



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

**Modelagem Molecular de Quitosana e Glifosato
e Análise de suas Interações**

ROBERTO RIBEIRO FARIA

Uberlândia - MG

2019



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

TESE DE DOUTORADO

**Modelagem Molecular de Quitosana e Glifosato
e Análise de suas Interações**

ROBERTO RIBEIRO FARIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Química.

Orientação: Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

Uberlândia - MG

2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F224 Faria, Roberto Ribeiro, 1990-
2019 Modelagem Molecular de Quitosana e Glifosato e Análise de
suas Interações [recurso eletrônico] / Roberto Ribeiro Faria. -
2019.

Orientador: Eduardo de Faria Franca.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-
graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2271>
Inclui bibliografia.

1. Química. I. de Faria Franca, Eduardo, 1981-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química.
III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ATA DE DEFESA

	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 96, PPQUI				
Data:	trinta e um de julho de dois mil e dezenove	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	18:00
Matrícula do Discente:	11523QMI010				
Nome do Discente:	Roberto Ribeiro Faria				
Título do Trabalho:	Modelagem Molecular de Quitosana e Glifosato e análise de suas interações				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Físico-química de Macromoléculas e Colóides				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Caracterização molecular de nanopartículas de quitosana em solução para descontaminação ambiental e regeneração celular				

Reuniu-se no Auditório 3C, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Guedmiller Souza de Oliveira, IQ/UFU; Moacyr Comar Júnior, IQ/UFU; Luiz Frederico Motta, Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais; Odonório Abrahão Júnior, Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Eduardo de Faria Franca, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Eduardo de Faria Franca, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo de Faria Franca, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/07/2019, às 18:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guedmiller Souza de Oliveira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/07/2019, às 18:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Moacyr Comar Junior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/07/2019, às 18:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Frederico Motta, Usuário Externo**, em 31/07/2019, às 18:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Odonório Abrahão Júnior, Usuário Externo**, em 05/08/2019, às 11:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1430408** e o código CRC **0612FC5E**.

DEDICATÓRIA

Este trabalho fica dedicado aos meus pais, Sheila V. R. Faria e Dalvo C. Faria, pelo amor, carinho e proteção. Às minhas irmãs, Raquel R. Faria, Renata R. Faria e Regina R. Faria, pelo amor e amizade eterna. E à Izadora A. B. de Souza pelo amor e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca pela confiança, amizade, orientação e exemplo.

Ao Prof. Dr. Odonório Abrahão Jr. por vários momentos de aprendizagem e amizade.

Ao Prof. Dr. Luiz Frederico Motta pela irmandade e exemplos.

Ao Prof. Dr. Moacyr Comar pela participação na banca e por contribuir na qualificação.

Ao Prof. Dr. Guedmiller S. Oliveira pela participação na banca e por contribuir na qualificação.

Ao Prof. Dr. Osmando Ferreira por contribuir na qualificação.

Ao Prof. Dr. Erick França por todas as gentilezas e companheirismo.

À Profa. Dra. Gislaine Fernandes pela chefia e exemplo durante a carreira profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Soares por me oferecer além de abrigo, ensinamentos para toda a vida.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Muñoz pelo exemplo profissional e motivacional.

Ao Dr. Moacir Junior pelos seus grandes exemplos durante seu doutorado.

Ao Me. Lourival Rodrigues de Sousa Neto por acompanhar toda minha caminhada.

Ao Me. Renan Faria Guerra pela parceria e exemplos.

Ao Prof. Me. Bruno Pereira Garcês por me acompanhar desde 2007 no início da graduação.

Ao meu pai pelo pilar e todos os princípios ensinados.

À minha mãe por ser amiga, companheira e incrível.

Às minhas irmãs pela força e carinho.

À minha namorada pela paciência e companheirismo.

À minha família que é minha fortaleza.

À minha avó pela proteção eterna.

Aos meus grandes amigos Guilherme Freitas, Laura Laís, Paulo Guilherme Sampaio, Fabiana Clayton, Renner Garcia, Bruno Lima Duarte, Gabriela Gomide, Felipe Arantes, Felipe César, Emília Carolina, Javan Alves Toledo, Marcela Vilela de Oliveira, Luciana Franca, Gabriel Ferreira Pinto e Rodrigo Montes, pelos momentos de ajuda, amizade, alegria e descontração.

Aos integrantes do LCQC pela convivência.

Aos funcionários do IQ/UFU, Mayta e a todas as pessoas que, de uma forma ou outra contribuíram com este trabalho e para esta etapa da minha vida.

“É urgente eliminarmos da mente humana a ingênua suposição de que seja possível sairmos da grave crise em que estamos mergulhados, usando o mesmo pensamento que a produziu”.

Albert Einstein

Resumo

O glifosato é o herbicida mais consumido no mundo e possui propriedades ameaçadoras e nocivas aos seres vivos por apresentar toxicidade crônica e atividade carcinogênica. A proposta de remoção de glifosato através de quitosana em meio aquoso ocorre devido à elevada capacidade do biopolímero em quelar contaminantes. Isso pode ser obtido computacionalmente, simulando modelos representando sistemas reais, com a metodologia de dinâmica molecular (MD). No entanto, para que as simulações por MD descrevam a molécula estudada com precisão, é necessário um campo de força que contenha informações exatas sobre os átomos e suas interações. Levando isso em consideração, esta tese visa parametrizar o biopolímero quitosana e o herbicida glifosato para o campo de força OPLS-AA, testar o desempenho das parametrizações simulando-as em sistemas moleculares por MD, computar os grupos específicos de interação entre quitosana e glifosato e calcular o potencial de força média (PMF) da ligação entre ambos. Aqui apresentamos o campo de força final contendo todos os parâmetros necessários para as moléculas estudadas, sendo projetados para diversas simulações com o software GROMACS. As simulações aqui realizadas para a quitosana produzem resultados equivalentes a outro campo de força previamente validado (Gromos53a6) e as análises sobre a adsorção entre quitosana e glifosato são comparáveis a resultados experimentais. O campo de força pode, portanto, ser usado em diversos estudos computacionais de forma atomística para quitosana e glifosato.

Palavras-chaves: Parametrização, Quitosana, Glifosato, Campo de Força, Simulação Computacional.

Abstract

The glyphosate is the most consumed herbicide in the world and has threatening and harmful properties for living beings, because of its chronic toxicity and carcinogenicity. The proposal of remove glyphosate through chitosan in aqueous medium occurs due to the high biopolymer' s ability to chelate contaminants. This can be done computationally, simulating models representing real systems through the methodology of molecular dynamic (MD). However, for the MD simulations to describe the studied molecules with precision, a force field containing exact information about the atoms and their interactions is necessary. Taking this into consideration, the objectives of this thesis were to parameterize the OPLS-AA force field for the chitosan biopolymer and glyphosate herbicide, in order to test the performance of the parameterizations by simulating them in molecular systems by MD, compute the specific interaction groups between chitosan and glyphosate, and calculate the potential mean force (PMF) of their interactions. Here we present the final force field containing all the necessary parameters for the studied molecules and it can be designed for several simulations with GROMACS software. The simulations performed for chitosan produce equivalent results to another previously validated force field (Gromos53a6) and the analysis about the adsorption between chitosan and glyphosate are comparable to experimental results. The force field may therefore be used in several atomistic computational studies for chitosan and glyphosate.

Keywords: Parameterization, Chitosan, Glyphosate, Force Field, Computational Simulation.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	21
1.1	GLIFOSATO.....	21
1.1.1	Classificação	22
1.1.2	Modo e Mecanismo de Ação	23
1.1.3	Degradação.....	24
1.1.4	Contaminação.....	25
1.2	QUITOSANA	27
1.2.1	Propriedades.....	29
1.3	ESTUDOS EXPERIMENTAIS DA ADSORÇÃO DE QUITOSANA E GLIFOSATO	31
2.	OBJETIVO GERAL.....	34
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
3.	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	35
3.1	MECÂNICA QUÂNTICA	35
3.1.1	Fundamentos da Mecânica Quântica.....	36
3.1.2	Hartree-Fock	37
3.1.3	Método DFT (Teoria do Funcional da Densidade)	40
3.1.3.1	Funcionais.....	41
3.1.4	Funções de Base	42
3.1.5	Otimização de Estruturas.....	44
3.2	MECÂNICA MOLECULAR.....	45
3.3	CAMPOS DE FORÇA	46
3.4	POTENCIAIS DO CAMPO DE FORÇA	47
3.4.1	Potencial Harmônico Linear (V_d).....	47
3.4.2	Potencial Harmônico Angular (V_θ)	48
3.4.3	Potencial Torsional ou Diedral (V_ϕ).....	48
3.4.4	Potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}).....	50
3.4.5	Potencial de Coulomb (V_c)	51
3.5	DINÂMICA MOLECULAR	52
3.5.1	Modelos de Solvatação	52
3.5.2	Condições Periódicas de Contorno, Imagem Mínima e Raio de Corte.....	53

4.	PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	55
4.1	PARAMETRIZAÇÃO DO GLIFOSATO PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA.....	55
4.1.1	Tratamento por Mecânica Quântica (QM).....	55
4.1.1.1	Aquisição de Cargas Atômicas	55
4.1.1.2	Parâmetros de Ligação, Deformação Angular e Torsão.....	56
4.1.2	Simulação por Dinâmica Molecular.....	59
4.2	PARAMETRIZAÇÃO DA QUITOSANA PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA.....	60
4.2.1	Obtenção da Estrutura Polimérica da Quitosana.....	61
4.2.2	Tratamento por Mecânica Quântica (QM).....	62
4.2.2.1	Otimização Geométrica	62
4.2.2.2	Obtenção de Cargas Atômicas	62
4.2.2.3	Simulação por Dinâmica Molecular.....	63
4.2.2.4	Protocolo da Simulação.....	63
4.2.3	Pós-Simulação por Dinâmica Molecular	64
4.3	DINÂMICA MOLECULAR DE SISTEMAS COM QUITOSANA E GLIFOSATO.....	64
4.4	POTENCIAL DE FORÇA MÉDIA ENTRE QUITOSANA E GLIFOSATO.....	67
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	70
5.1	PARAMETRIZAÇÃO DO GLIFOSATO PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA.....	70
5.1.1	Cálculo das Cargas Parciais Atômicas do Glifosato	70
5.1.2	Diedros para o Herbicida Glifosato.....	72
5.1.3	Dinâmica Molecular para Análise dos Novos Parâmetros	75
5.2	PARAMETRIZAÇÃO DA QUITOSANA PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA.....	77
5.2.1	Análise de Cargas entre os Campos de Força.....	77
5.2.2	Dinâmica Molecular da Quitosana	79
5.3	DINÂMICA MOLECULAR DE SISTEMAS COM QUITOSANA E GLIFOSATO.....	84
5.3.1	Sistema Contendo 60 Monômeros de Quitosana e 42 Moléculas de Glifosato	85
5.3.2	Sistema Contendo 60 Monômeros de Quitosana Sem Glifosato	93
5.3.3	Potencial de Força Média da Ligação entre Quitosana e Glifosato	94
6.	CONCLUSÃO	103
7.	APÊNDICES.....	104
	APÊNDICE A: Artigo Científico publicado pela revista <i>Molecular Simulation</i> como requisito de defesa desta tese (Faria et al. 2018).....	104

APÊNDICE B: Material Suplementar - Cálculos para obtenção das barreiras rotacionais dos diedros do glifosato com conjuntos de bases MP2 e ccpVTZ.....	115
APÊNDICE C: Artigo científico submetido para a revista Molecular Simulation, referente a esta tese.....	118
APÊNDICE D: Topologia do decâmero de quitosana.....	134
APÊNDICE E: Topologia do herbicida glifosato	142
APÊNDICE F: Disponibilidade Computacional.....	143
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	144

Índice de Figuras

Figura 1. Molécula do glifosato (esquerda) e sua reprodução em 3D com a superfície de van der Waals (direita).	22
Figura 2. Reação catalisada pelo EPSPs.....	23
Figura 3. Fração de ocorrência das espécies de glifosato construído a partir dos valores de pKa e representação dos equilíbrios.	24
Figura 4. Forma de biodegradação de glifosato no solo, produção de Sarcosina e Ácido Aminometil Fosfônico.	25
Figura 5. Contagem de agrotóxicos registrados no Brasil a cada ano.....	26
Figura 6. Estrutura e diferença dos biopolímeros quitosana (a), quitina (b) e celulose (c), n corresponde ao grau de polimerização das mesmas.....	28
Figura 7. Processo de desacetilação da quitina (esquerda) em quitosana (direita), com destaque nos grupos GlcNAc e GlcN, n corresponde aos seus graus de polimerização. A Figura tridimensional apresenta as superfícies de van der Waals com a nomenclatura dos átomos de carbono dos anéis glicopiranosídicos.	29
Figura 8. Efeito da adsorção em função do tempo de contato de quitosana e quitina com glifosato. Sendo Q a quantidade de glifosato adsorvido em equilíbrio.	31
Figura 9. Efeito da dessorção em função do tempo de contato de quitosana e quitina com glifosato. Sendo Q a quantidade de glifosato desorvido em equilíbrio.	32
Figura 10. Efeito da adsorção em função do pH de quitosana e quitina com glifosato. Sendo Q a quantidade de glifosato adsorvido.....	33
Figura 11. Exemplo de PES em gráfico tridimensional.	44
Figura 12. Reprodução da molécula de água com os átomos se conectando por forças elásticas.	45
Figura 13. Estiramento angular sofrido por 3 átomos. Sendo θ o respectivo ângulo.....	48
Figura 14. Reprodução geométrica dos ângulos diedrais, considerando átomos $A (i)$, $B (j)$, $C(k)$ e $D (l)$	49
Figura 15. Gráfico representativo do potencial de Lennard Jones (V_{LJ}) pela distância (R) entre 2 átomos.	51
Figura 16. PBC na caixa tridimensional.	54
Figura 17. Equilíbrio de dissociação ácida do glifosato, sendo $CF = -2$ (esquerda) e $CF = -1$ (direita).....	55
Figura 18. Molécula de glifosato com seus respectivos códigos atômicos utilizados no campo de força OPLS-AA.....	57
Figura 19. Glifosato utilizado no cálculo de Barreiras Rotacionais dos Diedros; a) Molécula completa empregada em HF/6-31G*; b) Molécula fragmentada empregada em MP2/ccpVTZ; c) Fragmento retirado do glifosato para cálculo MP2/ccpVTZ.	59
Figura 20. Aspecto do herbicida glifosato representado com sua superfície de van der Waals em roxo com íons Cl^- e Na^+ no interior da caixa de simulação.	60
Figura 21. Trímero de quitosana desprotonada com os referentes resíduos glicopiranosídicos.....	61
Figura 22. Trímero de quitosana protonada com os referentes resíduos glicopiranosídicos.	61
Figura 23. Reprodução da quitosana na forma de decâmero e seus respectivos resíduos de 1 a 10 (NGPC, CHIT, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, CHIT e NGUO, respectivamente).	62
Figura 24. Caixa tridimensional contendo um filamento de quitosana pelo modelo atomístico com representação Licorice.	64
Figura 25. Molécula de quitosana no modelo atomístico (OPLS-AA) com representação em pontos de seus raios	

atômicos.....	65
Figura 26. Reprodução do modelo binário no interior da caixa de simulação com 1 decâmero de quitosana e 1 molécula de glifosato na presença de íons Cl^- e Na^+	66
Figura 27. Modelo dos sistemas moleculares contendo: a) quitosana (licorice), glifosato (superfícies de van der Waals roxo), íons e solvente água (linhas); b) quitosana (licorice) e íons (linhas).	67
Figura 28. Representação do glifosato sendo afastado da quitosana gradualmente ao longo da coordenada do eixo x na simulação computacional por MD (representação em <i>Licorice</i>).	68
Figura 29. Perfis de energia potencial calculados por método quântico Hartree-Fock com funções de base 6-31G* (vermelho) e pelo método Ryckaert-Bellemans (preto) obtido pelo método dos mínimos quadrados para o diedro HO3-O3-P-C1.....	73
Figura 30. Perfis de energia potencial calculados por método quântico Hartree-Fock com funções de base 6-31G* (vermelho) e pelo método Ryckaert-Bellemans (preto) obtido pelo método dos mínimos quadrados para o diedro P-C1-N-HN1.	74
Figura 31. RMSD do herbicida glifosato durante toda a simulação computacional por dinâmica molecular com duração de 50ns.	76
Figura 32. Distribuição do ângulo torsional para o diedro HO3-O3-P-C1 (a).....	76
Figura 33. Representação da sobreposição das moléculas do glifosato antes e após a simulação computacional por MD (representação em CPK).	77
Figura 34. Representação esquemática de quitosana onde cada átomo pode ser identificado pelo símbolo do seu elemento e número.	77
Figura 35. Quitosana em representação <i>Licorice</i> após MD implementada nos campos de força: a) Gromos53a6 com 131 átomos; e b) OPLS-AA com 237 átomos.	79
Figura 36. RMSD da quitosana para os campos de força Gromos53a6 (preto) e OPLS-AA (vermelho).	79
Figura 37. RMSDist da quitosana para os campos de força Gromos53a6 (preto) e OPLS-AA (vermelho).	80
Figura 38. Anéis glicopiranosídicos resultantes da quitosana antes de serem sobrepostos. Sendo a) aspecto superior e b) lateral. Acima está o anel do campo de força Gromos53a6 e abaixo o anel do campo de força OPLS-AA;.....	83
Figura 39. Gráfico com energia total para cada sistema contendo quitosana para o campos de força Gromos53a6 (vermelho) e OPLS-AA (preto).	83
Figura 40. Aspecto molecular do sistema com 1 decâmero de quitosana e 1 molécula de glifosato em 21.514,00 ps de simulação, ambos em representação <i>Licorice</i> , sendo a superfície de van der Waals do glifosato em cor violeta	84
Figura 41. Gráfico com as ocorrências de ligações de hidrogênio entre quitosana e glifosato ao longo da simulação (preto), e seu valor estatístico médio com 50 pontos unidos (vermelho).	84
Figura 42. Representação molecular do sistema com 6 decâmeros de quitosana (representação <i>Licorice</i>) e 42 moléculas de glifosato com a superfície de van der Waals (roxo) após 9 ns de simulação.	85
Figura 43. Energia total do sistema contendo 6 decâmeros de quitosana (<i>Licorice</i>) e 42 moléculas de glifosato.	86
Figura 44. Principais átomos dos grupos de interação de a) quitosana; b) glifosato.	87
Figura 45. RDF entre os átomos de nitrogênio do grupo NH do glifosato com os grupos da quitosana: a) nitrogenados; b) oxigenados.	87
Figura 46. RDF entre os átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato com os grupos da quitosana. Sendo: a) átomos $\text{O}4^-$ do glifosato com os grupos nitrogenados da quitosana; b) átomos $\text{O}5$ do glifosato com os grupos nitrogenados da quitosana; c) átomos $\text{O}4^-$ do glifosato com os grupos oxigenados da quitosana; d) átomos $\text{O}5$ do glifosato com os grupos	

oxigenados da quitosana.....	88
Figura 47. RDF entre os grupos nitrogenados da quitosana e os átomos de oxigênio do grupo PO_3^- do glifosato: a) O1 ⁻ ; b) O2; c) O3.....	89
Figura 48. RDF entre os grupos oxigenados da quitosana e os átomos de oxigênio do grupo PO_3^- do glifosato: a) O1 ⁻ ; b) O2; c) O3.....	89
Figura 49. Gráfico de RDF entre as interações dos átomos de oxigênio O7 com todos os átomos interativos do glifosato.....	90
Figura 50. Gráfico de RDF entre o nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana com os grupos interativos do glifosato.....	91
Figura 51. RDF entre o átomo O5 e os átomos de oxigênio das hidroxilas primárias (O6 em preto) e secundárias (O3 em vermelho).....	92
Figura 52. Ilustração da ocorrência de interação intramolecular da quitosana entre o átomo O5 e os átomos de oxigênio dos grupos: a) HO3 e b) HO6.....	92
Figura 53. Diagramas de análises estruturais RMSD e MSD das posições atômicas para os sistemas contendo quitosana sem glifosato (preto) e quitosana com glifosato (vermelho).....	93
Figura 54. Gráfico com as ocorrências de ligações de hidrogênio entre as moléculas de quitosana ao longo das simulações sem glifosato (preto) e com glifosato (vermelho).....	94
Figura 55. Representação dos sistemas antes do afastamento do glifosato (<i>Licorice</i>), com destaque no herbicida aprisionado pelos monômeros de quitosana.....	95
Figura 56. Representação em <i>Licorice</i> do intervalo intermediário de interação entre glifosato e quitosana.....	95
Figura 57. Representação do intervalo antes do desprendimento da concavidade onde havia interações entre quitosana e glifosato, com representação em <i>Licorice</i>	96
Figura 58. Evolução temporal média (ps) da força aplicada ($\text{kJ mol}^{-1} \text{nm}^{-1}$) para o afastamento do glifosato em interação com quitosana (à esquerda a junção de todos os gráficos formados pelas 66 simulações e à direita o gráfico com o valor médio).....	96
Figura 59. Gráficos com os valores de 66 simulações de SMD: a) Trabalho x Tempo; b) Trabalho x Distância.....	97
Figura 60. Evolução temporal média (ps) da força aplicada ($\text{kJ mol}^{-1} \text{nm}^{-1}$) para o afastamento do glifosato em interação com quitosana, utilizando as constantes de mola: a) 1000 kJ mol^{-1} ; b) 367 kJ mol^{-1} . Sendo as constantes de velocidade: 0,001 (preto); 0,002 (vermelho); 0,003 (verde); 0,004 (azul); 0,005 (amarelo).....	98
Figura 61. Diagramas de análises estruturais RMSD da quitosana para o afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos em função do tempo para temperatura de 288 K.....	98
Figura 62. Diagramas de análises estruturais RMSD da quitosana para o afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos em função do tempo para temperatura de 298 K.....	99
Figura 63. RMSD da quitosana nos 3 eixos cartesianos em função do tempo a 308 K.....	100
Figura 64. Perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para temperaturas de 288 K.....	100
Figura 65. Perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para temperaturas de 298 K.....	101
Figura 66. Perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para temperaturas de 308 K.....	102
Figura 67. Perfis de energia livre calculados ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para as temperaturas de 288, 298 e 308 K.....	102

Índice de Tabelas

Tabela 1. Principais características polieletrólíticas, biológicas e físico-químicas da quitosana.	30
Tabela 2. Exemplos de funcionais.....	42
Tabela 3. Sequência básica de otimização molecular.	44
Tabela 4. Parâmetros de estiramento de ligações utilizados pelo campo de força OPLS-AA.	56
Tabela 5. Parâmetros de flexão angular utilizados pelo OPLS-AA.	57
Tabela 6. Parâmetros de flexão torsional utilizados pelo OPLS-AA.	58
Tabela 7. Significado da nomenclatura dos 6 resíduos monoméricos de quitosana.	60
Tabela 8. Cargas parciais atômicas do glifosato obtidas pela metodologia RESP.	70
Tabela 9. Valores obtidos de cargas RESP, CM1A, modelo padronizado do campo de força OPLS-AA e o módulo das diferenças entre as cargas RESP e CM1A, RESP e carga do OPLS-AA, CM1A e carga do OPLS-AA.	71
Tabela 10. Coeficientes de Ryckaert-Bellemans calculados pelo método Hartree-Fock com funções de base 6-31G*...	73
Tabela 11. Valores dos ângulos de torção obtidos na parametrização.	75
Tabela 12. Valores das cargas parciais atômicas inseridas no campo de força OPLS-AA e diferenças com as cargas presentes no Gromos53a6.	78
Tabela 13. Distâncias de ligação atômica para os dois campos de força considerados (OPLS-AA e Gromos53a6).	81
Tabela 14. Ângulos de ligação atômica do polissacarídeo computados para OPLS-AA e Gromos53a6.	82
Tabela 15. Percentual do número efetivo de ligações de hidrogênio entre os principais grupos passíveis de interação entre 1 molécula de quitosana e 1 molécula do glifosato.	85
Tabela 16. Percentual do número de ligações de hidrogênio entre os principais grupos passíveis de interação entre quitosana e glifosato.	86
Tabela 17. Percentual de ligações de hidrogênio entre os grupos nitrogenados da quitosana e o grupo fosfonato do herbicida glifosato (PO_3^-).	90

Lista de Siglas e Abreviaturas

Ac: Grupo Acetil da Quitosana

Å: Ângstrom (10^{-10} metros)

AMPA: Ácido Aminometil Fosfônico

BPTI: Tripsina Pancreática Bovina Inibidora

CF: Carga Formal

CM1A: Método de Cramer com AM1

CNT: Nano Tubos de Carbono

COMPASS: Potencial Molecular Otimizado em Fase Condensada para Estudos de Simulação Atomística

DDS: Entrega de Medicamentos

DFT: Teoria do Funcional da Densidade

E_T : Energia Total de um Sistema

EAM: Método Embedded-Atom

EDP: Equação Diferencial Parcial

EPSPs: Enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato Sintase

EPSP: 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato

fs: femtossegundos (10^{-15} s)

GA: Grau de Acetilação

GAFF: General Amber Force Field

GEA: Aproximação do Gradiente de Expansão

GGA: Aproximação do Gradiente Generalizado

GlcNAc: Grupo N-Acetil-Glicosamina

GlcN: Grupo Glicosamina

HF: Hartree-Fock

K: Kelvin (Temperatura)

k_B : Constante de Boltzmann = $1,38064852 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$

LBCC: Correções de Carga de Ligação Localizada

LCQC: Laboratório de Cristalografia e Química Computacional

LDA: Aproximação Local da Densidade

LINCS : Algoritmo de Restrição Linear (*Linear Constraint Solver*)

LSDA: Aproximação Local da Densidade de Spin

IARC: Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer

MD: Dinâmica Molecular

MM: Mecânica Molecular
MOPAC: Molecular Orbital Package (Pacote de Orbital Molecular)
NGUO: Glucosamina de Abertura com Nitrogênio Desprotonado
NGLU: Glucosamina Ligada com Nitrogênio Desprotonado
NGUC: Glucosamina de Cauda com Nitrogênio Desprotonado
CHIT: Glucosamina Acetilada
NGPO: Glucosamina de Abertura com Nitrogênio Protonado
NGLP: Glucosamina Ligada com Nitrogênio Protonado
NGPC: Glucosamina de Cauda com Nitrogênio Protonado
NH₂: Grupo Amina
NH₃⁺: Grupo Amina Protonada
nm: nano metros (10⁻⁹ m)
ns: nano segundos (10⁻⁹ s)
NPT: Ensemble Isotérmico-Isobárico
μVT: Ensemble Grand-Canônico
NVE: Ensemble Micro-Canônico
NVT: Ensemble Canônico
OH: Grupo Hidroxila
OMS: Organização Mundial da Saúde
OPLS-AA: Potenciais Otimizados para Simulações Líquidas Atômicas
ORCA: Programa de Química Quântica
PCFF: Campo de Força Consistente com Polímero
PEP: Fosfoenol-Piruvato
PES: Superfície de Energia Potencial
PM6: Método Paramétrico 6
PME: Particle Mesh Ewald (Soma de Ewald)
ps: pico segundos (10⁻¹² s)
PVA: Poli Álcool Vinílico
QM: Mecânica Quântica
QM/MM: Mecânica Quântica e Mecânica Molecular
RDF: Distribuição Radial de Pares
RESP: Potencial Eletrostático Restringido
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
RMSD: Raiz quadrada do desvio quadrático médio
RMSDist: Raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas
RMSF: Raiz quadrada da flutuação quadrática média

S3P: shikimato-3-fosfato

SPC: Modelo De Carga Pontual Para Solvente Explícito

SCF: Campo Auto Consistente

SMD: Dinâmica Molecular Direcional

STF: Funções Tipo Slater

GTF: Funções Tipo Gaussiana

T: Temperatura

TIP3P: Potencial Intermolecular de Transferibilidade em 3 Pontos

TIP4P: Potencial Intermolecular de Transferibilidade em 4 Pontos

TIP5P: Potencial Intermolecular de Transferibilidade em 5 Pontos

UHF: Unrestricted Hartree-Fock (Hartree-Fock não Restrito)

USEPA: Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A contaminação por agrotóxicos cresce gradativamente em todo o mundo e principalmente no Brasil, com isso a necessidade da busca por métodos de descontaminação destes agentes tóxicos. Uma maneira eficaz de descontaminar toxinas é através do biopolímero de quitosana, por possuir biodegradabilidade, baixa toxicidade e elevada disponibilidade na natureza. Esta biomolécula atua em grande importância como agente quelante de contaminantes devido aos seus grupos interativos de alta polaridade.

A utilização de quitosana, neste trabalho, ocorre como uma contribuição por simulação computacional para avaliar a eficiência de sua adsorção com o herbicida glifosato. Isso requer uma compreensão a nível molecular de como os diferentes átomos interagem entre si e como essas interações permitem a adsorção. A maneira de obter este conhecimento é através de métodos computacionais, nos quais modelos precisos de sistemas reais podem ser construídos, e esses modelos podem ser usados em simulações, dando uma visão do comportamento desses sistemas reais.

Este trabalho se focou em realizar simulações por dinâmica molecular (MD), que se baseia na mecânica clássica, como as leis de Newton, para descrever as interações e movimentos dos átomos no sistema em função do tempo. No centro do método MD está um campo de força, que contém toda a informação sobre as propriedades dos átomos no sistema, e como interagem entre si.

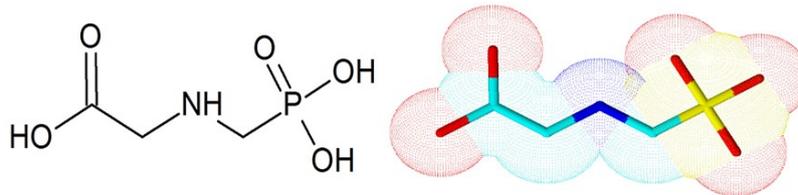
Para se usar MD, é necessário obter os parâmetros atômicos para que o campo de força descreva com precisão todos os átomos e suas interações, para isso, cálculos quânticos e clássicos foram realizados.

As informações a respeito do herbicida glifosato e o biopolissacarídeo quitosana, tais como propriedades, aplicações, classificações e análises experimentais de suas interações são expostas no presente capítulo.

1.1 GLIFOSATO

O glifosato [N-(fosfonometil) glicina] é um herbicida de amplo espectro, de fórmula empírica $C_3H_8NO_5P$, e estrutura descrita na Figura 1. Este composto é um sólido branco e corresponde ao herbicida mais comercializado no mundo, largamente usado em áreas agrícolas e não agrícolas, como indústrias, florestas, residências e ambientes aquáticos. Trata-se de um herbicida não seletivo, sistêmico e pós-emergente, pertencente ao grupo químico dos aminoácidos fosforados ou glicinas substituídas (Baer & Marcel, 2014; Cox, 2004).

Figura 1. Molécula do glifosato (esquerda) e sua reprodução em 3D com a superfície de van der Waals (direita).



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Advanced Chemistry Development, 2018).

Estudos diversos como o desenvolvimento de técnicas de detecção analítica (Philipp Schledorn, 2014), toxicidade (Amarante Jr, O. P.; dos Santos, C. R.; Brito, N. M.; Ribeiro, 2002), citotoxicidade (Gasnier et al., 2009; Giesy, Dobson, & Solomon, 2000) e genotoxicidade (Kier & Kirkland, 2013) têm sido constantemente avaliados pelo fato de o glifosato corresponder ao ingrediente ativo dos herbicidas mais utilizados em todo o mundo e causar diversos impactos ao meio ambiente (Franz, Mao, & Sikorski, 1997).

1.1.1 Classificação

O herbicida em estudo é classificado como não seletivo por possuir amplo espectro de atividade, ou seja, afeta não somente a planta alvo, mas também as demais em seu entorno, inclusive alguns animais, o que possibilita um excelente controle de plantas daninhas anuais ou perenes, tanto em folhas largas quanto estreitas em culturas de arroz, cana-de-açúcar, café, milho, soja, entre outras (Galli & Montezuma, 2005). Isto ocorre em função da planta não metabolizar o herbicida em metabólitos de menor toxicidade (Dill et al., 2010; Duke, 2011). Porém, para as culturas geneticamente modificadas, o herbicida glifosato apresenta seletividade adquirida. Esta não seletividade é insatisfatória para o meio ambiente, de acordo com Leonardo Bianco de Carvalho, no qual afirma que o herbicida gera “efeitos deletérios drásticos, podendo causar a morte da cultura agrícola que está sendo cultivada” (Carvalho, De, 2013).

O glifosato se classifica como pós-emergente (POS), pois sua aplicação ocorre após o plantio das plantas daninhas, seu destaque advém da inibição das atividades enzimáticas das plantas, com absorção nas folhas e espalhamento por toda a sua extensão, conduzindo ao extermínio da planta (Amarante Jr, O. P.; dos Santos, C. R.; Brito, N. M.; Ribeiro, 2002; Feng et al., 2005). Este herbicida combate ervas daninhas e gramíneas anuais e perenes, sendo a força para este combate uma de suas maiores vantagens (Dill et al., 2010), sua eficiência possui tanta relevância que desde 1974, quando introduzido no mercado pela empresa Monsanto com o nome comercial *Roundup*[®], até 2019, nenhum outro herbicida capaz de superá-lo em vendas foi sintetizado (Franz et al., 1997; Székács & Darvas, 2012), inclusive Carvalho afirma que “o descobrimento e o desenvolvimento de novas moléculas herbicidas seja lento” (Carvalho, De, 2013).

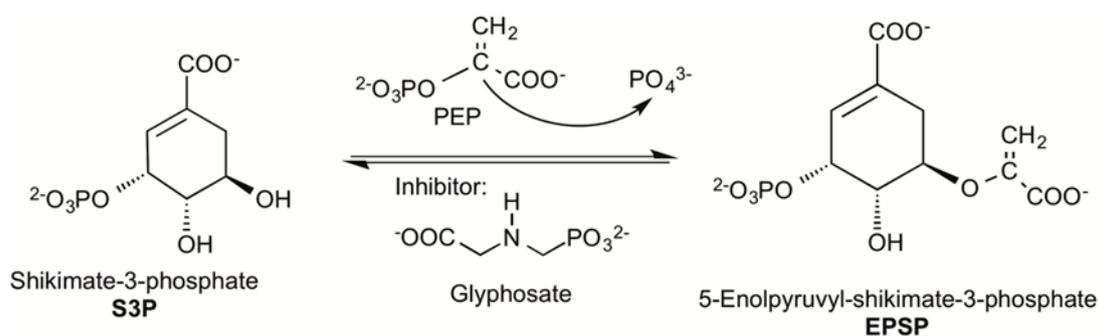
O seu sucesso pode ser justificado por pertencer ao grupo dos organofosforados (derivados do ácido fosfórico, tiosfosfórico ou ditiosfosfórico), compostos orgânicos de fácil degradação, diferentes de algumas classes de herbicidas como os organoclorados e os carbamatos, os primeiros com difícil degradação bioquímica e utilização proibida em várias nações, e os demais com relativa toxicidade principalmente em mamíferos e insetos (M. Helander, Saloniemi, & Saikkonen, 2012; Lydon, Koskinen, Moorman, & Chaney, 2012; Tu et al., 2001).

1.1.2 Modo e Mecanismo de Ação

A ação do glifosato é sistêmica por iniciar com a absorção pelo tecido vivo das plantas seguido de translocação, via floema, através da planta para raízes, rizomas e meristemas apicais (Coutinho & Mazo, 2005; Johal & Huber, 2009), e a sua atuação inibe a enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase (EPSPs), a enzima chave no caminho do shikimato, responsável pela biossíntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina) em algas, bactérias, plantas e fungos (R D Sammons, Gruys, Anderson, Johnson, & Sikorski, 1995; Robert Douglas Sammons & Gaines, 2014; Schönbrunn et al., 2001). A enzima EPSPs catalisa a transferência do grupamento enolpiruvil do PEP (fosfoenol-piruvato) para o S3P (shikimato-3-fosfato) formando o produto EPSP (5-enolpiruvil-3-shikimato fosfato) e um fosfato inorgânico, conforme representado pela Figura 2 (Ream, Yuen, Frazier, & Sikorski, 1992; Schönbrunn et al., 2001).

Numerosos estudos usando diferentes técnicas demonstraram que o glifosato forma preferencialmente um complexo ternário estável com a enzima EPSPs e S3P (EPSP-S3P-glifosato), este complexo ternário representa a forma atualmente aceita como responsável pela atividade do herbicida (Feng et al., 2005; Herrmann & Weaver, 1999; Priestman, Healy, Funke, Becker, & Schönbrunn, 2005).

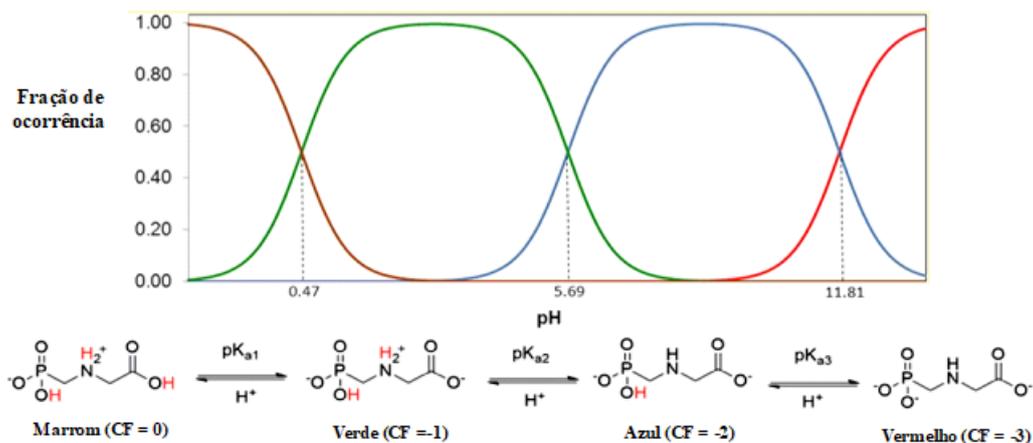
Figura 2. Reação catalisada pelo EPSPs.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Advanced Chemistry Development, 2018) com informações bibliográficas (Dick & Quinn, 1995; Mattos, Peralba, Dias S. L. P. Prata, & Camargo, 2002).

A interação do herbicida com a água é favorável devido à sua elevada polaridade em condição comercial, com $\text{pH} = 3$ e concentração de $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, solubilidade de 20 g L^{-1} a 20°C , pressão de vapor praticamente nula; o herbicida atua como anfótero, conforme Figura 3, apresentando comportamento zwitteriônico (Cox, 2004; Dill et al., 2010; Mink, Mandel, Scurman, & Lundin, 2012). Seus valores de pK_a correspondem a: $\text{pK}_{a1} = 0,47$; $\text{pK}_{a2} = 5,69$ e $\text{pK}_{a3} = 11,81$, de acordo com suas especificações químicas em função do pH (Bijun Liu et al., 2016; Peixoto, Bauerfeldt, Herbst, Pereira, & da Silva, 2015).

Figura 3. Fração de ocorrência das espécies de glifosato construído a partir dos valores de pK_a e representação dos equilíbrios.



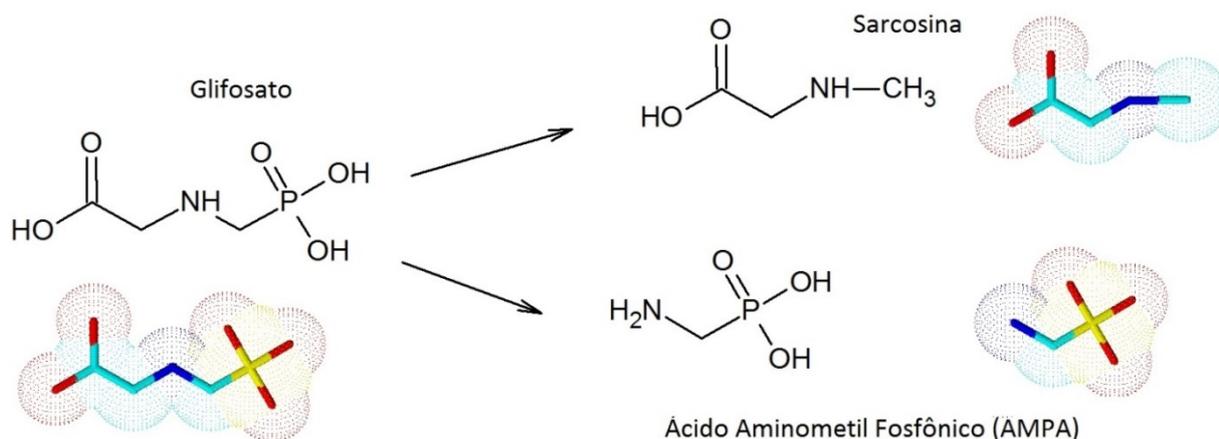
Fonte: (Júnior, 2016; Bijun Liu et al., 2016; Peixoto et al., 2015).

1.1.3 Degradação

A degradação do glifosato no solo por microrganismos acontece rapidamente, por permanecer imobilizado, formando assim o metabólito intermediário Sarcosina e o Ácido Aminometil Fosfônico (AMPA) (Battaglin, Meyer, Kuivila, & Dietze, 2014; Martins Júnior, 2005), de acordo com a Figura 4; o primeiro consiste na clivagem da ligação fósforo-carbono por ação da bactéria *Agrobacterium radiobacter* ou da *Enterobacter aeroneges* (enzima C-P liase) (Toni, De Santana, & Zaia, 2006), o segundo se biodegrada mais lentamente em CO_2 , PO_4^{3-} e NH_3 (Botero-Coy, Ibáñez, Sancho, & Hernández, 2013; Mercurio, Flores, Mueller, Carter, & Negri, 2014; Van Bruggen et al., 2018).

Poderia haver a possibilidade de evitar desgaste ambiental desde que a utilização do herbicida fosse adequada, principalmente por se tratar de um herbicida de fácil decomposição no solo. Entretanto, o dano ocorre quando há deposição de glifosato nas águas superficiais (Amarante Jr, O. P.; dos Santos, C. R.; Brito, N. M.; Ribeiro, 2002) devido ao uso inadequado e excessivo do herbicida, ocasionando graves repreensões e críticas a respeito de seus efeitos nocivos (M. Helander et al., 2012; Johal & Huber, 2009; Philipp Schledorn, 2014).

Figura 4. Forma de biodegradação de glifosato no solo, produção de Sarcosina e Ácido Aminometil Fosfônico.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Advanced Chemistry Development, 2018) com informações bibliográficas (Botero-Coy et al., 2013).

O herbicida se degrada através de fotodegradação e transformações químicas naturais, ou bióticas, com processos extras e intracelulares, por intermédio de enzimas de microorganismos (Galli & Montezuma, 2005). A degradação pode ocorrer em aproximadamente 14 dias (Giesy et al., 2000); mas, em função das condições ambientais, este tempo se prolonga a um nível de segurança estabelecido para aproximadamente 120 dias (Mattos et al., 2002).

1.1.4 Contaminação

A classificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para o herbicida glifosato o inclui na classe IV (pouco tóxico) (Londres, 2011), porém o herbicida se torna prejudicial em contato prolongado (toxicidade crônica), podendo ocorrer clorose (conhecida como "doença verde") e necrose, com desordens digestivas e sanguíneas como primeiros efeitos. Embora alguns estudos relatem a falta de evidências para uma relação causal entre qualquer tipo de câncer e exposição ao glifosato (Mink et al., 2012; Myers et al., 2016), há autores que expõem o herbicida na indução do desenvolvimento de tumores em peles de ratos (J. George, Prasad, Mahmood, & Shukla, 2010), além de estudos que demonstram a exposição ao glifosato com elevado risco de câncer de mama (Thongprakaisang, Thiantanawat, Rangkadilok, Suriyo, & Satayavivad, 2013), com principais sintomas nos órgãos de coordenação e regulação das funções corporais (sistema neurológico e endócrino), além de causar má formação congênita (Chorfa et al., 2013; Cox, 2004).

A ANVISA reavalia corriqueiramente a liberação do uso de glifosato no Brasil, tal atitude foi encorajada pelo artigo publicado na Revista "The Lancet", em 2015, pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), na Organização Mundial da Saúde (OMS), os quais classificam o

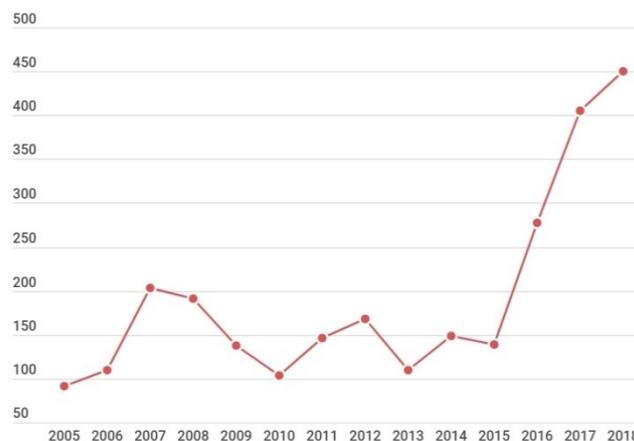
efeito carcinogênico de cinco agrotóxicos, incluindo o glifosato (ANVISA, 2015; Guyton et al., 2015).

A quantidade mais elevada de glifosato na natureza fica no solo, os números são traços de herbicida lixiviado para poluir as águas subterrâneas em comparação às outras formas de contaminação. As principais maneiras de contaminação são as excessivas aplicações e dispersões por pulverizações aéreas e terrestres; despejo de restos de caldas; descarte de embalagens gerando resíduos; esgotos; fezes de animais já contaminados e a lavagem inadequada de tanques de pulverização contaminados (Bradberry, Proudfoot, & Vale, 2004; Giesy et al., 2000; Schuette, 1998).

O controle de contaminantes e resíduos é uma preocupação internacional, principalmente no Brasil (Figura 5), por ser o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (Pelaez, da Silva, & Araújo, 2013; Woodburn, 2000). Assim, alguma alternativa deve ser realizada para amenizar a poluição dos herbicidas, como o monitoramento de leis ambientais, conscientização dos manuseadores do produto e, principalmente, a utilização de recursos que permitam a descontaminação ambiental.

Figura 5. Contagem de agrotóxicos registrados no Brasil a cada ano.

Total de agrotóxicos registrados - por ano



Fonte: (Federal, 2019).

A gráfico da Figura 5 mostra que o ano de 2018 passou por um recorde histórico, com 450 agrotóxicos registrados no Brasil, destes, apenas 52 de baixa toxicidade. Quarenta novos produtos comerciais com agrotóxicos receberam permissão para chegar ao mercado, e o Ministério da Agricultura publicou no Diário Oficial da União de 10 de janeiro o registro de 28 agrotóxicos. Em janeiro de 2019, a Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins do Ministério da Agricultura publicou lista com mais 131 pedidos de registro de agrotóxicos solicitados nos últimos três meses de 2018.

Os agrotóxicos passam a ser produzidos, em 2019, por mais empresas e utilizados em novas culturas, entre elas a de alimentos, por isso a necessidade de medidas de descontaminação ambiental para essas toxinas. Os procedimentos experimentais conhecidos para diminuir as concentrações de glifosato em águas residuais são inviáveis economicamente e considerados ineficientes (Duke &

Powles, 2007). Estes podem advir por processos físicos, como a utilização de carbono ativado como adsorvente, e por processos químicos, como reações de oxidação, ozonização e degradação fotocatalítica (Duke, 2011; Mercurio et al., 2014; Prata, Cardinali, Lavorenti, Tornisiello, & Regitano, 2003). Assim sendo, o uso de biopolímeros naturais com elevada adsorvidade, como a quitosana, tem-se mostrado uma alternativa promissora para a adsorção de agrotóxicos e demais poluentes (Chatterjee, Lee, & Woo, 2010; A. L. Debbaudt, Ferreira, & Gschaidt, 2004; A. Debbaudt et al., 2001; Helgason, Gislason, McClements, Kristbergsson, & Weiss, 2009; Hu, Zhao, & Sorohan, 2011).

