande número de átomos, enquanto que o Perdew não possui parâmetros empíricos. As combinações típicas em uso comum dão origem aos funcionais: (Becke, 1993)

Becke & Perdew/Wang: BPW91 Becke & Lee/Yang/Parr/: BLYP

Esses funcionais são todos LOCAIS no sentido matemático, mas vão além da Aproximação da densidade local.

Deve ficar claro que o método HF tem um erro sistemático. A falta de correlação de Coulomb implica que as energias são maiores do que deveriam ser, portanto, os comprimentos de ligação tendem a ser menores e as energias de ligação maiores do que as experiências. Na DFT, por outro lado, os erros sistemáticos ocorrem precisamente na direção oposta. Assim, uma combinação da HF e o funcional de troca devem melhorar consideravelmente os resultados

dos cálculos. O popular B3LYP funcional é o principal exemplo desse tipo. O desempenho é excelente, com um erro quadrático médio cerca de 2 kcal.mol⁻¹ no conjunto de referência de molécula G2 grande. Este funcional tem a seguinte forma:

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a)E_x^{LSD} + aE_{xc}^{\lambda=0} + bE_c^{B88} + cE_c^{LYP} + (1 - c)E_c^{LSD} \quad \text{Equação 42}$$

Os parâmetros a, b e c controlam as quantidades relativas de HF, correlação de troca e correlação de Coulomb e em várias fontes de pesquisa são determinados empiricamente (ajustando-se aos dados). (Koch & Holthausen, 2001)

3.5 Teoria da Perturbação

Um outro método de aproximação em Química Quântica, a teoria da Perturbação ou Teoria da Perturbação de Rayleigh-Schrödinger. Considera-se um sistema no qual a equação de Schrödinger é

$$H|\Psi_i\rangle = E_i|H_i\rangle \quad \text{Equação 43}$$

E para um estado estacionário

$$H^{(0)}|\Psi_i^{(0)}\rangle = E_i^{(0)}|\Psi_i^{(0)}\rangle \quad \text{Equação 44}$$

Onde $H^{(0)}$ é Hamiltoniano de um sistema não perturbado, ou seja, um sistema na ausência de radiação eletromagnética ou correlação interna. Quando há presença de uma perturbação o Hamiltoniano que descreve a perturbação é representado por H' . O Hamiltoniano perturbado H e um não perturbado é

$$H = H^{(0)} + H'$$

Equação 45

Ou seja,

$$H = H^{(0)} + H' \quad \text{Equação 46}$$

Onde $H^{(0)} > H'$. Quando diz-se que $H^{(0)} > H'$, significa que $\langle H^{(0)} \rangle > \langle H' \rangle$

isto é comparar os valores esperados dos dois operadores $H^{(0)}$ e H' .

O objetivo é relacionar as autofunções e autovalores do sistema perturbado às autofunções e autovalores conhecidos do sistema não perturbado. Para isto, imagina-se que a perturbação é aplicada de maneira a variar continuamente o sistema do estado não perturbado ao estado

perturbado. Matematicamente, isto corresponde à introdução de um parâmetro λ no Hamiltoniano, modo que

$$H = H^{(0)} + \lambda H' \quad \text{Equação 47}$$

com λ variando entre 0 e 1. Quando $\lambda = 0$, o sistema é não perturbado e quando $\lambda = 1$ o sistema é perturbado. Assim temos:

$$(H^{(0)} + \lambda H') \Psi_i = E_i \Psi_i \quad \text{Equação 48}$$

desde que o Hamiltoniano depende do parâmetro λ , tanto a autofunção Ψ_i , como o autovalor E_i , devem depender também de λ e podemos expandi-lo em séries de Taylor de potências de λ .

$$\Psi_i = \Psi_i^{(0)} + \lambda \Psi_i^{(1)} + \lambda^2 \Psi_i^{(2)} + \dots + \lambda^k \Psi_i^{(k)} \quad \text{Equação 49}$$

$$E_i = E_i^{(0)} + \lambda E_i^{(1)} + \lambda^2 E_i^{(2)} + \dots + \lambda^k E_i^{(k)} \quad \text{Equação 50}$$

Onde k é a ordem da função e energia. Substituindo a equação 49 e 50 na equação 48, tem – se:

$$\begin{aligned} & (H^{(0)} + \lambda H') \Psi_i^{(0)} + \lambda \Psi_i^{(1)} + \lambda^2 \Psi_i^{(2)} + \dots + \lambda^k \Psi_i^{(k)} = \\ & (E_i^{(0)} + \lambda E_i^{(1)} + \lambda^2 E_i^{(2)} + \dots + \lambda^k E_i^{(k)}) (\Psi_i^{(0)} + \lambda \Psi_i^{(1)} + \lambda^2 \Psi_i^{(2)} + \dots + \lambda^k \Psi_i^{(k)}) \end{aligned} \quad \text{Equação 51}$$

$$\begin{aligned} & H^{(0)} \Psi_i^{(0)} + \lambda (H' \Psi_i^{(0)} + H^{(0)} \Psi_i^{(1)}) + \lambda^2 (H^{(0)} \Psi_i^{(2)} + H' \Psi_i^{(1)}) = E_i^{(0)} \Psi_i^{(0)} + \\ & (\lambda E_i^{(1)} \Psi_i^{(0)} + E_i^{(0)} \Psi_i^{(1)}) + \lambda^2 (E_i^{(2)} \Psi_i^{(0)} + E_i^{(1)} \Psi_i^{(1)} + E_i^{(0)} \Psi_i^{(2)} + \dots \end{aligned}$$

$$\text{Equação 52}$$

Igualando os termos de mesma potência

$$H^{(0)} \Psi_i^{(0)} = E_i^{(0)} \Psi_i^{(0)} \quad \text{Equação 53}$$

$$\lambda(H' \Psi_i^{(0)} + H^{(0)} \Psi_i^{(1)}) = \lambda(E_i^{(1)} \Psi_i^{(0)} + E_i^{(0)} \Psi_i^{(1)})$$

Dividindo os 2 lados da igualdade por λ , tem-se que:

$$(H' \Psi_i^{(0)} + H^{(0)} \Psi_i^{(1)}) = (E_i^{(1)} \Psi_i^{(0)} + E_i^{(0)} \Psi_i^{(1)}) = 0 \quad \text{Equação 54}$$

$$\lambda^2(H^{(0)} \Psi_i^{(2)} + H' \Psi_i^{(1)}) = \lambda^2(E_i^{(2)} \Psi_i^{(0)} + E_i^{(1)} \Psi_i^{(1)} + E_i^{(0)} \Psi_i^{(2)})$$

Dividindo tudo por λ^2 tem-se que:

$$(H^{(0)} \Psi_i^{(2)} + H' \Psi_i^{(1)}) = (E_i^{(2)} \Psi_i^{(0)} + E_i^{(1)} \Psi_i^{(1)} + E_i^{(0)} \Psi_i^{(2)}) = 0 \quad \text{Equação 55}$$

Ao unir as Equação 53, 54 e 55, tem-se que:

$$(H^{(0)} \Psi_i^{(0)} - E_i^{(0)} \Psi_i^{(0)}) + \lambda((H' - E_i^{(1)}) \Psi_i^{(0)} + (H^{(0)} - E_i^{(0)}) \Psi_i^{(1)}) + \lambda^2(\dots) + \dots = 0$$

Equação 56

Como Ψ_i e E_i são funções contínuas de λ , para que a Equação 56 seja verdadeira para qualquer valor de λ , os coeficientes de cada potência de λ devem ser iguais a zero. As equações 53 e 54 são equações de ordem zero e ordem 1, respectivamente. E como as soluções de ordem zero são conhecidas elas podem ser utilizadas para se obter as equações de ordem 1. Para obter a energia Equação 54 deve ser reescrita na seguinte forma:

$$H' \Psi_i^{(0)} + (H^{(0)} - E_i^{(0)}) \Psi_i^{(1)} = E_i^{(1)} \Psi_i^{(0)}$$

Multiplicando e integrando os 2 lados da igualdade por $\Psi_i^{(0)*}$, tem-se que:

$$\Psi_i^{(0)*} H' \Psi_i^{(0)} + \Psi_i^{(0)*} (H^{(0)} - E_i^{(0)}) \Psi_i^{(1)} = \Psi_i^{(0)*} E_i^{(1)} \Psi_i^{(0)}$$

$$\langle \Psi_i^{(0)} | H^{(0)} - E_i^{(0)} | \Psi_i^{(1)} \rangle + \langle \Psi_i^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle = E_i^{(1)}$$

O primeiro termo é zero porque H é um operador Hermitiano. Então, a correção de ordem um para a energia do nível i é:

$$E_i^{(1)} \int \Psi_i^{(0)*} H' \Psi_i^{(0)} d\tau = H'_{ii} \quad \text{Equação 57}$$

Ou

$$E_i^{(1)} \int \Psi_i^{(0)*} H' \Psi_i^{(0)} d\tau = H'_{ii}$$

$$E_i^{(1)} = \langle \Psi_i^{(0)} | H^{(1)} | \Psi_i^{(0)} \rangle = H'_{ii}$$

$$E_i^{(2)} = \langle \Psi_i^{(0)} | H^{(1)} | \Psi_i^{(1)} \rangle + \langle \Psi_i^{(0)} | H^{(2)} | \Psi_i^{(0)} \rangle \quad \text{Equação 58}$$

Para se obter a correção de ordem 1 para a função de onda, deve-se expandir $\Psi_i^{(1)}$ em um conjunto ortonormal completo de funções de ordem zero $\{\Psi_j^{(0)}\}$

$$\sum_j a_{ji} \Psi_j^{(0)}, \text{ onde } a_{ji} = \langle \Psi_j^{(0)} | \Psi_i^{(1)} \rangle$$

Equação 59

Substituindo a Equação 59 na Equação 57, tem-se que:

$$\sum_j a_{ji} (H^{(0)} \Psi_j^{(0)} - E_i^{(0)} \Psi_j^{(0)}) = (E_i^{(1)} - H') \Psi_i^{(0)}$$

Ou

$$\sum_j a_{ji} (E_j^{(0)} - E_i^{(0)}) \Psi_j^{(0)} = (E_i^{(1)} - H') \Psi_i^{(0)}$$

Equação 60

Multiplicando a Equação 60 por $\Psi_k^{(0)*}$ e integrando, tem-se:

$$\sum_j a_{ji} (E_j^{(0)} - E_i^{(0)}) \langle \Psi_k^{(0)} | \Psi_j^{(0)} \rangle = E_i^{(1)} \langle \Psi_k^{(0)} | \Psi_i^{(0)} \rangle - \langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle$$

Equação 61

Efetuada a somatória, somente os termos com $k = j$ permanecem, devido à ortonormalidade:

$$a_{ki} (E_j^{(0)} - E_i^{(0)}) = E_i^{(1)} \langle \Psi_k^{(0)} | \Psi_i^{(0)} \rangle - \langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle \quad \text{Equação 62}$$

Curiosamente tem-se $k = i$, obtêm-se a Equação 57

$$a_{ki} (E_j^{(0)} - E_i^{(0)}) = E_i^{(1)} - \langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle$$

$$\text{Tomando : } 0 = a_{ki} (E_j^{(0)} - E_i^{(0)})$$

Tem – se

$$E_i^{(1)} = \langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle = \langle \Psi_i^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle \quad \text{Equação 57}$$

E se $k \neq i$, tem – se; $E_i^{(1)} \langle \Psi_k^{(0)} | \Psi_i^{(0)} \rangle = 0$, então:

$$a_{ki} (E_j^{(0)} - E_i^{(0)}) = -\langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle$$

$$a_{ki} = \frac{\langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle}{(E_i^{(0)} - E_k^{(0)})} \quad \text{Equação 63}$$

a Equação 63 determina todos os coeficientes a_{ki} , exceto a_{ii} , o coeficiente de $\Psi_i^{(0)}$. Aplicando a condição de ortonormalização, determina-se $a_{ii} = 0$. Os resultados finais para E_i e Ψ_i corretos até a primeira ordem são os seguintes:

$$E_i^{(1)} = E_i^{(0)} + \lambda H'_{ii} \quad \text{Equação 64}$$

$$\Psi_i^{(1)} = \Psi_i^{(0)} + \lambda \sum_{k \neq i} \frac{\langle \Psi_k^{(0)} | H' | \Psi_i^{(0)} \rangle}{(E_i^{(0)} - E_k^{(0)})} \Psi_k^{(0)} \quad \text{Equação 65}$$

Neste trabalho, em particular, a obtenção das cargas RESP do íon fosfato foi obtida por 3 diferentes métodos quânticos que foram o HF, DFT e o MP2 (perturbação de segunda ordem). Os resultados obtidos estão no tópico 5.4 dos resultados e discussões. A obtenção da carga Resp dos átomos da quitosana foi realizada com a metodologia DFT com híbrido B3LYP.

4 METODOLOGIA COMPUTACIONAL

4.1 Otimização do Íon Fosfato

A otimização da geometria foi realizada utilizando programa ORCA 3.0.3. A função de base utilizada foi a 6-31G* e o critério de convergência foi de 10^{-5} Hartree utilizando a metodologia Hartree-Fock.

4.2 Determinação da Carga RESP

As cargas RESP (Cornell, Cieplak, Bayly, & Kollman, 1993) (*do inglês, Restrained Electrostatic Potential*) foram calculadas por três diferentes metodologias quânticas, que foram: HF (Hartree-Fock) (Slater, 1951), DFT (Custodio & Morgon, 1995) e MP2 (Head-Gordon, Pople, & Frisch, 1988) (Teoria da perturbação de Moller-Plesset de segunda ordem. Os dois últimos métodos envolvem a correlação eletrônica. Os pacotes computacionais utilizados foram o ORCA 3.0.3 e NWCHEM 5.1 (Valiev et al., 2010).

Nas metodologias HF, DFT e MP2 foram utilizadas a função de base 6-31G* e na metodologia por DFT (Custodio & Morgon, 1995) foi usado o funcional B3LYP (Yanai, Tew, & Handy, 2004).

Tabela 2 Descrição das ligações do fosfato no campo de força

Ligações	b_0 (nm)	K_b (10^6 kJ mol ⁻¹ nm ⁻⁴)
P1 – O1	0,148	439320,000

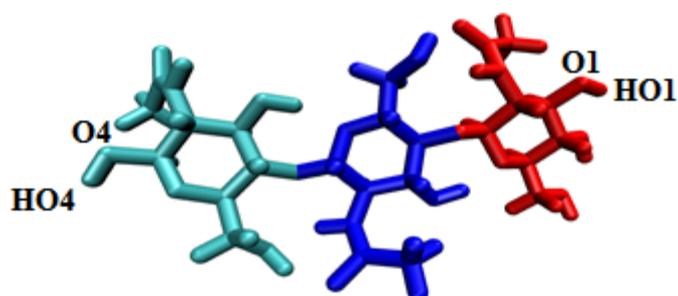
Tabela 3 Descrição dos ângulos do fosfato no campo de força

Ângulo	Θ_0 (graus)	K_0 (kJ mol ⁻¹)
O – P1 – O	108,230	376,560

4.3 Parametrização dos trimeros de Quitina e Quitosana

O modelo de entrada foi modelado por 3 diferentes tipos de resíduos e os códigos deles utilizados no campo de força são: CHTC que é um anel glicopiranosídico de extremidade que possui hidroxila (O4HO4), CHIT que é um anel glicopiranosídico central e CHTO que é um anel glicopiranosídico de extremidade que possui hidroxila O1HO1, assim como na Figura 18.