A quitosana, fonte derivada da quitina, renovável, atóxica e de baixo custo, apresenta uma alternativa ambiental eficaz para a adsorção do herbicida glifosato, uma vez que existem vários trabalhos experimentais relacionados à adsorção do biopolímero com diversos herbicidas, como Paraquat, Clopyralid, Clomazone, Dichlorprop e outros organofosforados (Agostini de Moraes, Cocenza, da Cruz Vasconcellos, Fraceto, & Beppu, 2013; Celis, Adelino, Hermosin, & Cornejo, 2012; Grillo et al., 2015). Dessa forma, considerando o grande potencial da quitosana, torna-se necessário e estratégico a descrição desse biopolímero, a nível molecular, para se entender suas interações específicas com contaminantes ambientais como o glifosato.

1.2 QUITOSANA

A quitosana é uma biomacromolécula biocompatível e biodegradável, com nomenclaturas $\beta(1-4)$ -2-acetamino-2-deoxi-D-glicopiranosose e $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose, encontrada na natureza em pouca quantidade na constituição química da parede celular de fungos específicos (Dutta, Dutta, & Tripathi, 2004; Pillai, K. S., Paul, W and C. P., 2009; Rinaudo, 2006), porém pode ser facilmente obtida através do processo de desacetilação da quitina, sendo considerada originária de uma fonte renovável e abundante (Chang et al., 1997; Chen, Du, Tian, & Sun, 2005). Esta participa de 20 a 58% do peso seco dos componentes estruturais (proteínas, pigmentos, lipídeos e carbonato de cálcio) do exoesqueleto de animais marinhos (Einbu, Naess, Elgsaeter, & Varum, 2004; Mathur & Narang, 1990; Percot, Viton, & Domard, 2003). Esses resquícios abundantes são abandonados pela indústria pesqueira; portanto, aproveitá-los diminuiria o impacto ambiental nos locais originados ou estocados (Kurita, 2006).

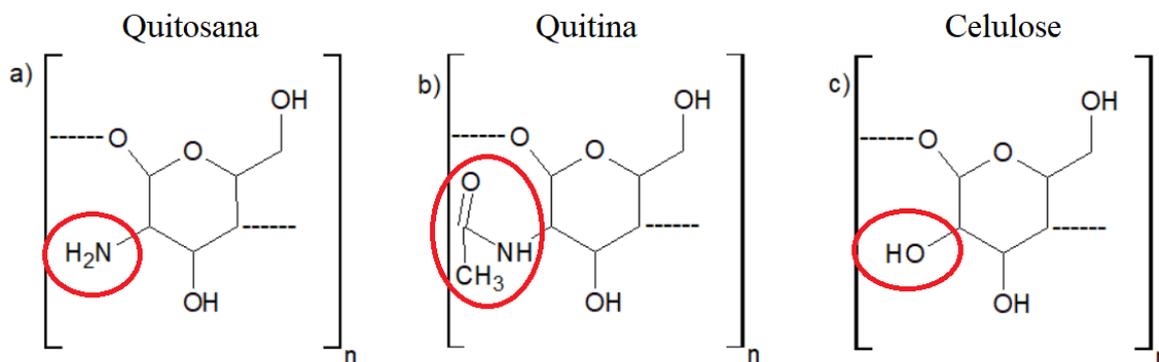
A quitosana pode se apresentar sob o aspecto de micropartículas, esferas, nanopartículas, nanofibras, géis, membranas e esponjas, a depender de sua conveniência e aplicação (Laplante, Turgeon, & Paquin, 2006; Pavinatto, Caseli, & Oliveira, 2010; Schatz, Viton, Delair, Pichot, & Domard, 2003; Skovstrup et al., 2010). Os aproveitamentos da molécula são vários, uma vez que suas propriedades são compatíveis com o meio ambiente, sua interação com contaminantes para

purificação de água potável ocorre nos Estados Unidos desde 1984 pela USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) (Guan, Ni, Wu, & Lai, 2009; Bingjie Liu, Wang, Yu, & Meng, 2013; Miretzky & Cirelli, 2009; Sant'Anna, 2009).

O tratamento de efluentes industriais utiliza quitosana como quelante na retirada de metais pesados, devido aos seus grupos reativos funcionais: amina, hidroxila primária e hidroxila secundária (A. L. Debbaudt et al., 2004; A. Debbaudt et al., 2001; Paulino et al., 2007), estes grupos alargam a eficácia da retirada de íons metálicos e formam complexos (ligações coordenadas covalentes) com o referente íon (Bingjie Liu et al., 2013). A quitosana também atua como floculante, retirando substâncias malélicas, como pesticidas, produtos industriais e também microrganismos patogênicos como o *Vibrio cholerae* (vibrião colérico) (G. H. Wang, 1992).

Os biopolímeros quitina, quitosana e celulose (Figura 6) possuem composições moleculares quimicamente análogas, elas se distinguem unicamente nos grupos funcionais ligados ao mesmo átomo de carbono do anel.

Figura 6. Estrutura e diferença dos biopolímeros quitosana (a), quitina (b) e celulose (c), n corresponde ao grau de polimerização das mesmas.

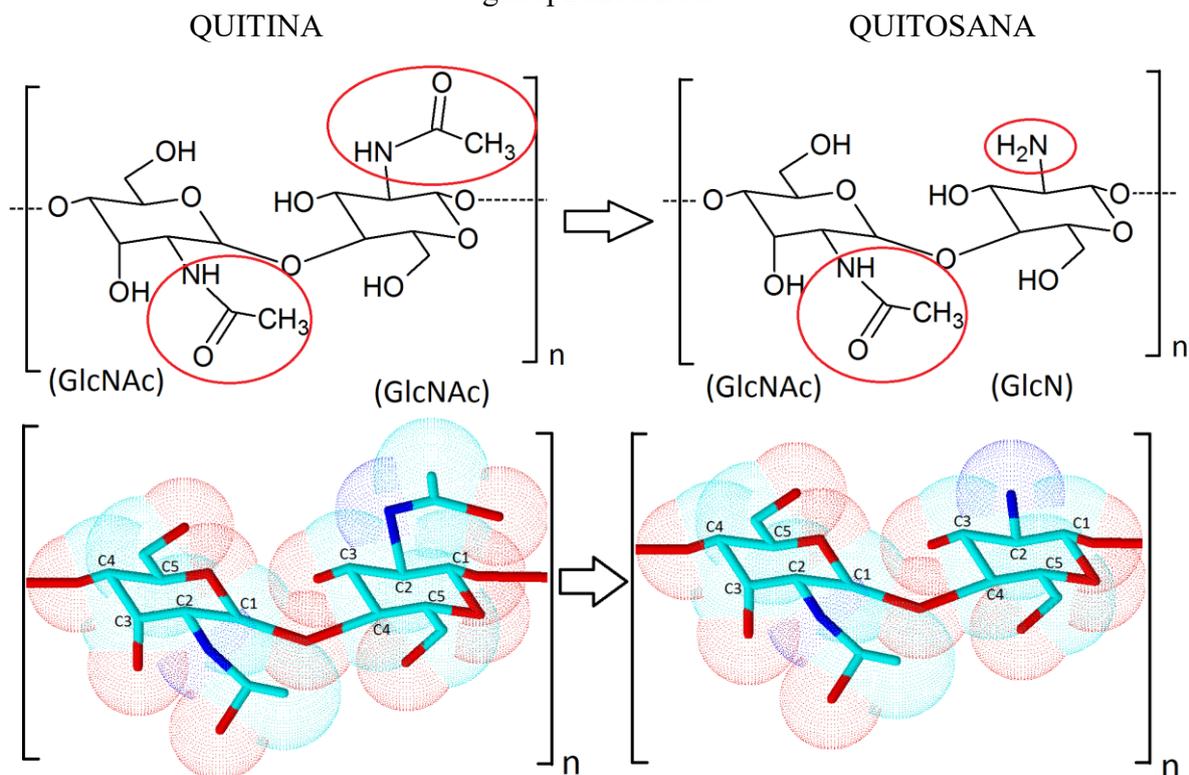


Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Advanced Chemistry Development, 2018).

A diferença fundamental na composição geral dos monômeros da quitosana está nos ligantes de seus grupos nitrogenados (NH₂). Este biopolímero, por ser solúvel em meio ácido, forma um polímero catiônico, provocando a protonação dos grupos amina (NH₃⁺), isto confere propriedades específicas em relação, por exemplo, às fibras vegetais.

O processo experimental para obtenção de quitosana ocorre pela desacetilação parcial ou total da quitina, com a retirada do grupo acetil (Ac) do monômero contendo N-acetilglicosamina (GlcNAc), transformando-o no grupo glicosamina (GlcN), diminuindo o grau de acetilação do biopolímero (GA), o que provoca aumento gradativo da solubilidade do composto em solução de ácido diluído (E. F. Franca, Lins, Freitas, & Straatsma, 2008; A. George & Roberts, 1992; Methacanon, Prasitsilp, Pothsree, & Pattaraarchachai, 2003; P. Miretzky, 2009).

Figura 7. Processo de desacetilação da quitina (esquerda) em quitosana (direita), com destaque nos grupos GlcNAc e GlcN, n corresponde aos seus graus de polimerização. A Figura tridimensional apresenta as superfícies de van der Waals com a nomenclatura dos átomos de carbono dos anéis glicopiranosídicos.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Advanced Chemistry Development, 2018) (Faria, Guerra, De Sousa Neto, Motta, & Franca, 2016; Humphrey, Dalke, & Schulten, 1996)

A desacetilação é um experimento não homogêneo, por isso os anéis do polissacarídeo são distribuídos randomicamente, ocorre por hidrólise alcalina (com hidróxido de sódio [NaOH(aq)]), iniciando com sua extração seguido de desproteínização, desmineralização e lavagem, (Battisti & Campana-Filho, 2008; Campana et al., 2007; Chang et al., 1997).

A estrutura polimérica da quitosana apresenta anéis conectados por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4) com arranjo linear, sendo o éter formado como resultante da reação de condensação entre os monômeros de quitosana, ocorrendo com formação de moléculas de água (Miljković, 2010; Skovstrup, Hansen, Skrydstrup, & Schiøtt, 2010). As hidroxilas empregadas para a formação da ligação glicosídica são classificadas bioquimicamente como hidroxilas anoméricas livres ou hidroxilas potencialmente livres, por estarem atreladas ao carbono ligado ao oxigênio central do anel glicano piranosídico.

1.2.1 Propriedades

As propriedades responsáveis pela grande quantidade de aplicações da quitosana se encontram na Tabela 1, a seguir.

Tabela 1. Principais características polieletrólíticas, biológicas e físico-químicas da quitosana.

<p>Propriedades Polieletrólíticas</p>	<p>Atributos de sorção, filtração e separação; Interação com moléculas “negativas”; Isolamento de biomoléculas; Elevada densidade de carga; Biopolímero catiônico; Agente floculante.</p>
<p>Propriedades Biológicas</p>	<p>Atividade antimicrobiana (fungos, bactérias, vírus); Antiácido, antiúlcera e antitumoral; Antiagregante plaquetário; Baixa toxicidade aguda; Biocompatibilidade; Biodegradabilidade; Bioadesividade; Bioatividade; Sorvível.</p>
<p>Propriedades Físicas e Químicas</p>	<p>Possibilidade de modificações químicas e ligações cruzadas (crosslinking); Doador e aceptor de hidrogênio em interações intermoleculares; Forte agente nucleófilo do grupo amina protonada (pKa = 6,3); Alta solubilidade em soluções aquosas ácidas diluídas; Produção de sais com ácidos orgânicos e inorgânicos; Pouca solubilidade em solventes orgânicos; Elevada percentualidade de nitrogênio; Atributos quelantes e complexantes; Elevada viscosidade; Baixa cristalinidade; Hidrofilicidade.</p>

Fontes:(Afranio Craveiro Alexandre Craveiro e Danilo de Q., 1999; Alishahi & Aider, 2012; Araujo, da Silva, Almeida, & Costa, 2006; I. M. Helander, Nurmiäho-Lassila, Ahvenainen, Rhoades, & Roller, 2001; Shigemasa & Minami, 1996; Skovstrup et al., 2010; P. Sorlier, Denuzière, Viton, & Domard, 2001; Pierre Sorlier, Viton, & Domard, 2002; Thongngam & McClements, 2004; H. Zhang, Yun, Song, Zhang, & Zhao, 2017).

As principais características físico-químicas influenciadas pelo GA da quitosana são a solubilidade, hidrofilicidade, adsorvidade e viscosidade em soluções (Chen et al., 2005; Khor & Lim, 2003; Kubota, Tatsumoto, Sano, & Toya, 2000). A adequação de quelação da quitosana é superior à da quitina devido ao seu GA inferior, assim ela possui mais grupos amina disponíveis (GlcN) operando como base de Lewis, em comparação aos grupos GlcNAc da quitina (Battisti & Campana-Filho, 2008; Campana et al., 2007), pois estes fornecem pares de elétrons, admitindo versatilidade química, isto é, a realização de transformações estruturais da molécula e o favorecimento da adsorção de partículas. A complexação de cátions metálicos se deve essencialmente a estes grupos (Gittins & Caruso, 2001) e são considerados os sítios de coordenação da quitosana. Deste modo, o grau de adsorção da quitosana está sujeito, especialmente, por características como hidrofilicidade, GA e pH do meio.

A abrangente competência em quelação da quitosana, diante de adsorventes comuns e renováveis, admitiu a investigação de seu emprego como descontaminante em ambientes aquáticos, principalmente pelo seu desempenho para tratar contaminantes orgânicos (El-Sawy, Abu-Ayana, & Abdel-Mohdy, 2001), cloro fenóis (Zheng, Yang, Jo, & Park, 2004; Zheng et al., 2005), nitratos

(Jaafari, Elmaleh, Coma, & Benkhouja, 2001), radio-nuclídeos em águas residuais e íons derivados de metais pesados (A. L. Debbaudt et al., 2004; A. Debbaudt et al., 2001; Miretzky & Cirelli, 2009; Paulino et al., 2007).

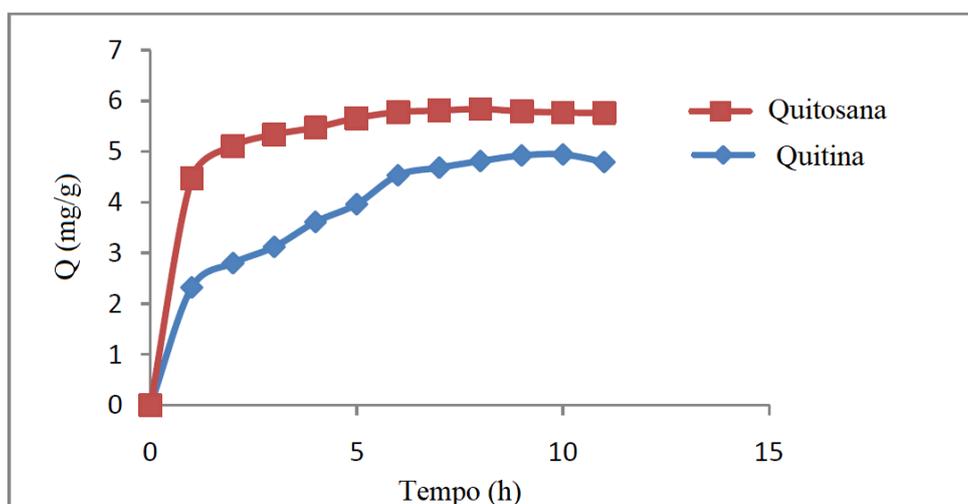
A sugestão apropriada de sua utilização para atuar como adsorvente do herbicida glifosato ocorre, sobretudo após as distintas análises a seu respeito, principalmente pelas suas características como caráter catiônico em $pK_a = 6,5$, densidade de carga e também o grau de acetilação (Gonsalves, Melo Araujo, Soares, Fonseca Goulart, & de Abreu, 2011).

Simulações por dinâmica molecular também avaliaram a adsorção dos íons Cu^{2+} e Cd^{2+} por quitosana (Faria, Franca, Guerra, & Júnior, 2013), com isso a proposta de utilizá-la para interação com o herbicida glifosato através de simulações computacionais se faz necessária frente às potencialidades apresentadas pelos dados experimentais descritos a seguir.

1.3 ESTUDOS EXPERIMENTAIS DA ADSORÇÃO DE QUITOSANA E GLIFOSATO

Estudos práticos com amostras de quitina e quitosana preparadas mostraram-se eficientes na remoção de glifosato, segundo (Rissouli, Benicha, Chafik, & Chabbi, 2017), concluindo que a adsorção do glifosato depende do pH e foi maior em meio ácido, admitindo também a maior capacidade da quitosana em adsorver o herbicida, em comparação com a quitina (Figura 8). Estes experimentos deram especial atenção aos parâmetros operacionais que afetam o processo de adsorção, como a quantidade de adsorvente, concentração de glifosato, tempo de contato e pH das soluções (Rissouli et al., 2017).

Figura 8. Efeito da adsorção em função do tempo de contato de quitosana e quitina com glifosato. Sendo Q a quantidade de glifosato adsorvido em equilíbrio.

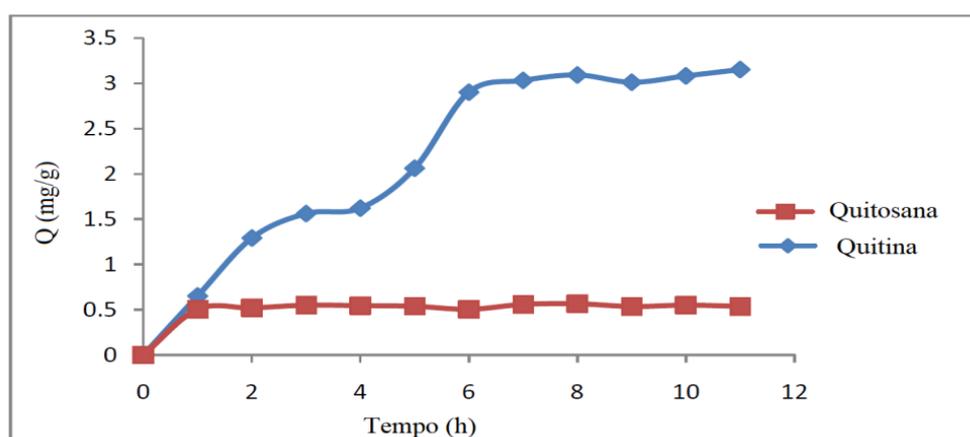


Fonte: (Rissouli et al., 2017).

A adsorção ocorreu nas primeiras horas de agitação, devido à interação entre seus grupos aniônicos e os grupos catiônicos dos biopolímeros. O equilíbrio de adsorção foi alcançado após tempo de contato de 6h para a quitosana e 8h para a quitina, conforme indicado pela permanência da quantidade de glifosato adsorvida, levando à repulsão entre as espécies, se tornando negativamente carregados com a amina, carboxilato e fosfonato (Carneiro et al., 2015), isto levou as capacidades de adsorção de quitina para 77% e de quitosana para 92% (Rissouli et al., 2017).

Experimentos de dessorção foram também realizados e revelaram a capacidade da quitina em ser regenerada através da remoção do glifosato, porém a quitosana apresenta baixa eficácia no processo de dessorção, conforme Figura 9, o que permite concluir sobre a elevada força de interação entre quitosana e glifosato (Rissouli et al., 2017).

Figura 9. Efeito da dessorção em função do tempo de contato de quitosana e quitina com glifosato. Sendo Q a quantidade de glifosato desorvido em equilíbrio.

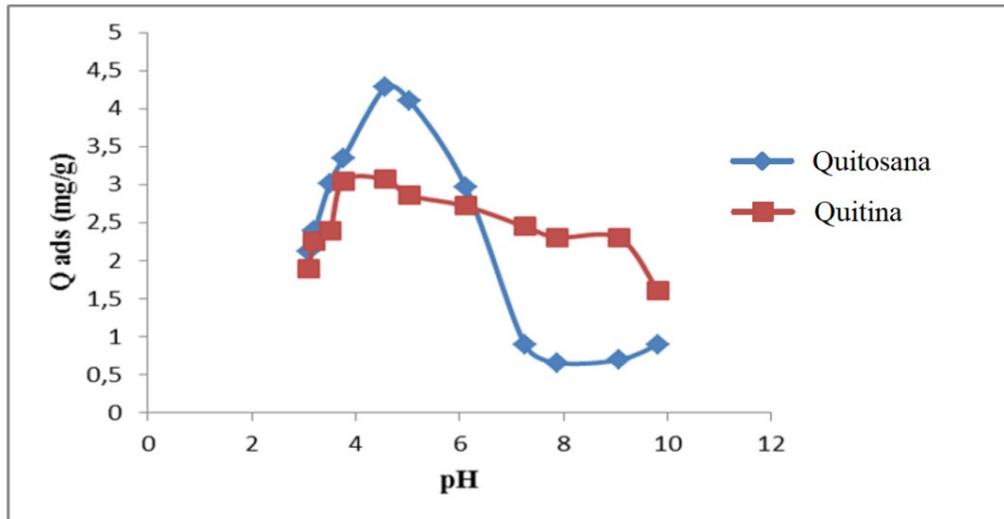


Fonte: (Rissouli et al., 2017).

O experimento de adsorção do glifosato dependente do pH é apresentado na Figura 10, mostrando que a adsorção da quitosana é aumentada em meio ácido, esta descoberta pode ser atribuída à protonação de grupos amino da quitosana, tornando-a positivamente carregada. Desta forma, os pares solitários na molécula de glifosato são atraídos para as cargas positivas nos adsorventes, isso resulta em uma forte interação eletrostática entre NH_3^+ de quitosana e os grupos aniônicos do herbicida (Rissouli et al., 2017).

A quitina contém o grupo acetilado, que não pode ser facilmente protonado em soluções ácidas. Este grupo carbonila faz com que o nitrogênio do grupo amida seja uma fonte mais pobre de elétrons do que aqueles fornecidos pelo grupo amina da quitosana. Isso explica a menor capacidade de adsorção da quitina devido à menor interação eletrostática com os ânions do herbicida (Chiou & Li, 2003). Em $\text{pH} < 4,4$ a quantidade reduzida pode ser explicada pela repulsão entre adsorvente catiônico e adsorvente, devido à reação ácida de HCl com glifosato e quitosana (Rissouli et al., 2017).

Figura 10. Efeito da adsorção em função do pH de quitosana e quitina com glifosato. Sendo Q a quantidade de glifosato adsorvido.



Fonte: (Rissouli et al., 2017).

Considerando o grande potencial da quitosana como alternativa ambiental para a adsorção do herbicida glifosato, foi necessário e estratégico a descrição desse biopolímero, a nível molecular, para o entendimento de suas interações específicas com o glifosato.

O trabalho desta tese apresenta a adsorção de glifosato e quitosana através de simulações computacionais por dinâmica molecular, permitindo uma análise mais detalhada de suas interações; para a realização deste procedimento, necessita-se de um campo de força constituído de parâmetros físico-químicos para descrição de polissacarídeos, como o OPLS-AA (Potenciais Otimizados para Simulações Líquidas Atomísticas) (Damm, Frontera, Tirado-Rives, & Jorgensen, 1997).

O OPLS-AA é um campo de força atomístico e possui elevada operacionalidade em análises conformacionais, principalmente na avaliação de propriedades termodinâmicas em estado líquido (Damm, Frontera, Tirado-Rives, & Jorgensen, 1997; Murzyn, Bratek, & Pasenkiewicz-Gierula, 2013; Robertson, Tirado-Rives, & Jorgensen, 2015).

Uma descrição teórica a respeito das metodologias computacionais utilizadas neste trabalho será apresentada no Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos.

2. OBJETIVO GERAL

Obter os parâmetros de quitosana e glifosato para o campo de força OPLS-AA e realizar simulações computacionais atomísticas para analisar suas interações para descontaminação ambiental.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Calcular as cargas parciais atômicas de quitosana e glifosato para o campo de força OPLS-AA;
- Calcular diedros próprios de glifosato para o campo de força OPLS-AA;
- Avaliar eficácia dos parâmetros calculados para o campo de força OPLS-AA;
- Realizar simulações atomísticas por dinâmica molecular com sistemas contendo quitosana na ausência e presença de glifosato;
- Analisar a eficiência da adsorção de glifosato por quitosana;
- Computar as interações específicas entre os compostos parametrizados.
- Realizar simulações atomísticas por SMD (Dinâmica Molecular Direcional) e calcular o PMF (Potencial de Força Média) da interação entre quitosana e glifosato.
- Contribuir para o design de novos materiais baseados em quitosana para descontaminação ambiental.

3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

A MM (Mecânica Molecular) permite a abordagem de processos físicos desconsiderando reações químicas, sendo recomendável para sistemas com grande quantidade de átomos. A QM (Mecânica Quântica) descreve sistemas atômicos menores por tratar de sistemas com trocas eletrônicas, ajustando propriedades químicas com características eletrônicas de sistemas em detalhes precisos, demandando maior recurso computacional em comparação com a MM (Warren J Hehre, 2003; Sakurai, 1967).

A QM estuda o comportamento eletrônico em orbitais para uma posição nuclear fixa abordada por aproximações, já a MM considera principalmente os movimentos nucleares e trata o comportamento dos elétrons com aproximações (Pilar, 2001). A aproximação de Born-Oppenheimer é uma das formas de separação para uma posição nuclear fixa, por utilizar equações derivadas empiricamente, cujo formalismo matemático se baseia no modelo de mecânica clássica das estruturas moleculares, obtido a partir de resultados das diversas posições nucleares dos átomos dos sistemas (Born & Oppenheimer, 1927).

Modelos de fragmentos de macromoléculas são, geralmente, computados com QM e os parâmetros geométricos são introduzidos em programas computacionais para aplicação das equações de campos de força da MM.

3.1 MECÂNICA QUÂNTICA

As teorias da QM foram desenvolvidas para explicar a estrutura de átomos e moléculas em conformidade com suas estruturas eletrônicas. Isso pode ser feito resolvendo a equação de Schrödinger, fornecendo o autovalor energia para determinada função de onda. O quadrado da função de onda, quando conhecida, pode ser usada para determinar as propriedades físicas do sistema, como energia de ligação, energia de excitação e superfícies de energia potencial.

Os fundamentos que envolvem os métodos de QM usados nesta tese são descritos resumidamente sem aprofundamento nos formalismos matemáticos. Versões mais detalhadas podem ser encontradas nas referências (Atkins & Friedman, 2011; A. Becke, 1993; Ceperley, 1980; Froese Fischer, 1987; Gaunt & Fowler, 1928; D. R. Hartree, 1928; Hohenberg & Kohn, 1964; Kohn & Sham, 1965; Seidl, Görling, Vogl, Majewski, & Levy, 1996; Slater, 1951).

3.1.1 Fundamentos da Mecânica Quântica

Max Planck, em 1900, introduziu um postulado possibilitando a derivação de uma fórmula para todo o espectro da radiação emitida por um corpo negro, justificando sua proposta com física clássica, considerando que a energia dos osciladores em um corpo negro é quantificada, e a quantização como sendo puramente um truque matemático (Dr. Max Planck, 1922).

$$E = n \cdot h \cdot \nu$$

Equação 1

Onde E é o quantum (energia do fóton), n um número inteiro (1, 2, 3...), h a constante de Planck equivalente a $6,62607004 \cdot 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-1}$ e ν a frequência do oscilador, em Hertz.

Albert Einstein, em 1905, fez adaptações ao postulado de Planck para explicar o efeito fotoelétrico, de acordo com o fenômeno de emissão de elétrons por superfícies metálicas quando iluminadas. Ele considerou a luz incidente como um conjunto de partículas discretas, cada uma com uma energia proporcional à frequência da luz, assim propôs que a energia dos fótons era também quantificada, e a quantização não era uma característica exclusiva de osciladores microscópicos (Albert, 1905).

Com a informação de que ondas poderiam ter comportamento de partículas, em 1924, Louis de Broglie propôs que o elétron, considerado uma partícula, deveria ter também um comportamento ondulatório, relacionando o comprimento de onda (λ) com o inverso da quantidade de movimento (p) da partícula (Broglie, 1924):

$$\lambda = \frac{h}{p}$$

Equação 2

Onde h é a constante de Planck.

Em 1926, Erwin Schrödinger publicou que só seria possível determinar corretamente a energia de um sistema atômico com a inclusão do comportamento ondulatório proposto por de Broglie para todas as partículas que constituem esse sistema (núcleos e elétrons). Em seguida, Schrödinger definiu uma função de onda, Ψ , que depende das coordenadas de todos os núcleos R e elétrons r do sistema, e determinou o equivalente mecânico-quântico da equação clássica para a energia total E de um sistema como a soma das energias cinética T e potencial V (Schrödinger, 1926):

$$[T + V]\psi(R, r) = E\psi(R, r)$$

Equação 3

A *Equação 3* mostra a aplicação dos operadores energia cinética e energia potencial na função de onda (formadores do operador Hamiltoniano) fornecendo a energia total do sistema multiplicada pela função de onda.

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

Equação 4

A equação de Schrödinger é uma EDP (Equação Diferencial Parcial) para descrever o estado quântico de um sistema físico mudando com o tempo. Podendo ser descrita da seguinte forma para uma partícula de massa m se movendo num potencial V em 3 dimensões:

$$i\hbar \frac{d\psi}{dt} = -\frac{\hbar^2}{2m} \left[\frac{d^2\psi}{dx^2} + \frac{d^2\psi}{dy^2} + \frac{d^2\psi}{dz^2} \right] + V(x, y, z)\psi$$

Equação 5

Onde i é a raiz quadrada de -1 e $\hbar = h / 2\pi$.

A equação de Schrödinger independente do tempo pode ser descrita da seguinte forma unidimensional:

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{d^2\psi}{dx^2}(x) + V(x)\psi(x) = E\psi(x)$$

Equação 6

Sendo o termo $-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{d^2}{dx^2} + V$ correspondente ao operador Hamiltoniano, que descreve os operadores energia cinética e potencial.

A resolução da *Equação 6* necessita de uma série de aproximações para que ela possa ser aplicada para sistemas multieletrônicos de interesse prático.

A equação pode também ser descrita através do operador Laplaciano: $\nabla^2 \psi = \sum_{n=1}^N \frac{d^2\psi}{dx_n^2}$.

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 \psi(\vec{r}) + V(\vec{r})\psi(\vec{r}) = E\psi(\vec{r})$$

Equação 7

A equação eletrônica de Schrödinger, por ser ainda intratável, necessita de aproximações, o mais evidentes seria considerar os elétrons se movimentando independentemente uns dos outros. Christian Møller (1904-1980) e Milton S. Plesset (1908-1991) propuseram o Hamiltoniano de Hartree-Fock como sendo de ordem zero, e a partir disso o método HF (Hartree-Fock) passou a ser o ponto de partida para os demais métodos quânticos *ab initio*, estes tentam derivar informações pela resolução da equação de Schrödinger sem concertar parâmetros com dados experimentais (Moller & Plesset, 1934).

3.1.2 Hartree-Fock

A proposta do método de Hartree-Fock é uma metodologia aproximada para a determinação de funções de onda e energia no estado fundamental de sistemas quânticos de muitos corpos. Os

elétrons individuais estão confinados a funções denominadas orbitais moleculares, cada uma das quais é determinada por adotar o elétron em oscilação dentro de um campo médio resultante da presença dos demais elétrons, ou seja, cada movimento do elétron pode ser descrito por uma função (orbital molecular) sem estar sujeito explicitamente ao movimento instantâneo dos demais (Froese Fischer, 1987; Slater, 1951).

A função de onda eletrônica antissimétrica é dada por um determinante de Slater, e sua forma mais simples utilizada para descrever o estado fundamental de sistemas de N elétrons pode ser escrita como:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \chi_2(x_1) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \chi_2(x_2) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_2) \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \chi_1(x_N) & \chi_2(x_N) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_N) \end{vmatrix}$$

Equação 8

Aqui, χ_i são funções das coordenadas espaciais e spin de um único elétron, chamadas orbitais moleculares de spin. Admitindo que as funções χ_i 's são ortonormais, o fator $1/\sqrt{N!}$ é a constante de normalização para Ψ .

Três importantes propriedades para um sistema composto de N elétrons são reunidas nesta função, sendo todas provenientes das propriedades dos determinantes. Trocando-se os elétrons da primeira e da segunda coluna, obtém-se:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_2(x_1) & \chi_1(x_1) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_1) \\ \chi_2(x_2) & \chi_1(x_2) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_2) \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \chi_2(x_N) & \chi_1(x_N) & \cdot & \cdot & \cdot & \chi_N(x_N) \end{vmatrix}$$

Equação 9

Este determinante é igual ao original, porém com sinal oposto, verificando-se a função como antissimétrica para a troca de duas partículas:

$$\Psi(1,2) = -\Psi(2,1)$$

Equação 10

Escrevendo igualmente a primeira e a segunda coluna, por exemplo, o determinante será equivalente à zero, portanto, não mais do que um elétron pode ocupar um orbital spin, impondo assim algebricamente ao 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 (Roothaan, 1951).

O conjunto de orbitais que levam à menor energia são obtidos por um processo referido como campo auto consistente (*Self Consistent Field* - SCF), com capacidade de obtenção de 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 energia.

A ideia principal do método SCF é “chutar” inicialmente os orbitais de spin, calcular o campo médio experimentado por cada elétron, e em seguida, resolver a equação de Hartree-Fock para um novo conjunto de orbitais de spin. Usando estes novos orbitais de spin, tem-se um novo campo, repete-se este procedimento até a auto consistência ser alcançada. O arquétipo do método SCF constitui o método de Hartree-Fock e a equação de Hartree-Fock (*Equação 11*) é numa equação de autovalor (Fock, 1930; Douglas Rayner Hartree & Hartree, 1935).

$$f(i)\chi(x_i) = \epsilon\chi(x_i) \quad \text{Equação 11}$$

em que $f(i)$ pode ser escrito como:

$$f(i) = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + v^{\text{HF}}(i) \quad \text{Equação 12}$$

O termo $f(i)$ corresponde ao operador de *Fock* para um elétron, x_i é a coordenada spin e espacial do elétron i , e $v^{\text{HF}}(i)$ o potencial de Fock (experimentado pelo elétron i de acordo com a presença de outros elétrons). A natureza do potencial médio $v^{\text{HF}}(i)$ depende da metodologia SCF (Fock, 1930).

O método de Hartree-Fock, em resumo, representa cada elétron por uma função de onda que possui dependência apenas nas suas próprias coordenadas. A probabilidade de se encontrar um elétron em um dado ponto nas vizinhanças de um núcleo se determina apenas pela sua posição em relação ao núcleo, e não em relação aos outros elétrons. Ocorre interação de um determinado elétron apenas com o campo médio dos outros elétrons, não havendo dependência mútua nas equações SCF, e não se considera as interações instantâneas entre esses elétrons, ou seja, os movimentos não estão correlacionados (Fock, 1930; D. R. Hartree, 1928).

O método HF descreve a oscilação eletrônica dentro de um campo médio sem tratar as correlações de movimentos de elétrons, por isto consiste no ponto de partida para os demais métodos quânticos *ab initio*. As principais metodologias com a finalidade de corrigir o problema da correlação dos elétrons, segundo a *Equação 13*, são as séries de perturbação de Møller-Plesset (MP, MP2, MP3, MP4, etc.), CI (Interação de Configuração), CC (*Coupled-Cluster*, ou Conjunto Acoplado) e o MCSCF (Campo Multi Configuracional Auto Consistente).

$$E_{\text{exata}} - E_{\text{HF}} = E_{\text{correlação}} \quad \text{Equação 13}$$

Os métodos *ab initio*, portanto, introduzem um conjunto de funções matemáticas usado para descrever a forma dos orbitais em um átomo, ou conjunto de bases. A partir dessas funções, a

função de onda é construída. Os orbitais moleculares e as funções de onda são criadas por combinações lineares das funções de base e funções angulares, sendo o tipo de cálculo executado e o conjunto de bases escolhido os dois fatores determinantes na precisão dos resultados (Froese Fischer, 1987; Slater, 1951).

A energia obtida pelos cálculos na metodologia HF implica em valores maiores do que os experimentais esperados, com as cargas se aproximando mais do que deveriam, assim os comprimentos de ligação tendem a ser menores e as energias de ligação maiores do que o confiado. Na DFT, por outro lado, os erros sistemáticos ocorrem precisamente em menor proporção, de acordo com a utilização dos funcionais (Hohenberg & Kohn, 1964; Slater, 1951).

3.1.3 Método DFT (Teoria do Funcional da Densidade)

A metodologia DFT, utilizada neste trabalho para a otimização das geometrias moleculares de quitosana e glifosato, possui a premissa de a energia da molécula ser determinada a partir da densidade eletrônica por delinear sua distribuição molecular ao invés da função de onda. Por conseguinte, a densidade eletrônica é tomada como o “observável” mecânico-quântico, o que possibilita uma formulação conceitual menos abstrata da função de onda multieletrônica total (Langreth & Mehl, 1983; Parr & Yang, 1994).

A QM permite o estudo e a predição das características dos sistemas atômicos e moleculares, porém as mudanças de energia ocasionadas por dipolos magnéticos de elétrons e núcleos são abreviadas em comparação às energias de ligação química, podendo ser tratadas com sucesso pela teoria da perturbação. Ao mesmo tempo, os elétrons próximos ao núcleo podem ser tratados por aproximações; assim, a caracterização básica da estrutura e reatividade pode ser alcançada a partir da equação não relativística de Schrödinger (Hohenberg & Kohn, 1964).

A construção explícita da função de onda possui extrema complexidade, em contrapartida, a densidade eletrônica permite a aquisição das propriedades do estado fundamental do sistema molecular sem construir a função de onda. Em 1964, Hohenberg & Kohn demonstraram que a densidade eletrônica equivale à função com somente três coordenadas espaciais (para um determinado conjunto de posições nucleares), conforme apresentada na *Equação 14* (Hohenberg & Kohn, 1964).

$$\rho(r_1) = N \int |\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M)|^2 d\sigma_1 d\vec{x}_2 \dots d\vec{x}_N$$

Equação 14

A *Equação 14* representa a integral de todas as coordenadas cartesianas e de rotação de elétrons, exceto as coordenadas para o primeiro elétron, desta forma e levando em consideração os teoremas

de Hohenberg e Kohn, as propriedades do estado fundamental podem ser completamente originadas pela densidade eletrônica (Hohenberg & Kohn, 1964; Kohn & Sham, 1965).

Um funcional determina a energia a partir da densidade eletrônica, e existem várias formas de funcionais, uns desenvolvidos a partir da mecânica quântica fundamental (métodos *ab initio*) e outros parametrizados para melhor reproduzir dados experimentais (semiempíricos).

3.1.3.1 Funcionais

A aproximação local da densidade (*Local Density Approximation - LDA*) trata sistemas de camada fechada, ou seja, com todos elétrons emparelhados, longe de qualquer sistema realístico. A LDA foi, por muitos anos, a única aproximação disponível e, por isso a DFT era utilizada somente para o estado-sólido, com pouco impacto na química computacional. A situação sofreu uma modificação significativa no início da década de 80, quando as primeiras extensões à aproximação puramente local foram desenvolvidas com êxito (Langreth & Mehl, 1983).

O tratamento de sistemas de camada aberta, com número desigual de elétrons, necessita considerar a densidade de spin, ou seja, seu paramagnetismo. Dessa forma, o entendimento da LDA para casos não restritos levou à aproximação local da densidade de spin (*Local Spin-Density Approximation - LSDA*), uma aproximação certamente insuficiente para a maioria das aplicações em química (Liechtenstein, Katsnelson, Antropov, & Gubanov, 1987).

Uma aproximação aplicada para sistemas modelos com densidade eletrônica não uniforme e variação lenta é a aproximação de expansão do gradiente (*Gradient Expansion Approximation - GEA*), porém quando aplicada a sistemas reais, a GEA não fornece resultados esperados pela melhoria na aproximação. Estes problemas se devem à perda de significado físico existente nos funcionais GEA, e que existia nos funcionais LDA (Slamet & Sahni, 1992).

Uma nova aproximação para os funcionais foi desenvolvida a partir das idéias do GEA denominada de aproximação do gradiente generalizado (*Generalized Gradient Approximation - GGA*) (Perdew et al., 1992).

A GGA fornece excelentes valores de energia comparados com dados experimentais, porém Becke, afirmando que este funcional já atingiu o topo em precisão, propôs uma melhoria através de um funcional de energia de troca corrigido por gradiente, ajustando as exatas energias de Hartree-Fock de uma ampla variedade de sistemas atômicos com boa precisão (A. Becke, 1993). A Tabela 2 apresenta alguns entre os principais funcionais utilizados na DFT.

Tabela 2. Exemplos de funcionais.

Acrônimo	Nome	Tipo
X α	X alfa	Troca
HFS	Hartree-Fock e Slater	HF com LDA
VWN	Vosko, Wilks e Nusair	LDA
P86	Perdew 1986	Gradiente-corrigido
B88	Becke 1988	Troca
BLYP	Funcional de troca de Becke com correlação de Lee, Yang, Par	Gradiente-corrigido
PW91	Perdew e Wang 1991	Gradiente-corrigido
B96	Becke 1996	Troca-corrigido
B3P86	Termo 3 de troca de Becker com correlação de Perdew	Híbrido
B3LYP	Termo 3 de troca de Becke com correlação de Lee, Yang, Par	Híbrido
B3PW91	Termo 3 de Troca de Becker com correlação de Perdew e Wang	Híbrido

Fonte: Autor, através das referências (A. Becke, 1993; A. D. Becke, 1988; Langreth & Vosko, 1987; Lee, Yang, & Parr, 1988; Perdew, 1986; Perdew & Wang, 1992; Slater & Phillips, 1974).

Funcionais mais simples possuem um termo de troca eletrônica (ex.: X α); outros incluem termos de correlação eletrônica, como LDA e LSDA. Os mais complexos usam a densidade e o seu gradiente (gradiente-corrigidos) e alguns misturam partes de diferentes funcionais (híbridos).

O funcional híbrido B3LYP apresentado na Tabela 2 corresponde a 3 funcionais de troca de Becke empregados com a fórmula de correlação de Lee-Yang-Par, veja *Equação 15* (A. Becke, 1993; Lee et al., 1988).

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

Equação 15

A maior parte das computações abrangendo moléculas orgânicas com ligações químicas C-C ou C-N, como a quitosana e o glifosato, utiliza-se do funcional híbrido B3LYP para otimização de geometria molecular (A. Becke, 1993; Lee et al., 1988). E, para esse funcional a função de base mais utilizada é a de Pople 6-31G* (Francl, Hehre, & Pople, 1982).

3.1.4 Funções de Base

As funções de base são combinações de funções matemáticas empregadas na representação de orbitais atômicos e moleculares. Para se delinear um sistema, as escolhas precisam ser apropriadas

em relação ao conjunto de funções de base. Dentre os diversos métodos para aplicar funções de base, aqueles que usam funções localizadas para acomodação dos orbitais atômicos oferecem mais perfeito desempenho computacional.

Quanto maior a base, mais rica a representação do sistema, por isso o tipo de função de base usado deve concordar com o nível de adequação das bases aos sistemas escolhidos. Ao se estender um conjunto de base, o custo computacional cresce em pelo menos N^3 , onde N é a quantidade de funções de base. Por isso, a escolha de um conjunto de base deve ser cuidadosa e considerar os recursos computacionais disponíveis (W J Hehre, Ditchfield, & Pople, 1972).

Os tipos de funções de bases frequentemente usadas em cálculos de estrutura eletrônica são as Funções do Tipo Slater (STF), inspiradas nos orbitais hidrogenóides, e as Funções do Tipo Gaussianas (GTF). As STFs propostas por Slater são adequadas para cálculos de propriedades físicas e químicas de sistemas atômicos e diatômicos, e em métodos semiempíricos (Slater, 1930). As GTFs podem ser escritas em termos de coordenadas polares, elas simplificam os cálculos computacionais de integrais multicêntricas, garantindo maior rapidez (Boys & Egerton, 1950).

A principal vantagem no uso de GTFs está no produto de duas funções gaussianas centradas em dois pontos diferentes serem equivalentes a uma única gaussiana centrada em um terceiro ponto. Além de o número de GTFs ser reduzido ao considerar núcleos finitos ao invés de puntiformes (Ishikawa & Quiney, 1987).

Há muitos conjuntos de bases de contração segmentada, tais como: os conjuntos de base STO- n G, que consistem em n Gaussianas primitivas cujos expoentes são determinados para ajustar os STO (Orbitais do Tipo Slater) (W J Hehre, Stewart, & Pople, 1969); os conjuntos de base de valência separada k - n lmG: 3-21G (Krishnan, Binkley, Seeger, & Pople, 1980); 6-31G (W J Hehre et al., 1972); 3-311G (Krishnan et al., 1980) aos quais podem ser adicionadas funções difusas (Frisch, Pople, & Binkley, 1984) e/ou de polarização (Francl et al., 1982).

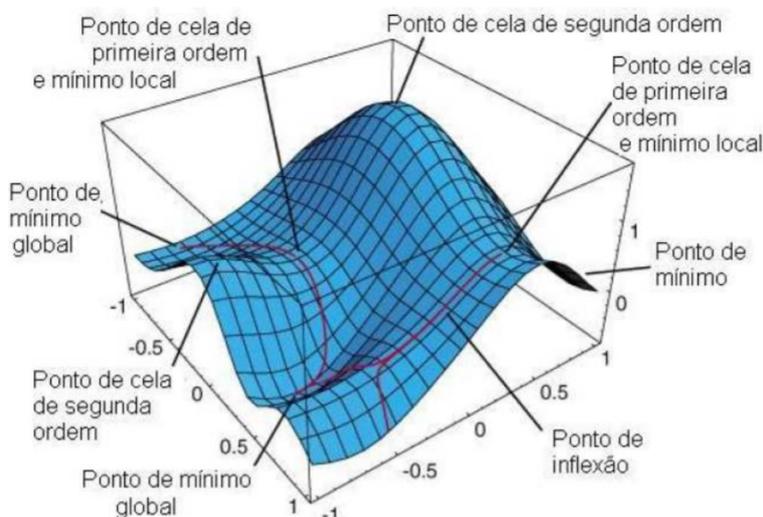
Alguns dos principais conjuntos de bases de contração geral são: ANO (Orbitais Atômicos Naturais) (Almlöf & Taylor, 1991) e de correlação consistente conhecidos pelas siglas cc-pVXZ (Dunning, 1989) e aug-cc-pVXZ ($X = D, T, Q, 5$ e 6) (Kendall, Dunning, & Harrison, 1992).

A função de base de Pople 6-31G*, utilizada neste trabalho, possui uma gaussiana contraída de seis primitivas para descrever os orbitais internos; três primitivas para as camadas de valência em uma contração e uma primitiva em outra contração. O asterisco indica a adição de funções de polarização para cominar máxima flexibilidade de forma à função de onda, compreendendo orbitais d para os átomos do segundo período (Francl et al., 1982).

3.1.5 Otimização de Estruturas

A superfície de energia potencial (Potential Energy Surface - PES) trata matematicamente a estrutura de uma molécula com sua energia resultante, em sistemas moleculares grandes a superfície terá muitas dimensões de acordo com os graus de liberdade do sistema. Considerando uma molécula com apenas dois graus de liberdade, pode-se desenhar o gráfico da PES acima do plano definido pelos graus, conforme Figura 11.

Figura 11. Exemplo de PES em gráfico tridimensional.



Fonte: (Schlegel, 1995) adaptado.

Os pontos de mínimos satisfazem a uma leve mudança de estrutura distorcendo para uma elevada energia. Um mínimo local corresponde ao menor ponto em alguma região limitada da superfície potencial e um mínimo global obedece ao menor ponto de energia em toda a PES. O ponto de sela possui direções com máximos e outras com mínimos, picos e cumes correspondem a apenas máximos sobre a superfície de energia potencial

(Foresman & Frisch, 1996).

O processo de otimização geométrica visa encontrar mínimos sobre a PES e são igualmente chamadas de minimizações energéticas. Quando o processo é bem sucedido, pontos estacionários são encontrados, onde as forças equivalem aos menores valores possíveis, correspondendo ao negativo da primeira derivada da energia (gradientes). A metodologia de otimização estrutural molecular ocorre de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3. Sequência básica de otimização molecular.

1ª Etapa	Molécula com geometria inicial definida (input);
2ª Etapa	Cálculo da energia e do gradiente na coordenada inicial;
3ª Etapa	Determinação da distancia até um ponto de mínimo;

4ª Etapa	Direcionamento para o melhor decréscimo de energia;
5ª Etapa	Segunda derivada da energia em consideração às coordenadas moleculares
6ª Etapa	Construção da matriz das constantes de força (Matriz Hessiana);
7ª Etapa	Constantes de força explicitam a curvatura da superfície nesse ponto;
8ª Etapa	Otimização Convergente.

Fonte: Autor.

A otimização acaba quando a estrutura converge, necessariamente quando as forças repulsivas são minimizadas, além de alguns pequenos passos adotados pelo pacote de software, como alguns critérios previamente definidos. A 5ª etapa, especificamente, somente é realizada por alguns tipos de algoritmos de otimização.

Este trabalho utiliza-se em maior proporção de metodologias de mecânica clássica e por isso, os conceitos sobre MM serão discutidos com maior detalhamento.

3.2 MECÂNICA MOLECULAR

A MM considera os átomos como quimicamente ligados por forças elásticas ou harmônicas, como molas, formando as moléculas, que interagem de acordo com a lei designada por Robert Hooke (*Equação 16*), no qual a força das ligações está conexas com a constante da mola, ou seja, quanto maior o valor da constante da mola mais rígida será a mola e maior será a força necessária para distanciar 2 átomos ligados, assim maior será a energia de ligação entre os átomos (*Equação 17*) (Reiner, 1948).

$$F = - k \cdot x$$

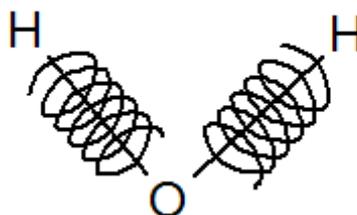
Equação 16

$$E = k \cdot x^2 / 2$$

Equação 17

Sendo k a constante elástica da mola e x o deslocamento da mola.

Figura 12. Reprodução da molécula de água com os átomos se conectando por forças elásticas.



Fonte: Autor.

Um campo de força emprega seus parâmetros na descrição de um sistema em MM representando toda a energia potencial do sistema, estes são determinados fundamentalmente por comprimentos de ligação, ângulos de ligação, ângulos diedrais e interações entre átomos não ligados (Martin, 2006).

3.3 CAMPOS DE FORÇA

Um campo de força, em MM (Mecânica Molecular), consiste em conjuntos de parâmetros de energias potenciais e formas funcionais para descrever as partículas, definindo as forças que atuam em cada átomo do sistema em posição e velocidade. As formas de interação atômica são consideradas grosseiras por desconsiderar trocas eletrônicas, porém eficientes por descrever o comportamento molecular (Heinecke, Eckhardt, Horsch, & Bungartz, 2015).

Existem trabalhos usados para computar interações interatômicas envolvendo quitosana com diferentes campos de força, como o COMPASS (Potencial Molecular Otimizado em Fase Condensada para Estudos de Simulação Atomística), baseado no modelo de PCFF (Campo de Força Consistente com Polímero), utilizado para otimizar e prever estruturas e propriedades de fase condensada conformacional e termofísica de moléculas incluindo polímeros, no caso do trabalho de (Jawalkar, Raju, Halligudi, Sairam, & Aminabhavi, 2007), o COMPASS foi usado para prever a compatibilidade da mistura entre polímeros de PVA (Poli Álcool Vinílico) e quitosana.

O campo de força GAFF (General AMBER Force Field) também possui trabalhos envolvendo a agregação de moléculas de quitosana com ácido salicílico, no processo de encapsulamento de uma droga (paclitaxel), neste as interações de van der Waals e hidrofóbicas são as principais forças motrizes, porém as interações eletrostáticas e de ligação de hidrogênio também desempenham papéis úteis na agregação (X. Y. Wang, Zhang, Wei, & Wang, 2013).

O campo de força GLYCAM06 foi também aplicado para quitosana para propor uma melhoria da solubilidade de CNT (Nano Tubos de Carbono) em sistemas DDS (entrega de medicamentos), investigando o efeito do comprimento de polímeros de quitosana contendo 30 e 60 monômeros (Rungnim, Rungrotmongkol, Hannongbua, & Okumura, 2013).

O campo de força OPLS-AA foi utilizado no presente trabalho por considerar parâmetros para todos os átomos do sistema, inclusive os átomos de hidrogênio. O grupo de pesquisa LCQC (Laboratório de Cristalografia e Química Computacional) possui todos os parâmetros da quitosana e do glifosato no campo de força granular Gromos53a6, desenvolvido na Universidade de Groningen e no Laboratório de Físico-Química de Zurich pelo grupo *Computer-Aided Chemistry*, trata-se de um campo de força otimizado para propriedades de fase condensada de alcanos, menos robusto do que o OPLS-AA por empregar potenciais interatômicos para grupos de átomos unidos e por não

permitir a realização de cálculos híbridos (Martin, 2006; Oostenbrink, Soares, Van Der Vegt, & Van Gunsteren, 2005).

A MM usa os modelos teóricos em escala atômica com características macroscópicas em função de propriedades moleculares, usando as leis da mecânica clássica de Newton e termodinâmica estatística, contudo, os parâmetros das funções de energia potencial podem ser obtidos por dados experimentais e/ou através de cálculos por QM (Warren J Hehre, 2003).

Este trabalho utilizou-se de cálculos por QM na obtenção de cargas atômicas parciais de quitosana e glifosato, e na aquisição de constantes de força dos diedros próprios de glifosato para inserção no campo de força OPLS-AA.

3.4 POTENCIAIS DO CAMPO DE FORÇA

A descrição do potencial total (V_{total}) do campo de força OPLS-AA, apresentado na *Equação 18*, corresponde ao somatório dos seguintes potenciais: potencial harmônico linear (V_d), potencial harmônico angular (V_θ), potencial torsional (V_ϕ), potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}) e potencial de Coulomb (V_C), sendo os 2 últimos relacionados às interações entre átomos não ligados (Jorgensen & Tirado-Rives, 1988).

$$V_{\text{total}} = V_d + V_\theta + V_\phi + V_{LJ} + V_C \quad \text{Equação 18}$$

3.4.1 Potencial Harmônico Linear (V_d)

O potencial harmônico linear compreende o estiramento entre dois átomos. Ao distanciar ou aproximar 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 ou distanciará-los. Este potencial para representar a força de estiramento (V_d) é calculado pela *Equação 19*.

$$V_d = \frac{1}{2} K_d (d - d_0)^2 \quad \text{Equação 19}$$

Onde d é o comprimento da ligação interatômica, d_0 o comprimento de equilíbrio de ligação e K_d a constante elástica da força da mola. Os parâmetros necessários no banco de dados do campo de força são d_0 e K_d (Jorgensen, Maxwell, & Tirado-Rives, 1996).

3.4.2 Potencial Harmônico Angular (V_θ)

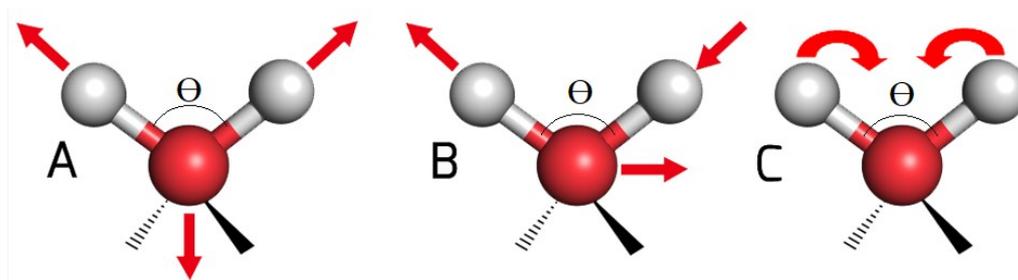
O potencial energético adicionado ao desvio angular da posição de equilíbrio (estiramento angular) é calculado pelo potencial harmônico angular (V_θ) dado por:

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

Equação 20

Sendo K_θ a constante angular da força da mola, θ o ângulo definido pela ligação e θ_0 o ângulo de equilíbrio. A Figura 13 exibe as 3 oscilações que provocam mudança no ângulo θ constituído por 3 átomos.

Figura 13. Estiramento angular sofrido por 3 átomos. Sendo θ o respectivo ângulo.

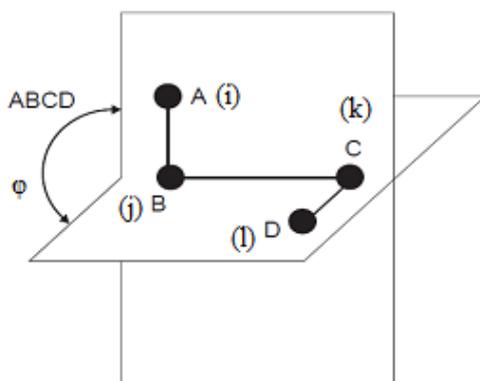


Fonte: (Verli, 2014) adaptado.

3.4.3 Potencial Torsional ou Diedral (V_φ)

Um conjugado de 4 átomos ligados A , B , C e D sustentam torsão por suas ligações covalentes conforme Figura 14, a energia potencial que representa esta força de torsão corresponde ao potencial torsional (V_φ). Por interpretação, o ângulo diedro φ , formado entre os planos atômicos A - B - C e B - C - D , é periódico. Como em muitos casos a energia mínima se associa a uma torção de 180° (arranjo anti) convencionalmente o período de torção é $-180^\circ \leq \varphi \leq +180^\circ$ (Jorgensen & Tirado-Rives, 1988).

Figura 14. Reprodução geométrica dos ângulos diedrais, considerando átomos $A (i)$, $B (j)$, $C(k)$ e $D (l)$.



Fonte: (Hinchliffe, 2008) adaptado.

O potencial de Ryckaert-Bellemans descreve os diedros próprios no campo de força OPLS-AA; e trata-se de uma função baseada na expansão das potências dos cossenos, como descrito na Equação 21 (Abraham, Hess, Spoel, & Lindahl, 2015).

$$V_{RB}(\phi_{ijkl}) = \sum_{n=0}^5 C_n (\cos(\psi))^n$$

Equação 21

Onde $\psi = \phi - 180^\circ$. De acordo com a série de Fourier:

$$V_{\phi ijkl} = F_0 + \frac{1}{2} [F_1(1 + \cos(\phi)) + F_2(1 - \cos(2\phi)) + F_3(1 + \cos(3\phi)) + F_4(1 - \cos(4\phi)) + F_5(1 + \cos(5\phi))]$$

Equação 22

Pode-se perceber a equivalência entre as equações 21 e 22 correspondentes ao potencial de Ryckaert-Bellemans e a série de Fourier, sendo a única diferença as suas respectivas constantes. Desta forma, as constantes de Ryckaert-Bellemans são calculadas através das seguintes correlações para que os valores obtidos possam ser acrescentados no banco de dados do campo de força OPLS-AA.

$$C_0 = F_0 + F_2 + \frac{1}{2}(F_1 + F_3 + F_5)$$

Equação 23

$$C_1 = \frac{1}{2}(3F_3 - F_1 - F_5)$$

Equação 24

$$C_2 = 4F_4 - F_2$$

Equação 25

$$C_3 = 10F_5 - 2F_3$$

Equação 26

$$C_4 = -4F_4$$

Equação 27

$$C_5 = -8F_5$$

Equação 28

Os diedros próprios são associados a uma rotação completa em torno da ligação B-C, enquanto os diedros impróprios possuem essa rotação limitada e, são responsáveis por manter os grupos planares ou por evitar a sobreposição de moléculas com suas imagens especulares. Contudo, os diedros impróprios são tratados da mesma forma que as deformações angulares, sendo a contribuição para a energia potencial molecular dada pela *Equação 29*.

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

Equação 29

3.4.4 Potencial de Lennard-Jones (V_{LJ})

As forças de London e forças de van der Waals causam atração em um par de átomos neutros quando distantes, porém quando próximos estes átomos sofrem por uma força repulsiva, relacionados à força de troca do princípio de exclusão de Pauli. Em 1924, John Lennard-Jones propôs um modelo matemático simples que representa este comportamento, o potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}), representado pela *Equação 30* (Lennard-Jones, 1931).

$$V_{LJ} = 4 \mathcal{E} [(\sigma/r)^{12} - (\sigma/r)^6]$$

Equação 30

Sendo \mathcal{E} a profundidade do poço de energia potencial e σ a distância para que o potencial seja zero. O termo positivo $(\sigma/r)^{12}$ descreve a repulsão interatômica e o termo negativo $(\sigma/r)^6$ descreve a contribuição atrativa (Rapaport, 2004).

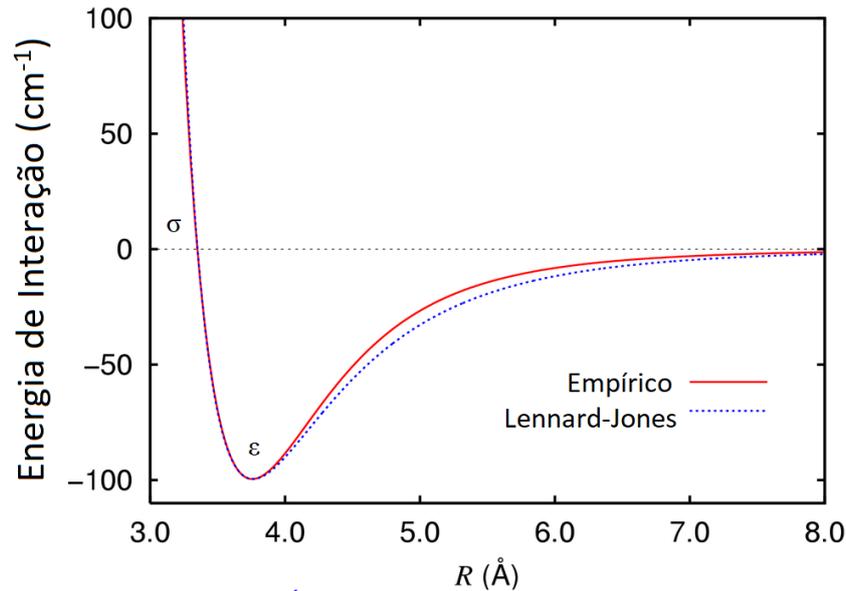
O potencial de Lennard-Jones pode ser calculado pela função que descreve a força em cada partícula, através do negativo do gradiente do próprio V_{LJ} , uma vez que este corresponde a uma aproximação:

$$F(r) = -V_{LJ} = -d/dr V_{LJ} r = 4\mathcal{E} [(12\sigma^{12}/r^{13}) - (6\sigma^6/r^7)] r$$

Equação 31

A Figura 15 mostra graficamente a dependência da energia de interação pelo potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}) com a distância (R) entre os átomos.

Figura 15. Gráfico representativo do potencial de Lennard Jones (V_{LJ}) pela distância (R) entre 2 átomos.



Fonte: (Lennard-Jones, 1931) adaptado.

Os valores positivos do V_{LJ} da Figura 15 representam forças de repulsão entre átomos, enquanto os valores negativos representam predominância atrativa. O termo σ indica a distância da curva ao eixo y, aumentando na mesma proporção do raio atômico. Quanto maior a profundidade do poço de energia potencial maior a estabilidade das interações entre os átomos não ligados covalentemente.

3.4.5 Potencial de Coulomb (V_c)

As interações eletrostáticas entre dois átomos compõem o potencial de Coulomb apresentado na Equação 32 (V_c ou V_{elet}), sendo r_{ij} a distância entre as cargas de dois átomos i e j , q_i e q_j a magnitude das cargas pontuais atômicas, ϵ_0 a permissividade do espaço livre no vácuo e ϵ a constante dielétrica relativa do meio (Politzer & Truhlar, 1981).

$$V_c = \frac{q_i \cdot q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r r_{ij}}$$

Equação 32

3.5 DINÂMICA MOLECULAR

A MD (Dinâmica Molecular) é uma das metodologias da MM mais utilizadas em simulação computacional, permite simular sistemas químicos, físicos e biológicos com grande quantidade de átomos e moléculas, avaliando principalmente efeitos físico-químicos de temperatura e pressão.

A realização de uma simulação usa os valores das coordenadas cartesianas iniciais de todos os átomos do sistema, caracterizando as etapas moleculares em intervalos de tempo empregados na ordem de grandeza de femtossegundos (10^{-15} s).

A dinâmica molecular admite a obtenção de trajetórias dos componentes do sistema a partir da integração das leis de movimento de Isaac Newton (*Equação 33*), definindo posições, velocidades e acelerações das partículas dos sistemas em função do tempo.

$$\frac{d^2x}{dt^2} = \frac{F_{xi}}{m_i}$$

Equação 33

A *Equação 33* usa o movimento de uma partícula de massa m_i ao longo da coordenada x_i , sendo F_{xi} a força atuante na partícula nessa coordenada. Para um sistema contendo N partículas, a integração sucessiva da *Equação 33* para cada átomo do sistema provê o potencial total (V_{total}). E a integração determina cada passo do sistema, com trajetória alcançada pelo conjunto de todos os passos obtidos. A cada novo caminho deve-se acrescentar um novo Δt , o que acarreta a alteração das posições atômicas em função do tempo. A energia potencial do sistema se calcula pela integração da força em relação ao espaço, segundo a *Equação 34*, e as propriedades macroscópicas do sistema são extraídas do conjunto de trajetórias depois de alcançado o equilíbrio.

$$E_p(\mathbf{r}) = - \int_{\mathbf{r}_0}^{\mathbf{r}} \mathbf{F} \, d\mathbf{r}$$

Equação 34

3.5.1 Modelos de Solvatação

A simulação molecular pode acontecer tanto em solução quanto no vácuo, basta implantar os componentes simulados na caixa de simulação (geralmente cúbica) de dimensões determinadas pelo usuário. Uma forma de realizar simulações por MD em fase condensada é pela utilização do modelo de solvatação explícito, cujas moléculas do solvente são agregadas fisicamente ao sistema, com descrição mais precisa e com propriedades diretamente dependentes da interação com as moléculas do solvente em comparação ao modelo implícito com a aplicação de um potencial de solvatação.

De acordo com a necessidade de interações com o solvente, há modelos de solvatação mais ou menos precisos, o modelo explícito mais simples é o SPC (Simple Point Charge), ou modelo de polarizabilidade de carga pontual simples, já os modelos com maior detalhamento de informações são os modelos como TIP (Potencial Intermolecular de Transferibilidade): TIP3P, TIP4P e TIP5P; com 3, 4 e 5 pontos de transferibilidade, respectivamente (Harrach & Drossel, 2014; Nutt & Smith, 2007).

Os modelos TIP4P têm quatro pontos de interação, sendo um para cada átomo da molécula de água mais um átomo virtual perto do oxigênio ao longo da bissetriz do ângulo H-O-H, este átomo possui carga negativa. A grande vantagem do modelo TIP4P está na melhora da distribuição eletrostática em torno da molécula de água, ele é amplamente implementado em pacotes de software em química computacional e, muitas vezes usado para a simulação de sistemas biomoleculares.

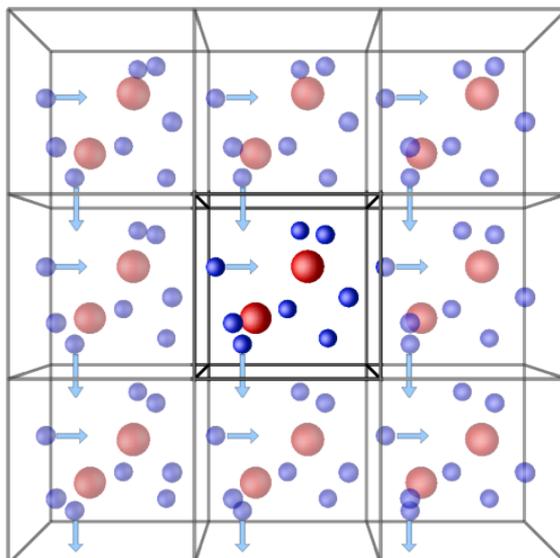
O custo computacional de uma simulação de água aumenta com o número de sítios de interação, o tempo de processamento é aproximadamente proporcional ao número de distâncias interatômicas que precisam ser computados. Para o modelo TIP3P, 9 distâncias são necessárias para cada par de moléculas de água (cada átomo de uma molécula para cada átomo de outra molécula, ou 3×3). Para o modelo TIP4P, 10 distâncias são necessárias (3×3 mais a interação O-O, ou seja, + 1). Para o modelo TIP5P, são 17 distâncias necessárias ($4 \times 4 + 1$), este modelo produz maiores detalhes de informações moleculares com o solvente, podendo apresentar propriedades dinâmicas e estruturais de extrema complexidade, como por exemplo, a transição vítrea dinâmica do dodecâmero de Dickerson solvatado por moléculas de água, porém, é muito custoso computacionalmente (Khalak, Baumeier, & Karttunen, 2018; Mahoney & Jorgensen, 2000; Wing et al., 1980).

Os componentes localizados na superfície do sistema poderiam estar sob o efeito de forças externas, como a tensão superficial, assim as forças influentes na superfície da caixa seriam diferentes das forças que atuam no centro dela (Vangunsteren, Berendsen, & Rullmann, 1978), para abolir estas formas de artificialidade as Condições Periódicas de Contorno (PBCs) são aplicadas na caixa tridimensional do sistema (Schlick, 2010).

3.5.2 Condições Periódicas de Contorno, Imagem Mínima e Raio de Corte

As condições periódicas de contorno (Figura 16) produz réplicas da caixa de simulação em 3 dimensões, como caixas virtuais para manter constante o número de moléculas na caixa real, nesse processo as moléculas ao migrarem para a caixa virtual na vizinhança são imediatamente inseridas na caixa de simulação real pelo lado oposto de onde emergiu (Rapaport, 2004).

Figura 16. PBC na caixa tridimensional.



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

A imagem mínima e o raio de corte admitem a medição das interações no interior da caixa real (caixa principal), pois considera apenas as moléculas do sistema construído pelo usuário, já que o sistema simulado com PBC teria um número infinito de moléculas.

A análise ocorre pelo truncamento das partículas de interesse através do raio de corte, uma esfera para englobar apenas os compostos a serem analisados, devendo possuir raio igual ou menor do que a metade da aresta da caixa cúbica de simulação, esse conceito evita que uma molécula interaja com sua própria imagem virtual (Lubbe, van Leeuwen, Wezenberg, & Feringa, 2017).

A influência mútua de curto alcance ocorre entre todas as partículas adjuntas e restritas no raio de corte, enquanto as demais partículas (mais afastadas) ficam sob a influência de interações de longo alcance tratadas pelo campo de reação.

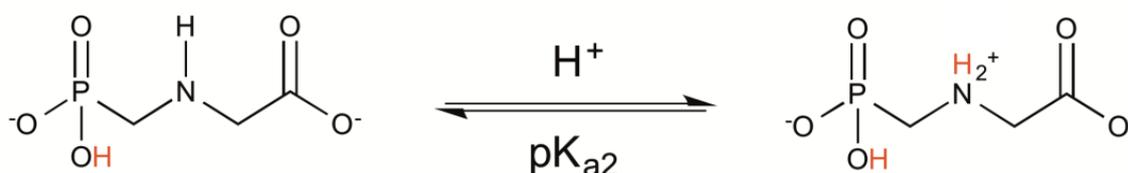
4. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Este capítulo trata da metodologia dos cálculos e simulações realizados nesta tese. A seção 4.1 explica como o campo de força foi parametrizado para o herbicida glifosato. A Seção 4.2 explica como o campo de força foi parametrizado para a quitosana. A Seção 4.3 descreve em quais tipos de sistemas o campo de força foi aplicado e em como as simulações por MD foram conduzidas. A Seção 4.4 apresenta os métodos para realizar 594 simulações por dinâmica molecular direcional (SMD) e calcular o potencial de força média (PMF).

4.1 PARAMETRIZAÇÃO DO GLIFOSATO PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA

A estrutura utilizada para a molécula de glifosato possui constante de dissociação ácida $pK_{a2} = 5,69$ e carga formal (CF) = -2, esta é a forma mais estável, no que diz respeito às condições de pH e de comercialização do herbicida (*Roundup*[®]) (Baer & Marcel, 2014; de Amarante, dos Santos, Brito, & Ribeiro, 2002; Dill et al., 2010; Tu et al., 2001).

Figura 17. Equilíbrio de dissociação ácida do glifosato, sendo CF = -2 (esquerda) e CF = -1(direita).



Fonte: Autor (Faria et al., 2018).

4.1.1 Tratamento por Mecânica Quântica (QM)

A otimização da geometria foi realizada pelo método DFT (Custodio & Morgon, 1995; Parr & Yang, 1994) através do programa ORCA 3.0 (Neese, 2012) com o funcional híbrido B3LYP (A. Becke, 1993; Lee et al., 1988) e depois foi realizado o cálculo para obtenção dos valores de cargas atômicas.

4.1.1.1 Aquisição de Cargas Atômicas

Duas metodologias diferentes foram aplicadas para a obtenção das cargas do herbicida glifosato: RESP e CM1A; a primeira foi realizada através do programa NWCHEM 5.1 (Cornell, Cieplak,

Bayly, & Kollman, 1993; Performance & Chemistry, 2010) e a segunda, consiste em métodos semi empíricos AM1, realizada através do *LigParGen web server*, um link padrão para geração de parâmetros para o OPLS-AA (Dodda, de Vaca, Tirado-Rives, & Jorgensen, 2017).

Os cálculos de cargas CM1A foram comparados com as cargas RESP, estas são mais típicas para os campos de força AMBER/GAFF (Jorgensen & Tirado-Rives, 1988; Woods & Chappelle, 2000), no entanto a abordagem para o campo de força OPLS-AA foi utilizada em alguns trabalhos para moléculas heterocíclicas e obtiveram sucesso, assim como na parametrização de quitosana para o campo de força OPLS-AA, como será visto neste trabalho (Jorgensen & McDonald, 1998).

O campo de força OPLS-AA costuma adotar o modelo de carga MP2/cc-pVTZ, como este trabalho de Pluhackova obtido com o programa *Jaguar* (Siu, Pluhackova, & Böckmann, 2012; Young, 2001). Artigos mais recentes (2018) empregam as cargas CM1A, pois essas abordagens apresentam a vantagem da velocidade, porém a capacidade de transferência de cargas pode ser perdida, o que costuma ser uma característica conveniente para o campo de força OPLS-AA (Schrödinger, 2018). Um dos trabalhos de Udier–Blagović, por exemplo, produziu os melhores resultados com as cargas CM1A para a hidratação de uma molécula de n-metilacetamida (Udier–Blagović, Morales De Tirado, Pearlman, & Jorgensen, 2004).

4.1.1.2 Parâmetros de Ligação, Deformação Angular e Torsão

O campo de força OPLS-AA possui valores previamente padronizados para os parâmetros moleculares do glifosato como estiramento de ligação, deformação angular e deformação de torsão, estes valores estão expostos nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

Tabela 4. Parâmetros de estiramento de ligações utilizados pelo campo de força OPLS-AA.

Ligações	Tipos de Ligações	K_b (106 kJ.mol⁻¹.nm⁻⁴)	b_o (nm)
(HN1,HN2)-N	H3-NT	363171,2	0,1010
C1-H11(2),C2-H21(2)	CT-HC	284512,0	0,1090
HO3-O3	HO-OH	462750,4	0,0945
(C1,C2)-N	CT-NT	319657,6	0,1448
(O1,O2)-P	O2-P	439320,0	0,1480
O3-P	OH-P	192464,0	0,1610
C1-P	CT-P	177401,6	0,1843
C3-C2	C_3-CT	265265,6	0,1522
C3-(O4,O5)	C_3-O2	548940,8	0,1250

Fonte: (Faria et al., 2018).

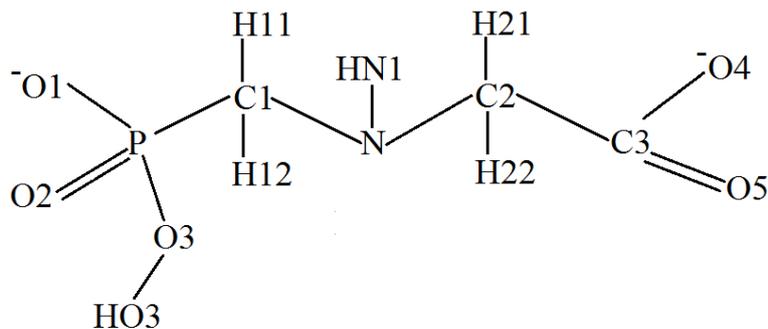
Tabela 5. Parâmetros de flexão angular utilizados pelo OPLS-AA.

Ângulos	Tipo de ângulo	K_{θ} (KJ.mol ⁻¹)	θ_0 (graus)
(C1,C2)-N-(HN1,HN2)	CT-NT-H3	292,880	109,5
HN1-N-HN2	H3-NT-H3	292,880	109,5
N-C1-P	NT-CT-P	359,824	109,5
(O1,O2)-P-O3	O2-P-OH	376,560	108,23
HO3-O3-P	HO-OH-P	395,678	108,5
O3-P-C1	OH-P-CT	376,560	109,5
O1-P-O2	O2-P-O2	1171,520	119,9
C1-P-(O1,O2)	CT-P-O2	376,560	109,5
C2-C3-(O4,O5)	CT-C_3-O2	585,760	117,0
O4-C3-O5	O2-C_3-O2	669,440	126,0
C3-C2-(H21,H12)	C_3-CT-HC	292,880	109,5
C3-C2-N	C_3-CT-NT	669,440	111,2
C1-N-C2	CT-NT-CT	433,462	107,2
(H11,H12)-C1-N	HC-CT-NT	109,500	292,88
(H21,H22)-C2-N	HC-CT-NT	109,500	292,88
(H11,H12)-C1-P	HC-CT-P	109,500	343,088

Fonte: (Faria et al., 2018).

A melhor compreensão para os códigos utilizados em cada átomo e ligação química do glifosato sobrevém da ilustração presente na Figura 18, com a nomenclatura uniformizada para o campo de força OPLS-AA.

Figura 18. Molécula de glifosato com seus respectivos códigos atômicos utilizados no campo de força OPLS-AA.



Fonte: Autor (Faria et al., 2018).

A Tabela 6 apresenta os valores das constantes de Ryckaert-Bellemans previamente existentes no campo de força OPLS-AA para os diedros do herbicida glifosato da Figura 18 e os códigos atômicos para a identificação dos diedros.

Tabela 6. Parâmetros de flexão torsional utilizados pelo OPLS-AA.

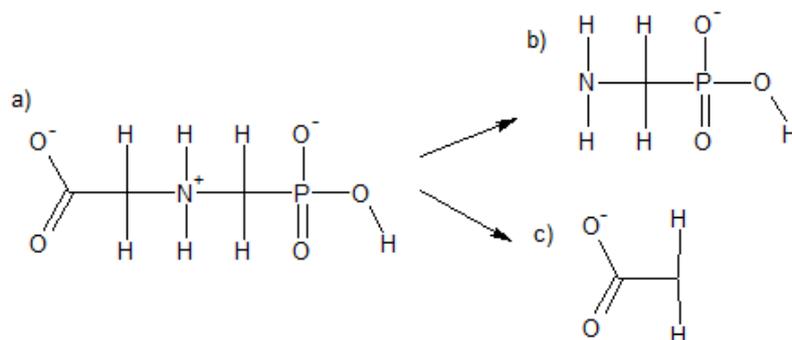
Diedros	Códigos dos Diedros	Coeficientes de Ryckaert-Bellemans					
		C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
C3-C2-N-(HN1,HN2)	C_3-CT-NT-H3	0,72592	2,17777	0	-2,90370	0	0
N-C1-P-(O1,O2)	NT-CT-P-O2	0	0	0	0	0	0
N-C1-P-O3	NT-CT-P-OH	4,70700	-4,70700	0	0	0	0
(HN1,HN2)-N-C1-(H11,H12)	H3-NT-CT-HC	0,83680	2,51040	0	-3,34720	0	0
(HN1,HN2)-N-C2-(H21,H22)	H3-NT-CT-HC	0,83680	2,51040	0	-3,34720	0	0
(H11,H12)-C1-P-O3	HC-CT-P-OH	0,52300	1,56900	0	-2,09200	0	0
C1-O1-P-O2	CT-O2-P-O2	1,17570	3,52711	0	-4,70281	0	0
N-C2-C3-(O4,O5)	NT-CT-C_3-O2	3,43088	0	-3,43088	0	0	0
P-C1-N-C2	P-CT-NT-CT	1,78866	3,49154	0,53555	-5,81576	0	0

Fonte: (Faria et al., 2018).

Após a obtenção dos valores de cargas atômicas para o herbicida glifosato, foi necessário obter o potencial de interação torsional entre os átomos dos diedros HO3-O3-P-C1 e P-C1-N-HN1, uma vez que são ausentes no banco de dados padrão do campo de força OPLS-AA, conforme observado na Tabela 6.

O cálculo para obtenção das barreiras rotacionais dos diedros da molécula do glifosato (Figura 19a) foi realizado pela metodologia *ab initio* Hartree-Fock (Froese Fischer, 1987; Slater, 1951) com funções de base 6-31G* através do programa ORCA 2.8 (Neese, 2012) para carga formal = -1, e em seguida com conjuntos de bases MP2 e ccpVTZ avaliados através da energia potencial do herbicida glifosato em sua forma fragmentada (AMPA) (Figura 19b), neste cálculo o grupo CH₂COO⁻ foi fragmentado da molécula de glifosato a fim de diminuir a assimetria do potencial torsional, porém os resultados para a molécula fragmentada são apresentados apenas no APÊNDICE B deste trabalho, por não ter sido utilizada na inserção dos parâmetros do campo de força.

Figura 19. Glifosato utilizado no cálculo de Barreiras Rotacionais dos Diedros; a) Molécula completa empregada em HF/6-31G*; b) Molécula fragmentada empregada em MP2/ccpVTZ; c) Fragmento retirado do glifosato para cálculo MP2/ccpVTZ.



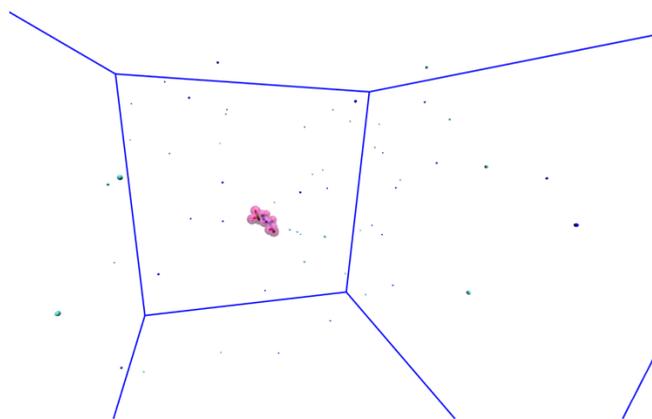
Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Advanced Chemistry Development, 2018).

A obtenção das constantes de Ryckaert-Bellemans a partir das curvas de energia quânticas foi realizada a partir de um programa em linguagem C++ desenvolvido pelo próprio grupo de pesquisa LCQC (Laboratório de Cristalografia e Química Computacional), o qual aplica o método dos mínimos quadrados e interpolação *spline* cúbica. A sobreposição da curva calculada por QM e a curva gerada a partir da equação de Ryckaert-Bellemans direcionaram o conjunto de constantes a serem adicionados no campo de força OPLS-AA.

4.1.2 Simulação por Dinâmica Molecular

A avaliação da parametrização do glifosato pelo campo de força OPLS-AA foi realizada através de simulação por dinâmica molecular utilizando o programa GROMACS 4.6 (Van Der Spoel et al., 2014), com ensemble NPT dentro de uma caixa de simulação tridimensional retangular, como visto na Figura 20. A velocidade foi mantida constante por empregar reescalonamento de velocidade com um termo estocástico para acoplamento de temperatura em banho de calor igual a 298 K (Berendsen, Postma, Vangunsteren, Dinola, & Haak, 1984), o acoplamento de pressão ocorreu com barostato de *Berendsen* a 1,0 bar e água explícita como solvente, pelo modelo TIP4P (Jorgensen, Chandrasekhar, Madura, Impey, & Klein, 1983) e duração de 50 ns, através de 25 milhões de passos, considerando um tempo de integração de 2 fs. Todos os comprimentos de ligações foram restringidos pelo algoritmo de restrição linear (*Linear Constraint Solver* - LINCS) (Hess, Bekker, Berendsen, & Fraaije, 1997) e as interações eletrostáticas calculadas pelo método PME (Darden, York, & Pedersen, 1993).

Figura 20. Aspecto do herbicida glifosato representado com sua superfície de van der Waals em roxo com íons Cl⁻ e Na⁺ no interior da caixa de simulação.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

4.2 PARAMETRIZAÇÃO DA QUITOSANA PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA

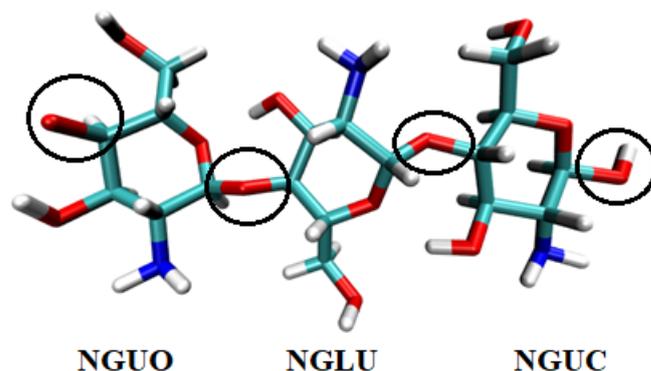
O polissacarídeo quitosana possui basicamente 6 tipos de resíduos glicopiranosídicos, 3 anéis em forma desidrogenada (Figura 21) e 3 anéis em forma hidrogenada (Figura 22). A nomenclatura destes resíduos acompanha a subsequente ordem apresentada na Tabela 7, a seguir.

Tabela 7. Significado da nomenclatura dos 6 resíduos monoméricos de quitosana.

<i>Letra</i>	<i>Significado</i>
<i>N</i>	<i>Nitrogenada</i>
<i>G</i>	<i>Glicosídica</i>
<i>U</i>	<i>Desprotonada (Unprotonated)</i>
<i>P</i>	<i>Protonada (Protonated)</i>
<i>O</i>	<i>Abertura (Opening)</i>
<i>L</i>	<i>Ligada (Linked)</i>
<i>C</i>	<i>Cauda/Encerramento (Closing)</i>

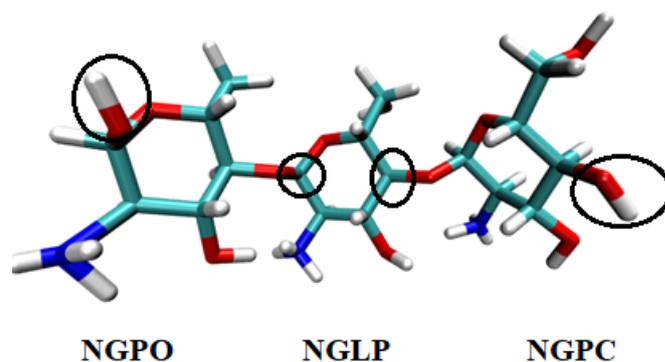
Fonte: (E. F. Franca et al., 2008).

Figura 21. Trímero de quitosana desprotonada com os referentes resíduos glicopiranosídicos.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

Figura 22. Trímero de quitosana protonada com os referentes resíduos glicopiranosídicos.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

A ligação glicosídica polimérica da quitosana, do tipo β -(1 \rightarrow 4), corresponde às interações entre o carbono 1 e o carbono 4 do anel, contudo a única diferença entre os resíduos NGPO e NGPC é a disposição da hidroxila de extremidade, sendo respectivamente posicionada no carbono 1 para NGPO e no carbono 4 para o NGPC. Dessemelhante do resíduo NGLP, pois este não possui tais hidroxilas, por fazerem parte do éter constituído pela ligação resultante da reação de condensação entre cada dímero.

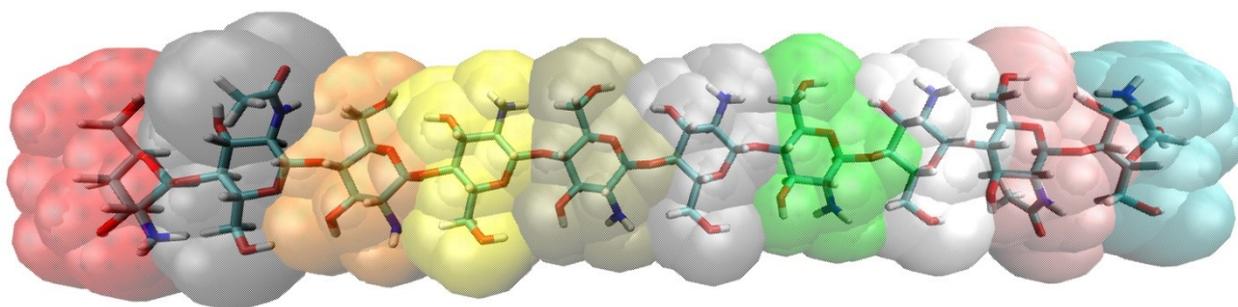
A posição das hidroxilas na posição 1 e 4 dos anéis glicopiranosídicos também convém para os resíduos NGUO e NGUC correspondentes à molécula desprotonada, com a disposição das hidroxilas de extremidade posicionadas no carbono 1 para NGUO e no carbono 4 para o NGUC.

4.2.1 Obtenção da Estrutura Polimérica da Quitosana

A estrutura utilizada para a molécula de quitosana foi de um decâmero, com GA = 20%, de acordo com as condições ambientes de pH = 6,5. Nesta forma decamérica, o biopolímero possui 2 monômeros acetilados e 8 monômeros desacetilados, sendo 4 protonados e 4 desprotonados, a Figura 23 representa os 10 monômeros da quitosana desenhados através do programa computacional *HyperChem* (Froimowitz, 1993), aproveitando os exemplares de estrutura molecular

de Ogawa (Ogawa, Yui, & Okuyama, 2004; Okuyama et al., 2000) com todos os átomos de hidrogênio preenchidos. Os resíduos da imagem estão com transparência de acordo com as superfícies atômicas de van der Waals nas seguintes cores: NGPC (vermelha), CHIT (cinza escuro), NGLU (laranja), NGLP (amarelo), NGLU (cinza), NGLP (cinza claro), NGLU (verde), NGLP (branco), CHIT (rósea) e NGUO (azul).

Figura 23. Reprodução da quitosana na forma de decâmero e seus respectivos resíduos de 1 a 10 (NGPC, CHIT, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, CHIT e NGUO, respectivamente).



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

4.2.2 Tratamento por Mecânica Quântica (QM)

4.2.2.1 Otimização Geométrica

A otimização das coordenadas geométricas de toda a molécula de quitosana foi efetuada com o método DFT (Hohenberg & Kohn, 1964; Kohn & Sham, 1965), com o funcional híbrido B3LYP (A. D. Becke, 1988; Lee et al., 1988; Parr & Yang, 1994) e função de base 6-31G* por meio do programa ORCA 3.0 (Neese, 2012).

4.2.2.2 Obtenção de Cargas Atômicas

Depois de atingida a estabilidade geométrica para as coordenadas cartesianas dos átomos do biopolissacarídeo, a obtenção das cargas atômicas da quitosana foi realizada por meio do cálculo de cargas RESP (Kern & Karplus, 1964; Politzer & Truhlar, 1981) através do programa NWCHEM 5.1 (Performance & Chemistry, 2010), pela metodologia Hartree-Fock (Gaunt & Fowler, 1928; D. R. Hartree, 1928; Slater, 1951) e função de base 6-31G* (Ditchfield, Hehre, & Pople, 1971; Pople & Nesbet, 1954).

Os valores obtidos das cargas parciais da molécula foram concordados ao potencial eletrostático em comparação aos valores pertencentes à quitosana dentro do campo de força

Gromos53a6 previamente validado por (E. F. Franca et al., 2008) e inseridos dentro dos arquivos do campo de força OPLS-AA para realização das simulações computacionais por dinâmica molecular (Damm et al., 1997; Oostenbrink, Soares, Van Der Vegt, & Van Gunsteren, 2005).

4.2.2.3 Simulação por Dinâmica Molecular

As simulações por dinâmica molecular do biopolímero quitosana no vácuo foram feitas através do pacote computacional GROMACS 5.0.1 (Abraham et al., 2015), usando o campo de força OPLS-AA e o campo de força Gromos53a6 previamente validado por (E. F. Franca et al., 2008)(Pol-Fachin, Verli, & Lins, 2014).

O arquivo de *input* (entrada) da quitosana foi o mesmo para ambos os campos de força, porém, como o campo de força Gromos53a6 corresponde a átomos unidos, a topologia apresentou apenas 161 átomos, diferente da topologia do campo de força OPLS-AA com 237 átomos, por corresponder a uma abordagem atomística, ou seja, utilizar-se de todos os átomos hidrogenóides presentes da molécula (Damm et al., 1997).

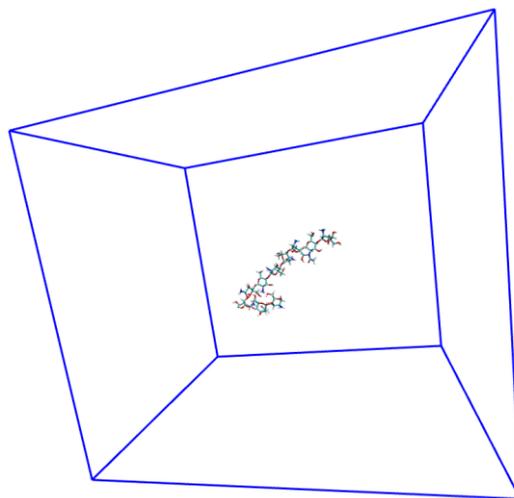
4.2.2.4 Protocolo da Simulação

As caixas tridimensionais foram modeladas de forma retangular com modelo de detalhamento *grid*, com PBC aproveitadas em todas as dimensões x, y e z, Figura 23. Em seguida, as minimizações de energia dos sistemas foram alcançadas após 1000 passos de cada simulação, empregando o algoritmo *Steepest Descent* com interações eletrostáticas controladas pelo método PME (*Particle Mesh Ewald*), através de um ensemble (conjunto) NVT, ou canônico (com número constante de partículas, volume e temperatura).

Os sistemas foram termalizados durante 1000 ps (picossegundos) em 50, 150 e por fim 298 K, sucessivamente pelo ensemble NVT.

Os cálculos por dinâmica molecular foram realizados pelo ensemble NPT, ou isotérmico e isobárico (com número constante de partículas, pressão e temperatura), a pressão mantida constante em uma câmara fechada através do barostato de *Berendsen* (Lin, Pan, Li, Zhang, & Shao, 2017) e a temperatura conservada pelo termostato *V-rescale* (Bussi, Donadio, & Parrinello, 2007; Mudi & Chakravarty, 2004), com atualização de velocidades sucedidas pelo integrador de *leap-frog* (Van Gunsteren & Berendsen, 1988).