Figura 18 Resíduos da Quitina, CHTC (verde), CHIT (azul) e CHTO (vermelho).

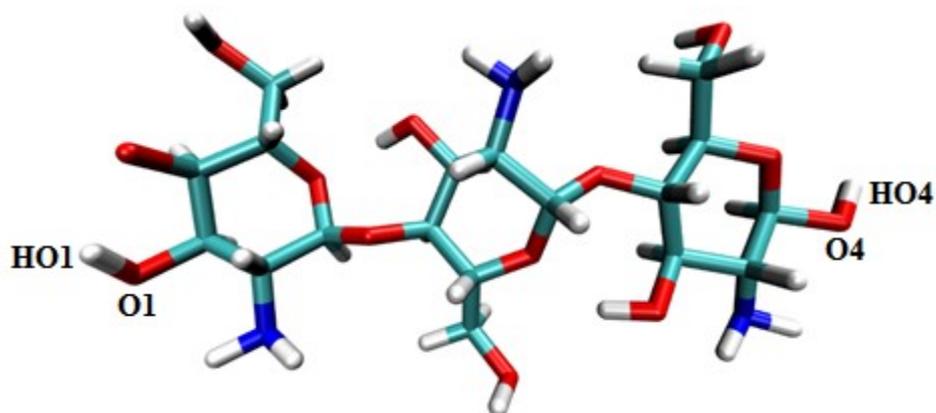


Os resíduos terminais da quitina e da quitosana se diferenciam pela numeração da hidroxila que pode ser O1HO1 ou O4HO4. Os resíduos centrais da quitosana se diferenciam pelo grupo amino que pode estar protonado ou desprotonado.

A Quitosana é formada por 6 tipos diferentes de resíduos. Os resíduos NGUO, NGLU e NGUC correspondem a forma desprotonada da Quitosana. O resíduo NGUO corresponde a um anel glicopiranosídico de extremidade com grupo amino (NH₂; o N está na cor azul) contendo uma hidroxila O1HO1, NGLU é um resíduo glicopiranosídico central com grupo amino e NGUC é um ciclo com

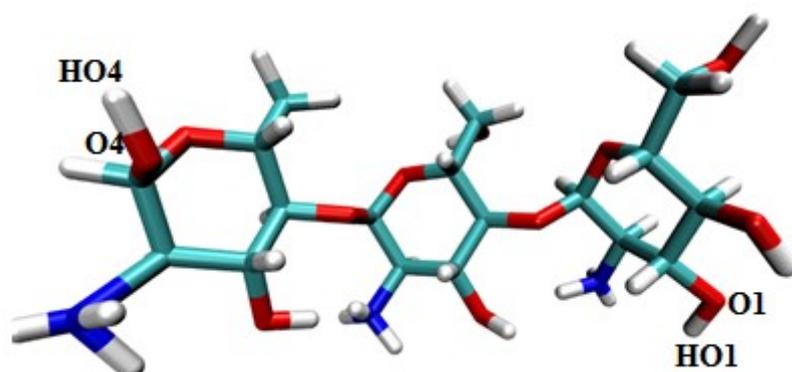
grupo amino e possui O4HO4. A Figura 19 representa a os resíduos desprotonados da Quitosana.

Figura 19 Resíduos da Quitosana desprotonada, NGUO, NGLU e NGUC (conferir os resíduos de acordo com a figura).



Os resíduos NGPC, NGLP e NGPO são códigos de resíduos protonados de Quitosana. O código NGPC indica um anel glicopiranosídico amino protonado que possui O4HO4, o anel NGPO possui grupo amino protonado e O1HO1 e o resíduo NGLP representa um anel glicopiranosídico central com grupo amino protonado, assim como representado na Figura 20.

Figura 20 Resíduos da Quitosana protonada, NGPC, NGLP e NGPO (conferir os resíduos de acordo com a figura).



Todos esses resíduos supracitados foram descritos no campo de força do OPLS-AA (do inglês, Optimized Potentials for Liquid Simulations-all-atom) (Jorgensen & Tirado-Rives, 1988) para que a simulação por dinâmica molecular fosse possível. A Quitina e a Quitosana foram reparametrizadas para serem utilizadas no campo de força OPLS-AA. Uma das justificativas para isso é a vantagem de se obter a Quitosana no campo de força OPLS-AA e aumentar o espectro de possibilidades para a realização de simulação por dinâmica molecular da Quitosana com outras moléculas previamente parametrizadas no OPLS-AA que é um campo de força com descrição atomística. O GROMOS53a6 (Fal'kovich et al., 2014) utiliza o modelo de átomos unidos na qual os átomos de Hidrogênio das partes hidrocarbônicas são descritos como grupos de átomos ao invés dos átomos isoladamente.

4.5 Otimização de Geometria da Quitina

A otimização da geometria foi realizada utilizando programa ORCA 3.0.3. A função de base utilizada foi a 6-31G* e o critério de convergência foi de 10^{-5} Hartree utilizando a metodologia Hartree Fock.

4.6 Determinação das Cargas RESP da Quitina e da Quitosana

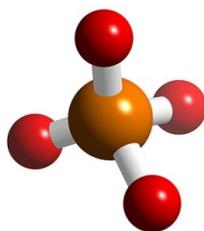
A metodologia quântica utilizada nos cálculos das cargas RESP foi DFT com função de base 6-31G* e funcional B3LYP, pois essa metodologia está calibrada para o campo de força OPLS-AA. Os grupos idênticos no composto foram tratados considerando o mesmo valor de carga para que não ocorresse efeitos geométricos que pudessem afetar o campo de força final.

O procedimento computacional para o ajuste das cargas RESP da quitina e da quitosana foram os mesmos.

4.7 Simulação, por Dinâmica Molecular, do Íon Fosfato no vácuo

A Figura 21 representa a estrutura inicial do Fosfato que foi desenhada no programa. GABEDIT 2.4.8 (ALLOUCHE, 2011)

Figura 21 Estrutura tridimensional do íon Fosfato molecular



A simulação por Dinâmica molecular (DM) foi realizada através do pacote computacional GROMACS 5.0,1 (Abraham et al., 2015), em conjunto com o campo de força OPLS-AA (Jorgensen & Tirado-Rives, 1988). A simulação foi realizada no vácuo, no ensemble NVT (número de partículas, volume e temperatura constantes).

Em seguida foi realizada a minimização de energia do sistema usando o algoritmo Steepest Descent por 100000 passos, sendo que as interações eletrostáticas foram tratadas através do método PME (Particle Mesh Ewald), por um ensemble NVT (número de partículas, volume e temperatura constantes)

A dinâmica molecular do sistema foi realizada num tempo de integração de 1fs totalizando 20ns correspondendo a $20 \cdot 10^6$ passos em um ensemble NVT (Número de partículas, Volume e temperatura constantes), utilizando o algoritmo *Verlet*, o termostato V-rescale, modelo de detalhamento da caixa foi grid, integrador md e foi usado as condições periódicas de contorno em todas as dimensões x,y e z. As interações eletrostáticas foram tratadas através do método PME (Particle Mesh Ewald).

A dinâmica molecular dos íons Fosfato no vácuo foi realizada para confirmar a estabilidade do composto no campo de força do OPLS-AA. Os valores de ângulos e ligações foram calculados após a dinâmica molecular.

4.8 Simulação, por Dinâmica Molecular, da Quitina no vácuo

A estrutura inicial da Quitina foi desenhada no programa GABEDIT.

A simulação por Dinâmica molecular (DM) foi realizada através do pacote computacional GROMACS 5.0,1 (Abraham et al., 2015), em conjunto com o campo de força OPLS-AA que foi utilizado para a validação da estrutura do biopolímero. A simulação foi realizada no vácuo, no ensemble NVT.

As nanopartículas finitas dos sistemas simulados são compostas por 10 monômeros de Quitina. O polímero de Quitina possui 173 átomos no GROMOS53a654a7 e 272 átomos no OPLS-AA.

O tempo de simulação dos biopolímeros no vácuo foi de 20ns para a quitosana e 50ns para a quitina. Isso ocorreu porque a quitosana se estabilizou mais rápido do que a quitina. O tempo de integração de ambos os sistemas foi de 1 fentossegundo.

Os filamentos simulados tiveram um perfil bem específicos, vide Figura 23, durante toda a dinâmica molecular. nos diferentes campos de força. A minimização (steepest descent,,100000 passos NVT,) e a termalização da quitina foram feitas assim como a minimização do íon fosfato.

A dinâmica molecular do sistema foi realizada num tempo de integração de 1fs (femtosegundo) totalizando um tempo total de 50ns correspondendo a $50,10^6$ passos em um ensemble NVT (Número de partículas, Volume e temperatura constantes), utilizando o algoritmo Verlet e, o termostato V-rescale, modelo de detalhamento da caixa foi grid, integrador md e foi usado as condições periódicas de contorno em todas as dimensões x,y e z.As interações eletrostáticas foram tratadas através do método PME (Particle Mesh Ewald)

A dinâmica molecular da Quitina no vácuo foi realizada para validar a estrutura do composto no campo de força do OPLS-AA, já que no campo de força GROMOS53a6 essa estrutura já havia sido parametrizada. Os valores de ângulos, ligações e diedros foram obtidos após a dinâmica molecular.

4.9 Simulação da Quitosana no vácuo

A simulação por Dinâmica molecular (DM) foi realizada no vácuo através do pacote computacional GROMACS 5.0,1,(Kutzner et al., 2015) em conjunto com o campo de força OPLS-AA e também no campo de força GROMOS53a6 que foi utilizado para a validação da estrutura do composto. As nanopartículas finitas dos sistemas simulados são compostas por 10 monômeros de Quitosana. O polímero de Quitosana possui 161 átomos no GROMOS53a6 e 237 átomos no OPLS-AA, esta diferença se dá pelos átomos de hidrogênios considerados no segundo campo de força.

Com o intuito de avaliar os parâmetros necessários para a validação da estrutura do biopolímero a simulação executada como campo de força foram realizadas no vácuo durante um tempo de integração de tempo de 50 ns no GROMOS53a6 e 20ns no OPLS-AA, num intervalo de 1 femtossegundo (fs).

A minimização (steepest descent, 100000 passos em um ensemble NVT) e a termalização da quitina foram feitas assim como a minimização do íon fosfato.

A dinâmica molecular do sistema foi realizada num tempo de integração de 1fs (femtossegundo) totalizando um tempo total de 50ns correspondendo a 50.106 passos em um ensemble NVT (número de partículas, volume e temperatura constantes), utilizando o algoritmo Verlet, o termostato V-rescale, modelo de detalhamento da caixa foi grid, integrador md e foi usado as condições periódicas de contorno em todas as dimensões x,y e z.

A dinâmica molecular da Quitosana no vácuo foi realizada para validar a estrutura do composto no campo de força do OPLS-AA, uma vez que no campo de força GROMOS53a6 essa estrutura já havia sido parametrizada e validada. Os valores de ângulos, ligações e diedros foram obtidos após a dinâmica molecular. Ao término da simulação um arquivo “.pdb” foi gerado afim de comparação com o arquivo “.pdb” inicial.

4.10 Simulação da quitosana com íons fosfato em solução aquosa

Em posse da estrutura da quitosana já validada no campo de força OPLS-AA, foi possível realizar a simulação desse composto com íons fosfato afim de analisar a interação entre essas 2 substâncias para prever o efeito quelante da quitosana sobre esse íon inorgânico.

A estrutura inicial do sistema Quitosana com íon fosfato foi desenhada no programa GABEDIT. Em seguida os passos iniciais da dinâmica foram executados. A simulação por Dinâmica molecular (DM) foi realizada através do pacote computacional GROMACS 5.0,1, em conjunto com o campo de força OPLS-AA.

A nanopartícula utilizada no sistema simulado foi a mesma descrita no item 4.9. Juntamente com a Quitosana foram inseridos 20 íons fosfatos ao redor do biopolímero para a análise da possível formação de interações entre esses compostos.

Com o intuito de avaliar os a existência das interações entre os íons e a quitosana, a simulação foi executada num intervalo de 20ns em solução aquosa durante um tempo de integração de 1 fentossegundo (fts).

Após os passos iniciais já supracitados na dinâmica da quitosana no vácuo foi realizada a solvatação pelo acréscimo de água e a inserção de íons cloreto e sódio para neutralizar o sistema. A carga da quitosana é +4 devido ao seus 4 grupos amino protonados, contabilizando com os 20 íons fosfato de carga -3 o que faz com que o sistema possua carga líquida igual a - 56. Nesse sentido foram adicionados íons cloreto e íons sódio para que o sistema atingisse a neutralidade. A inserção destes íons é feita substituindo moléculas de água pelo número de íons desejados.

Após a solvatação e a adição de íons, foi realizada a minimização de energia do sistema usando o algoritmo Steepest Descent por 100000 passos , sendo que as interações eletrostáticas foram tratadas através do método PME (Particle Mesh Ewald), por um ensemble NVT (número de partículas, volume e temperatura constantes)

. Após a minimização foram iniciadas as termalizações sucessivas (3 simulações por DM no total) de 100ps cada, adotando temperaturas iguais a 50, 150 e 298 Kelvin em cada, Na sequência após a obtenção de uma estrutura estável foi dado início a dinâmica molecular.

A dinâmica molecular do sistema foi realizada num tempo de integração de 1fs (femtosegundo) totalizando um tempo total de 20ns correspondendo a $20,10^6$ passos em um ensemble NPT (Número de partículas, pressão e temperatura constantes), utilizando o algoritmo Verlet e Barostato de Berendsen (manter a pressão constante), o termostato V-rescale, a temperatura foi mantida constante no valor de 298 Kelvin, com constante de fricção $\tau_t = 0,1$ ps; modelo de detalhamento da caixa foi grid, integrador md (leap-frog) e foi usado as condições periódicas de contorno em todas as dimensões x,y e z. A dinâmica molecular forneceu informações sobre a trajetória energética e estrutural do sistema durante os 20ns de simulação. O acoplamento de pressão foi isotrópico. A compressibilidade e a pressão de referência foram definidas como $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ e 1.0 bar, respectivamente.

A estrutura decamérica obtida após a simulação foi segregada em seus 10 respectivos anéis. É importante ressaltar que somente os 6 átomos do anel (5 átomos de carbono e 1 de oxigênio) foram utilizados nessa análise, ou seja, foram utilizados os anéis sem os átomos de hidrogênios, os grupos funcionais amino e hidroxila que estavam ligados no anel.

Esses anéis foram agrupados de 2 em 2. Nas duplas de anéis foi realizada uma fusão obtendo uma estrutura resultante de cada par. As estruturas resultante das primeiras fusões dos 5 pares de anéis foram também fundidas e assim por diante, até que fosse obtido uma única estrutura em cada campo de força (1 estrutura resultante no GROMOS53a6 e 1 estrutura resultante no OPLS-AA).

Afim de obter mais um parâmetro que mostrasse que a quitosana foi devidamente parametrizada no OPLS-AA realizou-se a fusão dos anéis resultantes nos dois campos de força simulados e com isso calculou-se o RMSD (*Raíz quadrada do desvio quadrático médio, do inglês Root Mean Square Deviation*) das estruturas fundidas. Como houve um pequeno valo de RMSD (como mostrado no final do item 5.1 na parte de resultados e

discussões) além de outras análises estruturais bem sucedidas, concluiu-se que a validação da parametrização da Quitosana foi realizada com êxito.