Figura 24. Caixa tridimensional contendo um filamento de quitosana pelo modelo atômico com representação Licorice.



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

A variação do tempo de integração da dinâmica molecular ocorreu a cada 1 fs (10^{-15} segundos), com duração de 50 ns (10^{-9} segundos) para ambos os sistemas (sustentado pelo campo de força OPLS-AA recém parametrizado pelo campo de força Gromos53a6 previamente parametrizado por (E. F. Franca et al., 2008).

4.2.3 Pós-Simulação por Dinâmica Molecular

Ao término das duas simulações, os decâmeros de quitosana foram particionados em 10 monômeros glicopiranosídicos, em seguida os monômeros foram fundidos (*merged*) até a obtenção da melhor conformação do anel monomérico resultante para o campo de força OPLS-AA e para o campo de força validado Gromos53a6.

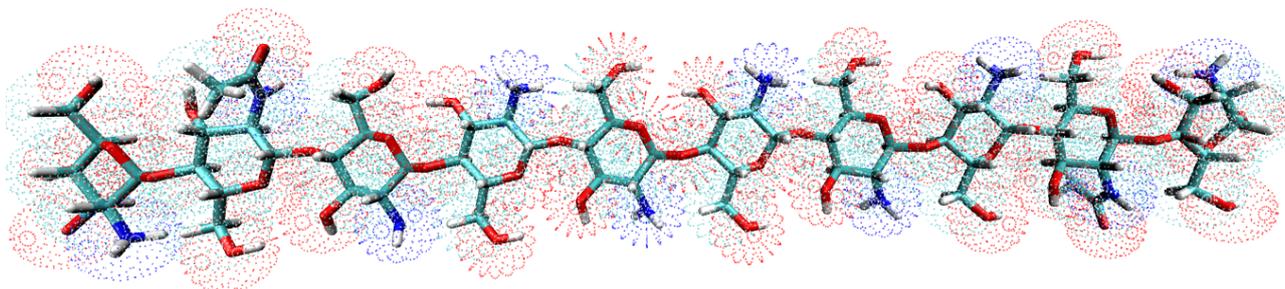
A melhor conformação fundida do anel realizada pelo campo de força validado Gromos53a6 foi sobreposta ao melhor anel do campo de força OPLS-AA, em seguida a diferença estrutural entre os dois anéis foi calculada (foram considerados somente os átomos do esqueleto de cada anel, correspondente a 5 carbonos e 1 oxigênio).

4.3 DINÂMICA MOLECULAR DE SISTEMAS COM QUITOSANA E GLIFOSATO

O programa computacional GROMACS 4.6 (*Groningen Machine for Chemical Simulations*) (Van Der Spoel et al., 2014) foi utilizado nas simulações com o campo de força OPLS-AA, depois de inseridas as adaptações para utilização de parâmetros físico-químicos apropriados que melhor reproduzem o polissacarídeo de quitosana (E. de F. Franca, 2009; McDonald & Jorgensen, 1998).

O primeiro passo da realização da Dinâmica Molecular foi desenhar a estrutura molecular da quitosana, como apresentado na Figura 25, através do programa computacional *HyperChem* (Froimowitz, 1993), de acordo com os modelos de estrutura molecular de Ogawa (Ogawa et al., 2004).

Figura 25. Molécula de quitosana no modelo atômico (OPLS-AA) com representação em pontos de seus raios atômicos.



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Faria et al., 2016; Humphrey et al., 1996).

O biopolímero de quitosana do sistema simulado possui 10 monômeros, com grau de acetilação (GA) equivalente a 20%. Assim, destes 10 monômeros, 2 apresentam grupos aminos acetilados, 4 grupos aminos protonados e 4 grupos aminos desprotonados.

A estrutura molecular foi otimizada geometricamente e a energia minimizada, utilizando 12.000 passos do algoritmo *Steepest Descent*, o modelo foi inserido dentro de uma caixa de simulação retangular construída a uma distância de 1,5 nm (nanômetros) do centro de massa da quitosana.

Os sistemas foram termalizados durante 1000 ps (picossegundos) em 50, 150 e por fim 298 K, sucessivamente pelo ensemble NVE, todas as etapas ocorreram com reequilíbrio energética do sistema. As coordenadas de cada átomo do sistema permaneceram fixas durante a termalização, com uma força constante de $1,0 \cdot 10^3 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$.

Os sistemas foram solvatados com moléculas explícitas de água através do modelo de solvatação TIP4P (Harrach & Drossel, 2014), e em seguida foram adicionados íons cloreto e sódio a fim de estabelecer a neutralidade iônica de cada sistema em concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

As simulações computacional por MD ocorreram com intervalos de integração de 2 fs (femtosegundos), pelo ensemble isotérmico-isobárico (NPT), empregando o algoritmo *Leap-Frog* (Van Gunsteren & Berendsen, 1988). A pressão e a temperatura se mantiveram constantes em 1 bar e 298 K através do termostato de *v-rescale* (Rosta, Buchete, & Hummer, 2009) e dos métodos de acoplamento do barostato de *Berendsen* (Lin et al., 2017), com compressibilidade de $4,5e^{-5} \text{ Bar}^{-1}$ e tempo de relaxação de 10 ps, acoplando-se paralelamente os solutos e os solventes.

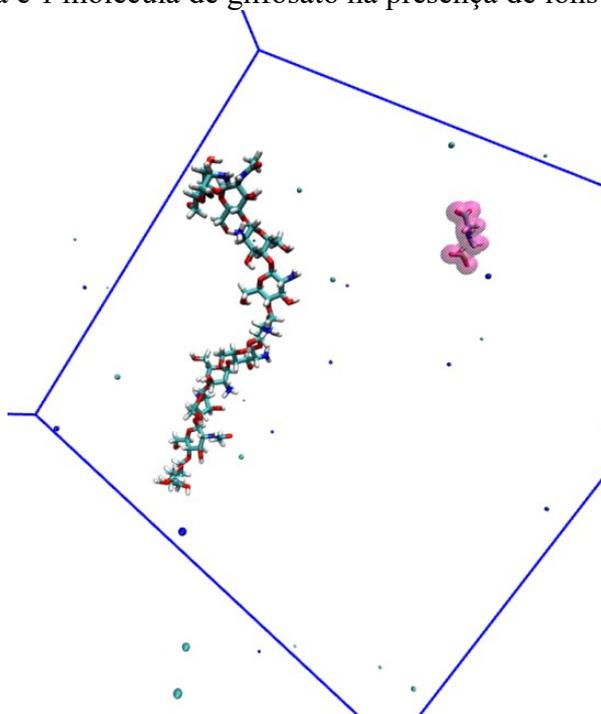
As restrições do movimento de estiramento linear e angular envolvendo os átomos de hidrogênio, bem como os comprimentos de ligação foram realizadas utilizando o algoritmo LINCIS, com as velocidades das partículas removidas para cada novo passo de integração em relação ao

centro de massa (Hess et al., 1997). As contribuições eletrostáticas de longo alcance foram tratadas por meio do Campo de Reação (*Reaction Field*) (Tironi, Sperb, Smith, & Vangunsteren, 1995; Vangunsteren et al., 1978), um método suficiente para a realização das simulações, uma vez que não induziu o aparecimento de artefatos por possuir pouca quantidade de cargas nos sistemas.

As interações eletrostáticas e de van der Waals para tratar as interações de curto alcance ocorreram dentro de um raio de corte de 1,4 nm, evitando a ocorrência de interações entre os átomos e suas próprias imagens virtuais replicadas tridimensionalmente pelas condições periódicas de contorno.

O primeiro sistema molecular utilizado constitui em apenas 1 filamento de quitosana contendo 10 monômeros e 1 única molécula de glifosato, com a finalidade de analisar possíveis interações específicas entre ambas as moléculas, na presença de íons para neutralizar o sistema aquoso, conforme Figura 26.

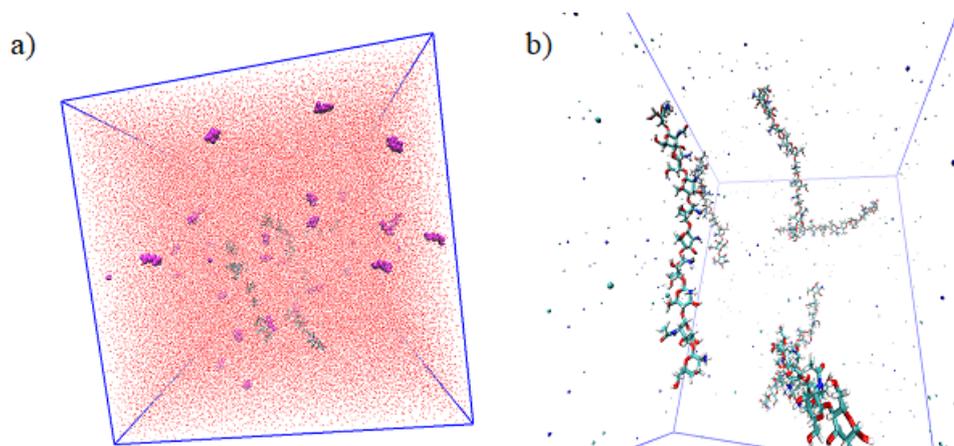
Figura 26. Reprodução do modelo binário no interior da caixa de simulação com 1 decâmero de quitosana e 1 molécula de glifosato na presença de íons Cl^- e Na^+ .



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

O segundo modelo molecular (Figura 27a) representa uma nanopartícula de quitosana em matriz 3x2, com 6 decâmeros totalizando em 60 monômeros cercados por 42 moléculas de glifosato na presença de água e íons, o terceiro sistema (Figura 27b) consiste na mesma nanopartícula de quitosana em matriz 3x2 na ausência do herbicida, com a finalidade de comparar o comportamento estrutural da quitosana na presença e ausência do herbicida.

Figura 27. Modelo dos sistemas moleculares contendo: a) quitosana (licorice), glifosato (superfícies de van der Waals roxo), íons e solvente água (linhas); b) quitosana (licorice) e íons (linhas).



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

4.4 POTENCIAL DE FORÇA MÉDIA ENTRE QUITOSANA E GLIFOSATO

A simulação computacional dos experimentos de adsorção entre quitosana e glifosato foi também realizada através da Dinâmica Molecular Direcional, SMD (do inglês, *Steered Molecular Dynamics*), introduzida por (Izrailev, Stepaniants, Balsera, Oono, & Schulten, 1997), através do fornecimento de modelos para a explicação de forças medidas em estruturas moleculares, proporcionando detalhes do processo de desvinculação induzida através da aplicação de forças externas em sistemas biomoleculares e de suas propriedades elásticas em escalas de tempo. Estas simulações também fornecem o aporte teórico aos experimentos de adsorção com uma interpretação microscópica (Park & Schulten, 2004).

A metodologia para o cálculo do potencial de força média (PMF) consiste em computar a força aplicada ao afastamento do glifosato em relação ao centro de massa dos átomos da quitosana com os quais interagem, de acordo com um ou mais eixos cartesianos, mantendo a velocidade constante (Roux, 1995).

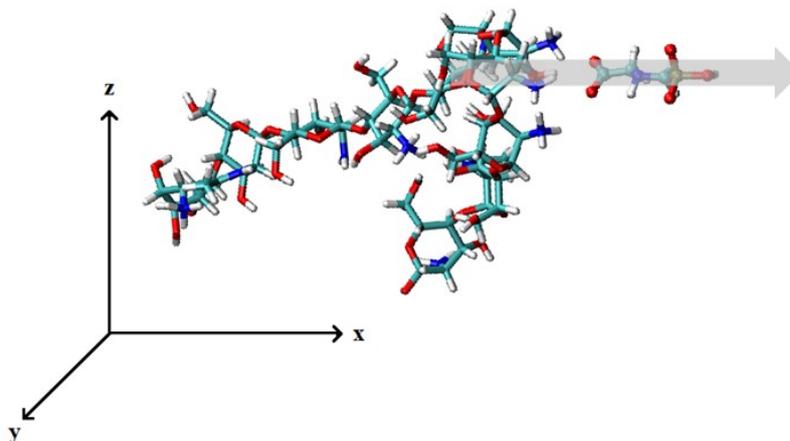
O método de obtenção do PMF depende do tipo de sistema molecular em estudo, de forma que o cálculo da energia livre realizado através desse método possa ser acoplado a um potencial de restrição ou harmônico, como o método *umbrella sampling* aqui utilizado (Torrie & Valleau, 1977).

No método *umbrella sampling* um conjunto de janelas é construído no espaço de configuração onde ocorre as interações entre quitosana e glifosato. Para cada janela uma simulação é realizada, e as trajetórias geradas servem para a construção da função de distribuição (Bott, 2006). Neste caso, o glifosato foi inicialmente “afastado” em 10 diferentes situações ao longo da coordenada do eixo x, conforme Figura 28.

Para se analisar a melhor forma de replicar o sistema na obtenção do PMF, foi utilizado 2 valores distintos de constantes de mola (k): 367 e 1000 kJ mol⁻¹ nm⁻¹; e 5 valores de velocidades

constantes (ν) para cada constante de mola: 0,001; 0,002; 0,003; 0,004 e 0,005 nm ps⁻¹. Após a obtenção dos gráficos, o sistema contendo $k = 367$ kJ mol⁻¹ nm⁻¹ e $\nu = 0,001$ foi simulado em 66 trajetórias de 6 ns cada, onde foi calculado o trabalho em kJ mol⁻¹ das simulações SMD.

Figura 28. Representação do glifosato sendo afastado da quitosana gradualmente ao longo da coordenada do eixo x na simulação computacional por MD (representação em *Licorice*).



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

O cálculo do PMF foi então realizado para 3 diferentes temperaturas com afastamento gradual do herbicida em 3 diferentes eixos cartesianos, somando 9 sistemas com 66 simulações para cada eixo (+x, +y e +z); e 198 simulações para cada temperatura: 288K, 298K e 308K satisfazendo um número total de 594 simulações por dinâmica direcional.

As constantes utilizadas para os cálculos das simulações por SMD foram $k = 367$ kJ mol⁻¹ nm⁻¹ e $\nu = 0,005$ nm ps⁻¹, por oferecerem menor tempo de cálculo computacional.

A força externa (F) aplicada para o afastamento gradual do herbicida pode ser expressa como:

$$F = k(x_0 + vt - x) \tag{Equação 35}$$

Na *Equação 35*, k é a constante de mola que define a rigidez da força de afastamento do herbicida, x_0 é a posição inicial do ponto de afastamento a se mover com velocidade constante, v .

O intervalo de integração utilizado foi de 1 fs pelo algoritmo *leap-frog*, as coordenadas de todos os átomos do sistema foram descritas a cada 1 ps para a realização das análises, as simulações foram conduzidas considerando-se pH = 6,5 com tempo total de 1300 ps cada e *ensemble* NVT no vácuo com contribuições eletrostáticas tratadas por meio da aproximação *Reaction Field* e interações de van der Waals calculadas com raio de corte de 1,4 nm.

O PMF é basicamente o perfil de energia livre ao longo da coordenada de reação e é determinado através da média ponderada de Boltzmann sobre todos os graus de liberdade, exceto da coordenada de reação. Por outro lado, o SMD é um método para explorar processos mecânicos e moleculares acessíveis através de experimentos, como o de adsorção entre quitosana e glifosato.

O SMD é um processo de não equilíbrio, enquanto que o PMF é uma propriedade em equilíbrio. Desta forma, necessita-se de uma teoria que vincule os processos em equilíbrio e não equilíbrio, como a mecânica estatística em não equilíbrio, especialmente através da igualdade de Jarzynski (Jarzynski, 1997). A igualdade de Jarzynski faz um acoplamento entre o cálculo de energia livre em equilíbrio e o trabalho realizado em não equilíbrio, e, portanto, permite calcular o PMF sobre processos em não equilíbrio tais como em simulações de dinâmica molecular direcional (J.-L. Zhang, Zheng, Li, & Zhang, 2012).

A igualdade de Jarzynski é:

$$e^{-\beta\Delta F} = \langle e^{-\beta W} \rangle \quad \text{Equação 36}$$

ΔF é a variação de energia livre, W é o trabalho externo, $\beta = (K_B T)^{-1}$, sendo K_B a constante de Boltzmann e T a temperatura. A igualdade é satisfeita para qualquer perturbação, desde que sejam realizadas amostragens suficientes, portanto esta propriedade não é restrita apenas para regimes em equilíbrio (Perišić & Lu, 2014).

A dificuldade na estimativa da média exponencial presente no lado direito da *Equação 36* pode ser contornada por uma expansão cumulante da equação de Jarzynski, neste caso o logaritmo de uma média exponencial é expandido em termos de cumulantes:

$$\log\langle e^x \rangle = \langle x \rangle + \frac{1}{2}(\langle x^2 \rangle - \langle x \rangle^2) + \dots \quad \text{Equação 37}$$

A *Equação 37* apresenta apenas os dois primeiros cumulantes, negligenciando os demais termos cumulantes, nesse caso, a variável x deve ser amostrada, obrigatoriamente, através de uma distribuição gaussiana. Usando esta expansão, a energia livre é obtida através da *Equação 38*:

$$F_\lambda(\tau) - F_\lambda(0) = \langle W(\tau) \rangle + \frac{\beta}{2}(\langle W(\tau)^2 \rangle - \langle W(\tau) \rangle^2) + \dots \quad \text{Equação 38}$$

$F_\lambda(\tau) - F_\lambda(0)$ é a variação de energia livre, $W(\tau)$ é o trabalho e $\beta = (K_B T)^{-1}$.

Sempre que o trabalho seguir uma distribuição gaussiana, a fórmula até segunda ordem pode ser utilizada, uma vez que os cumulantes de terceira e maiores ordens serão nulos (Hummer, 2001; Park, Khalili-Araghi, Tajkhorshid, & Schulten, 2003).

O trabalho e o potencial de força média foram obtidos para o afastamento gradual do glifosato em cada um dos diferentes eixos (x, y e z) através do software Octave 3.8.1 (Eaton, Bateman, & Hauberg, 2009).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este capítulo apresenta detalhadamente o desenvolvimento da obtenção dos parâmetros de quitosana e glifosato para o campo de força OPLS-AA, permitindo simular trajetórias de modelos moleculares contendo as duas espécies.

Análises de trajetórias por MD contendo os modelos de quitosana e glifosato foram também realizadas, bem como simulações por SMD para obtenção do potencial de força média de ligação.

5.1 PARAMETRIZAÇÃO DO GLIFOSATO PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA.

O primeiro processo da parametrização do glifosato ocorreu pela otimização geométrica da estrutura do glifosato, em seguida realizou-se a inclusão das cargas parciais do potencial eletrostático das moléculas para o campo de força OPLS-AA, através do método RESP (*Restrained Electrostatic Potential* ou Potencial Eletrostático Restringido).

5.1.1 Cálculo das Cargas Parciais Atômicas do Glifosato

Após a otimização estrutural do glifosato, os valores do ajuste das cargas parciais atômicas RESP ao potencial eletrostático do campo de força foram obtidos e estão apresentados através da Tabela 8.

Tabela 8. Cargas parciais atômicas do glifosato obtidas pela metodologia RESP.

Átomos	Tipo	Carga (e*)
P1	PO3-	1,342
O1	O	-0,860
O2	O	-0,860
O3	OH	-0,753
HO3	H	0,417
C1	CH2	-0,164
H11	H	0,066
H12	H	0,066
N1	N+	0,110
HN1	H	0,178
HN2	H	0,178
C2	CH2	-0,103

H21	H	0,045
H22	H	0,045
C3	CO-	0,879
O4	O	-0,793
O5	O	-0,793
Carga Total =		-1,000
$e^* = 1,602 \cdot 10^{-19} C$		

Os conjuntos de cargas alcançados foram consistentes com os valores observados no banco de dados para o campo de força OPLS-AA. E assim como esperado, todos os átomos de hidrogênio e oxigênio assumiram suas cargas positivas e negativas, respectivamente. Entretanto, os átomos de carbono assumiram cargas diferentes após os ajustes para o campo de força OPLS-AA devido a efeitos indutivos causados pelos elétrons desemparelhados das duplas ligações e/ou elétrons livres dos átomos de oxigênio presentes nos grupos carboxila e fosfonato (Faria et al., 2018).

A imposição das cargas RESP assegurou a carga total do glifosato com valor igual a -1 consistindo no estado protonado do herbicida, entre seu pK_{a1} e pK_{a2} , para uma faixa de pH entre 0,47 e 5,69.

A segunda metodologia realizado através do servidor *LigParGen* foi aplicada para obter as cargas CM1A do glifosato, a Tabela 9 revela todos os valores obtidos, bem como a diferença entre as metodologias em comparação com as cargas padronizadas do campo de força OPLS-AA.

Tabela 9. Valores obtidos de cargas RESP, CM1A, modelo padronizado do campo de força OPLS-AA e o módulo das diferenças entre as cargas RESP e CM1A, RESP e carga do OPLS-AA, CM1A e carga do OPLS-AA.

Átomo	Carga RESP	Carga CM1A	Carga do OPLS-AA	Diferença RESP/CM1A	Diferença RESP/OPLS-AA	Diferença CM1A/OPLS-AA
P1	1,342	1,820	0,780	0,478	0,562	1,040
O1	-0,860	-0,926	-0,660	0,066	0,200	0,266
O2	-0,860	-0,926	-0,660	0,066	0,200	0,266
O3	-0,753	-0,864	-1,300	0,111	0,547	0,436
HO3	0,417	0,385	0,300	0,032	0,117	0,085
C1	-0,160	-0,549	-0,510	0,385	0,346	0,039
H11	0,066	0,140	0,080	0,074	0,014	0,060
H12	0,066	0,140	0,080	0,074	0,014	0,060
N1	0,110	-0,209	-0,780	0,319	0,670	0,571

HN1	0,178	0,360	0,310	0,182	0,132	0,050
HN2	0,178	0,360	0,310	0,182	0,132	0,050
C2	-0,103	-0,165	-0,220	0,062	0,117	0,055
H21	0,044	0,117	0,060	0,073	0,016	0,057
H22	0,044	0,117	0,060	0,073	0,016	0,057
C3	0,829	0,367	0,700	0,462	0,129	0,333
O4	-0,793	-0,583	-0,800	0,210	0,007	0,217
O5	-0,793	-0,583	-0,800	0,210	0,007	0,217
Total	-1,000	-1,000	-3,050	0,052	3,226	3,861

Fonte: Autor (Faria et al., 2018).

A somatória de todas as cargas atômicas encontradas no modelo padrão do glifosato para o campo de força OPLS-AA corresponde à molécula totalmente desprotonada, com carga forma (CF) = -3, porém esses valores não coincidem com os hidrogênios presentes na molécula com CF = -1, o que indica realmente a necessidade da obtenção dos parâmetros de cargas atômicas para o presente campo de força.

O valor total da diferença entre as cargas RESP e CM1A para todos os átomos do glifosato em CF = -1 foi de 0,0518; esse insignificante valor implica a conveniência da utilização de qualquer uma das metodologias de obtenção de cargas para preencher o banco de dados do campo de força OPLS-AA. Assim sendo, tanto as cargas CM1A quanto as cargas RESP apresentam valores aceitáveis, porém para investigar a melhor opção a ser utilizada, realizou-se a comparação de cada modelo de carga com os valores padronizados já presentes no campo de força OPLS-AA.

A menor diferença entre os valores de cargas atômicas ocorreu entre os valores de carga RESP (3,2260), apresentando menor erro absoluto em comparação com a carga CM1A (3,8606), o que alude esses valores como a opção preferencial para serem inseridos no banco de dados dos parâmetros da molécula no presente campo de força.

5.1.2 Diedros para o Herbicida Glifosato

A Tabela 10 ilustra os valores dos coeficientes de Ryckaert-Bellemans para os diedros HO3-O3-P-C1 e P-C1-N-HN1 obtidos através da metodologia HF/6-31G* e introduzidos no campo de força OPLS-AA.

Tabela 10. Coeficientes de Ryckaert-Bellemans calculados pelo método Hartree-Fock com funções de base 6-31G*.

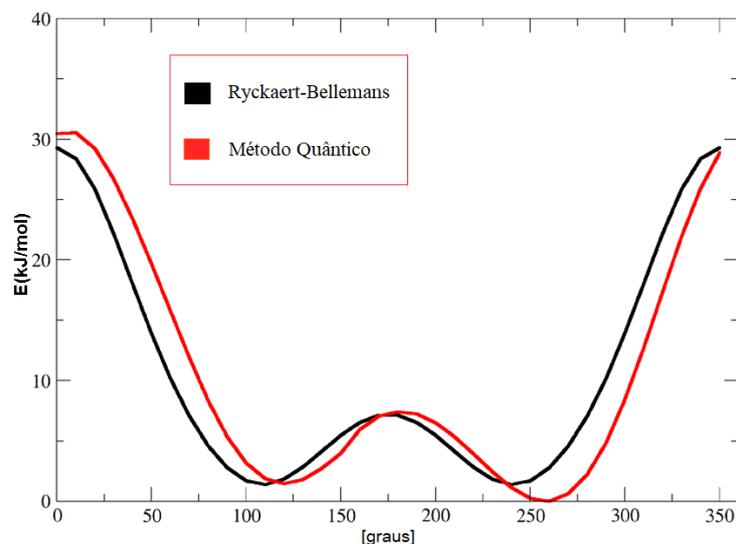
Diedros Parametrizados	Coeficientes de Ryckaert-Bellemans** Introduzidos no Campo de Força OPLS-AA					
	C0	C1	C2	C3	C4	C5
HO3-O3-P-C1	7,19185	20,5797	-15,0898	1,27049	-0,984426	0,269785
P-C1-N-HN1	19,3728	-17,6137	7,4594	3,17068	1,29439	1,88262

** Fórmula utilizada: $F(\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \dots, \alpha_k) = \sum_{k=1}^m [f(x_k) - \Psi(x_k)]^2$
 $\Psi(x_k) = \alpha_1 h_1(x_k) + \alpha_2 h_2(x_k) + \alpha_3 h_3(x_k) + \dots + \alpha_m h_m(x_k)$

Os valores inseridos no campo de força OPLS-AA pelo método Hartree-Fock com funções de base 6-31G* foram satisfatórios, mesmo que o método possua inexistência de correlações eletrônicas.

A Figura 29 apresenta a comparação entre os cálculos dos perfis de energia potencial obtidos através da metodologia quântica *ab-initio* e da metodologia clássica na obtenção dos coeficientes de Ryckaert-Bellemans pelo método dos mínimos quadrados para o diedro HO3-O3-P-C1.

Figura 29. Perfis de energia potencial calculados por método quântico Hartree-Fock com funções de base 6-31G* (vermelho) e pelo método Ryckaert-Bellemans (preto) obtido pelo método dos mínimos quadrados para o diedro HO3-O3-P-C1.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

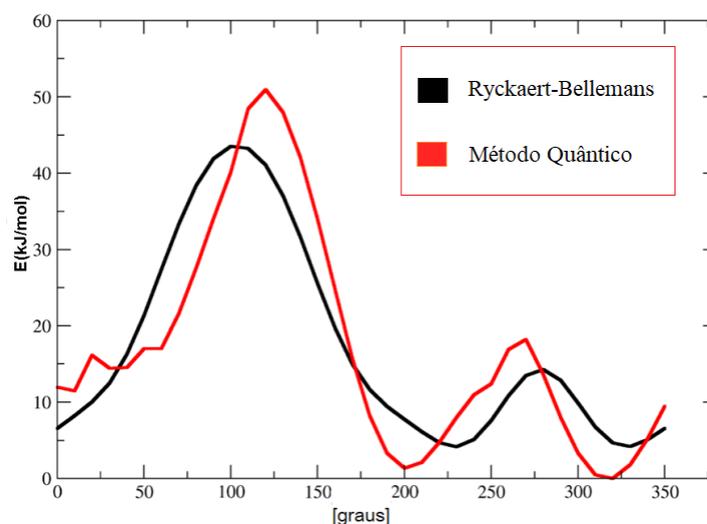
A proximidade entre os cálculos por metodologia quântica e clássica pode ser observada de acordo com a Figura 29 para o diedro HO3-O3-P-C1, no qual possui dois mínimos e exibe a menor energia em ângulos de 255° para QM e de 248° para o potencial de Ryckaert-Bellemans. Já o segundo mínimo foi observado em torno de 120° para QM e 115° para o potencial de Ryckaert-Bellemans.

Ambos os mínimos de energia ocorreram em ângulos menores nos cálculos clássicos. A Figura 29 mostra o menor mínimo de energia apresentando uma diferença energética de aproximadamente $1,1 \text{ kJ mol}^{-1}$ em relação ao cálculo quântico HF / 6-31G*.

O valor obtido para o potencial de Ryckaert-Bellemans foi equivalente a $49,98 \text{ kJ mol}^{-1}$ com desvio padrão de $5,32 \text{ kJ mol}^{-1}$; portanto, a diferença entre os mínimos se encontra de acordo com o desvio aceitável.

O mesmo procedimento foi feito para o ângulo diedro P-C1-N-HN1 e a Figura 30 apresenta a comparação entre os cálculos dos perfis de energia potencial obtidos através da metodologia quântica *ab-initio* Hartree-Fock com funções de base 6-31G* e através da metodologia clássica na obtenção dos coeficientes de Ryckaert-Bellemans pelo método dos mínimos quadrados para respectivo diedro.

Figura 30. Perfis de energia potencial calculados por método quântico Hartree-Fock com funções de base 6-31G* (vermelho) e pelo método Ryckaert-Bellemans (preto) obtido pelo método dos mínimos quadrados para o diedro P-C1-N-HN1.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Turner, 2005).

A simetria observada na Figura 30 indica que a curva de ajuste da superfície de energia potencial diedral foi apropriada para a molécula do glifosato na sequência de átomos P-C1-N-HN1 utilizando a metodologia HF/6-31G*.

A Figura 30 apresentou ambos os cálculos com dois mínimos de energia relacionados aos dois diedros formados com os diferentes hidrogênios (P-C1-N-HN1 e P-C1-N-HN2) no qual a menor energia ocorreu com o ângulo de 330° para curva *ab-initio* e 340° para a curva clássica, e uma diferença de energia em torno de $4,2 \text{ kJ mol}^{-1}$ (igualmente de acordo com o desvio padrão), o segundo mínimo em 210° para a curva *ab-initio* e 230° para a curva do método clássico apresentando novamente a proximidade entre cada metodologia.

5.1.3 Dinâmica Molecular para Análise dos Novos Parâmetros

A dinâmica molecular foi realizada para validar os parâmetros dos diedros próprios HO3-O3-P-C1, P-C1-N-HN1 no campo de força OPLS-AA obtidos neste estudo, com a finalidade de avaliar a eficiência das parametrizações. A Tabela 11 apresenta os valores dos ângulos dos mínimos de energia dos diedros computados com cálculos quânticos e clássicos.

Os valores para os ângulos vistos na Tabela 11, correspondentes à energia mínima obtida a partir de cálculos QM e da distribuição diédrica da simulação por MD, reforçam a comparação entre a energia mínima da superfície de energia potencial diédrica, de acordo com a proximidade entre os valores obtidos através dos cálculos quânticos e dos cálculos clássicos empregando as constantes obtidas.

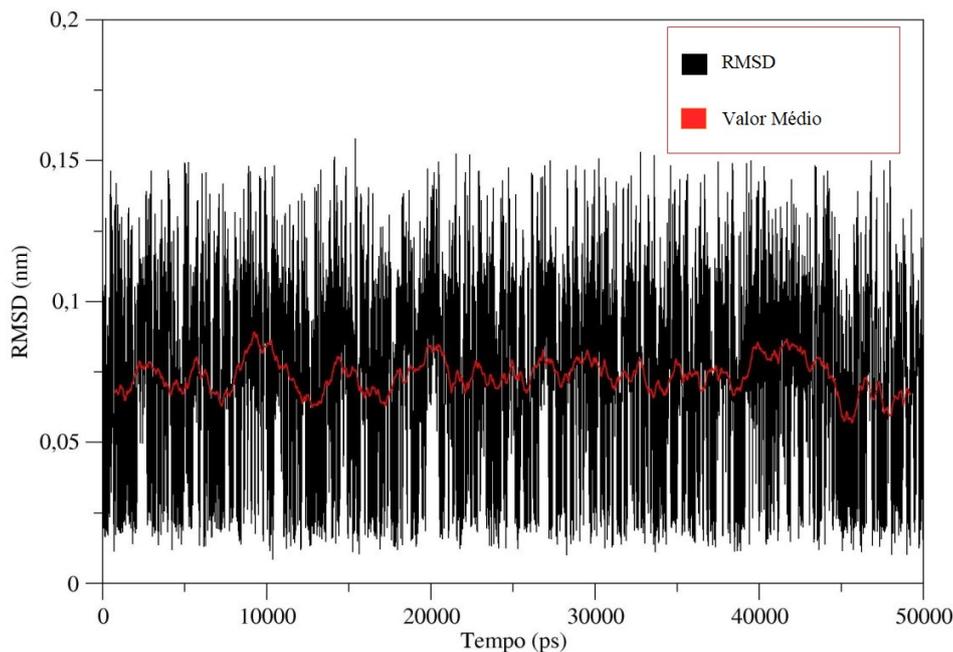
Tabela 11. Valores dos ângulos de torção obtidos na parametrização.

Diedros Parametrizados	Dinâmica Molecular Ψ (graus)	Cálculo Clássico Ψ (graus)**	HF/6-31G* Ψ (graus)
HO3-O3-P-C1	101/256	109/239	119/259
P-C1-N-HN1	208/331	240/340	210/330

** Fórmula utilizada:
$$F(\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \dots, \alpha_k) = \sum_{k=1}^m [f(x_k) - \Psi(x_k)]^2$$
$$\Psi(x_k) = \alpha_1 h_1(x_k) + \alpha_2 h_2(x_k) + \alpha_3 h_3(x_k) + \dots + \alpha_m h_m(x_k)$$

A molécula se mostrou estruturalmente alinhada durante o tempo de simulação, com valores de RMSD (Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio) entre 0,01 e 0,15 nm, considerados relevantes para a equilibração e estabilidade do glifosato. A Figura 31 apresenta as variações do desvio médio dos átomos do glifosato em relação a sua própria estrutura pela curva preta, e seu valor estatístico médio em 100 pontos unidos pela curva vermelha.

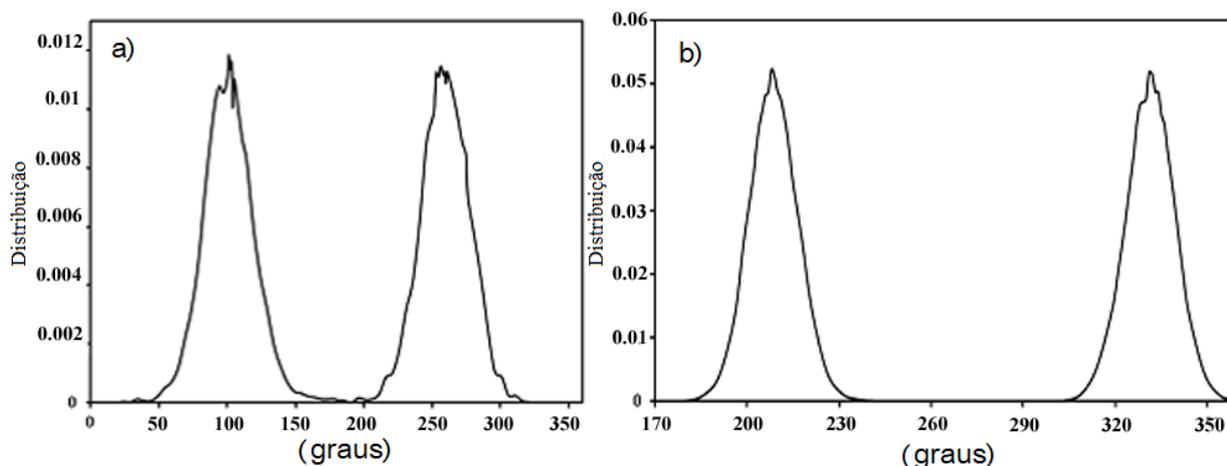
Figura 31. RMSD do herbicida glifosato durante toda a simulação computacional por dinâmica molecular com duração de 50ns.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

A estrutura molecular do glifosato se mostrou estável, conforme o gráfico de RMSD. A Figura 32 apresenta a distribuição de probabilidade dos ângulos durante o tempo de simulação de 50 ns por dinâmica molecular utilizando os parâmetros de cargas atômicas pelo modelo RESP e de barreiras rotacionais para os diedros próprios com temperatura de 298 K em solução aquosa.

Figura 32. Distribuição do ângulo torsional para o diedro HO3-O3-P-C1 (a) e para o diedro P-C-N-HN1 (b).



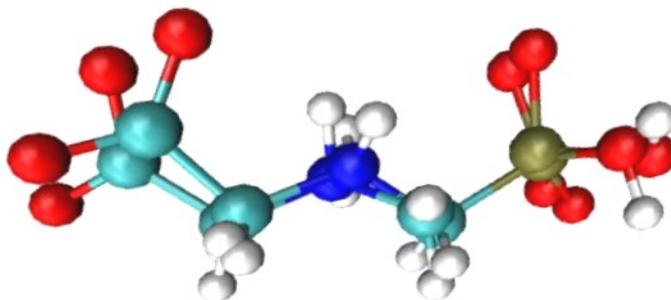
Fonte: Autor (Faria et al., 2018).

De acordo com a distribuição de probabilidade dos ângulos após a dinâmica molecular, o diedro HO3-O3-P-C1 apresentou duas distribuições principais, sendo uma no ângulo de 256° e outra no ângulo de 101°, sendo o mínimo de energia nos cálculos quânticos acertando no ângulo de 259°, o que coincide com uma das distribuições. Já para o diedro P-C1-N-HN1 igualmente ocorreu duas

distribuições principais, porém nos ângulos 331° e 208°, ângulos novamente muito próximos dos mínimos de energia obtidos através dos cálculos quânticos (323° e 206°).

Uma forma de avaliar o efeito da inserção dos parâmetros no campo de força OPLS-AA pode ser através da Figura 33, onde uma molécula de glifosato com geometria cristalográfica se sobrepõe a esta mesma molécula após 50ns de simulação computacional por dinâmica molecular, com valor médio de RMSD entre as duas estruturas equivalente a 0,07 nm.

Figura 33. Representação da sobreposição das moléculas do glifosato antes e após a simulação computacional por MD (representação em CPK).



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

Assim como os parâmetros do herbicida glifosato foram obtidos para o campo de força OPLS-AA, os parâmetros do biopolímero de quitosana também foram necessários, porém o grupo de pesquisa LCQC possui a quitosana previamente validada no campo de força Gromos53a6 (E. F. Franca et al., 2008). Assim, os valores ausentes no banco de dados do campo de força Gromos53a6 foram calculados e inseridos no campo de força OPLS-AA e, em seguida, submetidos a comparações entre os campos de força.

5.2 PARAMETRIZAÇÃO DA QUITOSANA PARA O CAMPO DE FORÇA OPLS-AA

5.2.1 Análise de Cargas entre os Campos de Força

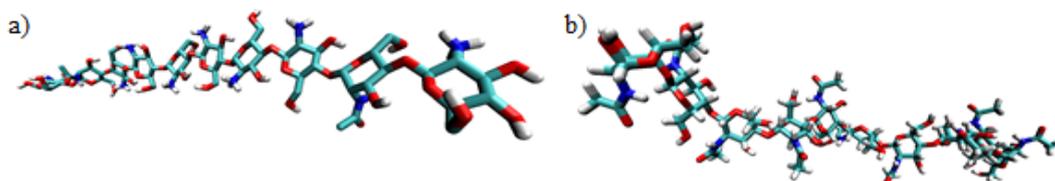
Os valores de carga atômica individual foram obtidos para os átomos não hidrogenóides, de forma que garantissem a neutralidade total da molécula. Para esclarecimento, a Figura 34 apresenta grupos atômicos nos quais as cargas de cada átomo foram obtidas conforme a Tabela 12.

Figura 34. Representação esquemática de quitosana onde cada átomo pode ser identificado pelo símbolo do seu elemento e número.

5.2.2 Dinâmica Molecular da Quitosana

As estruturas moleculares da quitosana possuem 161 átomos na modelagem do campo de força Gromos53a6 e 237 átomos na modelagem do campo de força OPLS-AA, suas representações tridimensionais são apresentadas na Figura 35.

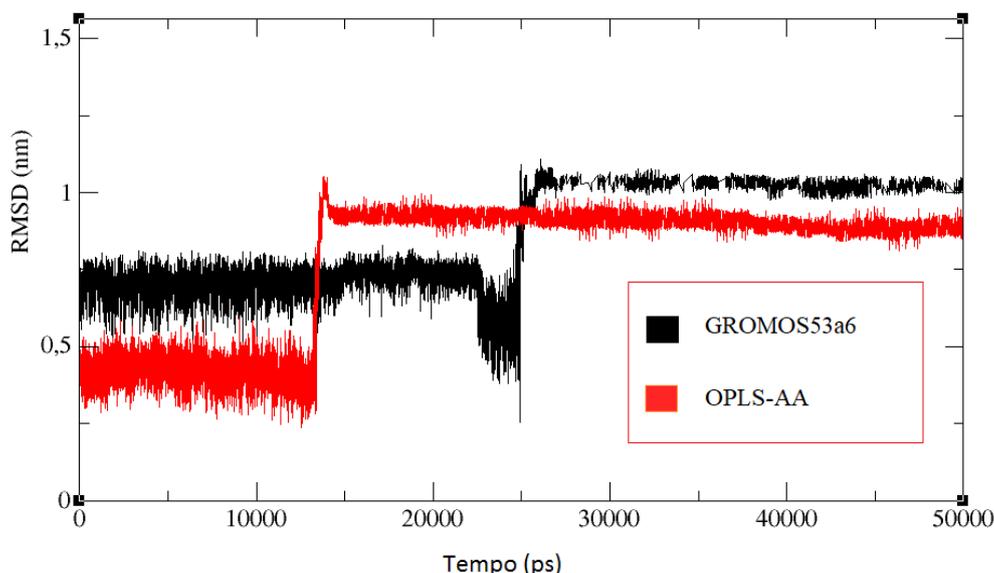
Figura 35. Quitosana em representação *Licorice* após MD implementada nos campos de força: a) Gromos53a6 com 131 átomos; e b) OPLS-AA com 237 átomos.



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

Após a execução de 50 ns de simulação para cada sistema, uma análise a respeito da mobilidade estrutural da quitosana foi realizada, através de cálculos de RMSD (Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio) e RMSDist (Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio para as Distâncias Atômicas), descritas nas Figuras 36 e 37, respectivamente, onde observa-se que a quitosana se comporta de forma análoga em ambos os sistemas, com as simples diferenças no tempo de convergência energética de cada simulação e na mobilidade conformacional da molécula.

Figura 36. RMSD da quitosana para os campos de força Gromos53a6 (preto) e OPLS-AA (vermelho).



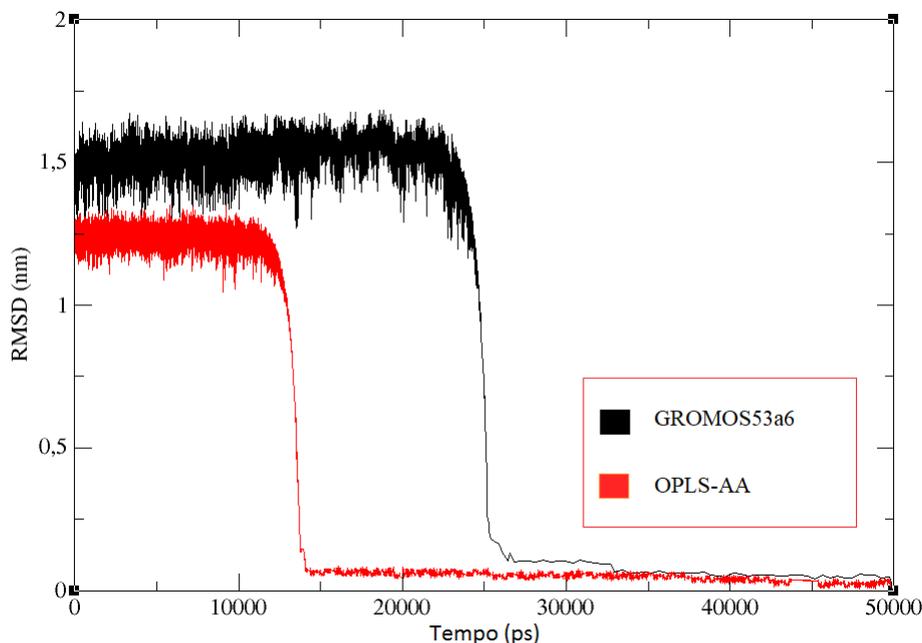
Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

A análise das variações conformacionais nas simulações, após a convergência energética dos modelos contendo quitosana no vácuo (identificada pelo aumento das curvas do gráfico), despontou

menor mobilidade estrutural para o sistema no campo de força OPLS-AA ($0,925 \text{ nm} \pm 0,011$) nm em comparação com Gromos53a6 ($1,162 \text{ nm} \pm 0,019$) nm).

A Figura 37 também confirma a menor mobilidade da quitosana para o sistema no campo de força OPLS-AA, de acordo com o cálculo da Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio para as Distâncias Atômicas da quitosana.

Figura 37. RMSDist da quitosana para os campos de força Gromos53a6 (preto) e OPLS-AA (vermelho).



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

Após atingir a mínima mobilidade estrutural considerável, os últimos 20 ns de simulação de MD foram analisados em termos de RMSDist, resultando no valor médio de $0,050 \pm 0,005$ para o sistema no campo de força Gromos53a6 e no valor médio de $0,047 \pm 0,006$ para o sistema no campo de força OPLS-AA, indicando elevada proximidade no comportamento estrutural da quitosana em ambos os campos de força após atingido o equilíbrio termodinâmico.

A definição atomística mais detalhada apresentou estrutura simulada mais flexível e com menor tempo de convergência na descrição rígida para o equilíbrio quando confrontada com o campo de força Gromos53a6.

Conclui-se, portanto a maior rapidez e maiores valores de RMSD para o campo de força atomístico, recomendando a maior estabilidade estrutural da quitosana neste campo de força em relação ao Gromos53a6, esta apreciação aprova os parâmetros calculados e inseridos no campo de força OPLS-AA.

A análise de correlação estrutural para os valores de distâncias de ligação calculados nos sistemas com o campo de força OPLS-AA e Gromos53a6 são expostos na Tabela 13, sendo o desvio padrão para ambos os sistemas equivalente a $0,00041 \text{ nm}$.

Tabela 13. Distâncias de ligação atômica para os dois campos de força considerados (OPLS-AA e Gromos53a6).

Átomo	Distância Média OPLS-AA(nm)	Distância Média Gromos53a6(nm)	 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	0,0000
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

Fonte: Autor.

A Tabela 13 mostra a semelhança entre os valores de distância de ligação obtidos após a simulação computacional por dinâmica molecular, mesmo considerando os desvios-padrão, o que confirma os procedimentos empregados para a parametrização do biopolímero na importância dos valores de distâncias de ligação.

A análise estrutural da Tabela 14 correlaciona os valores de ângulos de ligação da molécula de quitosana em ambos os campos de força, apresentando ampla semelhança entre os valores calculados após 50 ns de simulação computacional por MD.

Pode-se perceber em alguns casos da Tabela 14, a mínima diferença entre os ângulos e em outros a diferença quase nula, aprovando novamente a parametrização da quitosana em relação aos seus ângulos de ligação.

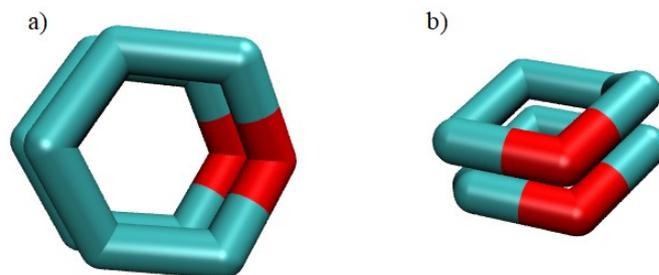
Tabela 14. Ângulos de ligação atômica do polissacarídeo computados para OPLS-AA e Gromos53a6.

Átomos	Ângulo OPLS-AA (°)	Desvio Padrão OPLS-AA (°)	Ângulo 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	0,697	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

Fonte: Autor.

Com a finalidade de conferir a eficiência da parametrização da quitosana para o campo de força OPLS-AA, os anéis glicopiranosídicos da quitosana de cada campo de força foram fundidos até a obtenção de um anel resultante, e em seguida foram sobrepostos para comparação entre suas estruturas. A Figura 38 apresenta os anéis glicopiranosídicos resultantes da fusão entre os 10 monômeros da quitosana para cada campo de força.

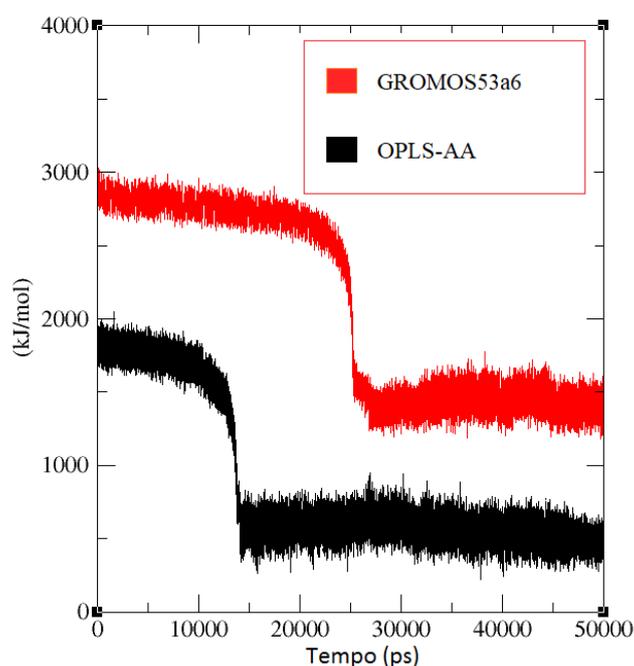
Figura 38. Anéis glicopiranosídicos resultantes da quitosana antes de serem sobrepostos. Sendo a) aspecto superior e b) lateral. Acima está o anel do campo de força Gromos53a6 e abaixo o anel do campo de força OPLS-AA;



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

O cálculo de RMSD entre os anéis das estruturas fundidas apresentou diferença de apenas 0,028 nm, este pequeno desvio estrutural novamente aprovou a parametrização da quitosana para o campo de força OPLS-AA. A energia total de ambos os sistemas estão descritos na Figura 39.

Figura 39. Gráfico com energia total para cada sistema contendo quitosana para o campos de força Gromos53a6 (vermelho) e OPLS-AA (preto).



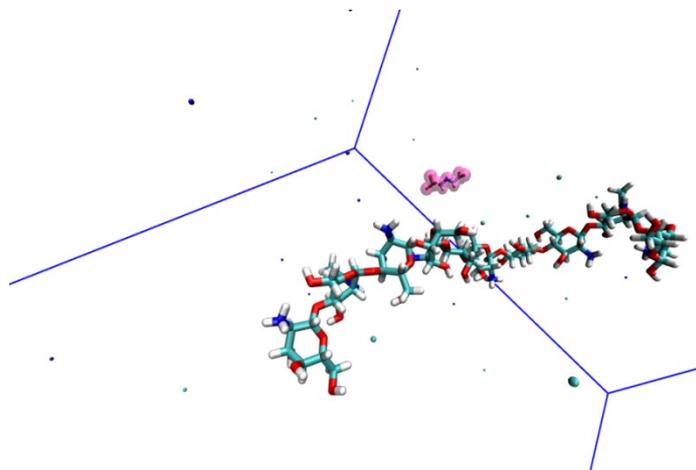
Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

A energia do biopolissacarídeo convergiu antes de 15 ns de simulação com o campo de força OPLS-AA e após 20 ns de simulação com o campo de força Gromos53a6. A estimativa energética total adquirida em equilíbrio equivale a $553,47 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($\pm 51,82$) para o OPLS-AA e $1393,34 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($\pm 45,11$) para o Gromos53a6. Estes valores estão de acordo com a convergência estrutural da quitosana identificada nos gráficos de RMSD e RMSDist nas Figuras 36 e 37.

5.3 DINÂMICA MOLECULAR DE SISTEMAS COM QUITOSANA E GLIFOSATO

O primeiro sistema molecular está representado na Figura 40, sendo 1 decâmero de quitosana e 1 molécula de glifosato, simulados por 30 ns para apresentar resultados qualitativos em relação a interação entre as duas moléculas.

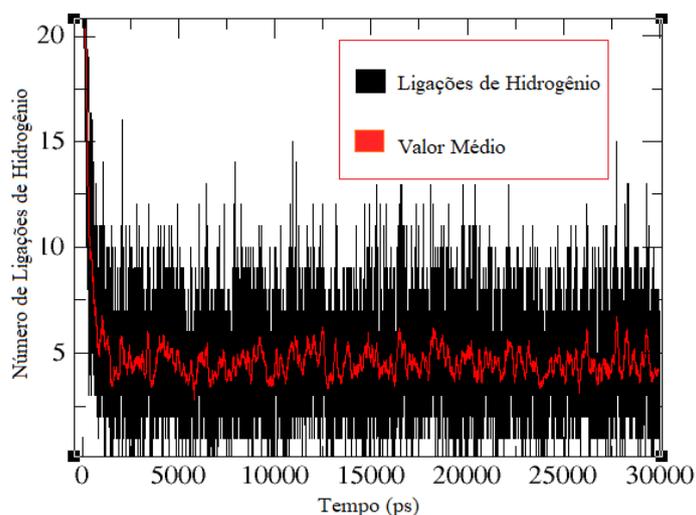
Figura 40. Aspecto molecular do sistema com 1 decâmero de quitosana e 1 molécula de glifosato em 21.514,00 ps de simulação, ambos em representação *Licorice*, sendo a superfície de van der Waals do glifosato em cor violeta .



Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

A Figura 40 expõe um momento de aproximação entre as duas moléculas no interior da caixa de simulação, indicando a existência de interações. O gráfico da Figura 41 mostra que a expectativa média de ocorrência variou entre quatro e cinco ligações de hidrogênio consecutivas, e o sistema possuiu capacidade de realização de até 15 ligações entre quitosana e glifosato ao mesmo tempo.

Figura 41. Gráfico com as ocorrências de ligações de hidrogênio entre quitosana e glifosato ao longo da simulação (preto), e seu valor estatístico médio com 50 pontos unidos (vermelho).



Fonte: Autor, através do programa Grace (Turner, 2005).

A contribuição de cada grupo interagente para as ligações de hidrogênio se encontra na Tabela 15, onde apresenta o percentual de ligações intermoleculares entre seus principais grupos passíveis de interação (hidroxilas e aminas da quitosana e os grupos PO_3^- , NH e CO_2^- do glifosato).

Tabela 15. Percentual do número efetivo de ligações de hidrogênio entre os principais grupos passíveis de interação entre 1 molécula de quitosana e 1 molécula do glifosato.

Glifosato	Quitosana	
	Hidroxilas	Grupos Nitrogenados
PO_3^-	40,35%	59,65%
CO_2^-	23,92%	76,08%
NH	27,52%	72,47%

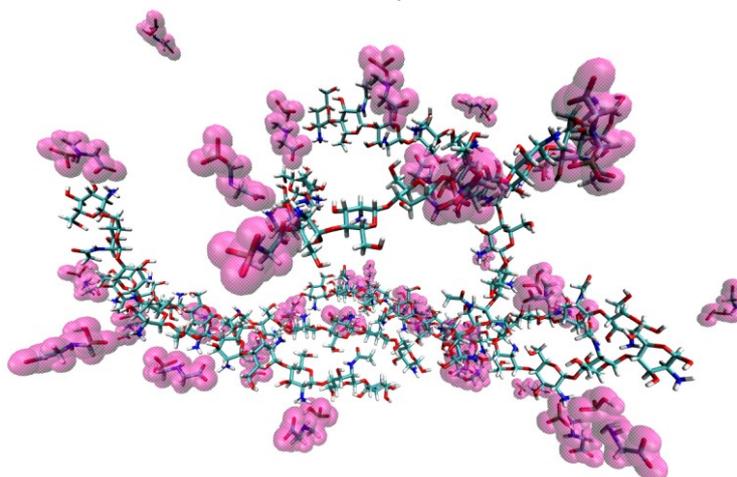
Fonte: Autor.

A Tabela 15 apresenta a maior ocorrência de ligações de hidrogênio com os grupos nitrogenados da quitosana, porém a análise do presente sistema com apenas duas moléculas fornece informações não muito significativas sobre suas interações intermoleculares. Deste modo, um sistema molecular contendo uma nanopartícula de quitosana em matriz 3x2 e 42 moléculas de glifosato permite a obtenção de dados irrefutáveis sobre o processo de influência mútua entre glifosato e quitosana.

5.3.1 Sistema Contendo 60 Monômeros de Quitosana e 42 Moléculas de Glifosato

O sistema molecular da Figura 42 foi simulado por 25 ns e os resultados a respeito da interação entre quitosana e glifosato ocorreram por cálculos de interações intermoleculares de hidrogênio e RDF (Função de Distribuição Radial de Pares Atômicos).

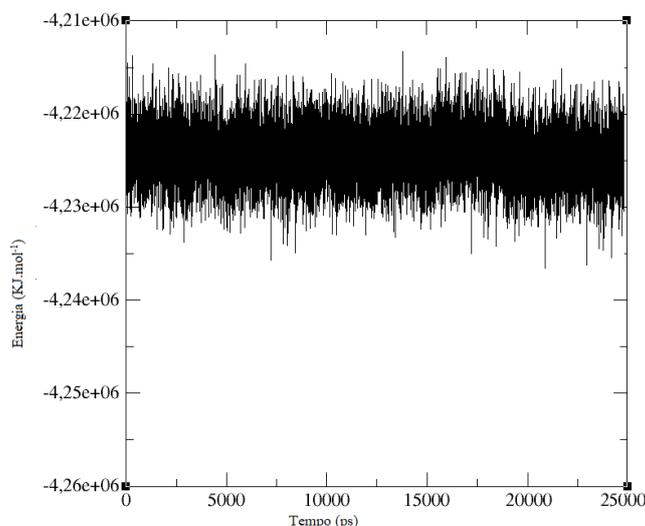
Figura 42. Representação molecular do sistema com 6 decâmeros de quitosana (representação *Licorice*) e 42 moléculas de glifosato com a superfície de van der Waals (roxo) após 9 ns de simulação.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

Com maior tempo de cálculo e após a convergência para um mínimo de energia do sistema, as análises podem ser observadas com melhor detalhamento. A Figura 43 apresenta a energia total do sistema ao longo do tempo de simulação.

Figura 43. Energia total do sistema contendo 6 decâmeros de quitosana (Licorice) e 42 moléculas de glifosato.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

A energia total do sistema apresentada na Figura 43 mostra a estabilidade molecular ao longo de 25 ns de simulação, a quantidade de interações intermoleculares de hidrogênio foram calculadas e seu percentual de ocorrências está exposto na Tabela 16.

Tabela 16. Percentual do número de ligações de hidrogênio entre os principais grupos passíveis de interação entre quitosana e glifosato.

Glifosato	Quitosana	
	Hidroxilas	Grupos Nitrogenados
PO₃⁻	12,01%	87,98%
CO₂⁻	12,53%	87,47%
NH	27,59%	72,40%

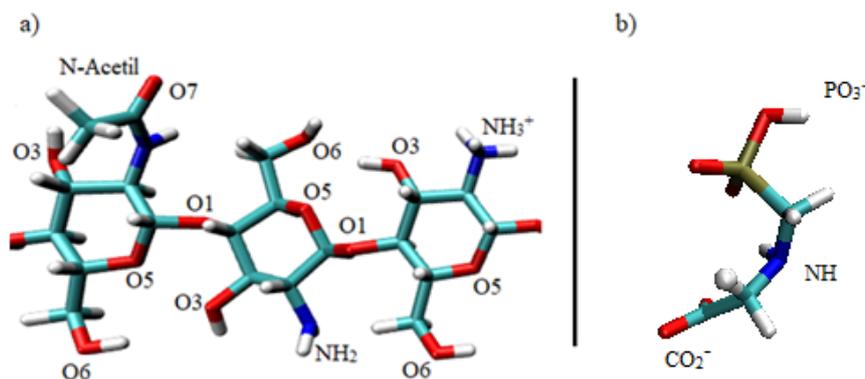
Fonte: Autor.

O percentual de ligações intermoleculares confirmou a previsão do sistema contendo apenas uma molécula de glifosato e um decâmero de quitosana, onde as interações intermoleculares de hidrogênio com os grupos nitrogenados da quitosana ocorreram em maior proporção.

Um elemento imprescindível para analisar as principais interações entre as moléculas é o cálculo da distribuição radial de pares atômicos (RDF), esta análise é conjecturada para estimar as extensões mediais entre os pares de átomos durante toda a simulação computacional. A estimativa ocorre através do cálculo do valor médio temporal da função $g(r)$ normalizada. A Figura 44 ilustra

os principais átomos de quitosana e glifosato analisados através da função de distribuição radial de pares atômicos.

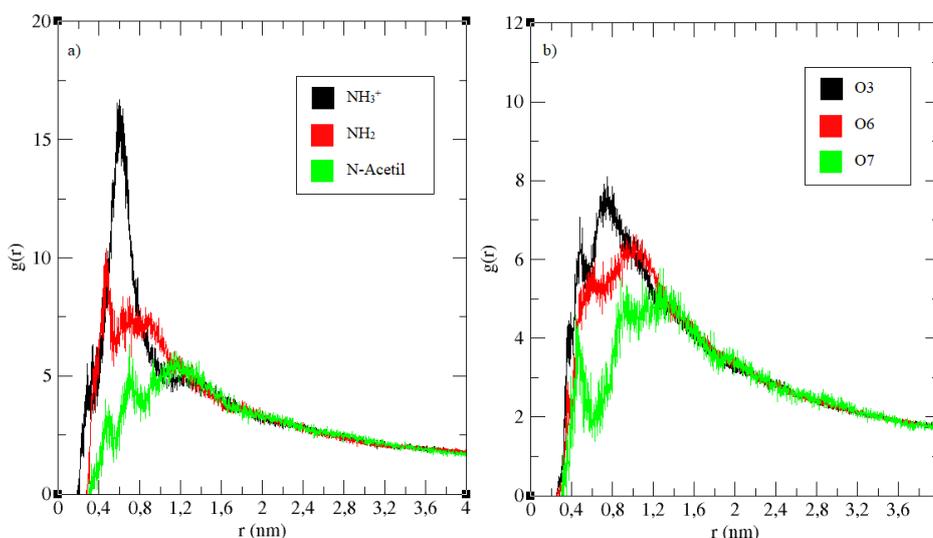
Figura 44. Principais átomos dos grupos de interação de a) quitosana; b) glifosato.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) (Humphrey et al., 1996).

A observação de que um gráfico de RDF apresente elevada definição no pico inicial significa clara interação de curto alcance entre o par atômico, este fato sugere a menor movimentação em meio aos átomos, expressando um pico bem definido, com pequena distância r . A Figura 45 apresenta os diagramas de RDF entre os átomos de nitrogênio do grupo NH do glifosato e os principais grupos ativos da quitosana. A observação deste gráfico indica uma fraca interação entre os grupos NH do glifosato e os principais grupos da quitosana (hidroxilas e aminas), com aproximações pouco eficazes entre os pares atômicos.

Figura 45. RDF entre os átomos de nitrogênio do grupo NH do glifosato com os grupos da quitosana: a) nitrogenados; b) oxigenados.



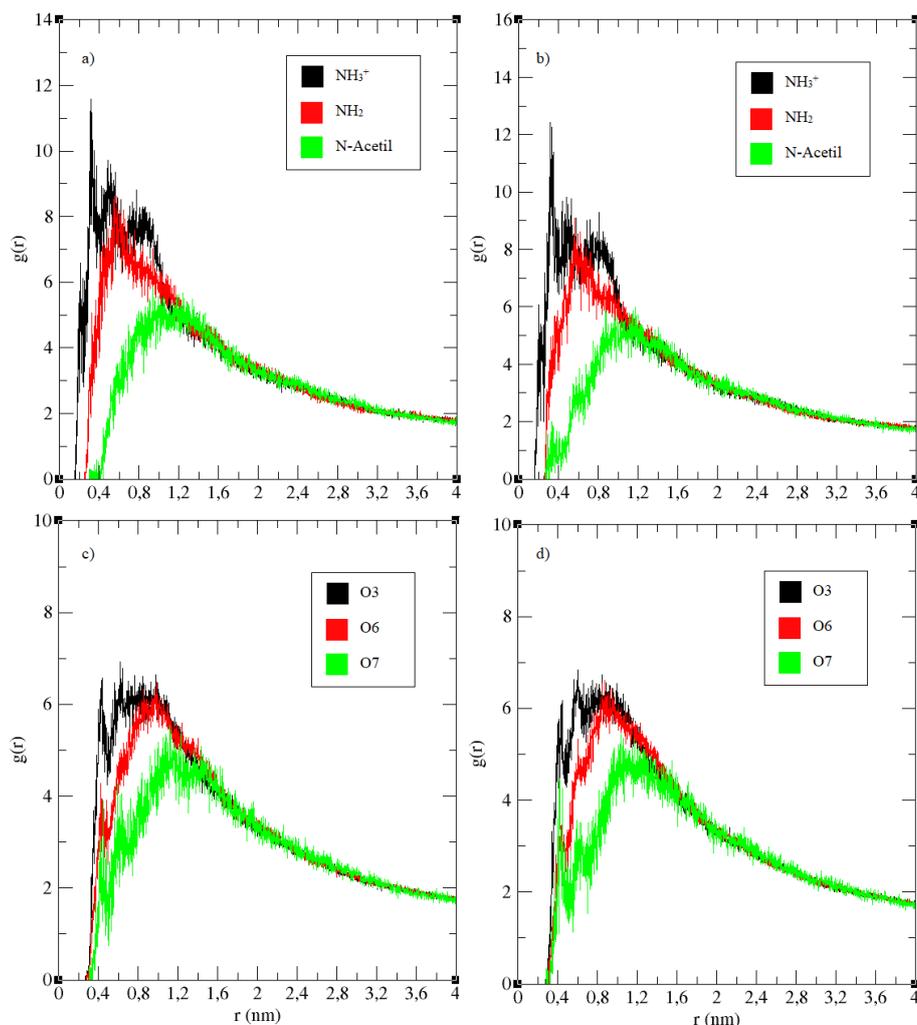
Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

A quitosana, por ser uma molécula com caráter catiônico nas condições físico-químicas empregadas neste sistema, se conservou preferencialmente afastada dos grupos amina do glifosato,

porém, o maior pico destes diagramas se refere às aminas protonadas da quitosana (NH_3^+), com isso espera-se haver interações mais fortes com os grupos aniônicos do grupo carbonila (CO_2^-) do herbicida glifosato.

A Figura 46 apresenta os respectivos diagramas de RDF entre os grupos de interação da quitosana e os átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato, indicando a existência de interações entre os grupos CO_2^- do glifosato e os principais grupos da quitosana (hidroxilas e aminas). Porém, o pico mais elevado e perceptível indicou aproximadamente 0,25 nm de distância entre os átomos de nitrogênio da amina protonada da quitosana e os átomos de oxigênio O4⁻ e O5 do grupo CO_2^- do glifosato.

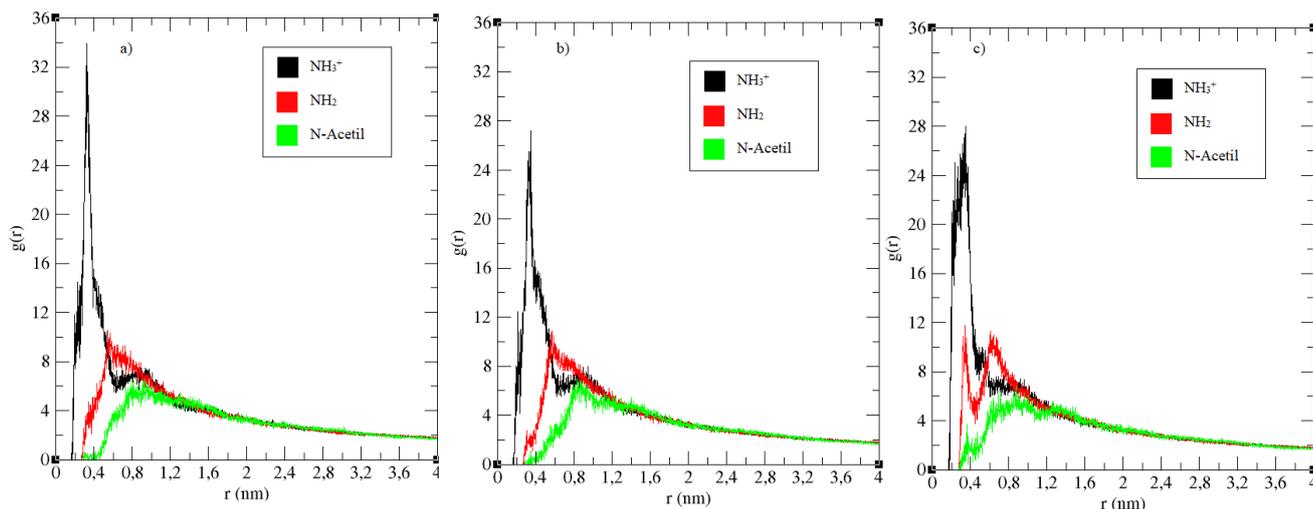
Figura 46. RDF entre os átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato com os grupos da quitosana. Sendo: a) átomos O4⁻ do glifosato com os grupos nitrogenados da quitosana; b) átomos O5 do glifosato com os grupos nitrogenados da quitosana; c) átomos O4⁻ do glifosato com os grupos oxigenados da quitosana; d) átomos O5 do glifosato com os grupos oxigenados da quitosana.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

O grupo fosfonato (PO_3^-) corresponde ao grupo mais plausível de interação do glifosato, as Figuras 47 e 48 mostram a representação dos gráficos RDF entre os principais grupos ativos da quitosana e os átomos de oxigênio O1⁻, O2 e O3 do grupo PO_3^- das moléculas do glifosato.

Figura 47. RDF entre os grupos nitrogenados da quitosana e os átomos de oxigênio do grupo PO_3^- do glifosato: a) O1^- ; b) O2 ; c) O3 .

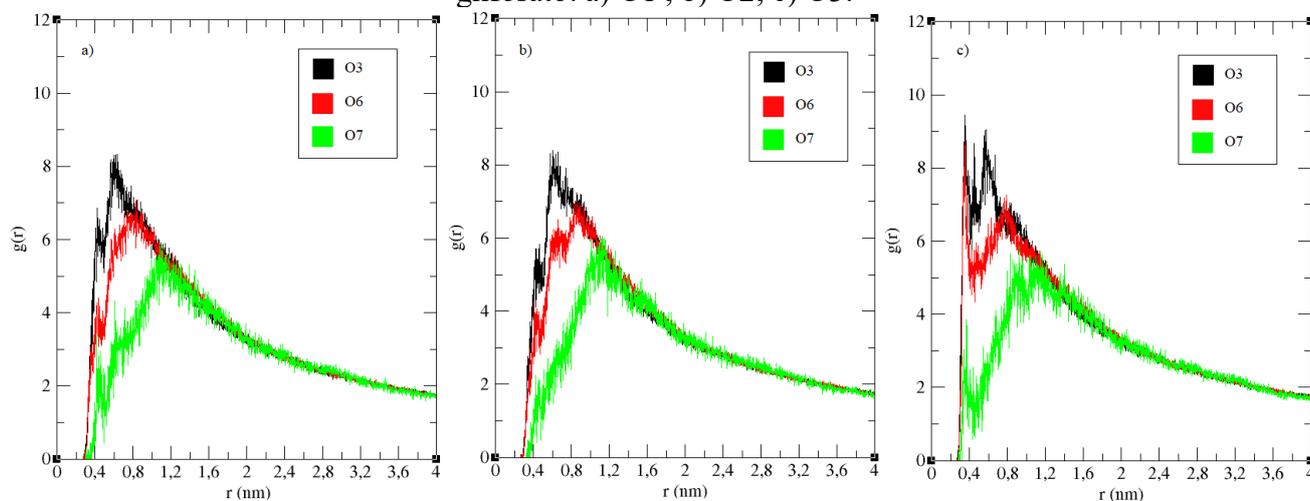


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

O grupo fosfonato do herbicida glifosato possui 3 átomos de oxigênio, o primeiro carregado negativamente (O1^-), o segundo referente a uma carbonila (O2) e o último (O3) protonado na forma de hidroxila.

A análise dos gráficos RDF para o grupo PO_3^- ocorreu com valor médio para o átomo O1^- superior a todos os demais valores, expressando um pico bem definido, com a menor distância r , isto ocorre devido ao efeito de carga.

Figura 48. RDF entre os grupos oxigenados da quitosana e os átomos de oxigênio do grupo PO_3^- do glifosato: a) O1^- ; b) O2 ; c) O3 .



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

De forma uniforme, foi observado pela Figura 48, que os grupos oxigenados apresentaram baixa interação com o glifosato em comparação aos grupos nitrogenados.

O átomo O1⁻ do glifosato interagiu de forma mais efetiva com os grupos nitrogenados da quitosana, por se tratar de um átomo carregado negativamente e, os átomos O2 e O3 interagiram em similar proporção, o primeiro pertencente a uma dupla ligação e menos disponível estericamente para interagir com a quitosana e o segundo com capacidade de agir como grupo doador de hidrogênio para realização de interação intermolecular de hidrogênio.

Os grupos com maiores interações ao longo da trajetória de toda simulação computacional foram as aminas protonadas da quitosana (NH₃⁺) e os fosfonatos do glifosato (PO₃⁻). Esta análise concorda com a porcentagem de ligações intermoleculares de hidrogênio entre os respectivos grupos apresentados na Tabela 17.

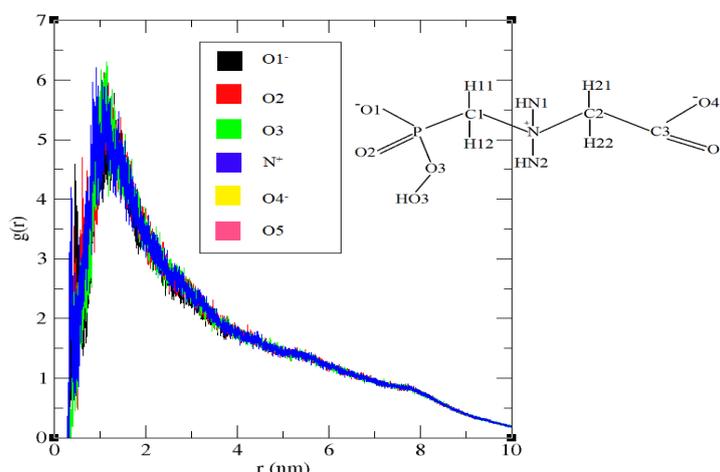
Tabela 17. Percentual de ligações de hidrogênio entre os grupos nitrogenados da quitosana e o grupo fosfonato do herbicida glifosato (PO₃⁻).

Glifosato	Quitosana		
	NH ₃ ⁺	NH ₂	N-Acetil
PO ₃ ⁻	64,12%	28,56%	7,32%

Fonte: Autor.

Alguns átomos e grupos específicos da quitosana tiveram interações pouco efetivas com o herbicida, o átomo de oxigênio O7 presente no grupo N-Acetil corresponde ao oxigênio mais afastado do decâmero e poderia se esperar grande ocorrência de interações, porém a Figura 49 apresenta as curvas de RDF entre as interações dos átomos de oxigênio O7 da quitosana e todos os átomos mais eletronegativos do glifosato, indicando baixa interatividade.

Figura 49. Gráfico de RDF entre as interações dos átomos de oxigênio O7 com todos os átomos interativos do glifosato.

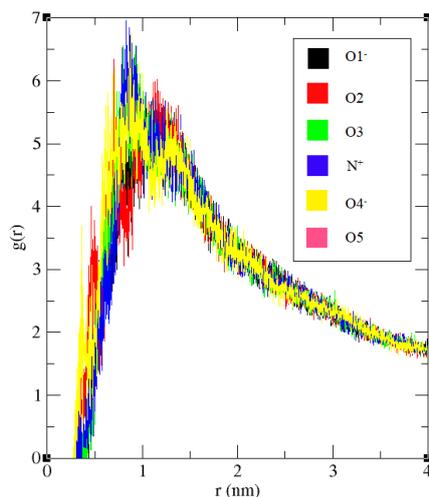


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

O átomo de oxigênio O7, assim como todo o grupo N-acetil da quitosana, apresentou-se com menores interações com o herbicida glifosato, isto porque seus átomos podem sofrer impedimento estérico decorrente ao grupo metila hidrofóbico também presente no grupo N-acetil da quitosana. A

Figura 50 representa os gráficos RDF entre os átomos de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana e todos os átomos passíveis de interação do glifosato.

Figura 50. Gráfico de RDF entre o nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana com os grupos interativos do glifosato.



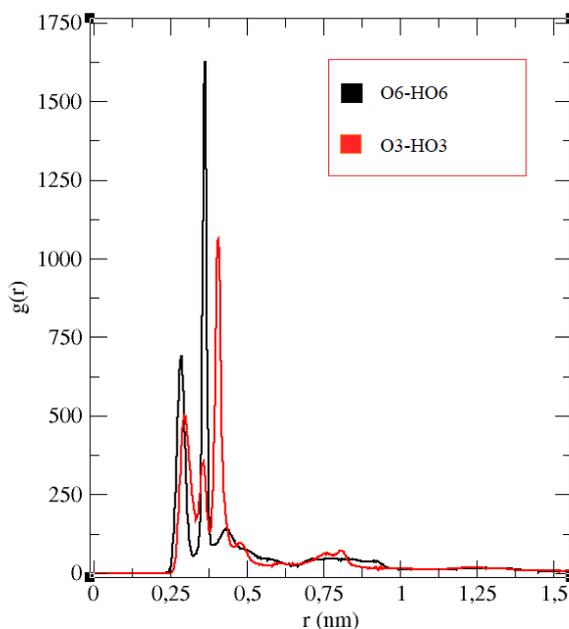
Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

Os átomos de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana também apresentaram poucas interações com o herbicida glifosato, pelo mesmo motivo de ocorrência de impedimento estérico decorrente ao grupo metila hidrofóbico.

A análise das hidroxilas da quitosana com o glifosato possui igual importância. As duas principais hidroxilas do biopolímero são: uma secundária, ligada ao carbono do anel glicopiranosídico (O3–HO3); uma primária, ligada a um carbono fora do anel (O6–HO6).

Os gráficos de RDF entre os oxigênios das hidroxilas primárias e secundárias da quitosana e os principais grupos de interação do glifosato mostraram a fraca interação entre as espécies. Uma explicação plausível seria a ocorrência de interações intramoleculares com o átomo de oxigênio O5 do anel, da forma O5...HO3-O3 e O5...HO6-O6. Para isso, foram calculados os diagramas de RDF intramolecular, apresentado pela Figura 51, entre o átomo O5 e os átomos de oxigênio das hidroxilas primárias (O6-HO6) e secundárias (O3-HO3).

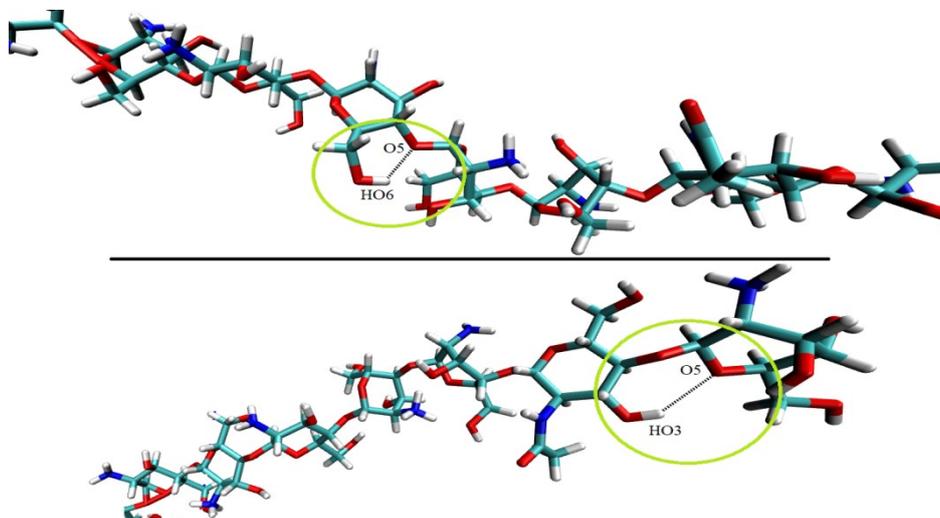
Figura 51. RDF entre o átomo O5 e os átomos de oxigênio das hidroxilas primárias (O6 em preto) e secundárias (O3 em vermelho).



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

A ocorrência das interações intramoleculares pode ser evidenciado pela Figura 51, onde aponta a predominância de duas distâncias interatômicas diferentes (dois picos bem definidos). A primeira sugere a interação intramolecular de hidrogênio e a segunda corresponde à periodicidade dos grupos dentro do próprio decâmero. A Figura 52 ilustra a forma de ocorrência destas duas interações intramoleculares.

Figura 52. Ilustração da ocorrência de interação intramolecular da quitosana entre o átomo O5 e os átomos de oxigênio dos grupos: a) HO3 e b) HO6.



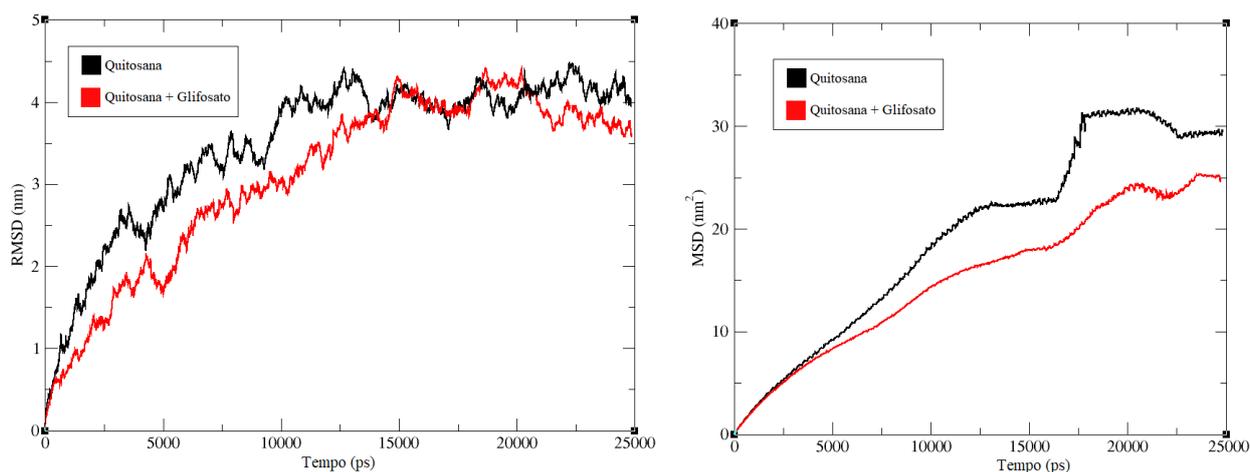
Fonte: Autor, através do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (Humphrey et al., 1996).

5.3.2 Sistema Contendo 60 Monômeros de Quitosana Sem Glifosato

Com a finalidade de comparar o efeito da interação entre quitosana e glifosato, o presente sistema foi simulado para os mesmos 6 decâmeros de quitosana, também em 25 ns, porém na ausência de moléculas de glifosato.

Os diagramas da Figura 53 apresentam análises de RMSD e MSD (Desvio Quadrático Médio) das moléculas de quitosana, evidenciando a convergência estrutural dos sistemas e avaliando as diferenças na mobilidade de cada molécula na presença e na ausência do herbicida.

Figura 53. Diagramas de análises estruturais RMSD e MSD das posições atômicas para os sistemas contendo quitosana sem glifosato (preto) e quitosana com glifosato (vermelho).

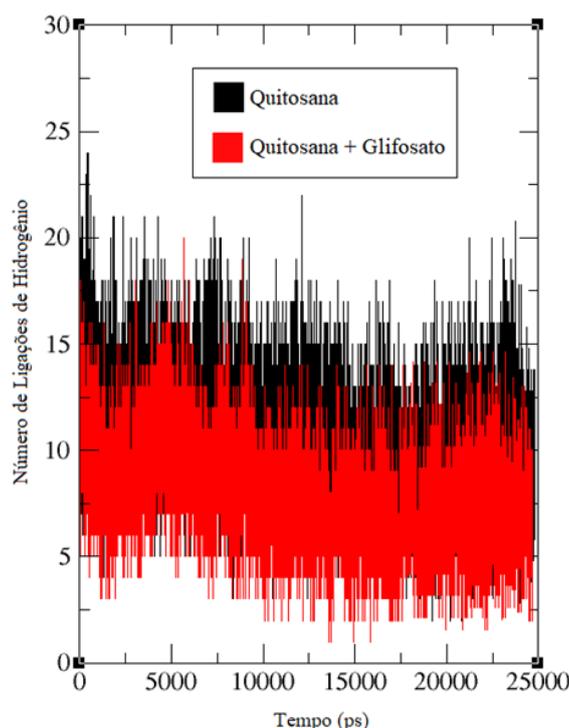


Fonte: Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

A observação dos diagramas da Figura 53 esclarece a maior mobilidade da estrutura da quitosana na ausência do glifosato, onde se comprova a participação do herbicida efetivamente na restrição das posições dos átomos da quitosana em solução. Isto ocorre devido às interações intermoleculares de hidrogênio entre quitosana e glifosato.

Uma análise a respeito da quantidade de ligações de hidrogênio entre os decâmeros de quitosana para ambos os sistemas, na presença e na ausência do herbicida, está representada no gráfico da Figura 54.

Figura 54. Gráfico com as ocorrências de ligações de hidrogênio entre as moléculas de quitosana ao longo das simulações sem glifosato (preto) e com glifosato (vermelho).



Fonte: Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

Segundo a Figura 54, a quantidade de ligações de hidrogênio contabilizadas entre os decâmeros de quitosana para ambos os sistemas aponta a restrição da mobilidade estrutural da quitosana provocada pelo glifosato, mostrando maior ocorrência no número de interações entre as moléculas de quitosana (intermoleculares e intramoleculares) na ausência do herbicida, com número médio de ligações equivalente a $14,32 (\pm 1,47)$ comparado ao valor médio de $7,42 (\pm 0,98)$ na presença do herbicida.

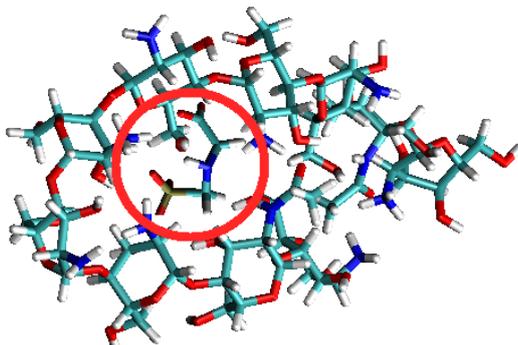
5.3.3 Potencial de Força Média da Ligação entre Quitosana e Glifosato

Neste ponto foi estudado o afastamento gradual do glifosato em relação à quitosana usando o método de Dinâmica Molecular Direcional (SMD) para obter o Potencial de Força Média (PMF). Como explicado no Tópico 4.4 do Capítulo 4 – Metodologia, foi utilizada a técnica *Umbrella Sampling*, criando gráficos para descrever o valor médio dos perfis de energia livre aplicados ao longo da trajetória.

A representação da primeira simulação por SMD possui valor de constante de mola equivalente a $367 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ e constante de velocidade de $0,001 \text{ nm ps}^{-1}$, de acordo com o valor utilizado no cantiléver do AFM para detecção do herbicida em nanobiosensor (Júnior, M. F. F.; 2016). As

simulações ocorreram em 6 ns; as Figuras 55, 56 e 57 representam 3 intervalos analisados na trajetória. A primeira mostra o instante inicial da simulação, após termalização, onde o glifosato está totalmente envolto pela quitosana.

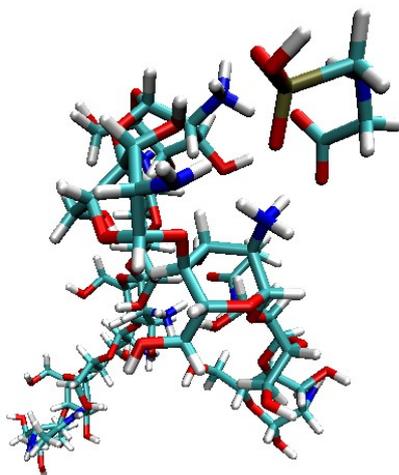
Figura 55. Representação dos sistemas antes do afastamento do glifosato (*Licorice*), com destaque no herbicida aprisionado pelos monômeros de quitosana.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics)(Humphrey et al., 1996).

A Figura 56 representa o instante intermediário do afastamento, em 2516 ps, um intervalo anterior ao primeiro rompimento do herbicida (primeiro pico a ser observado no gráfico da Figura 58).

Figura 56. Representação em *Licorice* do intervalo intermediário de interação entre glifosato e quitosana.

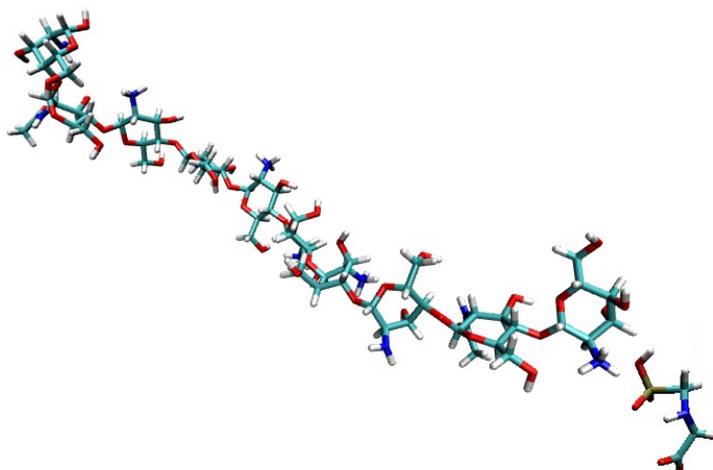


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics)(Humphrey et al., 1996).

A Figura 56 ilustra o processo de afastamento do glifosato sob seu centro de massa, em 3578 ps de simulação, após o primeiro rompimento das moléculas seguido da formação de novas interações intermoleculares entre glifosato e quitosana.

A Figura 57 apresenta o último instante após o rompimento completo do complexo, exatamente em 5305 ps de simulação.

Figura 57. Representação do intervalo antes do desprendimento da concavidade onde havia interações entre quitosana e glifosato, com representação em *Licorice*.

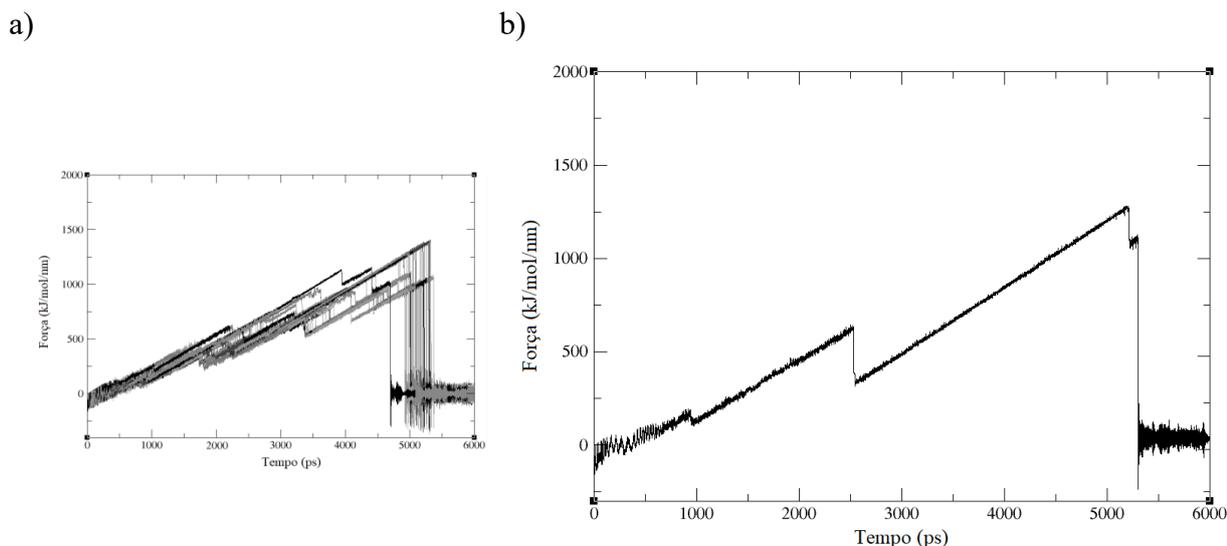


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics)(Humphrey et al., 1996).

A adsorção do glifosato pelo biopolímero ocorreu principalmente devido, principalmente, à formação das interações eletrostáticas e foram intensas no decorrer do tempo de simulação.

O aumento gradual da força de tração em função do tempo para as 66 simulações por SMD com constante de mola equivalente a $367 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ e constante de velocidade = $0,001 \text{ nm ps}^{-1}$ é apresentado através do gráfico na Figura 58a, ao lado do gráfico representativo ampliado (Figura 58b).

Figura 58. Evolução temporal média (ps) da força aplicada ($\text{kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$) para o afastamento do glifosato em interação com quitosana (à esquerda a junção de todos os gráficos formados pelas 66 simulações e à direita o gráfico com o valor médio).



Fonte: Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

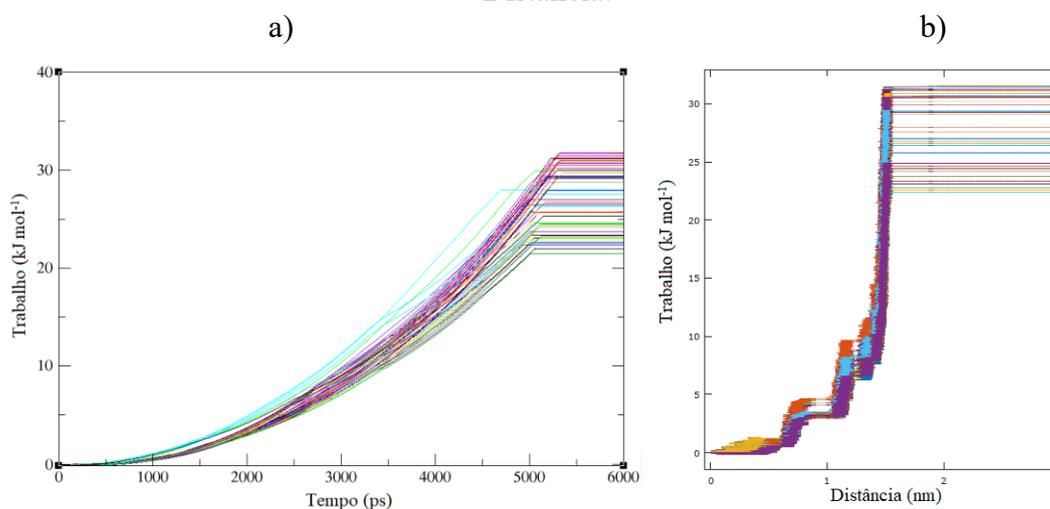
A Figura 58b apresenta a análise gráfica média da força de afastamento aplicada ao glifosato, as regiões do gráfico com queda indicam o rompimento de ligações intermoleculares seguidas da formação de novas interações, sendo o último momento correspondente ao rompimento absoluto

das moléculas. Os intervalos capturados para formar as Figuras 55, 56 e 57, anteriores, correspondem aos instantes: anterior ao 1º pico, intermediário e posterior ao 2º pico, respectivamente.