4.11 Potencial de força média

A força de interação entre o fosfato e a quitosana foi calculada utilizando o método do Potencial de Força Média (Potential of Mean Force, PMF). Este método calcula a energia livre relacionada à força de afastamento de determinada espécie do seu sítio de interação (Kirkwood, 1935). O íon fosfato foi puxado de forma a se afastar do centro de massa dos átomos com os quais interagem, com uma velocidade de $0,001 \text{ nm.ps}^{-1}$, aplicando-se uma constante de força de $367 \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{nm}^{-2}$ em solução aquosa a constante de força foi de $1000. \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{nm}^{-2}$. Neste procedimento foi utilizado um potencial harmônico segundo a metodologia denominada *umbrella sampling*.

A temperatura e pressão de referência foi de 298 K e 1 bar, respectivamente.

Acoplamentos aos termostatos de Berendsen (Berendsen et al., 1984) com um tempo de relaxação de 0,1 ps, foi utilizado para manter a temperatura do sistema constante, enquanto que a pressão foi mantida pelo acoplamento do barostato de Berendsen (Berendsen et al., 1984) com um tratamento isotrópico e tempo de relaxação de 10 ps; e compressibilidade de $4,5 \cdot 10^{-5} \text{ Bar}^{-1}$. A dinâmica do sistema foi realizada em um *ensemble* isotérmico-isobárico (NPT) utilizando-se o algoritmo *leap-frog* (Hockney, Goel, & Eastwood, 1974).

O tempo de simulação foi de 2 ns em solução e de 4ns no vácuo, dependendo se a retirada do íon ocorreu. O intervalo de integração utilizado foi de 1 fs. As coordenadas de todos os átomos do sistema foram descritas a cada 1 ps, para a realização das análises. As contribuições eletrostáticas foram tratadas por meio da aproximação *Reaction Field* e as interações de Van der Waals calculadas há um raio de corte de 1,4 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos resultados e discussões primeiramente serão mostradas as análises feitas para as parametrizações (da quitosana e do íon fosfato) e a validação da quitosana no campo de força OPLS-AA (5.1 à 5.5). As análises da simulação por dinâmica molecular da quitosana com o íon fosfato serão discutidas na sequência.

As cargas parciais da molécula de quitosana foram ajustadas para o potencial eletrostático no campo de força OPLS-AA usando o método RESP e os valores estão apresentados na Tabela 4.

5.1 Análise das cargas RESP dos biopolímeros nos campos de força OPLS-AA e GROMOS53a6.

As cargas parciais dos átomos da quitosana obtidas através da metodologia RESP, são mostradas na Tabela 4 para os 2 campos de força.

Tabela 4 Diferença dos valores das cargas parciais atômicas dos átomos da quitosana obtidas pela RESP nos 2 campos de força (OPLS-AA e GROMOS53a6)

Átomo	GRUPO	RESP-GROMOS53a6	RESP-OPLS-AA	DIFERENÇA
C4	CH1	0.232	0.232	0
C3	CH1	0.232	0.343	0.111
O3	OA	-0.642	-0.603	0.039
HO3	H	0.410	0.335	0.075
C2	CH1	0.000	0.004	0.004
N2	N	-0.280	-0.186	0.094
H22	H	0.2800	0.217	0.063
C7	C	0.380	0.547	0.167
O7	O	-0.380	-0.651	0.271
C8	CH3	0.000	0.063	0.063
C6	CH2	0.232	0.231	0.001
O6	OA	-0.642	-0.767	0.125
HO6	H	0.410	0.469	0.059
C5	CH1	0.376	0.312	0.064
O5	OA	-0.480	-0.351	0.129
C1	CH1	0.232	-0.032	0.264
O1	OA	-0.393	-0.163	0.230
O4	OA	-0.393	-0.466	0.073
HO1	H	0.213	0.349	0.136
HO4	H	0.213	0.349	0.136

Na Tabela 4 não houve diferença maior do que 0,3, com relação as cargas RESP dos átomos de quitosana nos 2 campos de força estudados. Apenas a diferença para os átomos O7 e O1 excede 0,2. Os átomos C3, C7, O6, O5, HO1 e HO4 não alcançaram 0,2 de diferença. Especialmente, o átomo de C4 tem a mesma carga em ambos os campos de força, além do C2 e do C6 também possuem cargas muito próximas.

Em suma, as cargas obtidas foram muito próximas nos 2 campos de força, que destaca a metodologia correta utilizada neste trabalho de parametrização deste biopolímero tão versátil quanto a quitosana.

5.2 Análise do melhor método para o cálculo da carga RESP do íon fosfato no Campo de Força OPLS-AA.

Através dos cálculos quânticos realizados foram obtidas as cargas RESP dos átomos do íon fosfato que foram de fundamental importância para a parametrização do íon fosfato. As cargas obtidas pelos diferentes métodos quânticos estão representadas na Tabela 5 juntamente com os relativos desvios padrão.

Tabela 5 Cargas RESP obtidas pelos diferentes métodos quânticos

Elemento	DFT	HF	MP2	Média (Desvio Padrão)
P	1,813 u.a	1,878 u.a	1,822 u.a	1,837 ($\pm 0,035$)
O	- 1,203u.a	- 1,219 u.a	- 1,205u.a	-1,209 ($\pm 0,009$)

Os resultados dos três métodos obtidos foram apresentados na Tabela 5. A metodologia Hartree-Fock (HF) apresentou o maior desvio em relação a média o que mostra que essa metodologia de aproximação é menos precisa para esse sistema, apesar demandar um pequeno tempo computacional.

As metodologias *Density Functional Theory* (DFT) e a Teoria de perturbação Moller-Plesset (MP2) foram os métodos que mais se aproximaram da média. A metodologia MP2 foi mais precisa do que a DFT para esse sistema. Os dois métodos mais precisos utilizam a correlação eletrônica na resolução da equação de Schrödinger, porém os cálculos por DFT são mais rápidos do que os cálculos por MP2.

A Tabela 5 mostrou os valores das cargas ajustados. As cargas do átomo de fósforo obtida foram de 1,812 u.a (unidades atômicas de carga) e a dos átomos de Oxigênio foi de -1,203 u.a.

Nesse trabalho foi extraído dados do sistema aquoso de quitosana e íons fosfato. Os parâmetros energéticos e estruturais se mostraram estáveis no

intervalo de simulação estudado o que sugere que não houveram grandes variações na dinâmica.

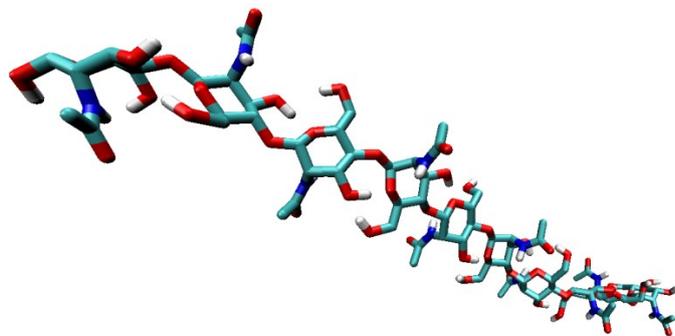
Uma extensão da simulação será realizada em trabalhos futuros para que se possa comprovar se o tempo de simulação não foi demasiadamente pequeno.

5.3 Análises Estruturais das Dinâmicas Moleculares dos Biopolímeros Simulados no Vácuo no Campo de Força OPLS-AA e no GROMOS53a6.

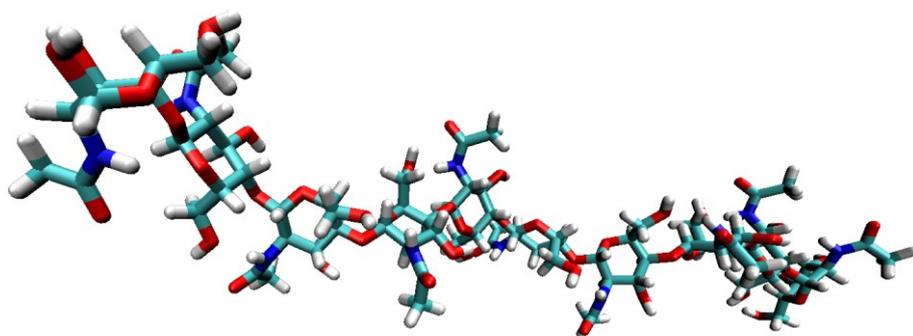
Após a Dinâmica Molecular, a análise da estabilidade conformacional da Quitosana e da Quitina (Figura 22a e 22b e Figura 23a e 23b) nos 2 campos de força foram avaliadas através do RMSD que é a medida da raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD, do inglês, *Root Mean Square Deviation*), o qual revela o distanciamento conformacional da estrutura nativa ao longo do tempo de simulação e o do RMSDist que significa o cálculo da Raíz quadrada dos desvio médio quadrático das distâncias atômicas (*do inglês, root mean square deviation of atom distances - RMSDist*) em função do tempo, (Figuras 24, 25 e 26).

Outras análises, de ordem estrutural (Tabela 6, 7 e Figura 28) também foram desenvolvidas afim de validar a estrutura da quitosana no OPLS-AA. Além das análises estruturais também foram comparadas as cargas RESP dos átomos das estruturas nos diferentes campos de força (Tabela 8) assim como a Energia total (Figura 29)

Figura 22 (a) Estrutura da Quitina no campo de força GROMOS53a6
(b) Estrutura da Quitina no campo de Força OPLS-AA.



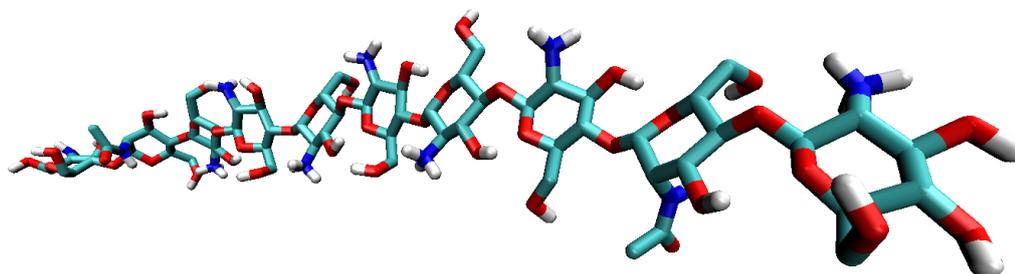
(a)



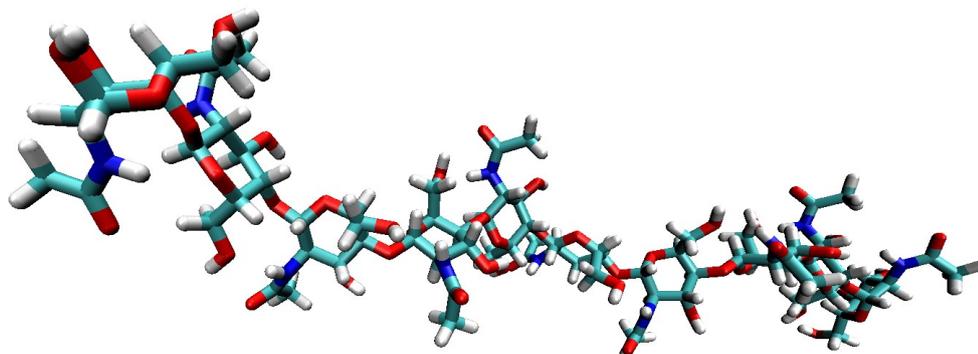
(b)

Fonte: Autor (William Humphrey et al., 1996)

Figura 23 Figura 19: (a) Estrutura da Quitosana no campo de força GROMOS53a6. (b) Estrutura da Quitosana no campo de Força OPLS-AA.



(a)



(b)

Fonte: Autor (William Humphrey et al., 1996)

A dinâmica molecular permite a comparação da estrutura do composto com a estrutura inicial, não como num cristal onde os átomos não tem mobilidade, mas avalia-se a mobilidade estrutural da molécula em função do tempo através da equação 29a.

Uma boa interpretação gráfica da trajetória dos componentes do sistema pode ser obtida adotando uma matriz em que o RMSD é função de (t_1) e (t_2) e, o que dá uma boa interpretação gráfica de uma trajetória. Se houver transições em um trajetória, elas aparecerão claramente nessa matriz.

Para o cálculo dos desvios entre a conformação da Quitosana e da Quitina ao decorrer da dinâmica molecular em relação a uma estrutura de referência, ajusta-se pelos mínimos quadrados a estrutura em relação à referência ($t_2=0$), pela equação,

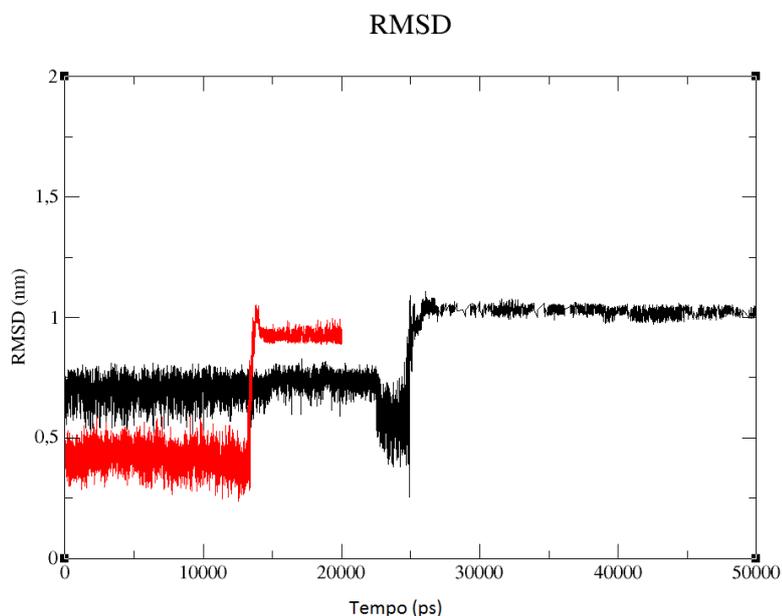
$$RMSD = \left[\frac{1}{M} \sum_{i=1}^N m_i \|r_i(t_1) - r_i(t_2)\|^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 29a}$$

onde $M = \sum_{i=1}^N m_i$ e $r_i(t)$ é a posição do átomo i no tempo t e N é o número de átomos utilizado no cálculo.

A Quitosana, no campo de força GROMOS53a6, apresentou baixa mobilidade estrutural no vácuo (**Figura 24**), à **298 K**, manifestando uma leve e sistemática flutuação para as medidas de RMSD, em torno de 0,86 nm ($\pm 0,17$ nm). Já no OPLS-AA, a Quitosana apresentou menor mobilidade estrutural no vácuo, à **298 K**, manifestando uma leve e sistemática flutuação para as medidas de RMSD, em torno de 0,59 nm ($\pm 0,24$ nm). Isto sugere que a Quitosana manteve a sua conformação estrutural estável na dinâmica molecular em ambos os casos e no OPLS-AA ela possui estrutura mais estável durante a simulação.

Esse composto atinge a estabilidade estrutural mais rapidamente no campo de força OPLS-AA do que no GROMOS53a6. No GROMOS53a6 o modelo adotado é o modelo dos átomos unidos e nesse caso muitas interações específicas (momentos dipolos) não são consideradas. No OPLS-AA é realizado uma descrição atomística mais detalhada na qual os átomos de hidrogênio alquilicos são considerados de maneira explícita.

Figura 24 Raiz quadrada do desvio quadrático médio da quitosana nos diferentes campos de força. Cor preta é a quitosana no GROMOS53a6 e vermelha é a quitosana no OPLS-AA.



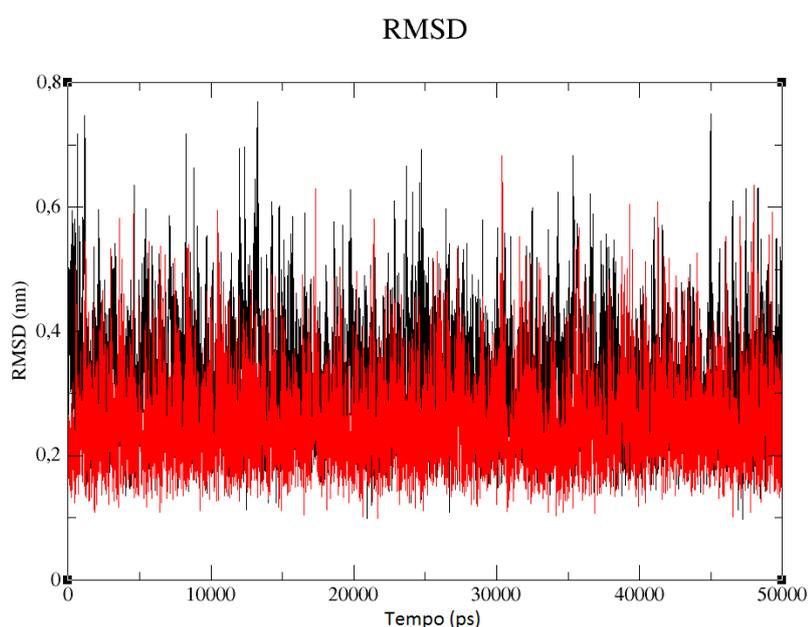
Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

De forma similar, as variações nas conformações de quitosana para o GROMOS53a6 e OPLS-AA mostraram que os parâmetros mais estáveis foram observados no campo de força OPLS-AA ($0,925 \text{ nm} \pm 0,011$) nm em comparação com GROMOS53a6 ($1,1620 \text{ nm} \pm 0,019$ nm).

A importância da parametrização dos biopolímeros usando o campo de força OPLS-AA é justificada com o fato de que o modelo atomístico fornece melhores resultados por contabilizar todos os átomos do composto e interações mais específicas, como momentos de dipolo, em vez de usar o conceito de átomos ligados, nos quais átomos de hidrogênio de hidrocarbonetos têm restrições de carga.

Na Figura 25 os perfis referem-se à molécula de quitina em ambos campos de força. Os perfis mostraram a estabilidade estrutural desde o início da simulação, o que indicou que a termalização foi suficiente para estabilizar a estrutura.

Figura 25 Raiz quadrada do desvio quadrático médio da Quitina nos diferentes campos de força Cor preta é a quitina no GROMOS53a6 e vermelha é a quitina no OPLS-AA.



Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

A Quitina nos diferentes campos de força apresentou baixa mobilidade estrutural no vácuo (Figura 25), à 298 K, manifestando uma leve e sistemática flutuação para as medidas de RMSD, em torno de 0,33 nm ($\pm 0,09$ nm) no OPLS-AA. No GROMOS53a6 a Quitina apresentou menor mobilidade estrutural no vácuo, à 298 K, manifestando uma leve e sistemática flutuação para as medidas de RMSD, em torno de 0,26 nm ($\pm 0,07$ nm). Isso se deve ao modelo de átomos unidos utilizado no GROMOS53a6 em que muitas interações específicas e os átomos de hidrogênio hidrocarbônicos não são contabilizados.

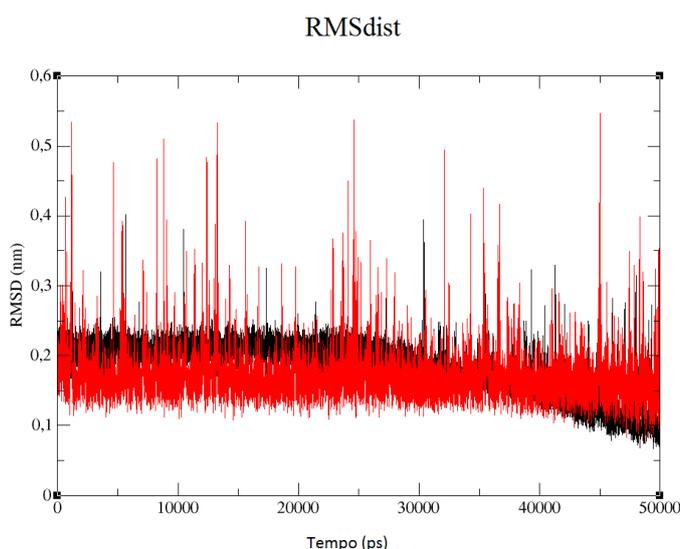
Alternativamente ao RMSD, a flutuação estrutural pode ser calculada usando o rmsdist.. O cálculo do RMSDist é dado pela Equação 29b.

$$RMSD(t) = \left[\frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left| r_{ij}(t) - r_{ij}(0) \right|^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 29b}$$

onde a distância r_{ij} entre os átomos no tempo (t) é comparada com a distância entre os mesmos átomos ao tempo (0) , onde N corresponde ao número de átomos. O RMSDist calcula a variação translacional dos átomos da molécula em relação ao instante inicial da simulação

As Figuras 26 e 27 representam o RMSDist da Quitina e da Quitosana, respectivamente. A análise dos perfis mostrados nos gráficos indicam que o comportamento da quitina e da quitosana são bem distintos.

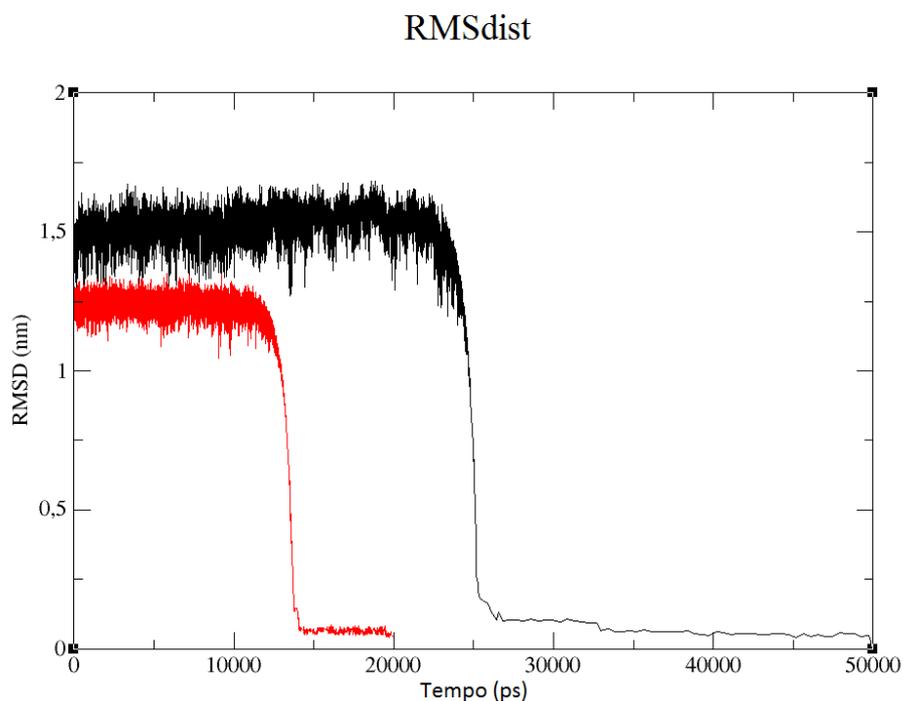
Figura 26 Raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas da Quitina nos diferentes campos de força. A curva em vermelho refere-se ao campo de força OPLS-AA enquanto a curva preta refere-se ao campo de força GROMOS53a6.



Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

Os perfis no gráfico (Figura 26) mostraram que será necessário maior tempo de simulação para encontrar a convergência das estrutura de quitina no campo de força GROMOS53a6, pois no OPLS-AA ela se mostrou estável desde o início. A curva referente ao GROMOS53a6 (preta), mostrou uma tendência inicial a se estabilizar, e nos últimos instantes de simulação foi perceptível o início de uma diminuição do RMSDist. O valor médio do RMSDist para a Quitina no GROMOS53a6 foi de 0,18 nm ($\pm 0,04$ nm) e no OPLS-AA foi de 0,17 nm ($\pm 0,03$ nm). O RMSdist dos polímeros de quitosana são mostrados na Figura 27.

Figura 27 Raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas da Quitosana nos diferentes campos de força. A curva em vermelho refere-se ao campo de força OPLS-AA enquanto a curva preta refere-se ao campo de força GROMOS53a6.

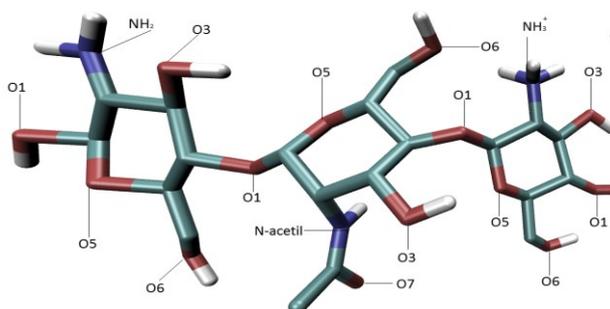


Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

O perfil da Figura 27 mostra um alto valor de RMSDist para os biopolímeros em ambos campos de força nos instantes iniciais. Isso se deve ao fato de a termalização não ter sido suficiente para estabilizar a estrutura, necessitando de um maior tempo de simulação. Nos últimos 5 ns de simulação de MD, o campo de força GROMOS53a6 resultou em RMSDist de $0,050 \pm 0,005$, enquanto OPLS-AA foi $0,063 \pm 0,007$. No geral, a execução total da simulação foi de 50 ns usando GROMOS53a6 e 20 ns usando OPLS-AA. Devido à sua descrição atomística mais detalhada e a uma equação de potencial harmônica de torção mais completa, OPLS-AA apresentou estrutura simulada mais flexível após a dinâmica molecular de acordo com seu menor tempo de convergência em comparação com a descrição rígida em equilíbrio utilizada em GROMOS53a6. Portanto, pode-se concluir que a estabilidade estrutural da quitosana no campo de força atomístico é atingida mais rapidamente. Esta análise estrutural corrobora com o intuito inicial de validar a quitosana no campo de força OPLS-AA

As distâncias entre os átomos também foram obtidas após a realização das dinâmicas moleculares dos diferentes sistemas simulados. A Tabela 6 contém as distâncias de ligação dos átomos dos compostos dos sistemas.

Tabela 6 Comparação das distâncias de ligação dos átomos de quitosana nos 2 campos de força (OPLS-AA e GROMOS53a6)



Átomos	Distância Média (nm) OPLS-AA	Distância Média (nm) GROMOS53a6	Diferença (nm)
C1-O5	0,1410	0,1435	0,0025
C1-O1	0,1410	0,1435	0,0025
O5-C5	0,1410	0,1435	0,0025
C5-C6	0,1520	0,1520	0
C6-O6	0,1410	0,1435	0,0025
C5-C4	0,1529	0,1520	0,0009
C4-C3	0,1529	0,1520	0,0009
C3-O3	0,1410	0,1435	0,0025
C3-C2	0,1529	0,1520	0,0009
C2-N2	0,1449	0,1470	0,0021
C7-O7	0,1229	0,1230	0,0001
C7-C8	0,1522	0,1390	0,0132
C7-N2	0,1335	0,1330	0,0005
C4-O1	0,1410	0,1435	0,0025
C1-C2	0,1529	0,1520	0,0009

A análise dos valores apresentados na Tabela 6 mostrou que os valores de distância de ligação obtidos após a simulação computacional por dinâmica molecular foram muito semelhantes em ambos os campos de força, fator que valida as metodologias utilizadas para a parametrização do composto de quitosana, no campo de força OPLSAA, em relação aos valores das distâncias.

É possível perceber que especificamente a diferença nos 2 campos de força para a ligação C5 – C6 foi zero. Algumas diferenças de distâncias de ligação se aproximaram muito de zero como no caso da ligação C7 – N2 e da ligação C1 – C2. Outras análises estruturais também foram realizadas, a análise de ângulos de ligação está descrita na Tabela 7.

Tabela 7 Comparação dos ângulos de ligação da quitosana nos 2 campos de força (OPLS-AA e GROMOS53a6)

Átomos	Angulo (°) OPLS-AA	Desvio padrão (°) OPLS-AA	Angulo (°) GROMOS53a6	Desvio padrão (°) GROMOS53a6	Diferença (°)
O1-C4-C3	93,424	1,029	96,889	1,013	3,465
O1-C4-C5	99,728	0,907	102,003	1,056	2,275
C1-O1-C4	135,209	2,457	149,324	2,598	14,115
O5-C1-O1	104,128	2,135	108,445	1,582	4,317
C2-C1-O1	109,712	1,248	111,594	1,393	1,882
N2-C7-C8	118,332	2,031	119,968	2,114	1,636
N2-C7-O7	121,378	1,964	119,780	2,233	1,598
C2-N2-C7	129,448	2,413	128,110	2,339	1,338
O5-C1-C4	93,501	1,223	93,745	0,863	0,244
O4-C4-C3	100,728	1,756	105,293	2,895	4,565
O3-C3-C4	108,664	1,183	113,883	1,337	5,219
O1-C1-O5	104,128	2,136	108,445	1,582	4,317
O1-C1-C2	109,712	1,248	111,594	1,393	1,882
O5-C5-C6	107,843	1,123	110,095	1,405	2,252
O5-C6-O6	126,707	0,69781	112,428	5,691	14,279

C4-C5-C6	33,173	0,506	34,251	0,645	1,078
C4-C5-O5	109,726	1,109	112,006	1,180	2,280
C3-C4-C5	34,170	0,426	36,464	0,544	2,294
O7-C7-C8	33,7331	1,123	32,349	1,213	1,384
C2-C3-O3	37,758	0,598	37,505	0,747	0,253
C2-C3-C4	111,029	1,019	111,584	1,045	0,555
C2-C1-O5	36,732	0,545	36,545	0,591	0,188
C1-O5-C5	115,069	1,042	113,556	1,268	1,513
C1-C2-N2	36,011	0,507	32,127	0,595	3,883
C1-C2-C3	111,960	1,060	109,533	1,159	2,427

A análise dos valores apresentados na Tabela 7 mostrou que os valores de ângulos de ligação obtidos após a simulação computacional por dinâmica molecular do composto obtido no OPLS-AA foram muito similares aos do polímero obtido no campo de força GROMOS53a6, mesmo considerando o desvio-padrão. Essa análise estrutural assim como a da Figura 23 e da Tabela 6 corroboram com a parametrização da quitosana no OPLS-AA já que ela já estava validada no GROMOS53a6.