A força máxima observada para cada simulação por SMD indica o ponto em que ocorre o rompimento total entre as moléculas, sendo essas interações predominantemente coulômbicas. A comparação da força máxima de tração para vários sistemas não produz uma tendência significativa específica sobre a energia livre de ligação, uma vez que várias interações entre quitosana e glifosato ocorreram simultaneamente nos sistemas modelados por SMD.

Os perfis de trabalho em função do tempo e das distâncias são apresentados na Figura 59, estes também obtidos para 66 trajetórias do complexo quitosana-glifosato em 6 ns cada, com constante de mola equivalente a $367 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ e constante de velocidade $0,001 \text{ nm ps}^{-1}$.

Figura 59. Gráficos com os valores de 66 simulações de SMD: a) Trabalho x Tempo; b) Trabalho x Distância.

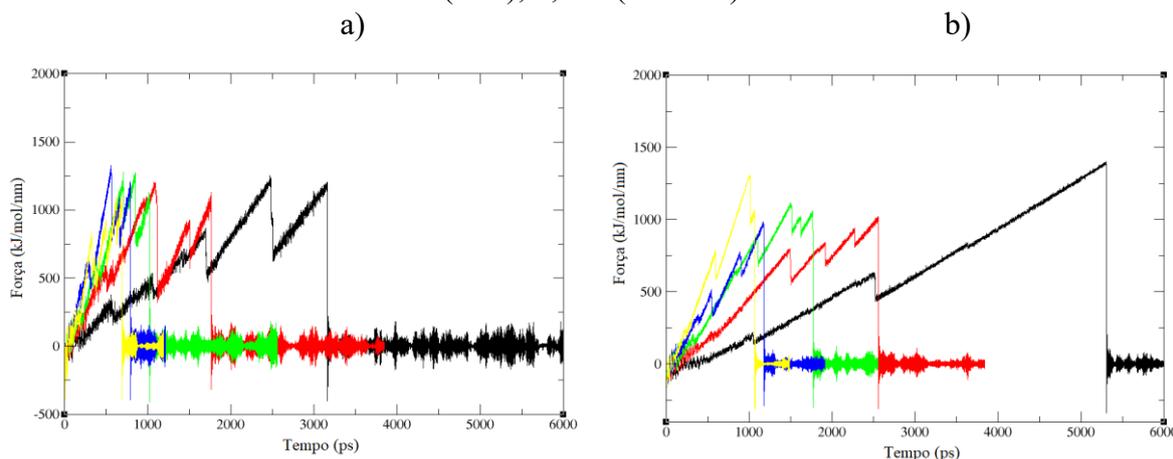


Fonte: Fonte: Autor, esquerda através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005) e direita através do programa Octave 3.0.1 (Eaton et al., 2009).

As curvas de trabalho resultantes sofrem um aumento acentuado a partir dos primeiros 0,6 nm de deslocamento observado pela Figura 59b, onde as ligações de hidrogênio e as interações de van der Waals começam a serem desfeitas. Até que em 1,5 nm, quando todas as interações desaparecem, um valor de platô é alcançado, evidenciando o rompimento final da adsorção, em aproximadamente 5700 ps, de acordo com a Figura 59a.

A análise gráfica de forças de afastamento gradual aplicada no glifosato em 10 simulações por SMD diferentes ao longo da coordenada do eixo x, com 5 valores distintos de constantes de velocidade para as constantes de mola $k = 1000 \text{ kJ mol}^{-1}$ e 367 kJ mol^{-1} são apresentadas nas Figuras 60a e 60b, respectivamente.

Figura 60. Evolução temporal média (ps) da força aplicada ($\text{kJ mol}^{-1} \text{nm}^{-1}$) para o afastamento do glicosato em interação com quitosana, utilizando as constantes de mola: a) 1000 kJ mol^{-1} ; b) 367 kJ mol^{-1} . Sendo as constantes de velocidade: 0,001 (preto); 0,002 (vermelho); 0,003 (verde); 0,004 (azul); 0,005 (amarelo).

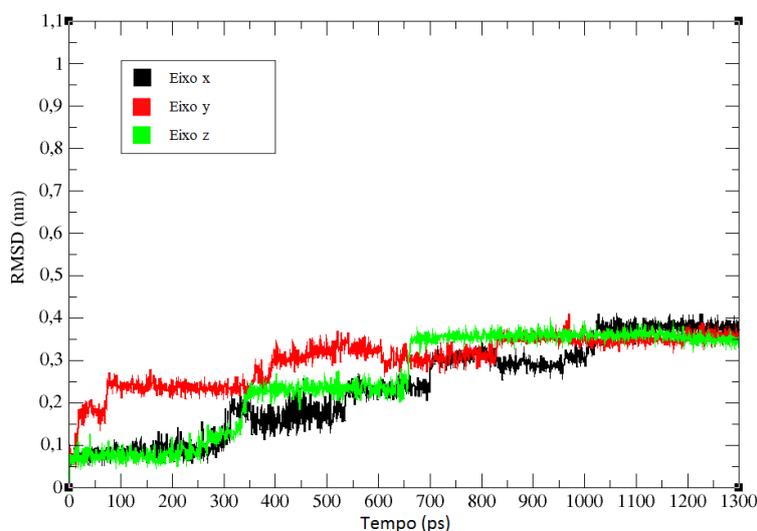


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

O PMF foi então calculado para outras 594 simulações de SMD, preferencialmente para $k = 367 \text{ kJ mol}^{-1} \text{nm}^{-1}$ e $v = 0,005 \text{ nm ps}^{-1}$, por apresentar 1300 ps cada e uma distância considerável entre os picos de força em função do tempo.

A raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD) da quitosana para as simulações ao longo dos três eixos (x, y e z) é mostrada nas Figuras 61, 62 e 63 para as temperaturas 288, 298 e 308 K, respectivamente.

Figura 61. Diagramas de análises estruturais RMSD da quitosana para o afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos em função do tempo para temperatura de 288 K.

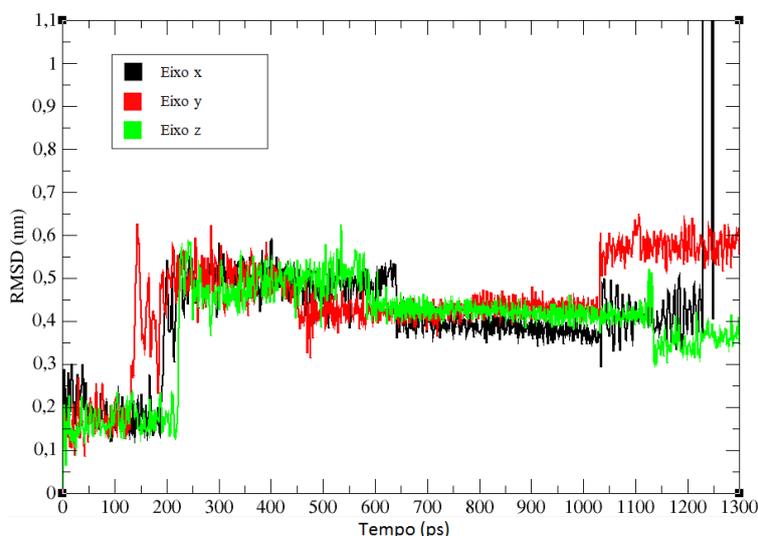


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

De acordo com os diagramas da Figura 61, os RMSDs da quitosana para as simulações ao longo dos eixos x, y e z foram muito próximos, e os valores médios foram calculados apenas durante o intervalo de afastamento gradual, sendo equivalentes a $0,2361 \pm 0,1077$; $0,3004 \pm 0,1018$;

$0,2563 \pm 0,1131$, respectivamente a 288 K, estes valores são muito semelhantes ao considerar seus respectivos desvios padrão. Igualmente, a Figura 62 corresponde à análise do RMSD da quitosana para outros 198 sistemas em temperatura de 298 K.

Figura 62. Diagramas de análises estruturais RMSD da quitosana para o afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos em função do tempo para temperatura de 298 K.

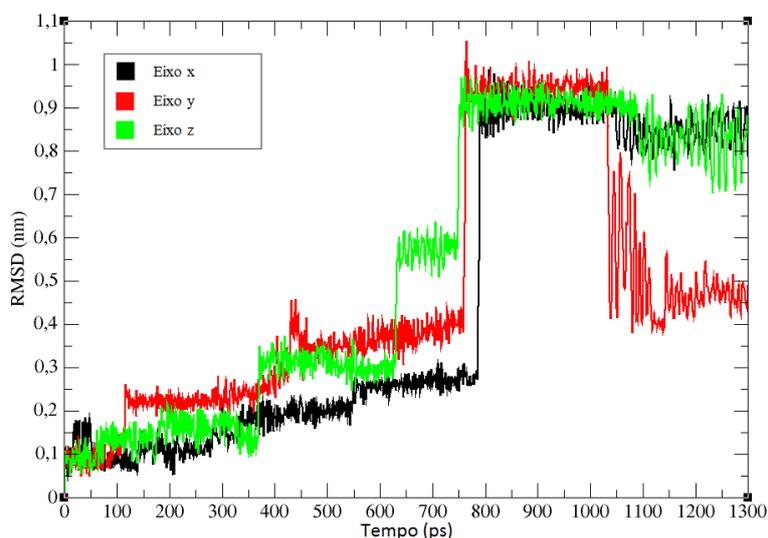


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

A Figura 62 mostra os valores de RMSD também muito semelhantes para os sistemas a 298 K, e os valores médios foram superiores aos valores obtidos a 288 K (Figura 61), conforme previsto, uma vez que o aumento da temperatura influi diretamente na energia interna da molécula e, com isso, sua mobilidade estrutural durante o intervalo do afastamento gradual. Os valores ao longo dos eixos x, y e z com seus desvios padrão foram respectivamente: $0,3973 \pm 0,1065$; $0,4363 \pm 0,1132$; $0,3920 \pm 0,1172$.

Os cálculos de RMSD da quitosana foram igualmente realizados para os sistemas a 308 K e os resultados estão apresentados através dos diagramas da Figura 63, onde apresentou valores médios ainda maiores: $0,3909 \pm 0,1122$; $0,4493 \pm 0,1077$; $0,4434 \pm 0,1179$, para o afastamento gradual nos eixos x, y e z respectivamente. Estes valores foram também semelhantes, assim como esperado pela tendência das análises dos sistemas nas outras temperaturas (288 e 298 K).

Figura 63. RMSD da quitosana nos 3 eixos cartesianos em função do tempo a 308 K.

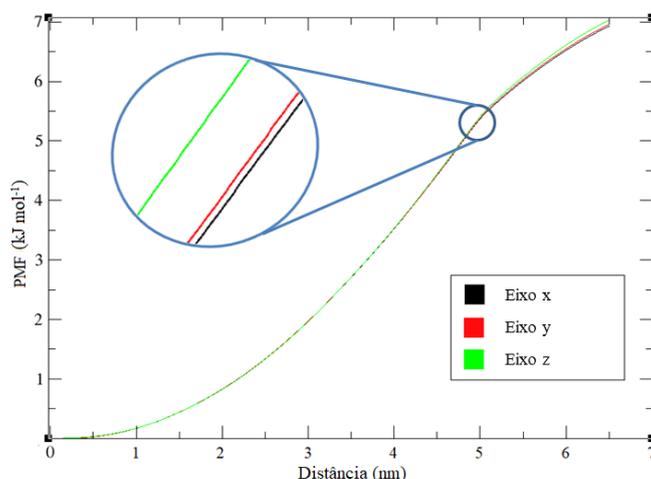


Fonte: Autor, através do programa Graphing, *Advanced Computation and Exploration* (Turner, 2005).

O RMSD da quitosana na dinâmica molecular direcional apresentou semelhança para o afastamento nos 3 eixos, com maiores mobilidades e flutuações em temperaturas mais elevadas.

Os perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação foram então calculados através da expansão cumulante de segunda ordem da igualdade de Jarzynski, conforme representado anteriormente na *Equação 38*. Os gráficos de PMF para os 3 eixos cartesianos estão apresentados nas Figuras 64, 65 e 66 para as temperaturas de 288, 298 e 308 K, respectivamente, totalizando as 594 simulações por SMD.

Figura 64. Perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para temperaturas de 288 K.

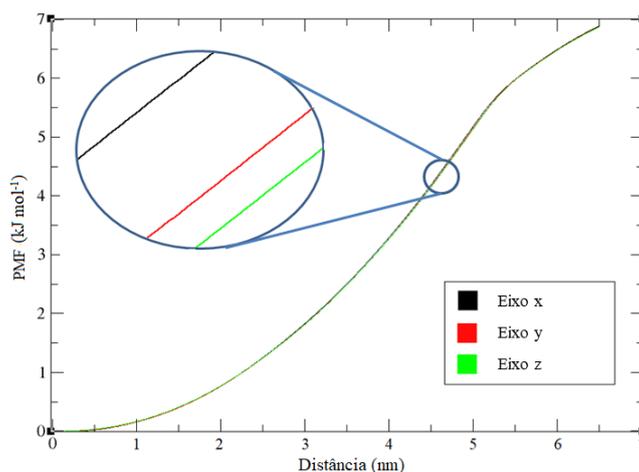


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

Os perfis de energia livre a 288 K apresentam valores muito próximos, com sobreposição das 3 curvas correspondentes ao afastamento gradual nos eixos x, y e z, indicando amostragens de perturbação suficientes para satisfazer a igualdade de Jarzynski. As barreiras de energia livre ao

longo dos eixos x, y e z apresentam valores de 6,92458; 6,95488 e 7,02853 kJ mol⁻¹, respectivamente. A Figura 65 apresenta os gráficos com os perfis de energia livre das simulações realizadas a 298 K.

Figura 65. Perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para temperaturas de 298 K.

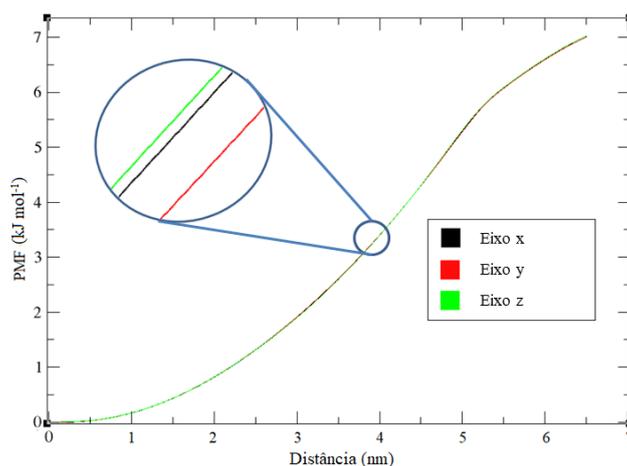


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

A mesma tendência foi identificada para os perfis de energia livre a 298 K, ambos com valores muito próximos e amostragens suficientes. Os valores das barreiras de energia livre ao longo dos eixos x, y e z para o sistema com 298 K são de 6,88732; 6,87703 e 6,86936 kJ mol⁻¹, respectivamente, sugerindo não haver especificidade quanto ao eixo de afastamento do herbicida glifosato.

O mesmo foi realizado para os 3 eixos em 308 K, A Figura 66 apresenta os perfis de energia livre das simulações a 308 K, onde pode-se observar os valores relativamente superiores para as barreiras de energia livre: 7,02086; 7,00528 e 7,02311 kJ mol⁻¹, para os eixos x, y, e z, respectivamente. Isto ocorre devido ao aumento da energia interna do sistema, como consequência do aumento do grau de agitação das moléculas em comparação aos sistemas anteriores com temperaturas menores.

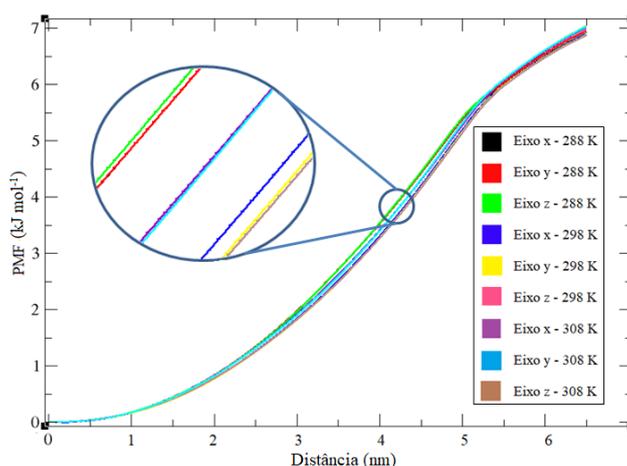
Figura 66. Perfis de energia livre ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para temperaturas de 308 K.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

O gráfico de PMF plotado na Figura 67 apresenta a junção de todos os perfis de energia analisados pelas 594 simulações direcionais nos eixos x, y e z, e nas temperaturas 288, 298 e 308 K.

Figura 67. Perfis de energia livre calculados ao longo da coordenada de reação com afastamento gradual nos 3 eixos cartesianos para as temperaturas de 288, 298 e 308 K.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data*) (Turner, 2005).

A Figura 67 esboça a grande proximidade entre todos os cálculos PMF realizados e reforça o fato de que a barreira de energia livre se encontra entre 6,87 e 7,02 kJ mol⁻¹. A análise dos potenciais de força média calculados deixa evidente que não há um caminho mais provável de desvinculação do herbicida em relação à quitosana, e confirmou de forma teórica o promissor potencial da quitosana como adsorvente do glifosato, acordando inclusive com a grande dificuldade em remover o herbicida da quitosana no processo experimental de dessorção (Rissouli et al., 2017).

6. CONCLUSÃO

O campo de força OPLS-AA, voltado para simulações atomísticas de líquidos em mecânica molecular foi modificado com os novos parâmetros geométricos e eletrostáticos de quitosana e glifosato provenientes dos cálculos quânticos. E, ocorreu com concordância entre os parâmetros estruturais e energéticos alcançados nas simulações, permitindo a aceitação das metodologias de parametrização utilizadas.

As análises concretizadas após as simulações proveram informações categóricas na explicação do comportamento molecular dos sistemas modelados. A interatividade entre oligômeros de quitosana e glifosato apresentou força significativa e a adsorção em água foi modelada a partir dos parâmetros desenvolvidos nesta tese.

O trabalho permitiu a identificação de interações específicas, sendo os melhores resultados notados pelos grupos nitrogenados da quitosana na interação com os grupos fosfonatos do herbicida glifosato.

A estrutura da quitosana se manteve com menor mobilidade estrutural na presença do herbicida glifosato, mantendo sua estrutura restringida pelas moléculas do glifosato.

O potencial de força média foi calculado, através de simulações por dinâmica molecular direcional, obtendo-se a força de interação entre quitosana e glifosato.

As simulações do biopolissacarídeo e do herbicida com o novo campo de força parametrizado produziram resultados comparáveis aos estudos experimentais e aos estudos com o campo de força Gromos53a6, portanto, admitiu a caracterização molecular e descreveu atomisticamente a capacidade de adsorção entre as moléculas, contribuindo com a viabilidade de se aplicar quitosana para adsorção com glifosato.

7. APÊNDICES

APÊNDICE A: Artigo Científico publicado pela revista *Molecular Simulation* como requisito de defesa desta tese (Faria et al. 2018).

Parameters for Glyphosate in OPLS-AA Force Field

Roberto Ribeiro Faria^{a*}, Lourival Rodrigues de Sousa Neto^a, Moacir Junior^a, Guedmiller Souza de Oliveira^a, Eduardo de Faria Franca^a

^a Chemistry Institute, Federal University of Uberlândia – UFU. Av. João Naves de Ávila, 2121, Santa Mônica, Uberlândia – MG, 38400-902, Brazil.

*Corresponding author: Tel.: +55 034 99115-9350 E-mail: robertoribeiro90@gmail.com

Keywords: glyphosate, angle dihedral, OPLS-AA, molecular dynamics, quantum mechanics.

Abstract:

In view of the widespread glyphosate herbicide (N-(phosphonomethyl) glycine) usage, the physical and chemical properties in aqueous solution have to be exploited to understand its role in environment. In this sense, molecular dynamics (MD) simulations can provide an atomistic detail in the description of such system. Herein, partial atomic charges and dihedral angles were obtained quantum mechanically for glyphosate molecule. Parameters for MD simulation were implemented in OPLS-AA force field to better understand the herbicide mechanism action. Results showed that atomic charges were consistent with the database of the force field. Additionally, potential energy curves for the dihedrals were consistent and could be used to run MD simulations. Therefore, the parameterization reported for this molecule can be useful to explain studies involving its interaction with many enzymes and proteins such as 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase enzyme (EPSP). Furthermore, considering these new data in OPLS-AA, numerous of simulations can be proposed to unveil the effects of the glyphosate as an environment contaminant.

Introduction:

The herbicide glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) has a broad spectrum of action and it is the most active principle used worldwide for killing agriculture plagues (1). Beyond, it is a systemic herbicide, post-emergent, non-selective and belonging to the chemical group of phosphonate amino acids. It acts as a potent inhibitor of the activity of the enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase (EPSPS), which is a key enzyme of the shikimate pathway, responsible by aromatic amino

acid synthesis reactions in algae, plants and fungi (2,3). The schematic mechanism of EPSP enzyme catalyzes the transfer of enolpyruvyl group phosphoenol pyruvate (PEP) for shikimate-3-phosphate (S3P) into 5-enolpyruvyl-3-shikimate phosphate product (EPSP) and inorganic phosphate is shown Figure 1 (3). Numerous studies using different techniques have shown that glyphosate preferably forms a ternary complex with the stable EPSPs and S3P enzyme (EPSP S3P-glyphosate). This suggested ternary complex is the currently accepted form and it is responsible for herbicide Activity (4,5).

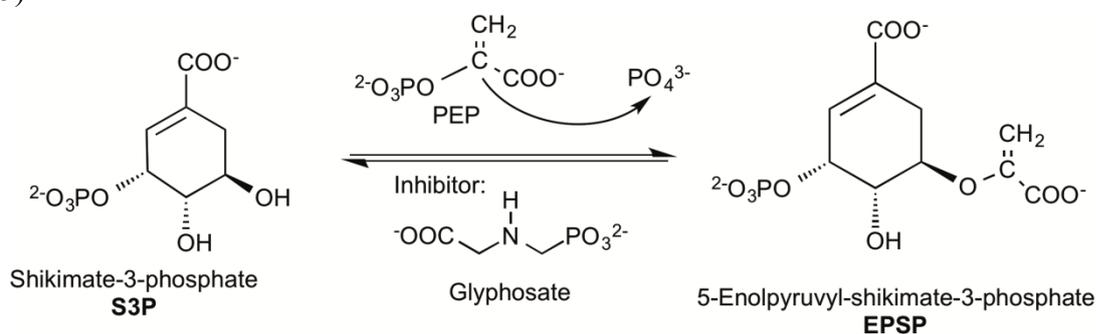


Figure 1: Reaction catalyzed by EPSPs

Many studies are constantly carried out such as the development of analytical detection techniques(6,7), toxicity studies, cytotoxicity, and genotoxicity (8,9). Therefore, it is important to understand the structural and energetic properties of glyphosate, in order to increase knowledge of their physicochemical properties in aqueous solution. Thereby, quantum calculations were accomplished to obtaining the partial atomic charges and force constants parameters for OPLS-AA force field to reproduce the potential energy curves for two dihedrals of the molecule. OPLS-AA has proven to be highly successful in assessing the thermodynamic properties in liquid state and also in the modeling of proteins and protein-ligand interactions, as consequence, the calculated parameters were used in this force-field. (10).

Methodology:

Molecular Model:

Structurally, there are two predominant forms of the glyphosate molecule in pK_{a2} of 5.69, shown in Figure 2. The structure used in this study is protonated and having negative charge (-1) (11,12).

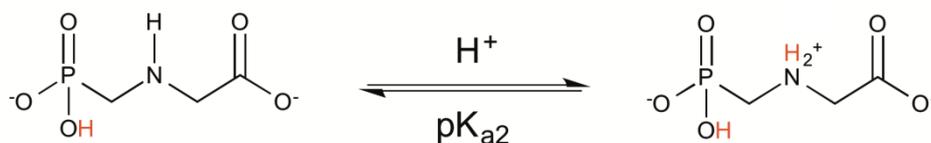


Figure 2: The protonation equilibrium of glyphosate in pK_{a2} = 5.69 (12).

Quantum Mechanics Calculations (QM):

Initially, the geometry of the glyphosate was fully optimized at semi-empirical level, using the PM6

(Parametric Method 6) Hamiltonian in MOPAC 2012 program (13). Then, with HF level and 6-31G* basis set in Orca 2.8(14) program the same calculations were performed. From the optimized molecule atomic charges were calculated using a Restrained Electrostatic Potential method (RESP)(15,16), in NWChem 5.1 program(17). The proper dihedrals such as HO3-O3-P-C1 and P-C1-N-HN1 (Figure 3), which are not found in the OPLS-AA force field, had its Potential Energy Surfaces determined with the HF/6-31G* through the Orca 2.8 program(12).

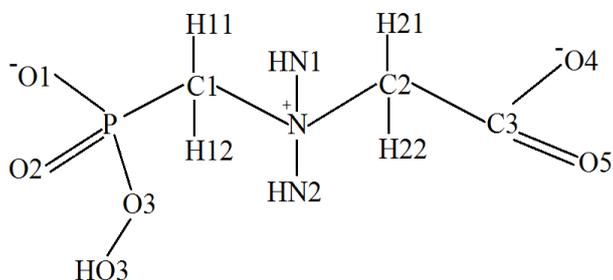


Figure 3: Scheme of the herbicide glyphosate, showing the dihedrals HO3-O3-P-C1 and P-C1-N-HN1

Molecular Dynamics Force field:

In order to evaluate the total energy E_{tot} of a molecular system, a sum of nonbonded energy, bond stretching (E_{bond}) and angle bending (E_{nb}) terms, and torsional energy ($E_{torsion}$). The nonbonded part was calculated as a sum of the Coulomb and Lennard-Jones contributions for pairwise intra and intermolecular interactions.

In Table 1 bond stretching, bond-angle bending, improper-dihedral deformation which were fully in OPLS-AA force field. However, these dihedrals HO3-O3-P-C1 and P-C1-N-HN1 required the new atomic partial charges and the torsional potential energy obtained by quantum mechanics for the insertion in the force field parameters.

Table 1: Bond stretching, bond-angle bending, improper-dihedral deformation parameters employed in OPLS-AA

Bonds	Bond type	kb (106 kJmol ⁻¹ nm ⁻⁴)	b ₀ (nm)
(HN1,HN2)-N	H3-NT	363171.2	0.10100
C1-H11(2),C2-H21(2)	CT-HC	284512.0	0.10900
HO3-O3	HO-OH	462750.4	0.09450
(C1,C2)-N	CT-NT	319657.6	0.14480
(O1,O2)-P	O2-P	439320.0	0.14800
O3-P	OH-P	192464.0	0.16100
C1-P	CT-P	177401.6	0.18430
C3-C2	C_3-CT	265265.6	0.15220
C3-(O4,O5)	C_3-O2	548940.8	0.12500

Angles	Angle type	K θ (KJ.mol ⁻¹)	θ_0 (degrees)				
(C1,C2)-N-(HN1,HN2)	CT-NT-H3	292.880	109.500				
HN1-N-HN2	H3-NT-H3	292.880	109.500				
N-C1-P	NT-CT-P	359.824	109.500				
(O1,O2)-P-O3	O2-P-OH	376.560	108.230				
HO3-O3-P	HO-OH-P	395.678	108.500				
O3-P-C1	OH-P-CT	376.560	109.500				
O1-P-O2	O2-P-O2	1171.520	119.900				
C1-P-(O1,O2)	CT-P-O2	376.560	109.500				
C2-C3-(O4,O5)	CT-C_3-O2	585.760	117.000				
O4-C3-O5	O2-C_3-O2	669.440	126.000				
C3-C2-(H21,H12)	C_3-CT-HC	292.880	109.500				
C3-C2-N	C_3-CT-NT	669.440	111.200				
C1-N-C2	CT-NT-CT	433.462	107.200				
(H11,H12)-C1-N	HC-CT-NT	109.500	292.880				
(H21,H22)-C2-N	HC-CT-NT	109.500	292.880				
(H11,H12)-C1-P	HC-CT-P	109.500	343.088				
Dihedrals	Dihedral type	Ryckaert-Bellemans coefficients					
		C0	C1	C2	C3	C4	C5
C3-C2-N-(HN1,HN2)	C_3-CT-NT-H3	0.72592	2.17777	0	-2.90370	0	0
N-C1-P-(O1,O2)	NT-CT-P-O2	0	0	0	0	0	0
N-C1-P-O3	NT-CT-P-OH	4.70700	-4.70700	0	0	0	0
(HN1,HN2)-N-C1-(H11,H12)	H3-NT-CT-HC	0.83680	2.51040	0	-3.34720	0	0
(HN1,HN2)-N-C2-(H21,H22)	H3-NT-CT-HC	0.83680	2.51040	0	-3.34720	0	0
(H11,H12)-C1-P-O3	HC-CT-P-OH	0.52300	1.56900	0	-2.09200	0	0
C1-O1-P-O2	CT-O2-P-O2	1.17570	3.52711	0	-4.70281	0	0
N-C2-C3-(O4,O5)	NT-CT-C_3-O2	3.43088	0	-3.43088	0	0	0
P-C1-N-C2	P-CT-NT-CT	1.78866	3.49154	0.53555	-5.81576	0	0

The potential of Ryckaert-Bellemans was used to describe the proper dihedrals in the force field. The Ryckaert-Bellemans potential is a function based on the expansion of the powers of cosines and is described by the following equation (18):

$$V_{RB}(\phi_{ijkl}) = \sum_{n=0}^5 C_n (\cos(\psi))^n \quad (1)$$

With $\Psi = \Phi - 180^\circ$

The Ryckaert-Bellemans potential is equivalent to a description with a Fourier series (only the constants are different):

$$V_{\phi_{ijkl}} = F_0 + \frac{1}{2} [F_1(1 + \cos(\phi)) + F_2(1 - \cos(2\phi)) + F_3(1 + \cos(3\phi)) + F_4(1 - \cos(4\phi)) + F_5(1 + \cos(5\phi))]$$

(2)

Thus, the parameterization of the dihedral angles (Φ) was performed by introducing the quantum mechanics potential in the equation 2, and the Ryckaert-Bellemans constants was calculated through the following relations:

$$C_0 = F_0 + F_2 + \frac{1}{2}(F_1 + F_3 + F_5)$$

$$C_1 = \frac{1}{2}(3F_3 - F_1 - F_5)$$

$$C_2 = 4F_4 - F_2 \tag{3}$$

$$C_3 = 10F_5 - 2F_3$$

$$C_4 = -4F_4$$

$$C_5 = -8F_5$$

The application of least squares method, developed in C ++, was to take fit parameters in the equation 2. The overlap of the quantum mechanical and the generated curve from equation 2 was directed added in the OPLS-AA force field.

Molecular Dynamics Simulation Protocol:

As a force field based on liquid-state simulation, the OPLS was implemented with new parameters after a variety of calculations. In this regard, the water type SPC (19) was chosen as the one energetically favorable for molecular parameterization. Then, the modeled herbicide was solvated by filling the appropriated simulation box with SPC (555 water molecules). Sodium ions were added to neutralize the system charge. The system containing glyphosate and counterions was energy minimized within 10000 steps using steepest descent method. After minimization, occurred the equilibration of solvent by performing 100 ps molecular dynamics simulation at 50, 150 and 298 K, with non-hydrogen atoms positional restrained (force constant $1.0 \times 10^3 \text{ KJmol}^{-1}\text{nm}^{-2}$). Following the solvent equilibration step, for each temperature a total of 10 ns molecular dynamics simulations were performed in an isothermal–isobaric (NPT) ensemble using the leapfrog algorithm (20) with 2 fs of time step. The configurations were recorded every 1 ps for analysis.

Molecular Dynamics

The validation of the new parameters included to the OPLS-AA force field was performed in a molecular dynamics simulation using the GROMACS 4.6 program (21). Electrostatic interactions

were evaluated using Particle-Mesh Ewald (PME) (22) summation. The simulation was performed in NPT ensemble (constant particle number, pressure and temperature) using velocity rescaling with a stochastic term for temperature coupling with a heat bath temperature of $T = 298$ K and Berendsen pressure coupling with a reference pressure of 1 bar for 50 ns, with time step of 2fs. However, all bond lengths were constrained using the LINCS algorithm (23).

Results and Discussion:

Atomic partial charges

After using Restrained Electrostatic Potential (RESP) method, occurred the adjustment of the molecule partial charges to the electrostatic potential of OPLS-AA force field. The obtained values for the optimization of glyphosate structure are shown in Table 2. Also, Table S1 in supplemental material, reports that CM1A charges were in agreement with RESP ones within error margin.

Table 2: Atomic partial charges of the glyphosate [

Atom	Type	Charge (e)
P1	P	1.342
O1	O2	-0.860
O2	O2	-0.860
O3	OH	-0.753
HO3	HO	0.417
C1	CT	-0.164
H11	HC	0.066
H12	HC	0.066
N1	NT	0.110
HN1	H3	0.178
HN2	H3	0.178
C2	CT	-0.103
H21	HC	0.045
H22	HC	0.045
C3	C_3	0.879
O4	O2	-0.793
O5	O2	-0.793
Total Charge		-1.000

The obtained sets of charges were consistent with the values observed in databank for OPLS-AA force field(24). Thus, as expected, all hydrogen and oxygen atoms assumed usual positive and negative charges, respectively. The carbon atoms assumed different charges due to inductive effects.

The success of produce improved OPLS-AA parameters was ensured by a highly effective and efficient torsional fitting technique, which utilized high-level ab initio (HF/6-31G*) data as the target. By imposing RESP charges, the total charge of the glyphosate was ensured to be -1 since at pH 6.5 it is deprotonated state.

Molecular Dynamics

A molecular dynamics simulation was performed to validate the introduced parameters (Ryckaert-Bellemans coefficients) for the dihedrals HO3-O3-P-C1 and P-C1-N-HN1 in the OPLS-AA force field of the glyphosate in aqueous solution. It was observed that, molecular conformational analysis showed that the glyphosate is stable during simulation, with values of Root Mean Square Deviation (RMSD) ranging only from 0.01 to 0.15 Å.

In order to evaluate the efficiency of the parameterizations, Table 3 summarizes a comparison between minimal energy of the dihedral potential energy surface obtained from quantum mechanical calculations using equation 2 and Molecular Dynamics dihedral distribution. The 3 values for the Ryckaert-Bellemans coefficients and the angles correspondent to the minimal energy obtained with QM and MM for each dihedral can be seen in Table 3 as well.

Table 3: Ryckaert-Bellemans coefficients and the parameterized dihedral angles

Parameterized Dihedrals	Ryckaert-Bellemans coefficients introduced in the OPLS-AA force field					
	C0	C1	C2	C3	C4	C5
HO3-O3-P-C1	7.192	20.579	-15.089	1.271	-0.984	0.269
P-C1-N-HN1	19.372	-17.613	7.459	3.171	1.294	1.883

Parameterized Dihedrals	Molecular Dynamics Ψ (degrees)	Equation 2 solution Ψ (degrees)	HF/6-31G* Ψ (degrees)
HO3-O3-P-C1	101/256	109/239	119/259
P-C1-N-HN1	208/331	240/340	210/330

The Figure 4 presents the surface energy of the glyphosate dihedral obtained by quantum mechanical and by the solution of the equation 2 using the Ryckaert-Bellemans coefficients.

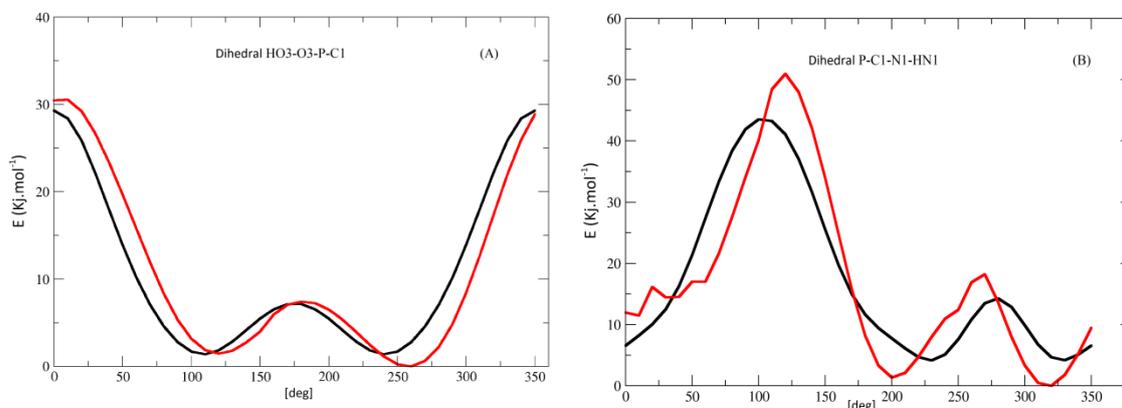


Figure 4 – Potential energy profile calculated by quantum mechanical (red) and Ryckaert-Bellemans potential obtained by least squares method (black) for the HO3-O3-P-C1 (A) and P-C1-N-HN1 (B) dihedrals.

Figure 4 shows that for both calculations, dihedral HO3-O3-P-C1 have two minimal energies, in which a lesser energy was observed around angle 259° for quantum calculation and the same observation around 239° for Ryckaert-Bellemans potential. The second minimum occurs around 119° for QM and 109° for equation 2 calculation. These two minimums occurred in smaller angles in classical calculations and the lowest minimum energy has an energy gap of approximately 1.4kJ.mol^{-1} in relation to QM. The Ryckaert-Bellemans potential to the molecule was 29.31kJ.mol^{-1} , with standard deviation of 9.58kJ.mol^{-1} , suggesting that the difference between the minimums is according to an expected deviation. The dihedral P-C1-N-HN1 presented both calculations showing two minimum of energy (Figure 4b) in which both are related to two formed dihedral by the set of atoms P-C1-N-HN1 and P-C1-N-HN2 (due to hydrogen HN1 and HN2). The lower potential energy occurred around the angle of the 330° for QM and 340° for Ryckaert-Bellemans potential, which the energy difference observed was around 4.2kJ.mol^{-1} (within the standard deviation). The second minimum occurred around 210° for QM calculation and 240° using equation 2. These results demonstrated that the applied methodology was successful to fit an asymmetric potential energy curve. In addition, the same behavior was achieved with QM calculation in which the dihedral P-C1-N-HN1 obtained with the Ryckaert-Bellemans function was used in OPLS-AA force. Additionally, MP2/ccpVTZ methodology (Figure S1 of the supplemental material) was used to calculate potential energy curves related to HO3-O3-P-C1dihedral. The fitting curves using HF/6-31G* were closer than the ones obtained with MP2/ccpVTZ .

Figure 5 shows the probability distribution of dihedral HO3-O3-P-C1 and P-C1-N-HN1 around the angle values observed in Figure 4.

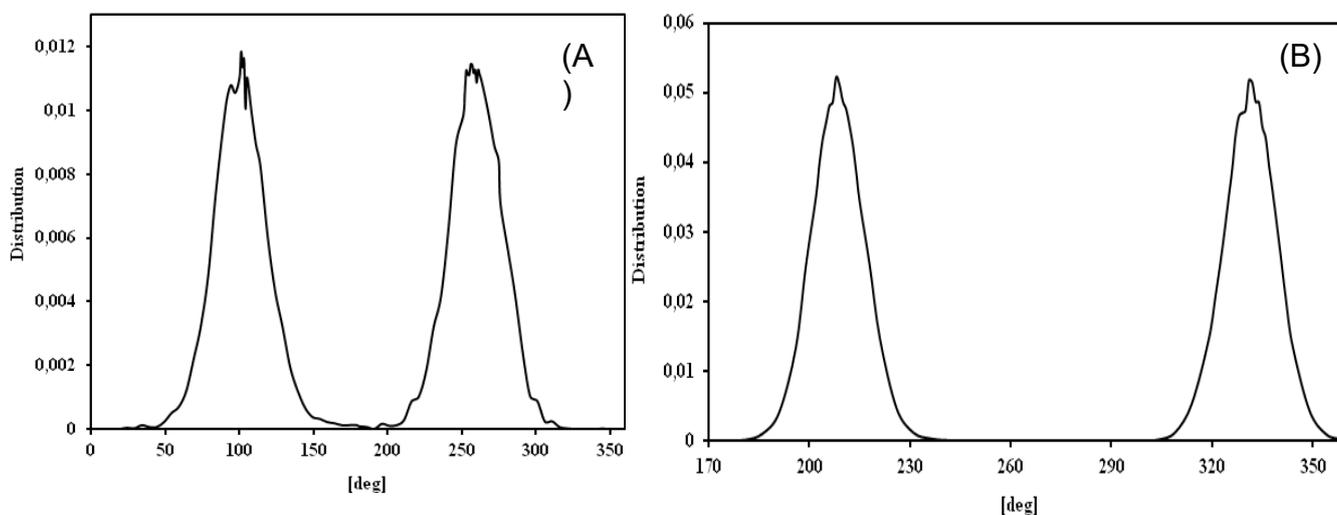


Figure 5 – Dihedral angle distribution, for dihedral HO3-O3-P-C1 (A) and for dihedral P-C1-N-HN1 (B).

The efficiency of the parameterization was confirmed by the analysis of the most energetically favorable angle for the dihedral HO3-O3 P-C1, which presented two main distributions. One angle of 256° and another at the angle of 101° . It should be noted that the minimum energy in the QM occurred at the angle of 259° that coincides to one of these distributions. The Dihedral P-C1-N-HN1 also showed two major distributions at angles 331° and 208° , which are very close to the minimum of potential energy angles obtained by quantum calculations. By using MP2/ccpVTZ methodology (Figure S2 of the supplemental material) potential energy curves were obtained to P-C1-N-HN1 dihedral. As can be seen, fitting curves using HF/6-31G* were closer than the ones obtained with MP2/ccpVTZ.

Conclusion:

The partial charges were obtained by RESP method to describe the electronic structure of the herbicide glyphosate and also obtaining the conformational energy of two unusual dihedrals in OPLS-AA force field of glyphosate, which were parameterized using quantum calculations and these parameters were then validated using molecular dynamics simulations in aqueous solution. By applying the method of least squares, it was possible to obtain the constants in the cosine summation of Ryckaert-Bellemans until the sixth expansion and power profiles comparing with the energies obtained by quantum calculations, presenting very close values. The glyphosate parameters introduced in the OPLS-AA force field will allow a more detailed description of its interaction with many molecules such as the active site of the EPSP enzyme together with the substrate shikimate-3-phosphate, and so this may explain its inhibitory activity.

References:

1. Aspelin, A.L. 1994. Pesticide industry sales and usage: 1992 and 1993 market estimates. U.S. EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Office of Pesticide Programs. Biological and Economic Analysis Division. Washington, D.C. (June.)
2. Sandrini JZ, Rola RC, Lopes FM, Buffon HF, Freitas MM, Martins CDMG, et al. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies. *Aquat Toxicol* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013;130–131:171–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.01.006>
3. Schönbrunn E, Eschenburg S, Shuttleworth W a, Schloss J V, Amrhein N, Evans JN, et al. Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(4):1376–80.
4. McDowell LM, Poliks B, Studelska DR, O'Connor RD, Beusen DD, Schaefer J. Rotational-echo double-resonance NMR-restrained model of the ternary complex of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *J Biomol NMR*. 2004;28(1):11–29.
5. Priestman MA, Healy ML, Becker A, Alberg DG, Bartlett P a., Lushington GH, et al. Interaction of phosphonate analogues of the tetrahedral reaction intermediate with 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in atomic detail. *Biochemistry*. 2005;44(9):3241–8.
6. Martínez Gil P, Laguarda-Miro N, Camino JS, Peris RM. Glyphosate detection with ammonium nitrate and humic acids as potential interfering substances by pulsed voltammetry technique. *Talanta* [Internet]. Elsevier; 2013;115:702–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.030>
7. Botero-Coy AM, Ibáñez M, Sancho J V., Hernández F. Improvements in the analytical methodology for the residue determination of the herbicide glyphosate in soils by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2013;1292:132–41.
8. Mink PJ, Mandel JS, Lundin JI, Scurman BK. Epidemiologic studies of glyphosate and non-cancer health outcomes: A review. *Regul Toxicol Pharmacol* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;61(2):172–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.07.006>
9. Meza-Joya, F.L., Ramírez-Pinilla, M.P., Fuentes-Lorenzo JL. Toxic, Cytotoxic, and Genotoxic Effects of a Glyphosate R R Formulation (RoundupVSL^CosmofluxV41 in the 1F) Direct-Developing Frog *Eleutherodactylus johnstonei*. *Environ Mol Mutagen*. 2013;54(5):362–73.
10. Rizzo RC, Jorgensen WL. OPLS All-Atom Model for Amines: Resolution of the Amine Hydration Problem. *J Am Chem Soc*. 1999;121(11):4827–36.
11. Peixoto MM, Bauerfeldt GF, Herbst MH, Pereira MS, da Silva CO. Study of the Stepwise Deprotonation Reactions of Glyphosate and the Corresponding pKa Values in Aqueous Solution. *J Phys Chem A*. 2015;119:5241–9.
12. Liu B, Dong L, Yu Q, Li X, Wu F, Tan Z, et al. Thermodynamic Study on the Protonation

Reactions of Glyphosate in Aqueous Solution: Potentiometry, Calorimetry and NMR spectroscopy. *J Phys Chem B*. 2016;120:2132–7.

13. Stewart JPJ. MOPAC 2009 [Internet]. Stewart Computational. Available from: [HTTP://openmopac.net](http://openmopac.net)
14. Nesse F. The ORCA program system. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci*. 2012;2:73–8.
15. Cornell WD, Cieplak P, Bayly CI, Kollman P a. Application of RESP Charges To Calculate Conformational Energies, Hydrogen Bond Energies, and Free Energies of Solvation. *J Am Chem Soc*. 1993;115(7):9620–31.
16. Woods RJ, Chappelle R. Restrained electrostatic potential atomic partial charges for condensed-phase simulations of carbohydrates. *J Mol Struct THEOCHEM*. 2000;527:149–56.
17. Valiev M, Bylaska EJ, Govind N, Kowalski K, Straatsma TP, Van Dam HJJ, et al. NWChem: A comprehensive and scalable open-source solution for large scale molecular simulations. *Comput Phys Commun*. 2010;181(9):1477–89.
18. Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Van Buuren AR, Apol E, Meulenhoff PJ, et al. GROMACS User Manual Version 4.5 [Internet]. Vol. 18, Computer Programs in. 2010. p. 370. Available from: www.gromacs.org
19. H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma WFVG and JH. Interaction models for water in relation to protein hydration. *Intermol Forces*. 1981;331–42.
20. Allen MP, Tildesley DJ. *Computer Simulations of Liquids*. Clarendon, editor. 1989.
21. Hess B, Kutzner C, Van Der Spoel D, Lindahl E. GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. *J Chem Theory Comput*. 2008;4(3):435–47.
22. Darden, T., York, D. & Pedersen, L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* 98, 10089–10092 (1993).
23. Hess B, Bekker H, Berendsen HJC, Fraaije JGEM. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *J Comput Chem* [Internet]. 1997;18(12):1463–72. Available from: [http://doi.wiley.com/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199709\)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H](http://doi.wiley.com/10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H)
24. Jorgensen WL, Maxwell DS, Tirado-Rives J. Development and Testing of the OLPS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. *J Am Chem Soc* [Internet]. 1996;118(15):11225–36. <http://dx.doi.org/10.1021/ja9621760>

APÊNDICE B: Material Suplementar - Cálculos para obtenção das barreiras rotacionais dos diedros do glifosato com conjuntos de bases MP2 e ccpVTZ

Os cálculos avaliados através da energia potencial do herbicida glifosato pela metodologia MP2/ccpVTZ em sua forma fragmentada (AMPA) para obtenção dos diedros HO3-O3-P-C1 e P-C1-N-HN1 através dos coeficientes de Ryckaert-Bellemans se encontram na Tabela A1, comparando inclusive com os valores obtidos através das metodologias HF/6-31G* representado pela molécula inteira.