Percebe-se que especificamente as diferenças nos 2 campos de força para os ângulos **C2-C1-O1**, **N2-C7-C8**, **N2-C7-O7**, **C2-N2-C7**, **O1-C1-C2**, **C2-C3-O3**, **C2-C3-C4** e **C2-C1-O5** foram muito pequenas e que nos casos dos ângulos **C2-C3-O3**, **C2-C3-C4** e **C2-C1-O5** a diferença nos 2 campos de força se aproximou de zero. Portanto, no que se refere a ângulos de ligação a quitosana está devidamente parametrizada no campo de força OPLSAA, e assim sendo pode ser submetida a simulações computacionais em diferentes sistemas, fornecendo base para a aplicação em sistemas biológicos, por exemplo.

A estrutura decaamérica obtida após a simulação foi segregada em seus 10 respectivos anéis. É importante ressaltar que somente os 5 átomos de carbono de cada anel e 1 oxigênio no interior do ciclo formaram a estrutura dos

ciclos segregados. Em seguida, obtiveram-se estruturas resultantes da fusão dos anéis glicopiranosídico que foram colocados aos pares.

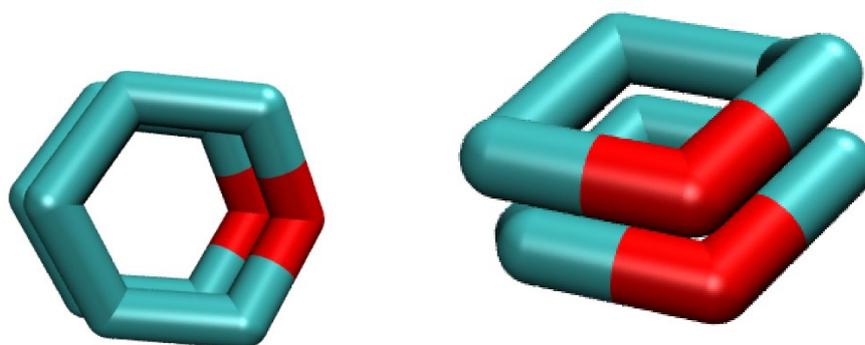
Cada ciclo resultante de um par foi sobreposto com o resultante de outra dupla até que fosse obtido um único resíduo cíclico. Esse procedimento foi realizado para o composto nos dois campos de força.

Afim de obter mais um parâmetro que mostrasse que a quitosana foi devidamente validada no novo campo de força realizou-se a fusão dos anéis resultantes nos dois campos de força simulados e com isso calculou-se o RMSD (*Raíz quadrada do desvio quadrático médio, do inglês Root Mean Square Deviation*) das estruturas fundidas. Como houve um pequeno valor de RMSD além de outras análises estruturais bem sucedidas, concluiu-se que a validação da parametrização da Quitosana foi realizada com êxito.

Afim de validar a estrutura da quitosana no novo campo de força desenvolvido no formato OPLS-AA calculou-se o RMSD (*Raíz quadrada do desvio quadrático médio, do inglês Root Mean Square Deviation*) das estruturas fundidas.

A sobreposição dos ciclos (Figura 28a e 28b) mostrou um RMSD igual a 0,28 angstrom, o que corrobora com a validação da estrutura no novo campo de força.

Figura 28 a) Perspectiva longitudinal da sobreposição dos anéis b) Perspectiva equatorial dos ciclos de quitosana



Fonte: Autor (W. Humphrey, Dalke, & Schulten, 1996b)

Nesta visualização de fusão apenas foram considerados os átomos dentro do anel. Os átomos de hidrogênio alquílicos foram restritos da análise devido ao seu pequeno valor de massa e tamanho. Além disso, apenas o esqueleto do anel contendo 5 carbonos e 1 oxigênio foram analisados. O pequeno desvio das estruturas cíclicas do biopolímero nos diferentes campos de força mostrou que a parametrização da quitosana no OPLS-AA foi bem sucedida, o que corrobora as análises estruturais acima mencionadas.

Portanto, no que tange a estrutura molecular do biopolímero afirma-se que ele está devidamente parametrizado e validado, ou seja, em boas condições de serem submetidas a posteriores simulações computacionais totalmente atomísticas em diferentes sistemas.

5.4 Análises Energéticas das Dinâmicas Moleculares dos Biopolímeros Simulados no Vácuo no Campo de Força OPLS-AA e no GROMOS53a6.

Para demonstrar a natureza do equilíbrio termodinâmico atingido durante a simulação, a análise da estabilização do nível de energia do sistema durante a dinâmica molecular foi verificada. A Figura 29 ilustra as energias totais obtidas nas simulações para o sistema contendo a Quitina.

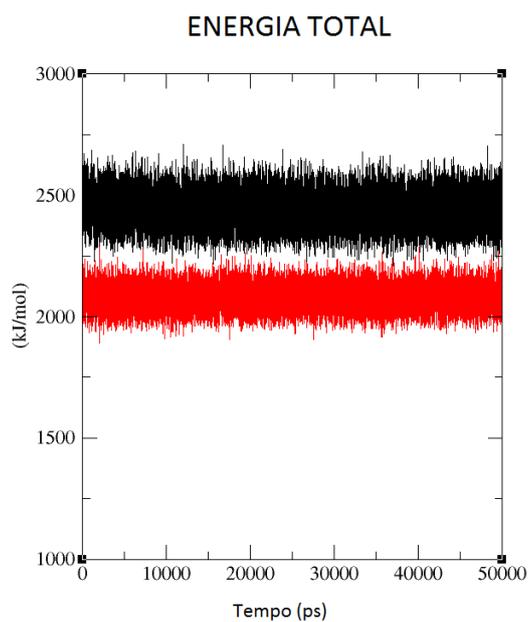
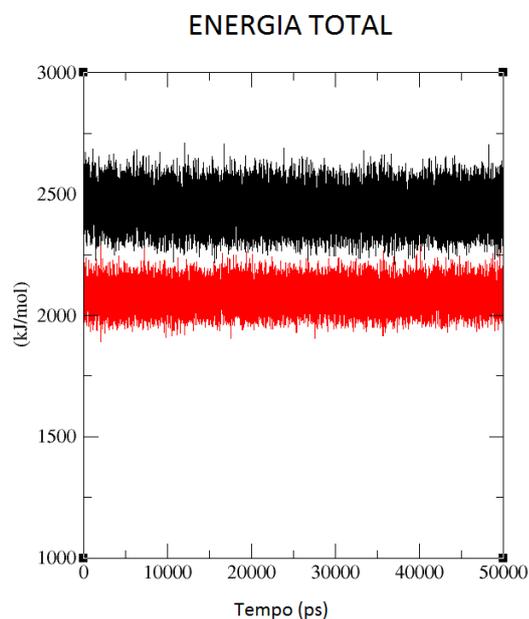


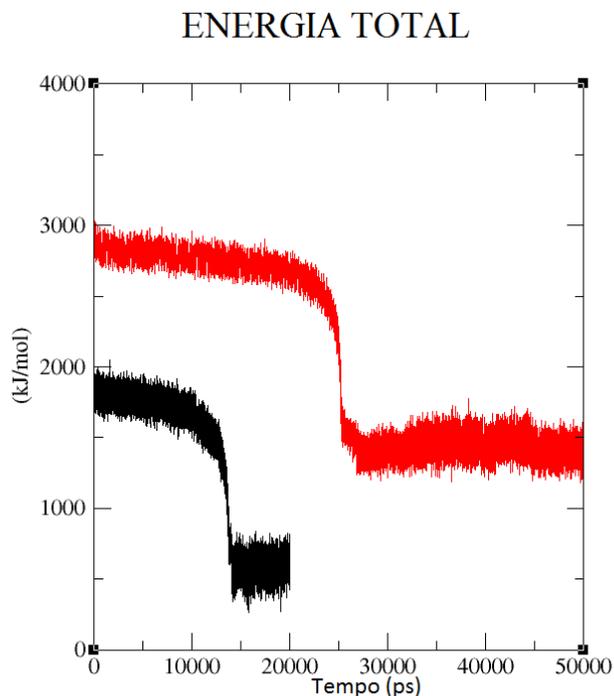
Figura 29 Perfil Energético de energia total de Quitina nos diferentes campos de força. Em preto o GROMOS53a6 e em vermelho o OPLS-AA.



Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

A energia total da Quitina no campo de força OPLS-AA foi de 2440,52 kJ/mol ($\pm 59,2141$) kJ/mol no campo de força GROMOS53a6 que foi de 2078,13 kJ/mol (± 46.7523) kJ/mol. Os perfis do gráfico na Figura 29 indicam uma estabilidade inicial que perdurou por todo o tempo de simulação, analogamente à Figura 26. A Figura 30 ilustra as energias totais obtidas nas simulações para os sistemas constituídos por Quitosana

Figura 30 Perfil Energético de energia total de Quitosana nos diferentes campos de força. A curva em vermelho refere-se ao campo de força OPLS-AA enquanto a curva preta refere-se ao campo de força GROMOS53a6.



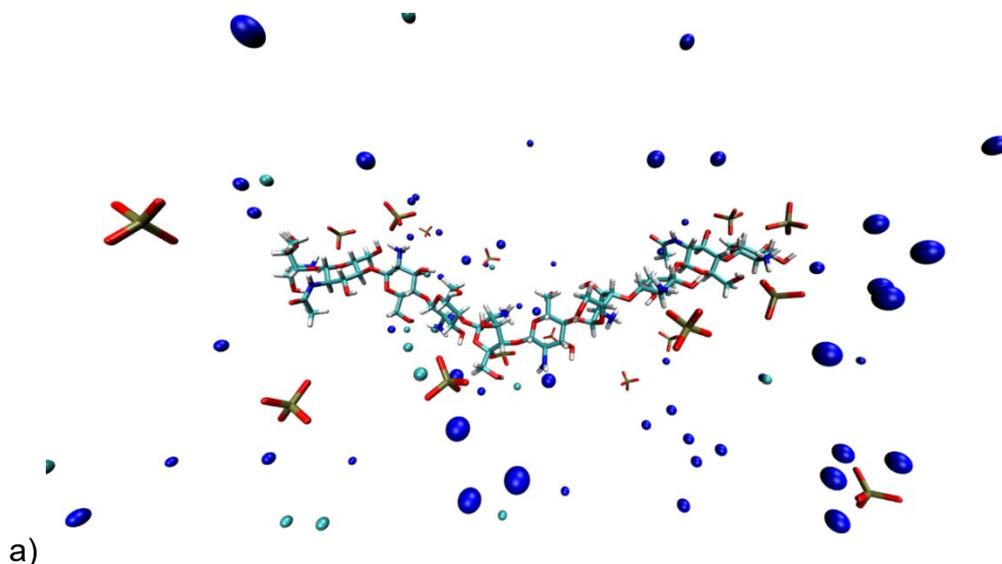
Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

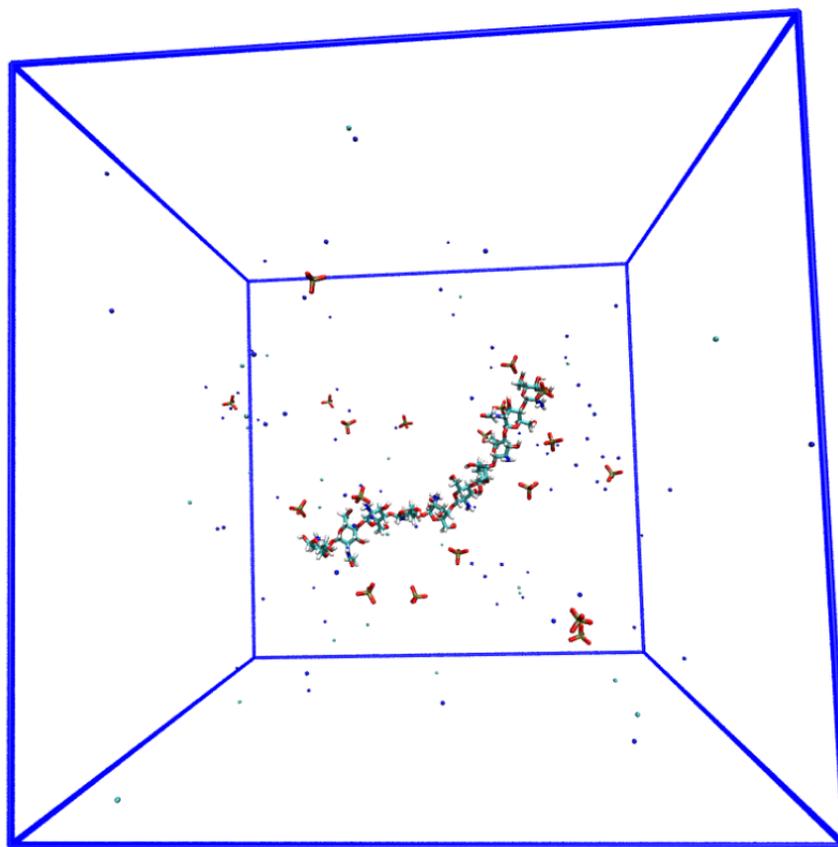
A energia total da Quitosana no campo de força OPLS-AA medido nos últimos 5ns foi de 580.699 kJ/mol (± 73.806) e no campo de força GROMOS53a6 a energia total calculada foi de 1393.340 kJ/mol (± 45.118). O perfil do gráfico na Figura 30 mostra que a Quitosana atinge a estabilidade mais rapidamente no OPLS-AA do que no GROMOS53a6 e numa maior estabilidade energética desse composto no campo de força OPLS-AA devido ao menor valor de energia alcançado no instante ao redor de 14.000 ps. Os sistemas contendo quitosana alcançaram a estabilidade termodinâmica enquanto a quitina necessitará de maior tempo de simulação computacional para atingir a estabilidade.

5.5 Análises das energias de Coulomb e Lennard Jones do sistema aquoso contendo a quitosana, o íon Fosfato e cloreto de sódio.

Nesse tópico inicia-se a discussão dos resultados obtidos pela simulação de 20ns à 298K via dinâmica molecular do sistema que composto por 1 molécula de quitosana, 20 íons fosfatos, 80 íons sódio (Na^+) e 24 íons cloreto. Os íons sódio e cloretos são adicionados para que o sistema se tornasse eletricamente neutro. Os íons cloreto foram adicionados juntamente com os íons sódio para que o sistema apresentasse uma composição mais realística, na qual as soluções são formadas por mais de um tipo de sal que nesse caso seria o fosfato de sódio e o cloreto de sódio. A Figura 31 representa o sistema supracitado.

Figura 31 a) Substâncias do sistema aquoso com quitosana (Licorice), fosfatos (Licorice) e cloreto de sódio (VDW) b) sistema aquoso com quitosana, fosfatos e cloreto de sódio na caixa cúbica.





b)

Fonte: Autor (W. Humphrey et al., 1996b)

A quitosana estudada nesse trabalho é um decâmero, com grau de protonação de 50% dos grupos amino ionizáveis. A Figura 32 representa a quitosana com os átomos de hidrogênios implícitos.

Figura 32 Decâmero de quitosana e seus respectivos resíduos de 1 a 10 (NGPC, CHIT, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, CHIT E NGUO, respectivamente)



Fonte: Autor (W. Humphrey et al., 1996b)

O Grau de acetilação (G.A) = 20% sendo os resíduos CHIT os grupos acetilados. Os resíduos contendo a letra P são resíduos protonados (NGPC e NGLP) e os demais resíduos são os resíduos desprotonados, sendo o NGUO o resíduo da extremidade direita.