Tabela A1. Coeficientes de Ryckaert-Bellemans calculados pelos métodos: a) Hartree-Fock com funções de base 6-31G*; b) MP2 e conjuntos de bases ccpVTZ com a molécula fragmentada.

Diedros Parametrizados	Coeficientes de Ryckaert-Bellemans**					
	a) Introduzidos no Campo de Força OPLS-AA					
	b) Não Introduzidos no Campo de Força OPLS-AA					
	C0	C1	C2	C3	C4	C5
a) HO3-O3-P-C1	7,19185	20,5797	-15,0898	1,27049	-0,984426	0,269785
b) HO3-O3-P-C1	11,2816	4,25955	-11,3115	0,36952	-0,796426	0,507787
a) P-C1-N-HN1	19,3728	-17,6137	7,4594	3,17068	1,29439	1,88262
b) P-C1-N-HN1	0,441422	-0,678627	0,390047	1,14169	0,932643	-0,0830943

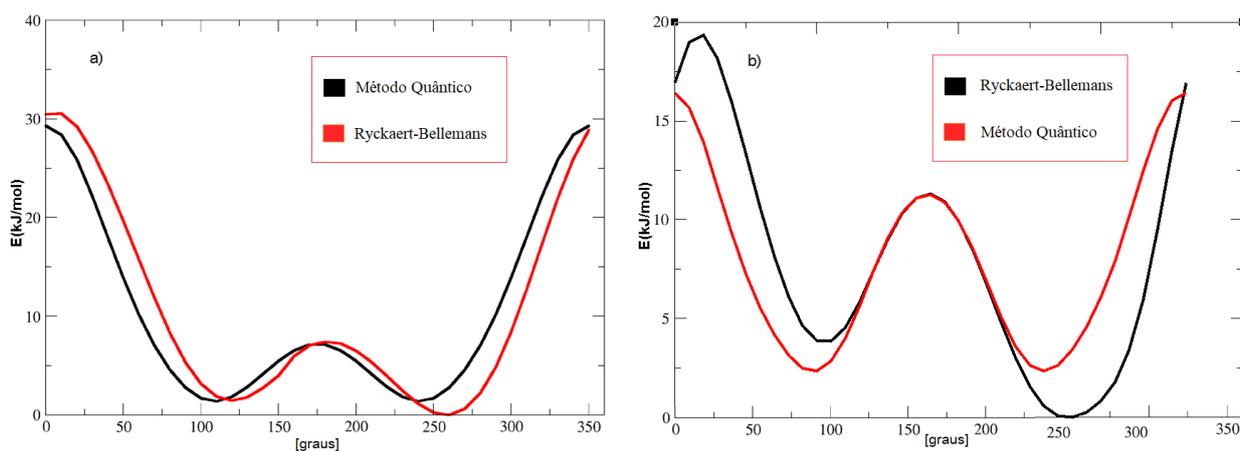
** Fórmula utilizada:

$$F(\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \dots, \alpha_k) = \sum_{k=1}^m [f(x_k) - \Psi(x_k)]^2$$

$$\Psi(x_k) = \alpha_1 h_1(x_k) + \alpha_2 h_2(x_k) + \alpha_3 h_3(x_k) + \dots + \alpha_m h_m(x_k)$$

Os valores inseridos no campo de força OPLS-AA foram do método HF/6-31G* da molécula inteira e não o método MP2/ccpVTZ para a molécula fragmentada, a grande diferença entre os dois métodos sucede nas correlações de movimentos eletrônicos do método MP2, uma vez inexistentes na metodologia HF. A Figura A1 mostra a comparação entre os cálculos dos perfis de energia potencial obtidos para o diedro HO3-O3-P-C1 através do método HF/6-31G* da molécula inteira e do método MP2/ccpVTZ da molécula fragmentada.

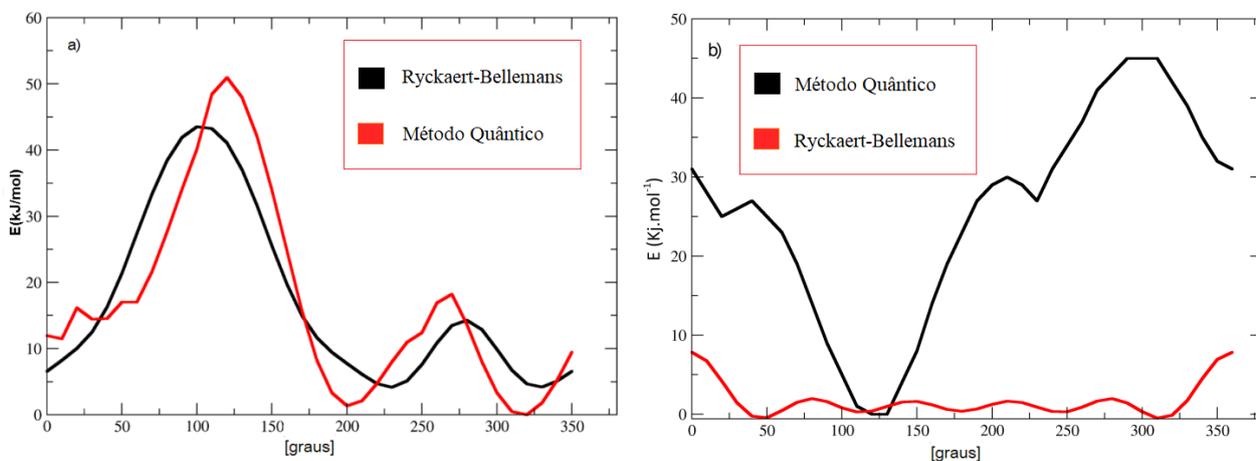
Figura A1. Perfil de energia potencial calculado por método quântico e Ryckaert-Bellemans obtido pelo método dos mínimos quadrados para o diedro HO3-O3-P-C1. (a) Molécula completa do glifosato com HF/6-31G*; (b) Fragmento de glifosato com MP2/ccpVTZ.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

A simetria das Figuras A1(a) e A1(b) indicaram a metodologia HF/6-31G* ser a mais satisfatória em comparação com a metodologia MP2/ccpVTZ. Na Figura A1(b) a diferença de energia entre as curvas clássica e quântica é de aproximadamente $2,33 \text{ kJ mol}^{-1}$. O potencial de Ryckaert-Bellemans para a molécula foi de $16,43 \text{ kJ mol}^{-1}$, com desvio padrão de kJ mol^{-1} , sugerindo a diferença entre os mínimos também de acordo com o desvio esperado. O mesmo procedimento foi feito para o ângulo diedro P-C1-N-H, e as curvas de energia potencial podem ser igualmente comparadas através da Figura A2.

Figura A2. Perfil de energia potencial calculado por método quântico e Ryckaert-Bellemans obtido pelo método dos mínimos quadrados para o diedro P-C1-N-HN1. (a) Molécula completa do glifosato com HF/6-31G*; (b) Fragmento de glifosato com MP2/ccpVTZ.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) (Turner, 2005).

A falta de simetria observada na Figura A2(b) indica que a metodologia *ab initio* por HF/6-31G* foi mais apropriada em comparação com MP2/ccpVTZ. A remoção do grupo carboxilato provocou aumento da assimetria da superfície de energia potencial diedral para a molécula do glifosato na sequência de átomos P-C1-N-HN1, portanto as curvas de ajuste utilizando HF/6-31G* foram mais próximas.

APÊNDICE C: Artigo científico submetido para a revista Molecular Simulation, referente a esta tese.

Atomistic molecular dynamics simulation of chitosan using OPLS-AA force field parametrized with RESP charges

Roberto Ribeiro Faria*, Lourival Rodrigues de Sousa Neto, Eduardo de Faria Franca

Laboratory of Crystallography and Computational Chemistry, Chemistry Institute, Federal University of Uberlândia – UFU.

Av. João Naves de Ávila, 2121, Santa Mônica, Uberlândia – MG, 38400-902, Brazil.

*Corresponding author: Tel.: +55 034 99115-9350

Email address: robertoribeiro90@hotmail.com

Chitosan, chemically known as [β -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glycopyranose] has been studied by its versatility such as biodegradability, biocompatibility, antimicrobial activity and wide range of applications from agriculture to cosmetics. Regarding its description on computational simulation force fields, chitosan was parameterized on OPLS, that provides a more detailed atomistic description, and it is compared to GROMOS53a6, an already consolidated force field. The atomic charges were calculated using the Restrained Electrostatic Potential (RESP) method on the program NWCHEM 5.1. The obtained parameters were tested in a series of molecular dynamics simulations. Comparison of results for structural (RMSD, RMSDist, binding distances, binding angles and ring superimposition) and energetic (total energy) analysis acquired from molecular dynamics simulations between OPLS and GROMOS53a6 shows less convergence time on OPLS, indicating more stability and flexibility, and small differences between both structural data, validating a well reproduced parametrization.

Keywords: OPLS-AA, Parameterization, Chitosan, Molecular Dynamic

INTRODUCTION

Chitosan, chemically known as β -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glycopyranose and β -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glycopyranose was studied in terms of its molecular structure. Figure 1, has a similar structure to its co-monomer, chitin, but with 2-amino-2-desoxy-D-glycopyranose units ¹. Chitosan has a wide range of applications, from textile residues management, agriculture, food processing, cosmetics to medicine and biotechnology due to its solubility, biodegradation and biocompatibility properties ². According to B. E. Abdelmalek et al., chitosan has antioxidant and antimicrobial activities ³. Chitosan offers a variety of biomedical advantages as biocompatibility, controlled biodegradation, non-toxic degradation products and no inflammatory reactions. Drug

delivery, tissues engineering, blood anticoagulation, wounds healing, osseous tissue regeneration and antimicrobial activity are some uses for chitosan in the medical field ⁴. Studies about chitosan grew not only for its regenerative effect and abundant resources but also for its biological compatibility and efficiency ⁵. According to M. I. Wahba, the residues containing cationic amino groups of the glucosamine allow the formation of ionic bridges between chitosan and the enzymes anionic residues, thus immobilizing them through electrostatic interaction ⁶

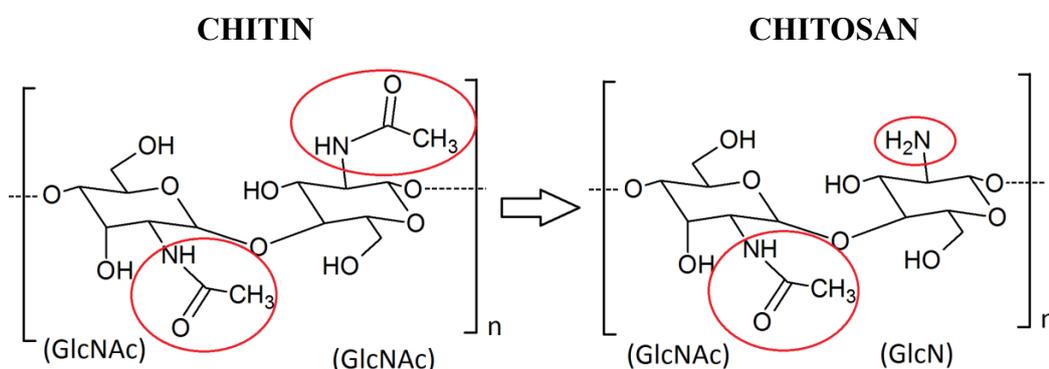


Figure 1: 2D representation of the dimers chitin and chitosan, respectively, highlighting with circles the GlcNAc and GlcN groups, n being their polymerization degree ⁷

In order to run an atomistic molecular dynamic (MD) simulation, the OPLS-AA 8 parameters were parameterized based on our previous GROMOS53a6 force field ⁹. This work used quantum-mechanical calculations to obtain its RESP charges and chitosan's optimized geometry. Molecular Dynamics Simulations were carried out to validate the parametrization of this biopolymer in the OPLS force field.

METHODOLOGY

Parametrization protocol used in the OPLS-AA force-field

The functional energy form of the OPLS-AA force field (E_{total}) equation (1) corresponds to the sum of a lot of elements and it is a little equivalent to the AMBER force field: Equation (2) and (3) shows the linear harmonic potential and shows the angular harmonic potential, obtained covalently bonded atoms respectively:

$$E_{total} = E_{bonds} + E_{\theta} + E_{\varphi} + E_{nonbonded} \quad (1)$$

$$E_{bonds} = \sum_{bonds} K(r - r_0)^2 \quad (2)$$

$$E_{angles} = \sum_{angles} K_{\theta}(\theta - \theta_0)^2 \quad (3)$$

Equation (4) shows the torsional harmonic potential, V_n being the constant that defines the

rotational barrier height and n (1, 2, 3 or 4), the number of minimums for the torsion of a specific chemical bond:

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

(4)

Equation (5) shows the potential for non-bonded i and j atoms, where $A_{ij} = \sqrt{A_{ii}A_{jj}}$ and

$$C_{ij} = \sqrt{C_{ii}C_{jj}}.^{10}$$

$$E_{nonbonded} = \sum_{i>j} f_{ij} \left(\frac{A_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^6}{r_{ij}^6} + \frac{q_i e^2 q_j}{4\pi \epsilon_0 r_{ij}} \right) \quad (5)$$

The five previous equations define total potential energy related to force field parameters. All of them carry K constants defining force constants distances, angles, proper and improper dihedrals, the r_0 , θ_0 , φ and ϵ_0 in equilibrium states. Charges are represented by q and are calculated through quantum mechanical model. All used constants were retrieved from OPLS-AA own database.

RESP charges

The RESP (Restrained Electrostatic Potential) charges and are considered to obtain the punctual atomic charges. The calculations of the RESP charges were made by three different quantum mechanical level: HF (Hartree-Fock) ¹¹, also known as self-consistent field method, using the program NWCHEM 5.1 ¹². The chitin's biopolymer equilibrium geometry values previously were calculated based on existent GROMOS53a6 ⁹ force field parameters and crystallographic data for bond, angle and dihedrals values. The chitosan was assembled by 6 different types of residues: NGUO, NGLU, NGUC -related to its unprotonated form – and NGPO, NGLP and NGPC – related to its protonated form –, Figures 2a and 2b, respectively. The NGUO residue corresponds to a glucopyranosidic initial ring with an amino group (NH₂), while the NGLU is a central glucopyranosidic residue and the NGUC is an terminal ring. The NGPO residue corresponds to a glucopyranosidic

initial ring with a protonated amino group (NH_3^+). The NGLP is a protonated (NH_3^+) central gluco-pyranosidic residue and the NGPC (NH_3^+) is a protonated terminal ring.

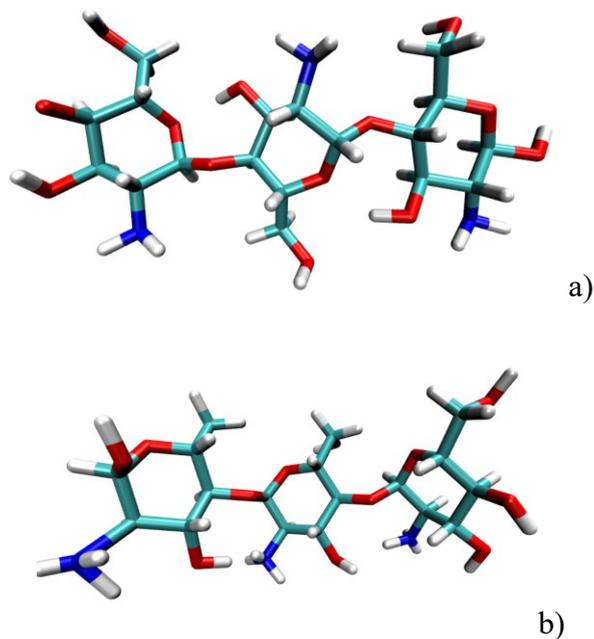


Figure 2. a) Chitosan's unprotonated residues NGUO, NGLU and NGUC, respectively; b) Chitosan's protonated residues NGPO, NGLP and NGPC, respectively.

The geometric optimization performed with ORCA program¹³ at 6-31G* base function level using a B3LYP functional^{14 15} by the DFT (Density Functional Theory) method to obtain the cartesian coordinates of the biopolymer to best fit the OPLS force field¹⁶.

Molecular Dynamics protocol for force-field validation

The data validation process obtained for the chitosan on the OPLS-AA force field was made by a 10-monomer polymer molecular dynamic through computational simulation, according to Figure 3.

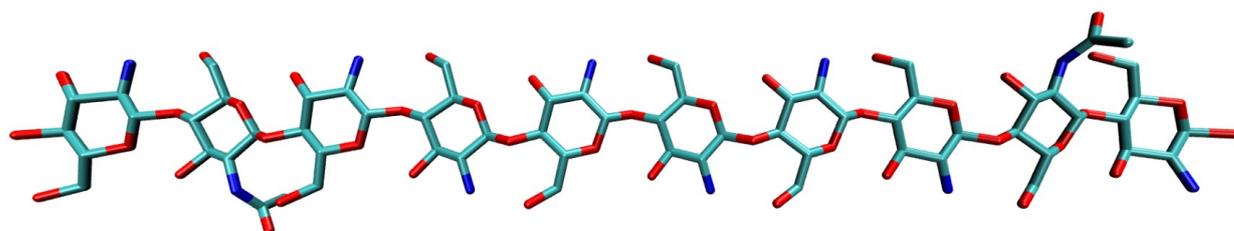


Figure 3. Chitosan's decamer and its respective residues from 1 to 10 (NGPC, CHIT, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, NGLU, NGLP, CHIT and NGUO, respectively)

The Figure 3 was initially designed using the GABEDIT¹⁷ program and then remodeled on the Visual Molecular Dynamics (VMD)¹⁸ program to show the relation between chitosan's residues and their respective codes on the force field, while the CHIT code corresponds to a NGLU acetylated residue.

The Molecular Dynamics (MD) simulation was performed on vacuum using the GROMACS 5.0.1¹⁹ computational package with the set of parameters in the OPLS-AA force field. The GROMOS53a6 force field was used to validate the compound structure. The finite nanoparticles for the simulated system were made of 10 monomers of chitin/chitosan. The chitosan polymer has 161 atoms on the GROMOS53a6 and 237 atoms on the OPLS-AA force field. Next, the system energy minimization was achieved after 1000 steps using the steepest descent algorithm with the electrostatics interactions controlled by the PME (Particle Mesh Ewald) method, through an NVT ensemble (constant number of particles, volume and temperature). The system thermalization was made through successive MD simulations during 100 ps for 50, 150 and 298 K. Integration time for a 50-ns simulation was in a range of 1 femtosecond (fs) with a total simulation time of 50 ns on GROMOS53a6, while on OPLS-AA 20 ns were enough for a NVT ensemble (constant number of particles, volume and temperature), using a Verlet algorithm, Berendsen barostat and V-rescale thermostat. The box modeling was rectangular box, the integrator was leap-frog²⁰ and the periodic boundary conditions were use on all x, y and z dimensions. The chitosan molecular dynamics on vacuum was performed to validate the compound structure on the OPLS-AA force field, since it was already parameterized on the GROMOS53a6 force field. The angles and bond values were obtained analyzing the simulations results.

RESULTS AND DISCUSSION

Partial Charge Calculations

By using the RESP scheme²¹ the partial charge were obtained by using the NWChem program¹². This methodology is consistent and recommended for OPLS-AA parametrization. The optimization of the geometry was performed using ORCA¹³ program. In the procedure of this work the base function 6-31G* was chosen, which is the most suitable for the force field of the OPLS-AA¹⁶. A first prerequisite for the net charge of each individual is to obtain the charge of the heavy atoms in order to have fully scalable lengths ensuring the overall charge neutrality of the molecule. Since the chitosan has repeated units, it is possible for the end residues to have a nonzero net charge. As an example, Figure 4 presents atom groups in which the charges of each were obtained according to the results from the NWChem program.¹²

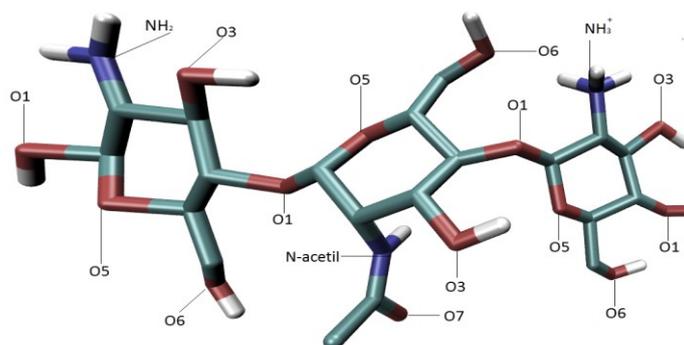


Figure 4. Schematic representation of the chitosan copolymer. Each atom can be identified by its element symbol and number. ⁷.

Table 1. Partial atomic charges values and differences of the RESP loads of the chitosan atoms inserted in the OPLS-AA and GROMOS53a6 force fields.

Atom	GROUP	RESP-GROMOS53a6	RESP-OPLS-AA	DIFFERENCE
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

In Table 1 the differences between the RESP²² values of the Chitosan⁴ atoms in the 2 force fields^{23,24}⁸ were greater than 0.3. Only the difference for the O7 and O1 atoms exceeds 0.2. Atoms C3, C7, O6, O5, HO1 and HO4 did not reach even 0.2 of difference. Especially the C4 atom has the same charge in both force fields. In short, the obtained loads were very close in the 2 force fields, which highlights the correct methodology used in this work of parameterization of this biopolymer as versatile as Chitosan. As cargas RESP obtidas no OPLS-AA foi muito próxima dos valores já estabelecidos na literatura (chitosana no GROMOS53a6).

Molecular Dynamics Simulation Results

The chitosan structures after the simulation are represented in Figure 5 for both force fields. Chitosan is showed in GROMOS53a6 (161 atoms) Figure 5a and in OPLS-AA (237 atoms) Figure 5b, the difference between the number of atoms occurs because the all atoms force field do not excludes any hydrogen atoms.

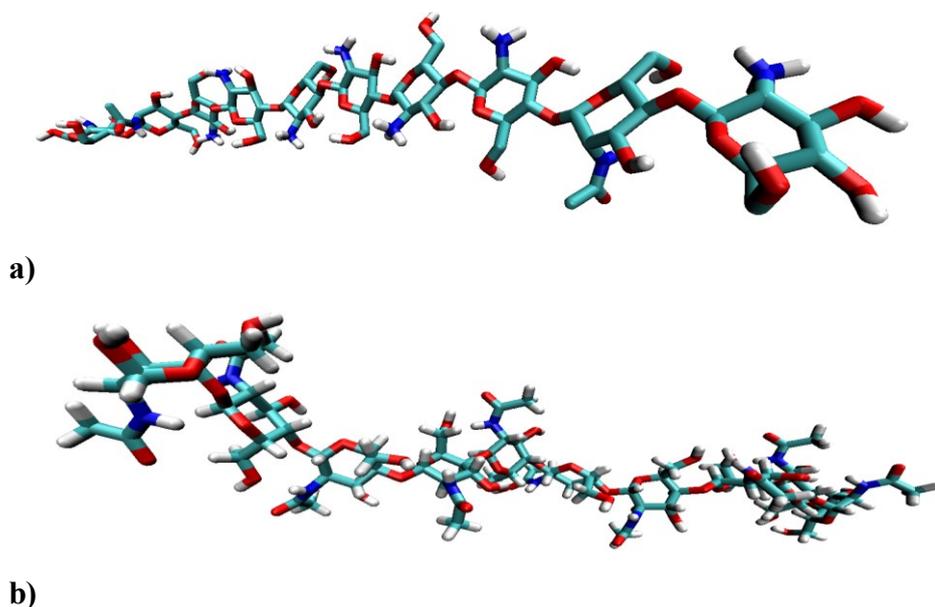


Figure 5: a) Chitosan molecular structure arrangement implemented into GROMOS53a6 force field. b) Chitosan implemented in the OPLS-AA force field^{7 25}.

The molecular dynamics were evaluated through RMSD (Root Mean Square deviation) Figure 6 and RMSDist (Root Mean Square Deviation of atom distances) Figure 7, with a total simulation time of 50 ns on GROMOS53a6 and 20 ns on OPLS-AA.

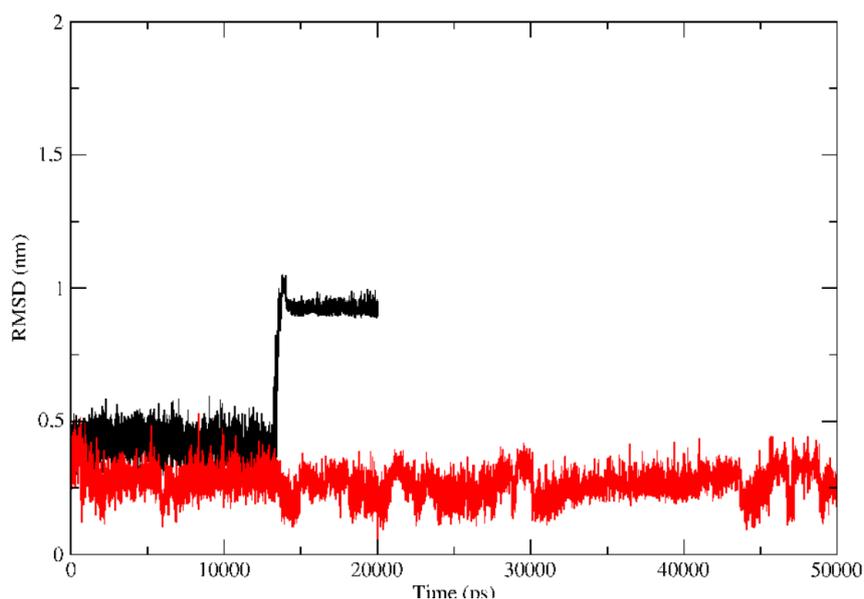


Figure 6 Root mean square deviation ²⁶ of the Chitosan obtained by using GROMOS53a6 and OPLS-AA.

The analysis of the conformation and translation variations of Chitosan in GROMOS53a6 ²⁷ seen in Figure 5a and in OPLS-AA ⁸ seen in Figure 5b, during the molecular dynamics were evaluated through RMSD (Root Mean Square deviation), described in Figure 6 and RMSDist (Root Mean Square Deviation of atom distances), showed in Figure 7.

The least stable structural conformation for Chitosan with a value equal to 0.925 nm (\pm 0.011 nm) was obtained with the RMSD measurement, after the thermodynamic equilibrium, using the OPLS-AA force field showed). Likewise, the GROMOS53a6 value for the chitosan was 0.290 nm (\pm 0.058 nm). However, the structural equilibrium could be shown with longer computational time for the GROMOS53a6 force field. More detailed atomistic model provides better results by taking into account the charges of all the atoms of the compound and more specific interactions, such as dipole moments, rather than using the concept of bonded atoms, in which hydrogen atoms of hydrocarbons have restricted charges. This factor demonstrates the importance of the parameterization study for the biopolymer using OPLS-AA force field. The GROMOS53a6 force field resulted in RMSDist ⁷ analysis of 1.087 for in the last 5ns, with a standard deviation of 0.015, while the OPLS-AA force field obtained RMSDist values of 0.063, with a standard deviation of 0.007, with a total simulation time of 50 ns on GROMOS53a6 and 20 ns on OPLS-AA.

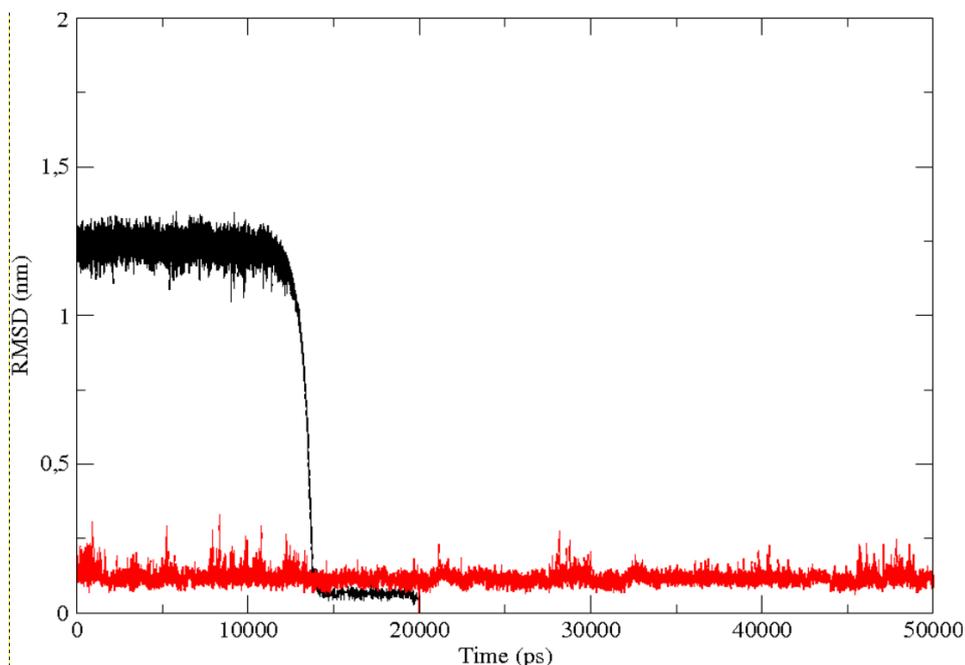


Figure 7 Root mean square deviation of the atomic distances in different force fields from the initial chitosan structure.

The OPLS-AA force field, due to its more detailed atomistic description and a more complete torsional harmonic potential equation, when compared to GROMOS53a6, is a more comprehensive force field. It presented a more flexible simulated structure after the molecular dynamics according to its smaller convergence time at equilibrium if compared to the more rigid description used on GROMOS53a6, due to its bonded atoms model. Thus, chitosan's structural stability on the atomistic force field is faster and has a smaller RMSDist value, indicating a more stable structure. This structural analysis validates the parameterization on the OPLS-AA force field.

The structural correlation analysis of the values of binding distances (Table 2) were performed with 200010 samples and standard deviation of 0.00041nm in OPLS-AA and 500010 samples and same standard deviation value in GROMOS53a6.

Table 2 Differences between bond distances in chitosan atoms for the two considered force fields (OPLS-AA e GROMOS53a6).

Atoms	Medium distance (nm) OPLS-AA	Medium distance (nm) GROMOS53a6	Differences (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	0.00091
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	0.00209
C7-O7	0.1229	0.1230	0.0001
C7-C8	0.1522	0.1390	0.0132
C7-N2	0.1335	0.1330	0.00051
C4-O1	0.1410	0.1435	0.0025
C1-C2	0.1529	0.1520	0.0009

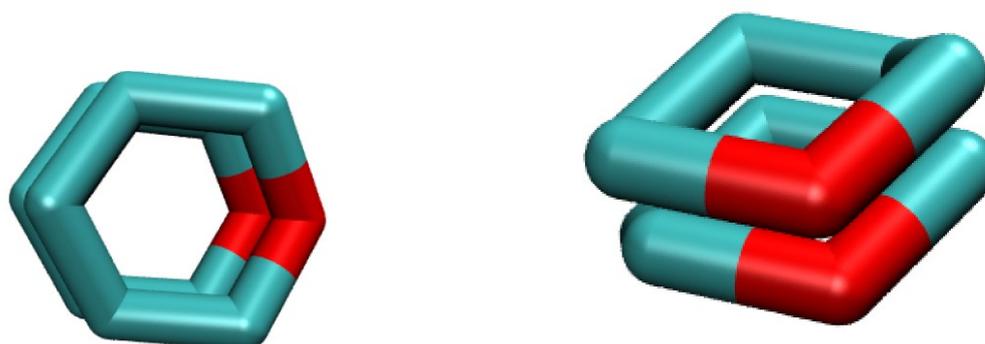
The analysis of Table 2 showed that the bond distance values obtained after the computational simulation by molecular dynamics were very similar, even considering their standard deviations, which validates the methodologies used for the parameterization of the Chitosan compound in relation to the values of distances. Another structural analysis was the correlation of the values of binding angles Table 3.

Table 3 Difference between the angles of connection between the atoms of Chitosan in the field of Force OPLS.

Átoms	Angle(°) OPLS-AA	Standart deviation(°) OPLS-AA	Angle(°) GROMOS53a6	Standart deviation(°) GROMOS53a6	Differences (°)
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

Table 3 showed that bond angles values obtained after the computational simulation by MD simulation were very similar, even considering their standard deviations, which validates the methodologies used for the parameterization of the Chitosan compound in relation to the values of connection angles. In order to refine the parameterization of Chitosan, in this work the structural analysis of the glycopyranoside rings present in the biopolymer was carried out. The 10 chitosan decamer monomers were melted to obtain the best conformation of a monomer resulting for the OPLS-AA force field and the same was done for the compound in GROMOS53a6. Then the two monomers conformations were superimposed (Figure 8a and 8b) and the difference between these rings was only 0.28 angstrom.



a) b)

Figure 8 a) top and perspective of the Chitosan rings. b) Side perspective of chitosan cycles.

In this fusion visualization only were considered the atoms inside the ring. Alkyl hydrogen atoms were restricted from the analysis due to their small value of mass and size. Also, only the ring skeleton containing 5 carbons and 1 oxygen were analyzed. The small deviation of the cyclic structures of the biopolymer in the different force fields showed that the parameterization of the chitosan in the OPLS-AA was successful, which corroborates with the aforementioned structural analyzes.

The thermodynamic equilibrium of the systems were analyzed from the total energy in Figure 9, with a total simulation time of 50 ns on GROMOS53a6 and 20 ns on OPLS-AA. The profile of the total energy graph shows that the energy stability of Chitosan in OPLS-AA occurs prior to 15ns of simulation whereas in GROMOS53a6 it occurs after 20 ns.

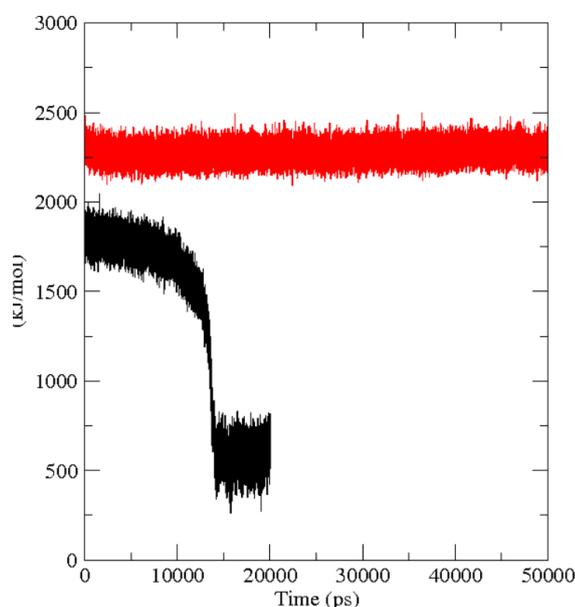


Figure 9 Total energy profile of the chitosan in different force fields

The obtaining equilibrium total energy value was 1338.19 kJ/mol (± 526.649) refers to the higher energy stability of this compound in OPLS-AA (20,000ps) than in GROMOS53a6 (50,000ps) in which the total equilibrium energy value was equal to 2080.36 kJ/mol (± 645.82). This is another factor that reinforces the importance of the parameterization of the biopolymer in the OPLS-AA force field.

CONCLUSION

An atomistic Molecular Dynamics Simulation of the chitin and chitosan biopolymers was made using the OPLS-AA force-field. The good agreement of the structural and energetic parameters obtained from simulation validates the parametrization on the OPLS-AA force field,

compared with the consolidated GROMOS53a6 force-field.

The studies performed after molecular dynamics simulations provided crucial data to explain the molecular behavior of the simulated systems. The structural and energetic parameters are in concordance with expected in literature.

The structural and energetic stability observed for chitosan on OPLS-AA, that provides a more detailed atomistic description, if compared to GROMOS53a6, was validated using root mean square deviations bond distances, bond angles and the superimposition of chitosan's rings between the compared force fields. Interestingly, despite the OPLS-AA force field be an atomistic simulation, it showed that the chitosan stabilized in less simulation time if compared with GROMOS53a6.

Given the results, we confirm that the parametrization and validation of chitosan's on OPLS-AA are a success and this biopolymer, with a wide range of applications, can now have its properties - previously uncountable - calculated through simulations on several systems.

REFERENCES

1. Ramos Berger, L. R. *et al.* Chitosan produced from Mucorales fungi using agroindustrial by-products and its efficacy to inhibit *Colletotrichum* species. *International Journal of Biological Macromolecules* (2017). doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.11.178
2. Abdelmalek, B. E., Sila, A., Haddar, A., Bougatef, A. & Ayadi, M. A. β -Chitin and chitosan from squid gladius: Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. *International Journal of Biological Macromolecules* **104**, 953–962 (2017)
3. Sayari, N. *et al.* Chitin and chitosan from the Norway lobster by-products: Antimicrobial and anti-proliferative activities. *International Journal of Biological Macromolecules* **87**, 163–171 (2016)
4. Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P. & de la Caba, K. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* **105**, 1358–1368 (2017).
5. Behera, S. S., Das, U., Kumar, A., Bissoyi, A. & Singh, A. K. Chitosan/TiO₂ composite membrane improves proliferation and survival of L929 fibroblast cells: Application in wound dressing and skin regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules* **98**, 329–340 (2017)
6. Wahba, M. I. Porous chitosan beads of superior mechanical properties for the covalent immobilization of enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules* **105**, 894–904 (2017)
7. Faria, R. R., Guerra, R. F., De Sousa Neto, L. R., Motta, L. F. & Franca, E. D. F. Computational study of polymorphic structures of α - And β - chitin and chitosan in aqueous solution.

Journal of Molecular Graphics and Modelling **63**, 78–84 (2016)

8. Damm, W., Frontera, A., Tirado-Rives, J. & Jorgensen, W. L. OPLS all-atom force field for carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* **18**, 1955–1970 (1997).
9. Franca, E. F., Lins, R. D., Freitas, L. C. G. & Straatsma, T. P. Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution. *Journal of Chemical Theory and Computation* **4**, 2141–2149 (2008).
10. Chang, J. & Sandler, S. I. Interatomic Lennard-Jones potentials of linear and branched alkanes calibrated by Gibbs ensemble simulations for vapor-liquid equilibria. *Journal of Chemical Physics* **121**, 7474–7483 (2004).
11. Slater, J. C. A simplification of the Hartree-Fock method. *Physical Review* **81**, 385–390 (1951).
1. Ramos Berger, L. R. *et al.* Chitosan produced from Mucorales fungi using agroindustrial by-products and its efficacy to inhibit *Colletotrichum* species. *International Journal of Biological Macromolecules* (2017). doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.11.178
2. Abdelmalek, B. E., Sila, A., Haddar, A., Bougatef, A. & Ayadi, M. A. β -Chitin and chitosan from squid gladius: Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. *International Journal of Biological Macromolecules* **104**, 953–962 (2017).
3. Sayari, N. *et al.* Chitin and chitosan from the Norway lobster by-products: Antimicrobial and anti-proliferative activities. *International Journal of Biological Macromolecules* **87**, 163–171 (2016).
4. Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P. & de la Caba, K. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* **105**, 1358–1368 (2017).
5. Behera, S. S., Das, U., Kumar, A., Bissoyi, A. & Singh, A. K. Chitosan/TiO₂ composite membrane improves proliferation and survival of L929 fibroblast cells: Application in wound dressing and skin regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules* **98**, 329–340 (2017).
6. Wahba, M. I. Porous chitosan beads of superior mechanical properties for the covalent immobilization of enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules* **105**, 894–904 (2017).
7. Faria, R. R., Guerra, R. F., De Sousa Neto, L. R., Motta, L. F. & Franca, E. D. F. Computational study of polymorphic structures of α - And β - chitin and chitosan in aqueous solution. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* **63**, 78–84 (2016).
8. Damm, W., Frontera, A., Tirado-Rives, J. & Jorgensen, W. L. OPLS all-atom force field for

- carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* **18**, 1955–1970 (1997).
9. Franca, E. F., Lins, R. D., Freitas, L. C. G. & Straatsma, T. P. Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution. *Journal of Chemical Theory and Computation* **4**, 2141–2149 (2008).
 10. Chang, J. & Sandler, S. I. Interatomic Lennard-Jones potentials of linear and branched alkanes calibrated by Gibbs ensemble simulations for vapor-liquid equilibria. *Journal of Chemical Physics* **121**, 7474–7483 (2004).
 11. Slater, J. C. A simplification of the Hartree-Fock method. *Physical Review* **81**, 385–390 (1951).
 12. Valiev, M. *et al.* NWChem: A comprehensive and scalable open-source solution for large scale molecular simulations. *Computer Physics Communications* **181**, 1477–1489 (2010).
 13. Neese, F. ORCA – An ab initio, DFT and semiempirical SCF-MO package. (2010).
 14. Stephens, P. J., Devlin, F. J., Chabalowski, C. F. & Frisch, M. J. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. *The Journal of Physical Chemistry* **98**, 11623–11627 (1994).
 15. Becke, A. B3LYP. *J. Chem. Phys.* **98**, 5648–5652 (1993).
 16. Jorgensen, W. L. & Tirado-Rives, J. The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin. *Journal of the American Chemical Society* **110**, 1657–1666 (1988).
 17. ALLOUCHE, A. R. Gabedit - A graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of Computational Chemistry* **32**, 174–182 (2011).
 18. Humphrey, W., Dalke, A. & Schulten, K. VMD-Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics* **14**, 33–38 (1996).
 19. Van Der Spoel, D. *et al.* GROMACS: Fast, flexible, and free. *Journal of Computational Chemistry* **26**, 1701–1718 (2005).
 20. Berendsen, H. J. C., Postma, J. P. M., van Gunsteren, W. F., DiNola, a & Haak, J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics* **81**, 3684–3690 (1984).
 21. Woods, R. J. & Chappelle, R. Restrained electrostatic potential atomic partial charges for condensed-phase simulations of carbohydrates. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **527**, 149–156 (2000).
 22. Wang, J., Cieplak, P. & Kollman, P. a. How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *Journal of Computational Chemistry* **21**, 1049–1074 (2000).

23. Fal'kovich, S. G. *et al.* Computer simulation of the heat-resistant polyimides ULTEMTM and EXTEMTM with the use of GROMOS53a6 and AMBER99 force fields. *Polymer Science Series A* **56**, 558–567 (2014).
24. Kaminski, G. a., Friesner, R. a., Tirado-Rives, J. & Jorgensen, W. L. Evaluation and reparametrization of the OPLS-AA force field for proteins via comparison with accurate quantum chemical calculations on peptides. *Journal of Physical Chemistry B* **105**, 6474–6487 (2001).
25. Humphrey, W., Dalke, A. & Schulten, K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics* **14**, 33–38 (1996).
26. Maiorov, V. N. & Crippen, G. M. Significance of root-mean-square deviation in comparing three-dimensional structures of globular proteins. *Journal of Molecular Biology* **235**, 625–634 (1994).
27. Scott, W. R. P. *et al.* The GROMOS Biomolecular Simulation Program Package. *The Journal of Physical Chemistry A* **103**, 3596–3607 (1999).