As energias de Lennard-Jones e de Coulomb retratam a atração ou a repulsão entre os componentes de um sistema. Um aumento de energia irá orientar a repulsão enquanto a diminuição indica a atração (Faro, Thim, & Skaf, 2010). A Tabela 8 contém os dados de energia de Coulomb e de Lennard Jones para análise da interação da Quitosana com o fosfato (PHP) em água e o efeito adsorvente da Quitosana pelo o íon fosfato.

Tabela 8 Energias de Coulomb e energia de Lennard-Jones para o sistema contendo quitosana, fosfato (PHP) e água (SOL)

Sistemas	Coulomb (u.a)	Lennard Jones (u.a)
Quitosana – PHP	- 3,97 (43,19)	- 1,29 (3,41)
Quitosana – SOL	-1.556, 22 (103,23)	- 142,28 (40,22)
PHP – SOL	-20.768,8 (2.742,31)	2.378,94 (295,59)

A Tabela 8 informa que os valores das energias de Coulomb e de Lennard-Jones para o par **Quitosana – PHP** variaram muito não sendo possível obter um valor preciso para esse sistema no tempo de simulação estudado (20ns). Isso pode ser justificado pela existência de interações mais significativas entre os outros 2 pares (**Quitosana – SOL e PHP – SOL**).

Os valores das energias de Coulomb e de Lennard Jones para o par **Quitosana – SOL** mostraram uma tendência parecida entre si, ou seja, um valor significativamente negativo em ambos os casos.

Porém, o par **PHP – SOL** apresentou um valor muito negativo para a energia de Coulomb e um valor positivo para a energia de Lennard Jones. A energia de Lennard Jones para o par **PHP – SOL** não seguiu a tendência (destaque em amarelo), pois como as interações Coulômbicas são interações de longo alcance e por isso são mais intensas elas se sobressaem sobre as interações de Lennard-Jones esse resultado apesar de divergente não é muito

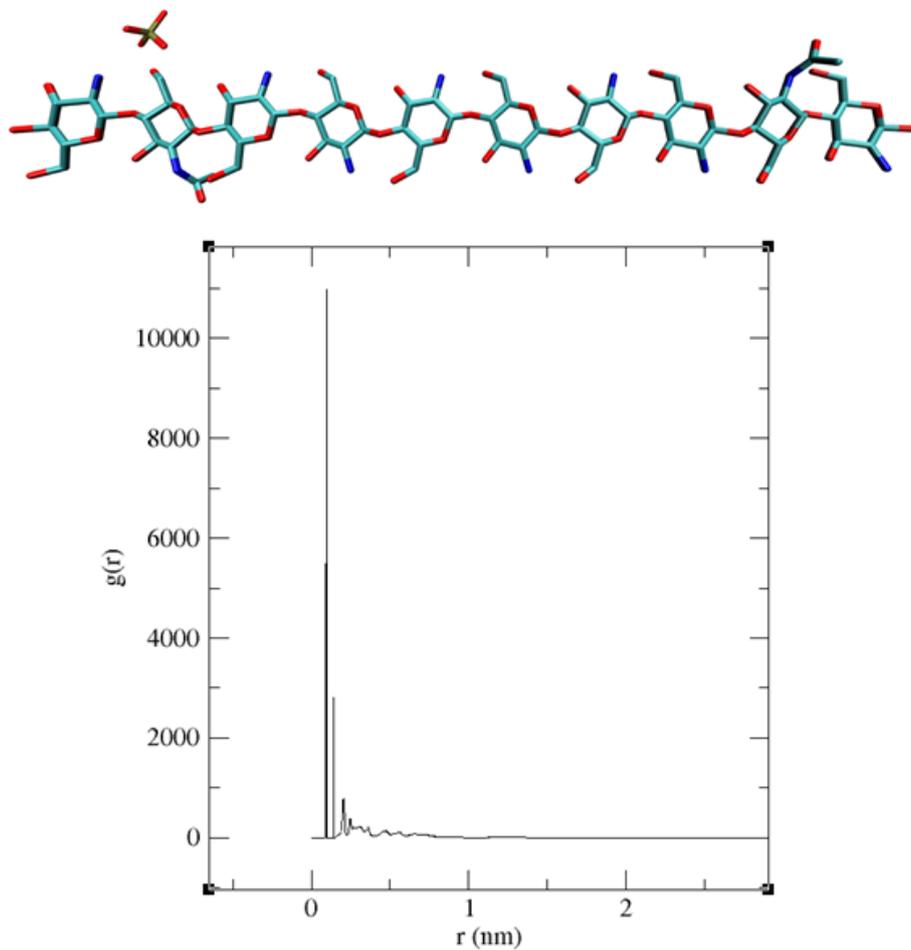
significativo, o que significa que pode-se concluir que tanto o a interação **Quitosana – SOL** quanto **PHP – SOL** possuem caráter atrativo. Isso ocorreu devido à alta solubilidade tanto da quitosana quanto do fosfato em solução aquosa. Porém essas análises devem ser complementadas pelas análises subsequentes para que se possa ter conclusões mais precisas sobre o comportamento do sistema simulado.

5.6 Análise das interações entre a quitosana e o íons fosfato

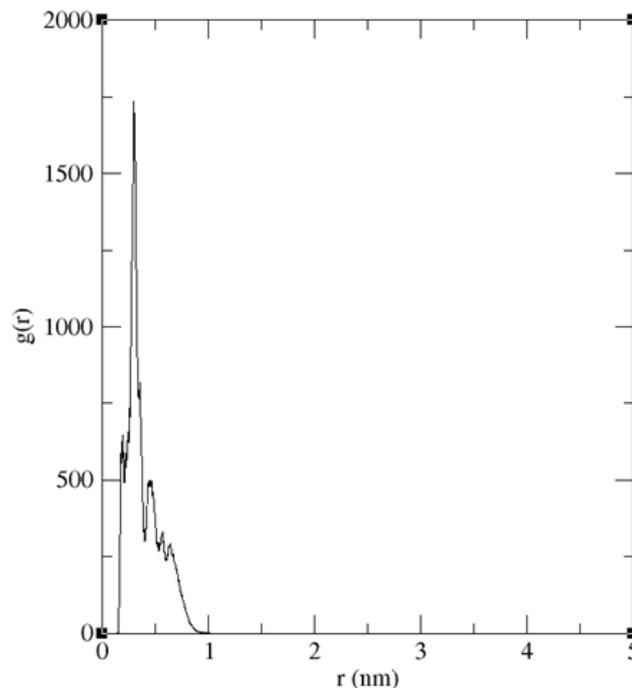
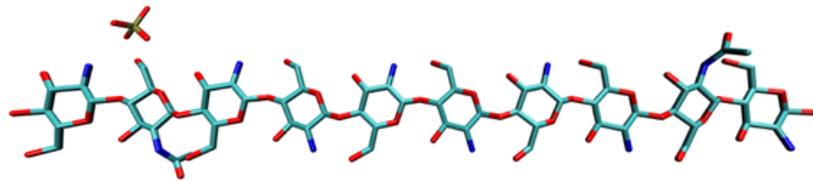
Os resultados obtidos por dinâmica molecular mostraram a ocorrência de interações íon-dipolo dos íons fosfato com a hidroxila da quitosana com grau de acetilação 20% e pH 6,5. As interações entre os dos íons fosfato com a quitosana ocorreram em sítios específicos. Nesse sistema simulado íons fosfato interagiram com uma hidroxila O6-HO6 do resíduo 2 da quitosana.

A efetividade destas interações foi avaliada pela função de distribuição radial de pares, $g(r)$, para os sítios com maior interação (Figura 33 a e Figura 33 b). Os resultados mostraram a ocorrência de uma interação efetiva entre o 2º íon fosfato, o primeiro íon fosfato e o resíduo CHIT da quitosana

Figura 33 a) $g(r)$ entre o O6 (O6HO6) do resíduo 2 com 20º íon fosfato, referência ao centro de massa da quitosana. B) $g(r)$ entre o O6 (O6HO6) do resíduo 2 com o fosfato 1, com referência ao centro de massa do NGPC 2.



a)



b)

Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

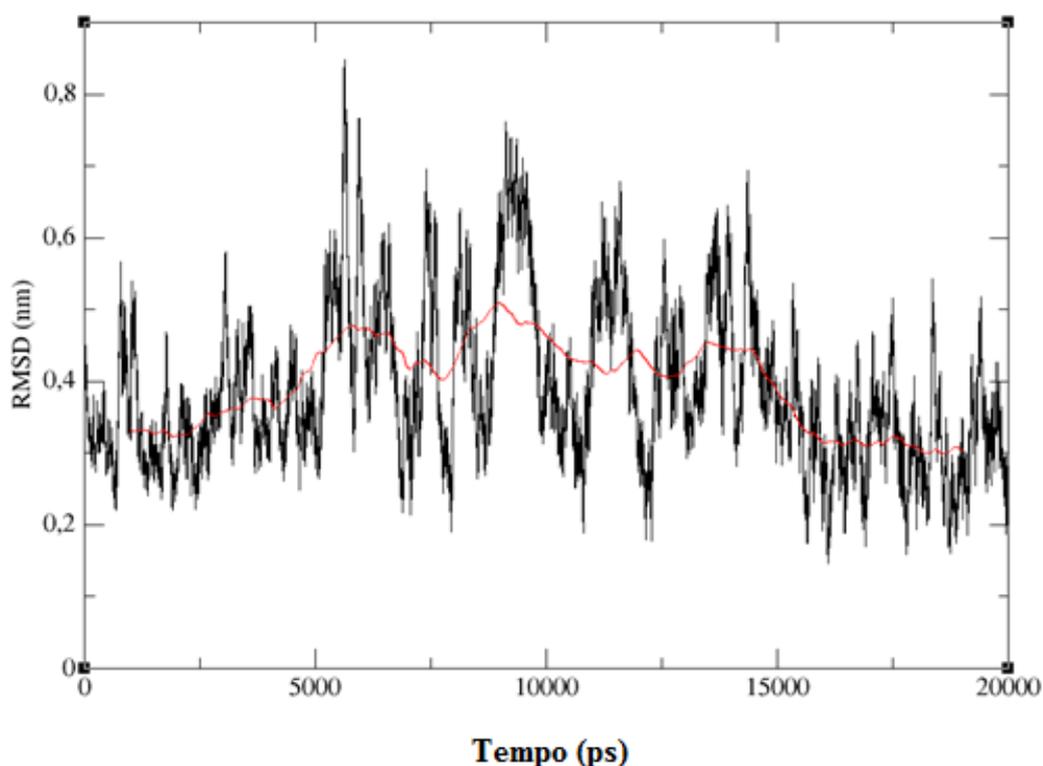
A Figura 33 a) representa a interação de um único átomo de oxigênio do íon fosfato que interagiu com o um hidrogênio de uma hidroxila do tipo O6HO6. A Figura 33 b) representa a interação do íons fosfato também interagiu com uma hidroxila do tipo O6-HO6. Um alto e estreito pico da função $g(r)$ indicam interações intensas e efetivas. Assim sendo, o vigésimo íon fosfato (Figura 33 a)) apresentou interação mais efetiva com a hidroxila O6HO6 do que o íons fosfato do íon 1 (Figura 33 b)).

Na simulação aquosa, não foram observados outros picos de $g(r)$ tão significativos quanto os da Figura 29. Isso pode ser justificado pela estruturação inicial do sistema que possa ter alocado os íons fosfato demasiadamente distante dos sítios de interação da quitosana. Mas algumas ligações de hidrogênio com o fosfato envolvendo o grupo amino protonado da quitosana além da hidroxila O6HO6 já supracitada também foram encontradas

nesse sistema. Outras interações existentes entre o íons fosfato e a quitosana serão discutidas na simulação do potencial de força média mais adiante

O RMSD (do inglês, *root mean square deviation*) da Quitosana no vácuo já foi discutida no item de análise da parametrização da quitosana na Figura 24 do tópico 5.1 desta dissertação. Em solução aquosa ela exibiu um RMSD bem diferente do comportamento da quitosana no vácuo. Na simulação aquosa a estrutura do polímero não apresentou grande variação estrutural como pode ser verificado na Figura 34.

Figura 34 RMSD da quitosana em solução aquosa contendo íons fosfato, íons sódio e íons cloreto (perfil médio em vermelho).

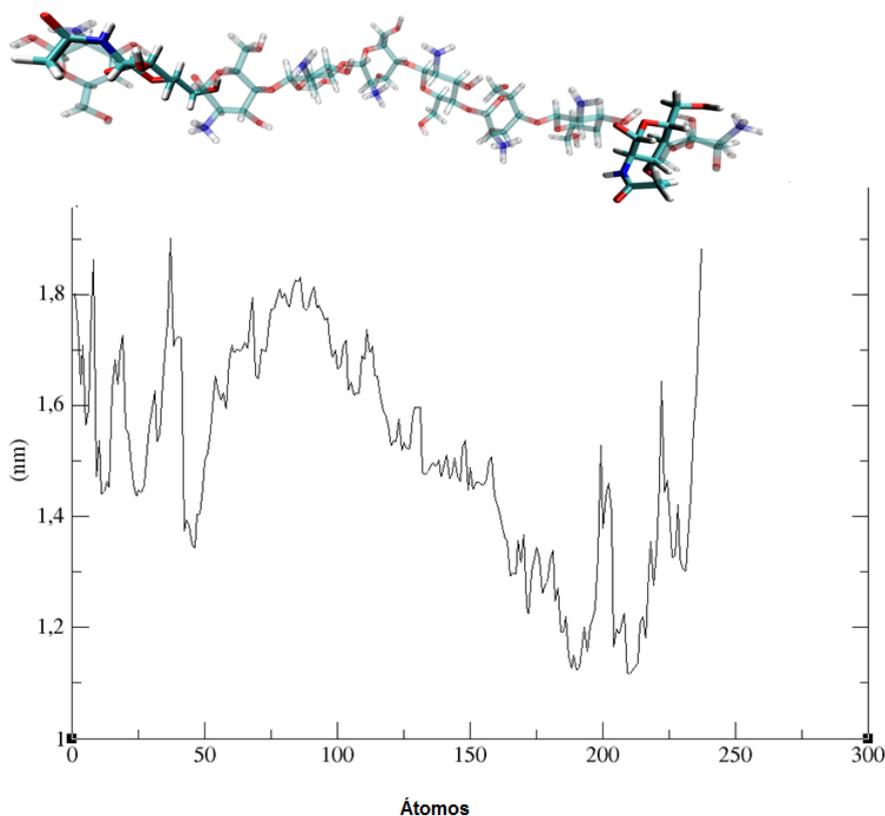


Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

O perfil do gráfico mostrado na Figura 34 representa a estabilidade conformacional da quitosana em solução aquosa durante os 20ns de simulação. Nota-se que essa estabilidade não variou muito desde o início da simulação. Outra análise que demonstra a pequena flutuação estrutural da

quitosana no decorrer da dinâmica molecular pode ser feita pela flutuação individual dos átomos da quitosana – RMSF (*do inglês*; root mean square fluctuation), como mostrado na Figura 35.

Figura 35 Análise do RMSF dos átomos da Quitosana, em destaque os grupos acetilados e o restante da molécula foram representados numa perspectiva de sombra.



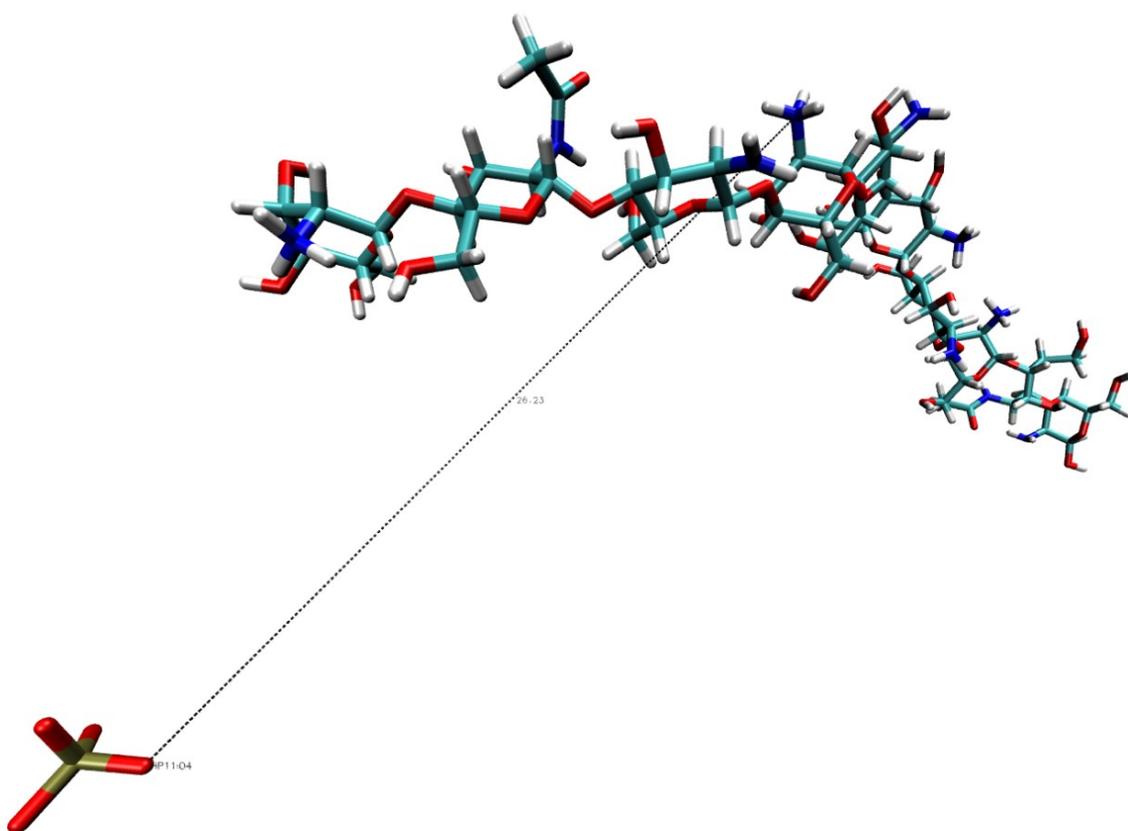
Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

O perfil do gráfico de RMSF da Figura 35 mostrou que a flutuação estrutural média dos átomos da quitosana não chegou se quer a 2 nm, tendo como média um valor igual a 1,512 nm ($\pm 0,195$ nm). Na representação estrutural da molécula acima da curva do gráfico houve o intuito de localizar os grupamentos acetil (destacados) próximos as regiões de menor valor de RMSF, pois justamente nos átomos desses resíduos observou-se menor flutuação, pois há maior massa nos grupos acetilados quando comparado aos grupamentos desacetilados. Esses dados corroboram com a Figura de RMSD

obtida em que a quitosana sofreu uma pequena variabilidade em sua conformação durante a simulação.

A representação pictórica da simulação do potencial de força média (PMF) realizado em solução aquosa está mostrado nas Figura 36, Figura 37 e Figura 39. Na primeira delas está representado o instante anterior ao início da simulação e o fosfato não está interagindo com a quitosana, ele localiza-se a uma distância de 26,0 ângstrom, aproximadamente.

Figura 36 Representação do sistema antes do puxamento do íon fosfato. Estão mostrados somente a quitosana e o íon fosfato. As moléculas de água e os íons sódio e cloreto estão implícitos.



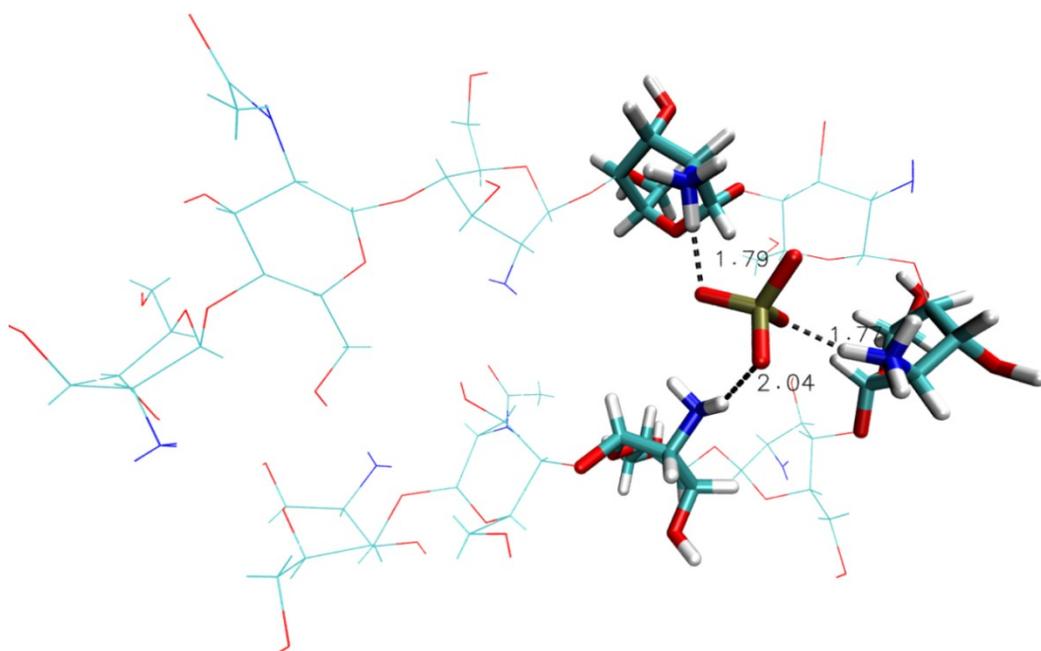
Fonte: Autor (W. Humphrey et al., 1996b)

Na Figura 36 a distância admitida foi em relação aos grupos amino protonados que mais interagiram com o fosfato ao decorrer da simulação.

Esses grupos amino protonados foram os resíduos de código NGLP do quarto, sexto e oitavo grupo amino protonados.

A Figura 37 ilustra o processo de envelopamento da quitosana sobre o íon fosfato. A Figura 37 apresenta a formação das interações íon-dipolo entre o íon fosfato e a quitosana em sítios específicos no decorrer da simulação.

Figura 37 Representação das interações íon-dipolo entre o fosfato e os 3 resíduos NGLP da Quitosana em solução aquosa.

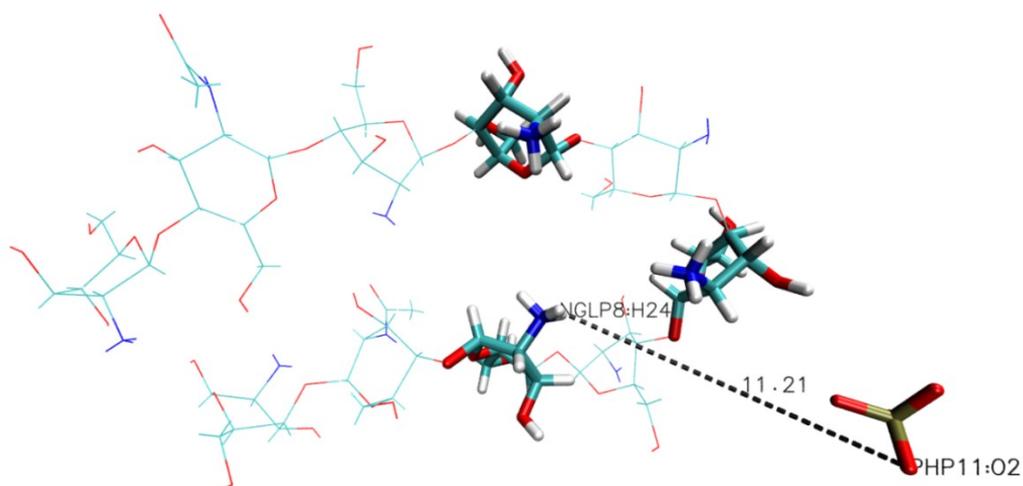


Fonte: Autor (W. Humphrey et al., 1996b)

A Figura 37 ilustra a distância do íon inorgânico com cada resíduo interagente da quitosana. Na concavidade (0,35 ns) a adsorção do fosfato pelo biopolímero ocorreu devido a formação das interações eletrostáticas de Coulomb entre cargas opostas. Nesse sentido o O1 do íon fosfato e o átomo H24 do resíduo NGLP4 se localizaram a 1,79 Å, o O4 do íon fosfato foi posicionado a 1,77 Å do H23 do resíduo NGLP6 e o O2 do íon fosfato e foi localizado a 2,04 Å do H24 do resíduo NGLP8. Devido ao pequeno valor da

distância entre os grupos analisados pode-se dizer que as interações realizadas foram intensas ao decorrer do tempo de simulação. Então conclui-se que essas interações ocorreram devido a atração eletrostática e a existência de moléculas de água que favorecem a mudança conformacional da quitosana, já que no vácuo a quitosana não gerou tal concavidade conformacional tão acentuada quanto em solução aquosa. Os 3 grupos amino protonados mantêm o íon fosfato “preso” na quitosana até por volta de 750ps, assim como representado na Figura 38.

Figura 38 Evolução temporal da força aplicada no afastamento do íon PO_4^{3-} que interagiram com os grupos aminos protonados. O afastamento do íon foi realizado com o sistema em $\text{pH}=6,5$.

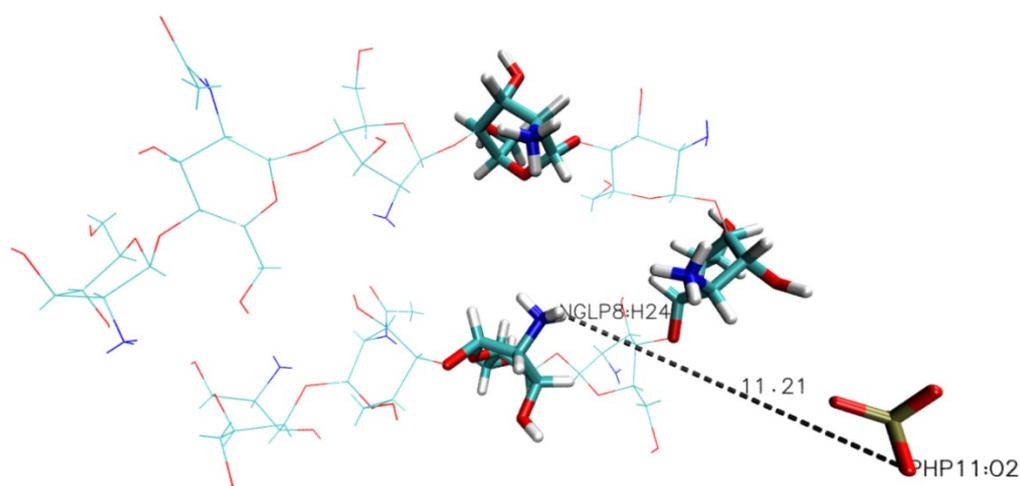


Fonte: Autor (Juréus & Langel, 1996)

A.Figura 38 retrata a análise gráfica da força de afastamento do íon fosfato dos grupos amino protonados da quitosana. O aumento da força é observado em 2 regiões do gráfico (regiões destacadas) o que significa que ocorre a formação de interações em 2 momentos distintos, no primeiro momento forma-se interações mais fracas e no segundo momento interações mais fortes. O primeiro rompimento ocorreu com um grupo amino protonado e

o segundo ocorreu com os outros 2 grupos amino protonados e por isso o segundo pico é maior.

Figura 39 Representação do desligamento do íon fosfato da quitosana após o seu desprendimento da concavidade onde havia interações do tipo íon-dipolo.



Fonte: Autor (W. Humphrey et al., 1996b)

A Figura 39 representa o íon fosfato e a quitosana após o rompimento das interações do tipo íons-dipolo com a quitosana (discutidas na Figura 38). A formação das interações com os grupamentos amino protonados da quitosana é uma informação bastante valiosa já que as análises obtidas na simulação por dinâmica molecular (Figura 33a e Figura 33b) mostraram que a hidroxila O6HO6 da quitosana mostrou ser um sítio específico de interação com o íon fosfato. Nesse sentido através da Figura 36, Figura 37 e Figura 38 pôde-se observar que os grupamentos amino protonados da quitosana também são sítios de interação com o íon fosfato, confirmando teoricamente o promissor potencial da quitosana como adsorvente dos íons fosfato em solução aquosa.

Nesse sentido, infere-se que a quitosana possa realizar mais interações com o fosfato em simulações futuras desde que os íons sejam desenhados mais próximos das hidroxilas e dos grupos amino protonados ou que o sistema seja mais saturado com íons fosfato. Portanto, a quitosana pode ser utilizada

profilaticamente no tratamento da hiperfosfatemia já que ela adsorve os íons fosfato.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho possibilitou a reparametrização de quitina e quitosana no campo de força OPLS-AA. A validação foi feita através de cálculos por dinâmica molecular no vácuo de ambos os sistemas onde os parâmetros obtidos para os polímeros no OPLS-AA foram comparados com os parâmetros obtidos para os compostos no campo de força GROMOS53a6 que já estavam consolidados na literatura.

Com base nos parâmetros validados da quitosana no campo de força OPLS-AA foi possível simular novos sistemas, sendo que um deles era formado por quitosana, 20 íons fosfato, água e cloreto de sódio. O outro sistema foi composto por quitosana, 1 íon fosfato, água e cloreto de sódio.

No sistema contendo 20 íons fosfato foi possível perceber a formação da interação íon-dipolo do fosfato com os grupos hidroxila da quitosana. Porém no sistema contendo 1 íon fosfato, a metodologia *umbrella sampling* mostrou que ocorreram a formação de interações íon-dipolo entre o íon fosfato e os grupamentos amino protonados da quitosana, classificando assim os grupos hidroxilas e amino protonados da quitosana como sítios de quelação do fosfato e por isso a quitosana se mostrou um importante material na remoção de fosfato através da adsorção.

Pode-se sugerir que a quitosana pode ser utilizada profilaticamente no tratamento da hiperfosfatemia, pois ela possui capacidade adsorvente para remoção dos íons fosfato geradores de tal enfermidade o que pode ser confirmado através dos cálculos por dinâmica molecular e por PMF que elucidaram a formação de interações entre esses componentes em solução aquosa.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham, M. J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindah, E. (2015). Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1–2, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
- Allen, M. P., & Tildesley, D. J. (1989). *Computer Simulations of Liquids*. (Clarendon, Ed.). Oxford University. <https://doi.org/10.1063/1.2810937>
- ALLOUCHE, A. R. (2011). Gabedit - A graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of Computational Chemistry*, 32, 174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc.21600>
- Anraku, M., Tanaka, M., Hiraga, A., Nagumo, K., Imafuku, T., Maezaki, Y., ... Otagiri, M. (2014). Effects of chitosan on oxidative stress and related factors in hemodialysis patients. *Carbohydrate Polymers*, 112, 152–157. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.05.078>
- Bastug, T., Chen, P. C., Patra, S. M., & Kuyucak, S. (2008). Potential of mean force calculations of ligand binding to ion channels from Jarzynski's equality and umbrella sampling. *Journal of Chemical Physics*, 128(15), 155104. <https://doi.org/10.1063/1.2904461> DOI
- Becke, A. (1993). B3LYP. *J. Chem. Phys.*, 98, 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- Beheshtian, J., Peyghan, A. A., & Bagheri, Z. (2013). Arsenic interactions with a fullerene-like BN cage in the vacuum and aqueous phase. *Journal of Molecular Modeling*, 19(2), 833–837. <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1626-6>
- Berendsen, H. J. C., Postma, J. P. M., van Gunsteren, W. F., DiNola, a, &

- Haak, J. R. (1984). Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*, 81(8), 3684–3690. <https://doi.org/10.1063/1.448118>
- Berndt, T. J., & Kumar, R. (2013). Clinical Disturbances of Phosphate Homeostasis. In *Seldin and Giebisch's The Kidney* (pp. 2369–2391). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381462-3.00069-0>
- Brooks, M. S. S., & Johansson, B. (1983). Exchange integral matrices and cohesive energies of transition metal atoms. *Journal of Physics F: Metal Physics*, 13(10). <https://doi.org/10.1088/0305-4608/13/10/003>
- Campana-filho, S. P., Britto, D. De, Curti, E., Abreu, F. R., Cardoso, M. B., Marcos, V., ... Paulo, U. D. S. (2007). chitosan, 30(3), 644–650. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282005000200004>.
- Car, R., & Parrinello, M. (1985). Unified Approach for Molecular Dynamics and Density-Functional Theory. *Physical Review Letters*, 55(22), 2471–2474. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.55.2471>
- Ceperley, D. M. (1980). Ground State of the Electron Gas by a Stochastic Method. *Physical Review Letters*, 45(7), 566–569. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.45.566>
- Chang, J., & Sandler, S. I. (2004). Interatomic Lennard-Jones potentials of linear and branched alkanes calibrated by Gibbs ensemble simulations for vapor-liquid equilibria. *Journal of Chemical Physics*, 121(15), 7474–7483. <https://doi.org/10.1063/1.1792572>
- CHITOSAN; A NOVEL SALIVARY PHOSPHORUS BINDER. (2015). *American Journal of Kidney Diseases*, 65(4), A42. <https://doi.org/10.1053/J.AJKD.2015.02.113>

- Coelho, L. W., Junqueira, G. M. A., Machuca Herrera, J. O., Machado, S. D. P., & Machado, B. D. C. (1999). Aplicação de mecânica molecular em química inorgânica. *Quimica Nova*, 22(3), 396–404. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000300018>
- Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., & Kollman, P. a. (1993). Application of RESP Charges To Calculate Conformational Energies, Hydrogen Bond Energies, and Free Energies of Solvation. *Journal of the American Chemical Society*, 115(7), 9620–9631. <https://doi.org/Doi10.1021/Ja00074a030>
- Cramer, C. J. (2004). *Essentials of Computational Chemistry Theories and Models. Essentials of Computational Chemistry* (Vol. 42). <https://doi.org/10.1021/ci010445m>
- Custodio, R., & Morgon, N. H. (1995). The Density-Functional Theory. *Quimica Nova*. [Cross Ref](#)
- Darden, T., York, D., & Pedersen, L. (1993). Particle mesh Ewald: An N·log(N) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics*, 98(12), 10089. <https://doi.org/10.1063/1.464397>
- De Amarante, O. P., Dos Santos, T. C. R., Nunes, G. S., & Ribeiro, M. L. (2003). Breve revisão de métodos de determinação de resíduos do herbicida á cido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). *Quimica Nova*, 26(2), 223–229. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000200015>
- dos Santos, P. S. (2009). *Estudo dos mecanismos de formação das espécies PN e NS no meio interestelar, em cometas e atmosferas planetárias*. PUC-Rio. [Cross Ref](#)
- Fal'kovich, S. G., Larin, S. V., Nazarychev, V. M., Volgin, I. V., Gurtovenko, A. A., Lyulin, A. V., & Lyulin, S. V. (2014). Computer simulation of the heat-

- resistant polyimides ULTEM™ and EXTEM™ with the use of GROMOS53a6 and AMBER99 force fields. *Polymer Science Series A*, 56(4), 558–567. <https://doi.org/10.1134/S0965545X14040063>
- Faria, R. R., Guerra, R. F., De Sousa Neto, L. R., Motta, L. F., & Franca, E. D. F. (2016). Computational study of polymorphic structures of α - And β - chitin and chitosan in aqueous solution. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 63, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2015.11.001>
- Faro, T. M. C., Thim, G. P., & Skaf, M. S. (2010). A Lennard-Jones plus Coulomb potential for Al³⁺ ions in aqueous solutions. *Journal of Chemical Physics*, 132(11), 1–8. <https://doi.org/10.1063/1.3364110>
- Franca, Eduardo de Faria, Leite, Fábio L., & Amarante, F. L. (2010). Introduction to Atomic Force Microscopy Simulation. In *MICROSCOPY: SCIENCE, TECHNOLOGY, APPLICATIONS AND EDUCATION* (pp. 1338–1349). [Cross Ref](#)
- Franca, E. de F. (2009). *CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BIOPOLÍMEROS EM SOLUÇÃO UTILIZANDO SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL*. Universidade Federal de São Carlos. [Cross Ref](#)
- Franca, E. F., Lins, R. D., Freitas, L. C. G., & Straatsma, T. P. (2008). Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 4(12), 2141–2149. <https://doi.org/10.1021/ct8002964>
- George, J., Prasad, S., Mahmood, Z., & Shukla, Y. (2010). Studies on glyphosate-induced carcinogenicity in mouse skin: A proteomic approach. *Journal of Proteomics*, 73(5), 951–964. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2009.12.008>
- Head-Gordon, M., Pople, J. A., & Frisch, M. J. (1988). MP2 energy evaluation by direct methods. *Chemical Physics Letters*, 153(6), 503–506.

[https://doi.org/10.1016/0009-2614\(88\)85250-3](https://doi.org/10.1016/0009-2614(88)85250-3)

Hehre, W. J. (2003). *A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations. Interpreting.* [Cross Ref](#)

Hinchliffe, A. (2008). *Molecular Modelling for Beginners* (2nd ed.). WILEY.

Hockney, R. ., Goel, S. ., & Eastwood, J. . (1974). Quiet high-resolution computer models of a plasma. *Journal of Computational Physics*, 14(2), 148–158. [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(74\)90010-2](https://doi.org/10.1016/0021-9991(74)90010-2)

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD-Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14, 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14(1), 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996a). VMD - Visual Molecular Dynamics. *J. Molec. Graphics*, 14, 33–38. Retrieved from [Cross Ref](#)

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996b). “VMD - Visual Molecular Dynamics.” *J. Molec. Graphics*. Retrieved from <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>

Indridason, O. S., & Quarles, L. D. (2002). Hyperphosphatemia in end-stage renal disease. *Advances in Renal Replacement Therapy*, 9(3), 184–192. <https://doi.org/10.1053/JARR.2002.34843>

Izrailev, S., Stepaniants, S., Balsera, M., Oono, Y., & Schulten, K. (1997). Molecular dynamics study of unbinding of the avidin-biotin complex. *Biophysical Journal*, 72(4), 1568–1581. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(97\)78804-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(97)78804-0)

- Jensen, F. (2007). *Introduction to Computational Chemistry* (second). John Wiley & Sons Ltd. [Cross Ref](#)
- Jorgensen, W. L., & Tirado-Rives, J. (1988). The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin. *Journal of the American Chemical Society*, 110(6), 1657–1666. <https://doi.org/10.1021/ja00214a001>
- Juréus, A., & Langel,  . (1996). Galanin and galanin antagonists. *Acta Chimica Slovenica*, 43(1), 51–60. <https://doi.org/10.1007/s008940100045>
- Kirkwood, J. G. (1935). Statistical mechanics of fluid mixtures. *Journal Of Chemical Physics*, 3, 300. <https://doi.org/10.1063/1.1749657>
- Koch, W., & Holthausen, M. (2001). *A Chemist's Guide to Density Functional Theory, 2nd Edition*. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/3527600043>
- Kooienga, L., Bellasi, A., & Block, G. A. (2017). Phosphate Management in Patients With End-Stage Renal Disease. In *Handbook of Dialysis Therapy* (p. 698–705.e2). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39154-2.00060-6>
- Krajewska, B. (2004). Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2–3), 126–139. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2003.12.013>
- Kutzner, C., P ll, S., Fechner, M., Esztermann, A., De Groot, B. L., & Grubm ller, H. (2015). Best bang for your buck: GPU nodes for GROMACS biomolecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 36(26), 1990–2008. <https://doi.org/10.1002/jcc.24030>
- Langreth, D. C., & Vosko, S. H. (1987). Exact electron-gas response functions

- at high density. *Physical Review Letters*, 59(4), 497–500. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.59.497>
- Larsson, T. E., Kameoka, C., Nakajo, I., Taniuchi, Y., Yoshida, S., Akizawa, T., & Smulders, R. A. (2018). NPT-IIb Inhibition Does Not Improve Hyperphosphatemia in CKD. *Kidney International Reports*, 3(1), 73–80. <https://doi.org/10.1016/J.EKIR.2017.08.003>
- Leach, A. R. (2001). *Molecular Modelling. Principles and Applications* (Second).
- Lemkul, J. A., & Bevan, D. R. (2010). Assessing the stability of Alzheimer's amyloid protofibrils using molecular dynamics. *Journal of Physical Chemistry B*, 114(4), 1652–1660. <https://doi.org/10.1021/jp9110794>
- Liechtenstein, A. I., Katsnelson, M. I., Antropov, V. P., & Gubanov, V. A. (1987). Local spin density functional approach to the theory of exchange interactions in ferromagnetic metals and alloys. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 67(1), 65–74. [https://doi.org/10.1016/0304-8853\(87\)90721-9](https://doi.org/10.1016/0304-8853(87)90721-9)
- Mara, S., Franchetti, M., & Marconato, C. (2006). *Divulgação*, 29(4), 811–816.
- Morgon, N. H., & Coutinho, K. (2007). *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*. (L. da Física, Ed.) (First). [Cross Ref](#)
- Namba, a. M., Da Silva, V. B., & Da Silva, C. H. T. P. (2008). Dinâmica Molecular: Teoria e aplicações em planejamento de fármacos. *Ecletica Quimica*, 33(4), 13–24. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702008000400002>
- Österberg, T., & Norinder, U. (2001). Prediction of drug transport processes using simple parameters and PLS statistics The use of ACD/logP and ACD/ChemSketch descriptors. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 327–337. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(00\)00189-5](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(00)00189-5)
- Pacheco, N., Garnica-González, M., Ramírez-Hernández, J. Y., Flores-Albino, B., Gimeno, M., Bárzana, E., & Shirai, K. (2009). Effect of temperature on

- chitin and astaxanthin recoveries from shrimp waste using lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 100(11), 2849–2854. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.01.019>
- Park, S., Khalili-Araghi, F., Tajkhorshid, E., & Schulten, K. (2003). Free energy calculation from steered molecular dynamics simulations using Jarzynski's equality. *The Journal of Chemical Physics*, 119(6), 3559. <https://doi.org/10.1063/1.1590311>
- Profa, O., Helena, D., & Petrilli, M. (2015). Interação de moléculas e superfície Au (111) Filipe Camargo Dalmatti Alves Lima, (111). <https://doi.org/10.11606/T.43.2015.tde-08072015-182719>
- Sant'Anna, C. M. R. (2009). Molecular modeling methods in the study and design of bioactive compounds: An introduction. *Revista Virtual de Química*, 1(1). <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20090007>
- Seidl, A., Görling, A., Vogl, P., Majewski, J., & Levy, M. (1996). Generalized Kohn-Sham schemes and the band-gap problem. *Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics*, 53(7), 3764–3774. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.53.3764>
- Shaman, A. M., & Kowalski, S. R. (2016). Hyperphosphatemia Management in Patients with Chronic Kidney Disease. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 494–505. <https://doi.org/10.1016/J.JSPS.2015.01.009>
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3 and 4), 591–611. <https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591>
- Slater, J. C. (1951). A simplification of the Hartree-Fock method. *Physical Review*, 81(3), 385–390. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.81.385>
- Spessard, G. O. (1998). ACD Labs/LogP dB 3.5 and ChemSketch 3.5. *Journal*

of Chemical Information and Computer Sciences, 38(6), 1250–1253.
<https://doi.org/10.1021/ci980264t>

Thakur, V. K., & Thakur, M. K. (2014). Recent advances in graft copolymerization and applications of chitosan: A review. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2(12), 2637–2652.
<https://doi.org/10.1021/sc500634p>

Tironi, I. G., Sperb, R., Smith, P. E., & van Gunsteren, W. F. (1995). A generalized reaction field method for molecular dynamics simulations. *The Journal of Chemical Physics*, 102(13), 5451.
<https://doi.org/10.1063/1.469273>

Uberl, U. F. D. E., De, M. P., Qu, E. M., & Mestrado, M. (2015). Roberto ribeiro faria simulação computacional da interação de quitosana com o herbicida glifosato para descontaminação ambiental. [Cross Ref](#)

Valiev, M., Bylaska, E. J., Govind, N., Kowalski, K., Straatsma, T. P., Van Dam, H. J. J., ... De Jong, W. A. (2010). NWChem: A comprehensive and scalable open-source solution for large scale molecular simulations. *Computer Physics Communications*, 181(9), 1477–1489.
<https://doi.org/10.1016/j.cpc.2010.04.018>

Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., & Berendsen, H. J. C. (2005). GROMACS: Fast, flexible, and free. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16), 1701–1718.
<https://doi.org/10.1002/jcc.20291>

Wan, E., & Galembeck, E. (2001). Como se fazem macromoléculas: a conectividade das substâncias químicas, 5–8. [Cross Ref](#)

Weitzel Coelho, L., Maria Amaral Junqueira, G., & Omar Machuca Herrera Sérgio de Paula Machado, J. (1999). APLICAÇÃO DE MECÂNICA

MOLECULAR EM QUÍMICA INORGÂNICA, 22(3). Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/qn/v22n3/1093.pdf>

Yanai, T., Tew, D. P., & Handy, N. C. (2004). A new hybrid exchange-correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chemical Physics Letters*, 393(1–3), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.06.011>

Young, D. C. (2001). *Computational chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems*. John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471220655>

Zhang, J.-L., Zheng, Q.-C., Li, Z.-Q., & Zhang, H.-X. (2012). Molecular dynamics simulations suggest ligand's binding to nicotinamidase/pyrazinamidase. *PloS One*, 7(6), e39546. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039546>