APÊNDICE D: Topologia do decâmero de quitosana

```

[ moleculetype ]
; Name      nrexcl
Chitosan    3

[ atoms ]
; nr  type resnr residue atom  cgnr  charge  mass typeB  chargeB  massB
; residue 1 NGPC rtp NGPC q +1.0
1  opls_968  1  NGPC  O4  1  -0.586  15.9994 ; qtot -0.586
2  opls_970  1  NGPC  HO4 1  0.461  1.008 ; qtot -0.125
3  opls_967  1  NGPC  C4  2  0.056  12.011 ; qtot -0.069
4  opls_966  1  NGPC  H41 2  0.176  1.008 ; qtot 0.107
5  opls_967  1  NGPC  C3  3  0.172  12.011 ; qtot 0.279
6  opls_966  1  NGPC  H31 3  0.06  1.008 ; qtot 0.339
7  opls_969  1  NGPC  O3  4  -0.551  15.9994 ; qtot -0.212
8  opls_970  1  NGPC  HO3 4  0.335  1.008 ; qtot 0.123
9  opls_967  1  NGPC  C2  5  -0.088  12.011 ; qtot 0.035
10 opls_966  1  NGPC  H21 5  0.088  1.008 ; qtot 0.123
11 opls_972  1  NGPC  N2  6  0.594  4.0067 ; qtot 0.717
12 opls_973  1  NGPC  H22 6  0.098  1.008 ; qtot 0.815
13 opls_973  1  NGPC  H23 6  0.107  1.008 ; qtot 0.922
14 opls_973  1  NGPC  H24 6  0.057  1.008 ; qtot 0.979
15 opls_967  1  NGPC  C6  7  0.217  12.011 ; qtot 1.196
16 opls_966  1  NGPC  H61 7  0.015  1.008 ; qtot 1.211
17 opls_966  1  NGPC  H62 7  0.015  1.008 ; qtot 1.226
18 opls_970  1  NGPC  HO6 8  0.45  1.008 ; qtot 1.676
19 opls_968  1  NGPC  O6  8  -0.68  15.9994 ; qtot 0.996
20 opls_967  1  NGPC  C5  9  0.232  12.011 ; qtot 1.228
21 opls_966  1  NGPC  H51 9  0.088  1.008 ; qtot 1.316
22 opls_971  1  NGPC  O5 10  -0.256  15.9994 ; qtot 1.06
23 opls_967  1  NGPC  C1 11  -0.277  12.011 ; qtot 0.783
24 opls_966  1  NGPC  H11 11  0.313  1.008 ; qtot 1.096
25 opls_971  1  NGPC  O1 12  -0.096  15.9994 ; qtot 1

```

; residue 2 CHIT rtp CHIT q 0.0

26	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C4	13	0.168	12.011	<i>; qtot 1.168</i>
27	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H41	13	0.064	1.008	<i>; qtot 1.232</i>
28	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C3	14	0.282	12.011	<i>; qtot 1.514</i>
29	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H31	14	0.061	1.008	<i>; qtot 1.575</i>
30	<i>opls_969</i>	2	CHIT	O3	15	-0.603	15.9994	<i>; qtot 0.972</i>
31	<i>opls_970</i>	2	CHIT	HO3	15	0.335	1.008	<i>; qtot 1.307</i>
32	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C2	16	-0.121	12.011	<i>; qtot 1.186</i>
33	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H21	16	0.125	1.008	<i>; qtot 1.311</i>
34	<i>opls_972</i>	2	CHIT	N2	17	-0.186	4.0067	<i>; qtot 1.125</i>
35	<i>opls_973</i>	2	CHIT	H22	17	0.217	1.008	<i>; qtot 1.342</i>
36	<i>opls_235</i>	2	CHIT	C7	18	0.547	12.011	<i>; qtot 1.889</i>
37	<i>opls_236</i>	2	CHIT	O7	18	-0.651	15.9994	<i>; qtot 1.238</i>
38	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C8	19	0.045	12.011	<i>; qtot 1.283</i>
39	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H81	19	0.006	1.008	<i>; qtot 1.289</i>
40	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H82	19	0.006	1.008	<i>; qtot 1.295</i>
41	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H83	19	0.006	1.008	<i>; qtot 1.301</i>
42	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C6	20	0.223	12.011	<i>; qtot 1.524</i>
43	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H61	20	0.004	1.008	<i>; qtot 1.528</i>
44	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H62	20	0.004	1.008	<i>; qtot 1.532</i>
45	<i>opls_970</i>	2	CHIT	HO6	21	0.469	1.008	<i>; qtot 2.001</i>
46	<i>opls_968</i>	2	CHIT	O6	21	-0.767	15.9994	<i>; qtot 1.234</i>
47	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C5	22	0.259	12.011	<i>; qtot 1.493</i>
48	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H51	22	0.053	1.008	<i>; qtot 1.546</i>
49	<i>opls_971</i>	2	CHIT	O5	23	-0.351	15.9994	<i>; qtot 1.195</i>
50	<i>opls_967</i>	2	CHIT	C1	24	-0.196	12.011	<i>; qtot 0.999</i>
51	<i>opls_966</i>	2	CHIT	H11	24	0.164	1.008	<i>; qtot 1.163</i>
52	<i>opls_969</i>	2	CHIT	O1	25	-0.163	15.9994	<i>; qtot 1</i>

; residue 3 NGLU rtp NGLU q 0.0

53	<i>opls_967</i>	3	NGLU	C4	26	-0.26	12.011	<i>; qtot 0.74</i>
54	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H41	26	0.134	1.008	<i>; qtot 0.874</i>
55	<i>opls_967</i>	3	NGLU	C3	27	0.353	12.011	<i>; qtot 1.227</i>
56	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H31	27	0.06	1.008	<i>; qtot 1.287</i>
57	<i>opls_969</i>	3	NGLU	O3	28	-0.664	15.9994	<i>; qtot 0.623</i>

58	<i>opls_970</i>	3	NGLU	HO3	28	0.374	1.008	; qtot 0.997
59	<i>opls_967</i>	3	NGLU	C2	29	-0.097	12.011	; qtot 0.9
60	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H21	29	0.097	1.008	; qtot 0.997
61	<i>opls_972</i>	3	NGLU	N2	30	-0.638	4.0067	; qtot 0.359
62	<i>opls_973</i>	3	NGLU	H22	30	0.308	1.008	; qtot 0.667
63	<i>opls_973</i>	3	NGLU	H23	30	0.301	1.008	; qtot 0.968
64	<i>opls_967</i>	3	NGLU	C6	31	0.24	12.011	; qtot 1.208
65	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H61	31	-0.004	1.008	; qtot 1.204
66	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H62	31	-0.004	1.008	; qtot 1.2
67	<i>opls_970</i>	3	NGLU	HO6	32	0.38	1.008	; qtot 1.58
68	<i>opls_968</i>	3	NGLU	O6	32	-0.66	15.9994	; qtot 0.92
69	<i>opls_967</i>	3	NGLU	C5	33	0.137	12.011	; qtot 1.057
70	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H51	33	0.098	1.008	; qtot 1.155
71	<i>opls_971</i>	3	NGLU	O5	34	-0.333	15.9994	; qtot 0.822
72	<i>opls_967</i>	3	NGLU	C1	35	0.328	12.011	; qtot 1.15
73	<i>opls_966</i>	3	NGLU	H11	35	0.058	1.008	; qtot 1.208
74	<i>opls_971</i>	3	NGLU	O1	36	-0.208	15.9994	; qtot 1

; residue 4 NGLP rtp NGLP q +1.0

75	<i>opls_967</i>	4	NGLP	C4	37	-0.274	12.011	; qtot 0.726
76	<i>opls_966</i>	4	NGLP	H41	37	0.219	1.008	; qtot 0.945
77	<i>opls_967</i>	4	NGLP	C3	38	0.217	12.011	; qtot 1.162
78	<i>opls_966</i>	4	NGLP	H31	38	0.06	1.008	; qtot 1.222
79	<i>opls_969</i>	4	NGLP	O3	39	-0.551	15.9994	; qtot 0.671
80	<i>opls_970</i>	4	NGLP	HO3	39	0.335	1.008	; qtot 1.006
81	<i>opls_967</i>	4	NGLP	C2	40	-0.088	12.011	; qtot 0.918
82	<i>opls_966</i>	4	NGLP	H21	40	0.088	1.008	; qtot 1.006
83	<i>opls_972</i>	4	NGLP	N2	41	0.597	4.0067	; qtot 1.603
84	<i>opls_973</i>	4	NGLP	H22	41	0.143	1.008	; qtot 1.746
85	<i>opls_973</i>	4	NGLP	H23	41	0.107	1.008	; qtot 1.853
86	<i>opls_973</i>	4	NGLP	H24	41	0.057	1.008	; qtot 1.91
87	<i>opls_967</i>	4	NGLP	C6	42	0.217	12.011	; qtot 2.127
88	<i>opls_966</i>	4	NGLP	H61	42	0.007	1.008	; qtot 2.134
89	<i>opls_966</i>	4	NGLP	H62	42	0.007	1.008	; qtot 2.141

90 *opls_970* 4 *NGLP* *HO6* 43 0.45 1.008 ; *qtot* 2.591
 91 *opls_968* 4 *NGLP* *O6* 43 -0.68 15.9994 ; *qtot* 1.911
 92 *opls_967* 4 *NGLP* *C5* 44 0.232 12.011 ; *qtot* 2.143
 93 *opls_966* 4 *NGLP* *H51* 44 0.088 1.008 ; *qtot* 2.231
 94 *opls_971* 4 *NGLP* *O5* 45 -0.256 15.9994 ; *qtot* 1.975
 95 *opls_967* 4 *NGLP* *C1* 46 -0.104 12.011 ; *qtot* 1.871
 96 *opls_966* 4 *NGLP* *H11* 46 0.225 1.008 ; *qtot* 2.096
 97 *opls_969* 4 *NGLP* *O1* 47 -0.096 15.9994 ; *qtot* 2

; *residue* 5 *NGLU* *rtp* *NGLU* *q* 0.0

98 *opls_967* 5 *NGLU* *C4* 48 -0.26 12.011 ; *qtot* 1.74
 99 *opls_966* 5 *NGLU* *H41* 48 0.134 1.008 ; *qtot* 1.874
 100 *opls_967* 5 *NGLU* *C3* 49 0.353 12.011 ; *qtot* 2.227
 101 *opls_966* 5 *NGLU* *H31* 49 0.06 1.008 ; *qtot* 2.287
 102 *opls_969* 5 *NGLU* *O3* 50 -0.664 15.9994 ; *qtot* 1.623
 103 *opls_970* 5 *NGLU* *HO3* 50 0.374 1.008 ; *qtot* 1.997
 104 *opls_967* 5 *NGLU* *C2* 51 -0.097 12.011 ; *qtot* 1.9
 105 *opls_966* 5 *NGLU* *H21* 51 0.097 1.008 ; *qtot* 1.997
 106 *opls_972* 5 *NGLU* *N2* 52 -0.638 4.0067 ; *qtot* 1.359
 107 *opls_973* 5 *NGLU* *H22* 52 0.308 1.008 ; *qtot* 1.667
 108 *opls_973* 5 *NGLU* *H23* 52 0.301 1.008 ; *qtot* 1.968
 109 *opls_967* 5 *NGLU* *C6* 53 0.24 12.011 ; *qtot* 2.208
 110 *opls_966* 5 *NGLU* *H61* 53 -0.004 1.008 ; *qtot* 2.204
 111 *opls_966* 5 *NGLU* *H62* 53 -0.004 1.008 ; *qtot* 2.2
 112 *opls_970* 5 *NGLU* *HO6* 54 0.38 1.008 ; *qtot* 2.58
 113 *opls_968* 5 *NGLU* *O6* 54 -0.66 15.9994 ; *qtot* 1.92
 114 *opls_967* 5 *NGLU* *C5* 55 0.137 12.011 ; *qtot* 2.057
 115 *opls_966* 5 *NGLU* *H51* 55 0.098 1.008 ; *qtot* 2.155
 116 *opls_971* 5 *NGLU* *O5* 56 -0.333 15.9994 ; *qtot* 1.822
 117 *opls_967* 5 *NGLU* *C1* 57 0.328 12.011 ; *qtot* 2.15
 118 *opls_966* 5 *NGLU* *H11* 57 0.058 1.008 ; *qtot* 2.208
 119 *opls_971* 5 *NGLU* *O1* 58 -0.208 15.9994 ; *qtot* 2

; *residue* 6 *NGLP* *rtp* *NGLP* *q* +1.0

120 *opls_967* 6 *NGLP* C4 59 -0.274 12.011 ; *qtot* 1.726
121 *opls_966* 6 *NGLP* H41 59 0.219 1.008 ; *qtot* 1.945
122 *opls_967* 6 *NGLP* C3 60 0.217 12.011 ; *qtot* 2.162
123 *opls_966* 6 *NGLP* H31 60 0.06 1.008 ; *qtot* 2.222
124 *opls_969* 6 *NGLP* O3 61 -0.551 15.9994 ; *qtot* 1.671
125 *opls_970* 6 *NGLP* HO3 61 0.335 1.008 ; *qtot* 2.006
126 *opls_967* 6 *NGLP* C2 62 -0.088 12.011 ; *qtot* 1.918
127 *opls_966* 6 *NGLP* H21 62 0.088 1.008 ; *qtot* 2.006
128 *opls_972* 6 *NGLP* N2 63 0.597 4.0067 ; *qtot* 2.603
129 *opls_973* 6 *NGLP* H22 63 0.143 1.008 ; *qtot* 2.746
130 *opls_973* 6 *NGLP* H23 63 0.107 1.008 ; *qtot* 2.853
131 *opls_973* 6 *NGLP* H24 63 0.057 1.008 ; *qtot* 2.91
132 *opls_967* 6 *NGLP* C6 64 0.217 12.011 ; *qtot* 3.127
133 *opls_966* 6 *NGLP* H61 64 0.007 1.008 ; *qtot* 3.134
134 *opls_966* 6 *NGLP* H62 64 0.007 1.008 ; *qtot* 3.141
135 *opls_970* 6 *NGLP* HO6 65 0.45 1.008 ; *qtot* 3.591
136 *opls_968* 6 *NGLP* O6 65 -0.68 15.9994 ; *qtot* 2.911
137 *opls_967* 6 *NGLP* C5 66 0.232 12.011 ; *qtot* 3.143
138 *opls_966* 6 *NGLP* H51 66 0.088 1.008 ; *qtot* 3.231
139 *opls_971* 6 *NGLP* O5 67 -0.256 15.9994 ; *qtot* 2.975
140 *opls_967* 6 *NGLP* C1 68 -0.104 12.011 ; *qtot* 2.871
141 *opls_966* 6 *NGLP* H11 68 0.225 1.008 ; *qtot* 3.096
142 *opls_969* 6 *NGLP* O1 69 -0.096 15.9994 ; *qtot* 3

; *residue* 7 *NGLU* *rtp* *NGLU* *q* 0.0

143 *opls_967* 7 *NGLU* C4 70 -0.26 12.011 ; *qtot* 2.74
144 *opls_966* 7 *NGLU* H41 70 0.134 1.008 ; *qtot* 2.874
145 *opls_967* 7 *NGLU* C3 71 0.353 12.011 ; *qtot* 3.227
146 *opls_966* 7 *NGLU* H31 71 0.06 1.008 ; *qtot* 3.287
147 *opls_969* 7 *NGLU* O3 72 -0.664 15.9994 ; *qtot* 2.623
148 *opls_970* 7 *NGLU* HO3 72 0.374 1.008 ; *qtot* 2.997
149 *opls_967* 7 *NGLU* C2 73 -0.097 12.011 ; *qtot* 2.9
150 *opls_966* 7 *NGLU* H21 73 0.097 1.008 ; *qtot* 2.997
151 *opls_972* 7 *NGLU* N2 74 -0.638 4.0067 ; *qtot* 2.35

152	<i>opls_973</i>	7	NGLU	H22	74	0.308	1.008	; qtot 2.667
153	<i>opls_973</i>	7	NGLU	H23	74	0.301	1.008	; qtot 2.968
154	<i>opls_967</i>	7	NGLU	C6	75	0.24	12.011	; qtot 3.208
155	<i>opls_966</i>	7	NGLU	H61	75	-0.004	1.008	; qtot 3.204
156	<i>opls_966</i>	7	NGLU	H62	75	-0.004	1.008	; qtot 3.2
157	<i>opls_970</i>	7	NGLU	HO6	76	0.38	1.008	; qtot 3.58
158	<i>opls_968</i>	7	NGLU	O6	76	-0.66	15.9994	; qtot 2.92
159	<i>opls_967</i>	7	NGLU	C5	77	0.137	12.011	; qtot 3.057
160	<i>opls_966</i>	7	NGLU	H51	77	0.098	1.008	; qtot 3.155
161	<i>opls_971</i>	7	NGLU	O5	78	-0.333	15.9994	; qtot 2.822
162	<i>opls_967</i>	7	NGLU	C1	79	0.328	12.011	; qtot 3.15
163	<i>opls_966</i>	7	NGLU	H11	79	0.058	1.008	; qtot 3.208
164	<i>opls_971</i>	7	NGLU	O1	80	-0.208	15.9994	; qtot 3

; residue 8 NGLP rtp NGLP q +1.0

165	<i>opls_967</i>	8	NGLP	C4	81	-0.274	12.011	; qtot 2.726
166	<i>opls_966</i>	8	NGLP	H41	81	0.219	1.008	; qtot 2.945
167	<i>opls_967</i>	8	NGLP	C3	82	0.217	12.011	; qtot 3.162
168	<i>opls_966</i>	8	NGLP	H31	82	0.06	1.008	; qtot 3.222
169	<i>opls_969</i>	8	NGLP	O3	83	-0.551	15.9994	; qtot 2.671
170	<i>opls_970</i>	8	NGLP	HO3	83	0.335	1.008	; qtot 3.006
171	<i>opls_967</i>	8	NGLP	C2	84	-0.088	12.011	; qtot 2.918
172	<i>opls_966</i>	8	NGLP	H21	84	0.088	1.008	; qtot 3.006
173	<i>opls_972</i>	8	NGLP	N2	85	0.597	4.0067	; qtot 3.603
174	<i>opls_973</i>	8	NGLP	H22	85	0.143	1.008	; qtot 3.746
175	<i>opls_973</i>	8	NGLP	H23	85	0.107	1.008	; qtot 3.853
176	<i>opls_973</i>	8	NGLP	H24	85	0.057	1.008	; qtot 3.91
177	<i>opls_967</i>	8	NGLP	C6	86	0.217	12.011	; qtot 4.127
178	<i>opls_966</i>	8	NGLP	H61	86	0.007	1.008	; qtot 4.134
179	<i>opls_966</i>	8	NGLP	H62	86	0.007	1.008	; qtot 4.141
180	<i>opls_970</i>	8	NGLP	HO6	87	0.45	1.008	; qtot 4.591
181	<i>opls_968</i>	8	NGLP	O6	87	-0.68	15.9994	; qtot 3.911
182	<i>opls_967</i>	8	NGLP	C5	88	0.232	12.011	; qtot 4.143
183	<i>opls_966</i>	8	NGLP	H51	88	0.088	1.008	; qtot 4.231

184 *opls_971* 8 *NGLP O5* 89 -0.256 15.9994 ; *qtot* 3.975
 185 *opls_967* 8 *NGLP C1* 90 -0.104 12.011 ; *qtot* 3.87
 186 *opls_966* 8 *NGLP H11* 90 0.225 1.008 ; *qtot* 4.096
 187 *opls_969* 8 *NGLP O1* 91 -0.096 15.9994 ; *qtot* 4

; *residue* 9 *CHIT rtp CHIT q* 0.0

188 *opls_967* 9 *CHIT C4* 92 0.168 12.011 ; *qtot* 4.168
 189 *opls_966* 9 *CHIT H41* 92 0.064 1.008 ; *qtot* 4.232
 190 *opls_967* 9 *CHIT C3* 93 0.282 12.011 ; *qtot* 4.514
 191 *opls_966* 9 *CHIT H31* 93 0.061 1.008 ; *qtot* 4.575
 192 *opls_969* 9 *CHIT O3* 94 -0.603 15.9994 ; *qtot* 3.972
 193 *opls_970* 9 *CHIT HO3* 94 0.335 1.008 ; *qtot* 4.307
 194 *opls_967* 9 *CHIT C2* 95 -0.121 12.011 ; *qtot* 4.186
 195 *opls_966* 9 *CHIT H21* 95 0.125 1.008 ; *qtot* 4.311
 196 *opls_972* 9 *CHIT N2* 96 -0.186 4.0067 ; *qtot* 4.125
 197 *opls_973* 9 *CHIT H22* 96 0.217 1.008 ; *qtot* 4.342
 198 *opls_235* 9 *CHIT C7* 97 0.547 12.011 ; *qtot* 4.889
 199 *opls_236* 9 *CHIT O7* 97 -0.651 15.9994 ; *qtot* 4.238
 200 *opls_967* 9 *CHIT C8* 98 0.045 12.011 ; *qtot* 4.283
 201 *opls_966* 9 *CHIT H81* 98 0.006 1.008 ; *qtot* 4.289
 202 *opls_966* 9 *CHIT H82* 98 0.006 1.008 ; *qtot* 4.295
 203 *opls_966* 9 *CHIT H83* 98 0.006 1.008 ; *qtot* 4.301
 204 *opls_967* 9 *CHIT C6* 99 0.223 12.011 ; *qtot* 4.524
 205 *opls_966* 9 *CHIT H61* 99 0.004 1.008 ; *qtot* 4.528
 206 *opls_966* 9 *CHIT H62* 99 0.004 1.008 ; *qtot* 4.532
 207 *opls_970* 9 *CHIT HO6* 100 0.469 1.008 ; *qtot* 5.001
 208 *opls_968* 9 *CHIT O6* 100 -0.767 15.9994 ; *qtot* 4.234
 209 *opls_967* 9 *CHIT C5* 101 0.259 12.011 ; *qtot* 4.493
 210 *opls_966* 9 *CHIT H51* 101 0.053 1.008 ; *qtot* 4.546
 211 *opls_971* 9 *CHIT O5* 102 -0.351 15.9994 ; *qtot* 4.195
 212 *opls_967* 9 *CHIT C1* 103 -0.196 12.011 ; *qtot* 3.999
 213 *opls_966* 9 *CHIT H11* 103 0.164 1.008 ; *qtot* 4.163
 214 *opls_969* 9 *CHIT O1* 104 -0.163 15.9994 ; *qtot* 4

; residue 10 NGUO rtp NGUO q 0.0

215	<i>opls_967</i>	10	NGUO	C4	105	-0.33	12.011	<i>; qtot 3.67</i>
216	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H41	105	0.267	1.008	<i>; qtot 3.937</i>
217	<i>opls_967</i>	10	NGUO	C3	106	0.4	12.011	<i>; qtot 4.337</i>
218	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H31	106	0.06	1.008	<i>; qtot 4.39</i>
219	<i>opls_969</i>	10	NGUO	O3	107	-0.664	15.9994	<i>; qtot 3.733</i>
220	<i>opls_970</i>	10	NGUO	HO3	107	0.374	1.008	<i>; qtot 4.107</i>
221	<i>opls_967</i>	10	NGUO	C2	108	-0.097	12.011	<i>; qtot 4.01</i>
222	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H21	108	0.097	1.008	<i>; qtot 4.107</i>
223	<i>opls_972</i>	10	NGUO	N2	109	-0.637	4.0067	<i>; qtot 3.47</i>
224	<i>opls_973</i>	10	NGUO	H22	109	0.261	1.008	<i>; qtot 3.731</i>
225	<i>opls_973</i>	10	NGUO	H23	109	0.301	1.008	<i>; qtot 4.032</i>
226	<i>opls_967</i>	10	NGUO	C6	110	0.24	12.011	<i>; qtot 4.272</i>
227	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H61	110	-0.004	1.008	<i>; qtot 4.268</i>
228	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H62	110	-0.004	1.008	<i>; qtot 4.264</i>
229	<i>opls_970</i>	10	NGUO	HO6	111	0.38	1.008	<i>; qtot 4.644</i>
230	<i>opls_968</i>	10	NGUO	O6	111	-0.66	15.9994	<i>; qtot 3.984</i>
231	<i>opls_967</i>	10	NGUO	C5	112	0.137	12.011	<i>; qtot 4.121</i>
232	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H51	112	0.097	1.008	<i>; qtot 4.218</i>
233	<i>opls_971</i>	10	NGUO	O5	113	-0.333	15.9994	<i>; qtot 3.885</i>
234	<i>opls_967</i>	10	NGUO	C1	114	0.202	12.011	<i>; qtot 4.087</i>
235	<i>opls_966</i>	10	NGUO	H11	115	0.03	1.008	<i>; qtot 4.117</i>
236	<i>opls_968</i>	10	NGUO	O1	116	-0.466	15.9994	<i>; qtot 3.651</i>
237	<i>opls_970</i>	10	NGUO	HO1	116	0.349	1.008	<i>; qtot 4</i>

APÊNDICE E: Topologia do herbicida glifosato

```

[ moleculetype ]
; Name      nrexcl
Herbicide   3
[ atoms ]
; nr      type resnr residue atom cgnr  charge  mass typeB  chargeB  massB
; residue 1 GFT rtp GFT q -2.0
1  opls_450  1  GFT  P1  1  1.388  30.9738 ; qtot 1.388
2  opls_451  1  GFT  O1  1  -0.933  15.9994 ; qtot 0.455
3  opls_451  1  GFT  O2  1  -0.933  15.9994 ; qtot -0.478
4  opls_434  1  GFT  O3  1  -0.745  15.9994 ; qtot -1.223
5  opls_435  1  GFT  HO3  1  0.3  1.008 ; qtot -0.923
6  opls_455  1  GFT  C1  2  -0.16  12.011 ; qtot -1.083
7  opls_456  1  GFT  H11  2  0.04  1.008 ; qtot -1.043
8  opls_456  1  GFT  H12  2  0.04  1.008 ; qtot -1.003
9  opls_901  1  GFT  N1  3  -0.433  14.0067 ; qtot -1.436
10 opls_310  1  GFT  HN1  3  0.31  1.008 ; qtot -1.126
11 opls_274  1  GFT  C2  4  -0.095  12.011 ; qtot -1.221
12 opls_140  1  GFT  H21  4  0.03  1.008 ; qtot -1.191
13 opls_140  1  GFT  H22  4  0.03  1.008 ; qtot -1.161
14 opls_271  1  GFT  C3  5  0.875  12.011 ; qtot -0.286
15 opls_272  1  GFT  O4  5  -0.857  15.9994 ; qtot -1.143
16 opls_272  1  GFT  O5  5  -0.857  15.9994 ; qtot -2

```

APÊNDICE F: Disponibilidade Computacional

O LCQC possui cinco computadores disponíveis:

- 1 intel xeon com 24 núcleos 3,4 Ghz (64Gb-RAM);
- 4 PCs i7 i7 8cores (8GB-RAM);
- 1 intel xeon 8 core 3,2Ghz (16GB-RAM);

Além disso, temos um GPU Nvidia TESLA (C1060) com 240 núcleos de processamento para a realização de cálculos de Dinâmica Molecular.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham, M., Hess, B., Spoel, D. van der, & Lindahl, E. (2015). Groningen Machine for Chemical Simulations 5.0.7. *Development Teams at the Royal Institute of Technology and Uppsala University, Sweden, 5.0.7*, 310.
- Advanced Chemistry Development, I. (2018). ACD/Structure Elucidator, version 2018.1. *Toronto ON, Canada, 1*. <https://doi.org/10.1021/ci980264t>
- Afranio Craveiro Alexandre Craveiro e Danilo de Q. (1999). *Quitosana a Fibra do Futuro*. (Padetec, Ed.) (Padetec). Padetec.
- Agostini de Moraes, M., Cocenza, D. S., da Cruz Vasconcellos, F., Fraceto, L. F., & Beppu, M. M. (2013). Chitosan and alginate biopolymer membranes for remediation of contaminated water with herbicides. *Journal of Environmental Management*. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.028>
- Albert, E. (1905). On an Heuristic Point of View Toward the Emission and Transformation of Light. *Annalen Der Physik*, 132–148. Retrieved from <https://einsteinpapers.press.princeton.edu/vol2-trans/100>
- Alishahi, A., & Aider, M. (2012). Applications of Chitosan in the Seafood Industry and Aquaculture: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 817–830. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0664-x>
- Almlöf, J., & Taylor, P. R. (1991). Atomic Natural Orbital (ANO) Basis Sets for Quantum Chemical Calculations. *Advances in Quantum Chemistry*, 22, 301–373. [https://doi.org/10.1016/S0065-3276\(08\)60366-4](https://doi.org/10.1016/S0065-3276(08)60366-4)
- Amarante Jr, O. P. ; dos Santos, C. R. ; Brito, N. M. ; Ribeiro, M. L. (2002). Glifosato: Propriedades, Toxicidade, Usos e Legislação. *Química Nova*, 25(4), 589–593. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>
- ANVISA. (2015). Anvisa esclarece sobre carcinogenicidade de cinco substâncias

comercializados no país. portal.anvisa. Retrieved from <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu+-+noticias+anos/2015/anvisa+esclarece+sobre+carcinogenicidade+de+cinco+substancias+comercializados+no+pais>

Araujo, J. V, da Silva, J. A., Almeida, M. M., & Costa, M. E. V. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based scaffolds for biomedical applications. *Materials Science Forum*, 514–516, 1009. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.514-516.1005>

Atkins, P. W., & Friedman, R. (2011). *Molecular Quantum Mechanics*, fifth edition. Oxford University Press, 134, 588. Retrieved from <http://www.citeulike.org/user/atreju/article/3390344>

Baer, K. N., & Marcel, B. J. (2014). Glyphosate. In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00148-2>

Battaglin, W. A., Meyer, M. T., Kuivila, K. M., & Dietze, J. E. (2014). Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U.S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *Journal of the American Water Resources Association*. <https://doi.org/10.1111/jawr.12159>

Battisti, M. V., & Campana-Filho, S. P. (2008). Preparation And Characterization Of Alpha-Chitin And Chitosan From The Shells Of Macrobrachium Rosebergii. *Quimica Nova*, 31(8), 2014–2019. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000800019>

Becke, A. (1993). A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. *J. Chem. Phys.*, 98(b31yp), 1372–1377. <https://doi.org/10.1063/1.464304>

Becke, A. D. (1988). Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098>

Berendsen, H. J. C., Postma, J. P. M., Vangunsteren, W. F., Dinola, A., & Haak, J. R. (1984). Molecular-Dynamics With Coupling To An External Bath. *Journal of Chemical Physics*,

81(8), 3684–3690. <https://doi.org/10.1063/1.448118>

Born, M., & Oppenheimer, R. J. (1927). On the quantum theory of molecules (English translation). *Annalen Der Physik*, 457(1927), 1–32. Retrieved from <http://www.ulb.ac.be/cpm/people/scientists/bsutclif/bornop.pdf>
<https://doi.org/10.1002/andp.19273892002>

Botero-Coy, A. M., Ibáñez, M., Sancho, J. V., & Hernández, F. (2013). Improvements in the analytical methodology for the residue determination of the herbicide glyphosate in soils by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1292, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.007>

Bott, R. (2006). *Computer Simulations in Condensed Matter Systems: From Materials to Chemical Biology Volume 1. Igarss 2014*. <https://doi.org/10.1007/3-540-35273-2>

Boys, S. F., & Egerton, A. C. (1950). Electronic wave functions - I. A general method of calculation for the stationary states of any molecular system. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 200(1063), 542–554. <https://doi.org/10.1098/rspa.1950.0036>

Bradberry, S. M., Proudfoot, A. T., & Vale, J. A. (2004). Glyphosate poisoning. *Toxicological Reviews*, pp. 159–167. <https://doi.org/10.2165/00139709-200423030-00003>

Brogie, L. de. (1924). Recherches sur la théorie des quanta. *Thesis (Paris)*.

Bussi, G., Donadio, D., & Parrinello, M. (2007). Canonical sampling through velocity rescaling. *Journal of Chemical Physics*, 126(1). <https://doi.org/10.1063/1.2408420>

Campana, S. P., de Britto, D., Curti, E., Abreu, F. R., Cardoso, M. B., Battisti, M. V., ... Lavall, R. L. (2007). Extraction, structures and properties of alpha- and beta-chitin. *Quimica Nova*, 30(3), 644–650. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422007000300026>

Carneiro, R. T. A., Taketa, T. B., Gomes Neto, R. J., Oliveira, J. L., Campos, E. V. R., de Moraes, M. A., ... Fraceto, L. F. (2015). Removal of glyphosate herbicide from water

using biopolymer membranes. *Journal of Environmental Management*, 151, 353–360.
<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.01.005>

Carvalho, De, L. B. (2013). *Herbicidas* (1st ed.). Lages, SC: -Acesso em: 09 Jul. 2018.
<http://leonardobarvalho.files.wordpress.com/2013/02/livroherbicidas.pdf>

Celis, R., Adelino, M. A., Hermosin, M. C., & Cornejo, J. (2012). Montmorillonite-chitosan bionanocomposites as adsorbents of the herbicide clopyralid in aqueous solution and soil/water suspensions. *Journal of Hazardous Materials*, 209, 67–76.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.12.074>

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, K. L. B., Tsai, G., Lee, J., Fu, W. R., Chang, B., Tsai, G., ... Fu, W. R. (1997). Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Research*, 303(3), 327–332. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)00179-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)00179-1)

Chatterjee, S., Lee, M. W., & Woo, S. H. (2010). Adsorption of congo red by chitosan hydrogel beads impregnated with carbon nanotubes. *Bioresource Technology*, 101(6), 1800–1806. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.051>

Chen, L., Du, Y., Tian, Z., & Sun, L. (2005). Effect of the degree of deacetylation and the substitution of carboxymethyl chitosan on its aggregation behavior. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 43(3), 296–305. <https://doi.org/10.1002/polb.20212>

Chiou, M. ., & Li, H. . (2003). Adsorption behavior of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads. *Chemosphere*, 50(8), 1095–1105.
[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00636-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00636-7)

Chorfa, A., Bétémps, D., Morignat, E., Lazizzera, C., Hogeveen, K., Andrieu, T., & Baron, T. (2013). Specific pesticide-dependent increases in α -synuclein levels in human neuroblastoma (SH-SY5Y) and melanoma (SK-MEL-2) cell lines. *Toxicological Sciences*, 133(2), 289–297. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kft076>

- 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*(21), 9620–9631.
<https://doi.org/10.1021/ja00074a030>
- Coutinho, C. F. B., & Mazo, L. H. (2005). Metallic complexes with glyphosate: a review. *Quimica Nova*, *28*(6), 1038–1045. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422005000600019>
- Cox, C. (2004). Herbicide Factsheet: Glyphosate. *Journal of Pesticide Reform*, *24*(4), 10–15.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Custodio, R., & Morgon, N. H. (1995). The Density-Functional Theory. *Quimica Nova*.
- Damm, W., Frontera, A., Tirado-Rives, J., & Jorgensen, W. L. (1997). OPLS all-atom force field for carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry*, *18*(16), 1955–1970.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199712\)18:16<1955::AID-JCC1>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199712)18:16<1955::AID-JCC1>3.0.CO;2-L)
- 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., Brito, N. M., & Ribeiro, M. L. (2002). Glyphosate: Properties, toxicity, use and legislation. *Quimica Nova*, *25*(4), 589–593.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>
- Debbaudt, A. L., Ferreira, M. L., & Gschaidner, M. E. (2004). Theoretical and experimental study of M²⁺ adsorption on biopolymers. III. Comparative kinetic pattern of Pb, Hg and Cd. *Carbohydrate Polymers*, *56*(3), 321–332.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.02.009>
- Debbaudt, A., Zalba, M., Ferreira, M. L., Gschaidner, M. E., Debbaudt, A., Zalba, M., ... Gschaidner, M. E. (2001). Theoretical and experimental study of Pb²⁺ and Hg²⁺ adsorption on biopolymers, 2 Experimental part. *Macromolecular Bioscience*, *1*(6), 249–257. [https://doi.org/10.1002/1616-5195\(20010801\)1:6<233::aid-](https://doi.org/10.1002/1616-5195(20010801)1:6<233::aid-)

- Dick, R. E., & Quinn, J. P. (1995). Glyphosate-Degrading Isolates From Environmental-Samples - Occurrence And Pathways Of Degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(3), 545–550. <https://doi.org/10.1007/BF00218464>
- Dill, G. M., Sammons, R. D., Feng, P. C. C., Kohn, F., Kretzmer, K., Mehrsheikh, A., ... Hauptfear, E. A. (2010). Glyphosate: Discovery, Development, Applications, and Properties. In *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development, and Management* (pp. 1–33). <https://doi.org/10.1002/9780470634394.ch1>
- Ditchfield, R., Hehre, W. J., & Pople, J. A. (1971). Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules. *The Journal of Chemical Physics*, 54(2), 724–728. <https://doi.org/10.1063/1.1674902>
- Dodda, L. S., de Vaca, I., Tirado-Rives, J., & Jorgensen, W. L. (2017). LigParGen web server: an automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W331–W336. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx312>
- Dr. Max Planck. (1922). Vorlesungen uber Thermodynamik Siebente Auflage. *Department of Mathematics at the University of Glasgow, 1*(Anwendungen auf spezielle Gleichgewichtszustände), 279.
- Duke, S. O. (2011). Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and -susceptible crops and weeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 5835–5841. <https://doi.org/10.1021/jf102704x>
- Duke, S. O., & Powles, S. B. (2007). AGRO 1-Glyphosate: A once-in-a-century herbicide. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 233, 302.
- Dunning, T. H. (1989). Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. *The Journal of Chemical Physics*, 90(2), 1007–1023. <https://doi.org/10.1063/1.456153>

- Dutta, P. K., Dutta, J., & Tripathi, V. S. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 63(1), 20–31.
- Eaton, J. W., Bateman, D., & Hauberg, S. (2009). GNU Octave version 3.0.1 manual: a high-level interactive language for numerical computations. CreateSpace Independent Publishing Platform. Retrieved from <http://www.gnu.org/software/octave/doc/interpreter/>
- Einbu, A., Naess, S. N., Elgsaeter, A., & Varum, K. M. (2004). Solution properties of chitin in alkali. *Biomacromolecules*, 5(5), 2048–2054. <https://doi.org/10.1021/bm049710d>
- El-Sawy, S. M., Abu-Ayana, Y. M., & Abdel-Mohdy, F. A. (2001). Some chitin/chitosan derivatives for corrosion protection and waste water treatments. *Anti-Corrosion Methods and Materials*, 48(4), 227–234. <https://doi.org/10.1108/eum0000000005630>
- Faria, R. R., Franca, E. de F., Guerra, R. F., & Júnior, M. F. F. (2013). Avaliação do efeito do pH na adsorção dos cátions metálicos Cu²⁺ e Cd²⁺ por quitosana via simulações por dinâmica Molecular. *Simpósio Brasileiro de Química Teórica (SBQT)*.
- 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.jmgm.2015.11.001>
- Faria, R. R., Neto, L. R. D. S., Guerra, R. F., Junior, M. F. F., Oliveira, G. S., & Franca, E. F. (2018). Parameters for glyphosate in OPLS-AA force field. *Molecular Simulation*. <https://doi.org/10.1080/08927022.2018.1536294>
- Federal, G. (2019). *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Retrieved from <http://www.agricultura.gov.br/>
- Feng, P. C. C., Baley, G. J., Clinton, W. P., Bunkers, G. J., Alibhai, M. F., Paulitz, T. C., & Kidwell, K. K. (2005). Glyphosate inhibits rust diseases in glyphosate-resistant wheat and soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

America, 102(48), 17290–17295. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508873102>

Fock, V. Z. (1930). Self-consistent field. *Physik*, 62(11–12), 795–805.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF01330439>

Foresman, J., & Frisch, Æ. (1996). Exploring Chemistry With Electronic Structure Methods.pdf. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*.

<https://doi.org/10.1002/adma.200400767>

Franca, E. de F. (2009). *Caracterização Molecular De Biopolímeros Em Solução Utilizando Simulação Computacional*. Universidade Federal de São Carlos.

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>

Francl, M. M., Hehre, W. J., & Pople, J. A. (1982). Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *The Journal of Chemical Physics*, 77(7), 3654–3665. <https://doi.org/10.1063/1.444267>

Franz, J., Mao, M., & Sikorski, J. (1997). *Glyphosate: A Unique Global Herbicide*. *American Chemical Society Monograph* (Vol. 189).

https://doi.org/10.1163/_q3_SIM_00374

Frisch, M. J., Pople, J. A., & Binkley, J. S. (1984). Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. *The Journal of Chemical Physics*, 80(7), 3265–3269. <https://doi.org/10.1063/1.447079>

Froese Fischer, C. (1987). General Hartree-Fock program. *Computer Physics Communications*, 43(3), 355–365. [https://doi.org/10.1016/0010-4655\(87\)90053-1](https://doi.org/10.1016/0010-4655(87)90053-1)

Froimowitz, M. (1993). Hyperchem(Tm) - A Software Package For Computational Chemistry And Molecular Modeling. *Biotechniques*, 14(6), 1010–1013.

Galli, A. J. B., & Montezuma, M. C. (2005). Alguns aspectos da utilização do herbicida

glifosato na agricultura. In ACADCOM (Ed.).

Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M. C., & Séralini, G. E. (2009).

Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines.

Toxicology, 262(3), 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.06.006>

Gaunt, J. A., & Fowler, R. H. (1928). A Theory of Hartree's Atomic Fields. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 24(02), 328.

<https://doi.org/10.1017/S0305004100015851>

George, A., & Roberts, F. (1992). Structure of chitin and chitosan. In *Chitin Chemistry* (pp. 85–91). https://doi.org/10.2115/fiber.46.12_P553

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>

Giesy, J. P., Dobson, S., & Solomon, K. R. (2000). Ecotoxicological risk assessment for Roundup (R) Herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 167, 167, 35–120. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1156-3_2

Gittins, D. I., & Caruso, F. (2001). Tailoring the polyelectrolyte coating of metal nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, 105(29), 6846–6852.

<https://doi.org/10.1021/jp0111665>

Gonsalves, A. de A., Melo Araujo, C. R., Soares, N. A., Fonseca Goulart, M. O., & de Abreu, F. C. (2011). Different Strategies For Crosslinking Of Chitosan. *Quimica Nova*, 34(7), 1215–1223. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700021>

Grillo, R., Clemente, Z., Oliveira, J. L. de, Campos, E. V. R., Chalupe, V. C., Jonsson, C. M., ... Fraceto, L. F. (2015). Chitosan nanoparticles loaded the herbicide paraquat: The influence of the aquatic humic substances on the colloidal stability and toxicity. *Journal of Hazardous Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.021>

Guan, B., Ni, W., Wu, Z., & Lai, Y. (2009). Removal of Mn(II) and Zn(II) ions from flue gas

desulfurization wastewater with water-soluble chitosan. *Separation and Purification Technology*, 65(3), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.10.037>

Guyton, K. Z., Loomis, D., Grosse, Y., El Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., ... Straif, K. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*, 16(5), 490–491. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8)

Harrach, M. F., & Drossel, B. (2014). Structure and dynamics of TIP3P, TIP4P, and TIP5P water near smooth and atomistic walls of different hydroaffinity. *The Journal of Chemical Physics*, 140(17), 174501. <https://doi.org/10.1063/1.4872239>

Hartree, D. R. (1928). The Wave Mechanics of an Atom with a Non-Coulomb Central Field. Part I. Theory and Methods. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 24(01), 89. <https://doi.org/10.1017/S0305004100011919>

Hartree, D. R., & Hartree, W. (1935). Self-consistent field, with exchange, for beryllium. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences*, 150(869), 9–33. <https://doi.org/10.1098/rspa.1935.0085>

Hehre, W. J. (2003). *A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations. Interpreting.*

Hehre, W. J., Ditchfield, R., & Pople, J. A. (1972). Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *The Journal of Chemical Physics*, 56(5), 2257–2261. <https://doi.org/10.1063/1.1677527>

Hehre, W. J., Stewart, R. F., & Pople, J. A. (1969). Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. I. Use of Gaussian Expansions of Slater-Type Atomic Orbitals. *The Journal of Chemical Physics*, 51(6), 2657–2664. <https://doi.org/10.1063/1.1672392>

Heinecke, A., Eckhardt, W., Horsch, M., & Bungartz, H. J. (2015). Molecular dynamics simulation. In *SpringerBriefs in Computer Science* (pp. 11–29). Springer.

https://doi.org/10.1007/978-3-319-17148-7_2

Helander, I. M., Nurmiaho-Lassila, E.-L. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., & Roller, S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, *71*(2–3), 235–244.

[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00609-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00609-2)

Helander, M., Saloniemi, I., & Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems.

Trends in Plant Science. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.008>

Helgason, T., Gislason, J., McClements, D. J., Kristbergsson, K., & Weiss, J. (2009).

Influence of molecular character of chitosan on the adsorption of chitosan to oil droplet interfaces in an in vitro digestion model. *Food Hydrocolloids*, *23*(8), 2243–2253.

Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X09001131>

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.05.014>

Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The Shikimate Pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *50*(1), 473–503.

<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.473>

Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H. J. C., & Fraaije, J. (1997). LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, *18*(12), 1463–

1472. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-987x\(199709\)18:12<1463::aid-jcc4>3.0.co;2-h](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-987x(199709)18:12<1463::aid-jcc4>3.0.co;2-h)

Hinchliffe, A. (2008). *Molecular Modelling for Beginners*, *1*, 428.

<https://doi.org/10.1039/9781847558893>

Hohenberg, P., & Kohn, W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.*, *136*(3B),

B864--B871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>

Hu, Y. S., Zhao, Y. Q., & Sorohan, B. (2011). Removal of glyphosate from aqueous environment by adsorption using water industrial residual. *Desalination*, *271*(1–3),

150–156. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.12.014>

Hummer, G. (2001). Fast-growth thermodynamic integration: Error and efficiency analysis.

Journal of Chemical Physics, 114(17), 7330–7337. <https://doi.org/10.1063/1.1363668>

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

[https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)

Ishikawa, Y., & Quiney, H. M. (1987). On the use of an extended nucleus in Dirac–Fock Gaussian basis set calculations. *International Journal of Quantum Chemistry*, 32(S21), 523–532. <https://doi.org/10.1002/qua.560320751>

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)

Jaafari, K., Elmaleh, S., Coma, J., & Benkhouja, K. (2001). Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protonated cross-linked chitosan. *Water Sa*, 27(1), 9–13. <https://doi.org/10.4314/wsa.v27i1.5003>

Jarzynski, C. (1997). Equilibrium free-energy differences from nonequilibrium measurements: A master-equation approach. *Physical Review E*, 56(5), 5018–5035. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.56.5018>

Jawalkar, S. S., Raju, K. V. S. N., Halligudi, S. B., Sairam, M., & Aminabhavi, T. M. (2007). Molecular modeling simulations to predict compatibility of poly(vinyl alcohol) and chitosan blends: A comparison with experiments. *Journal of Physical Chemistry B*, 111(10), 2431–2439. <https://doi.org/10.1021/jp0668495>

Johal, G. S., & Huber, D. M. (2009). Glyphosate effects on diseases of plants. *European Journal of Agronomy*, 31(3), 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.04.004>

Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., & Klein, M. L. (1983). Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 79(2), 926. <https://doi.org/10.1063/1.445869>

Jorgensen, W. L., Maxwell, D. S., & Tirado-Rives, J. (1996). Development and testing of

the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 118(45), 11225–11236.

<https://doi.org/10.1021/ja9621760>

Jorgensen, W. L., & McDonald, N. A. (1998). Development of an all-atom force field for heterocycles. Properties of liquid pyridine and diazenes. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 424(1–2), 145–155. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(97\)00237-6](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(97)00237-6)

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>

Júnior, M. F. F. (2016). Simulação Computacional Das Interações Entre O Herbicida Glifosato E A Enzima 5-Enolpiruvil-Shikimato-3-Fosfato Sintase (Epsps) No Desenvolvimento De Um Nanobiossensor. *Tese*, 89.

Kendall, R. A., Dunning, T. H., & Harrison, R. J. (1992). Electron affinities of the first-row atoms revisited. Systematic basis sets and wave functions. *The Journal of Chemical Physics*, 96(9), 6796–6806. <https://doi.org/10.1063/1.462569>

Kern, C. W., & Karplus, M. (1964). Analysis of Charge Distributions: Hydrogen Fluoride. *The Journal of Chemical Physics*, 40(5), 1374–1389. <https://doi.org/10.1063/1.1725321>

Khalak, Y., Baumeier, B., & Karttunen, M. (2018). Improved general-purpose five-point model for water: TIP5P/2018. *The Journal of Chemical Physics*, 149(22), 224507. <https://doi.org/10.1063/1.5070137>

Khor, E., & Lim, L. Y. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 24(13), 2339–2349. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00026-7)

Kier, L. D., & Kirkland, D. J. (2013). Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations. *Critical Reviews in Toxicology*. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.770820>

Kohn, W., & Sham, L. J. (1965). Self-consistent equations including exchange and

correlation effects. *Physical Review*. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>

Krishnan, R., Binkley, J. S., Seeger, R., & Pople, J. A. (1980). Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *The Journal of Chemical Physics*, 72(1), 650–654. <https://doi.org/10.1063/1.438955>

Kubota, N., Tatsumoto, N., Sano, T., & Toya, K. (2000). A simple preparation of half N-acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents. *Carbohydrate Research*, 324(4), 268–274. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(99\)00263-3](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(99)00263-3)

Kurita, K. (2006). Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Marine Biotechnology*, 8(3), 203–226. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0097-5>

Langreth, D. C., & Mehl, M. J. (1983). Beyond the local-density approximation in calculations of ground-state electronic properties. *Phys. Rev. B*, 28(4), 1809–1834. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.28.1809>

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>

Laplante, S., Turgeon, S. L., & Paquin, P. (2006). Emulsion-stabilizing properties of chitosan in the presence of whey protein isolate: Effect of the mixture ratio, ionic strength and pH. *Carbohydrate Polymers*, 65(4), 479–487. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.02.024>

Lee, C., Yang, W., & Parr, R. G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, 37(2), 785–789. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>

Lennard-Jones, J. E. (1931). Cohesion. *Proceedings of the Physical Society*, 43(5), 461–482. <https://doi.org/10.1088/0959-5309/43/5/301>

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)

Lin, Y., Pan, D., Li, J., Zhang, L., & Shao, X. (2017). Application of Berendsen barostat in dissipative particle dynamics for nonequilibrium dynamic simulation. *Journal of Chemical Physics*. <https://doi.org/10.1063/1.4978807>

Liu, B., Dong, L., Yu, Q., Li, X., Wu, F., Tan, Z., & Luo, S. (2016). Thermodynamic Study on the Protonation Reactions of Glyphosate in Aqueous Solution: Potentiometry, Calorimetry and NMR spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120, 2132–2137. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b11550>

Liu, B., Wang, D., Yu, G., & Meng, X. (2013). Adsorption of heavy metal ions, dyes and proteins by chitosan composites and derivatives - A review. *Journal of Ocean University of China*, 12(3), 500–508. <https://doi.org/10.1007/s11802-013-2113-0>

Londres, F. (2011). AGROTÓXICOS NO BRASIL um guia para ação em defesa da vida. *Vasa*.

Lubbe, A. S., van Leeuwen, T., Wezenberg, S. J., & Feringa, B. L. (2017). Designing dynamic functional molecular systems. *Tetrahedron*.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.06.049>

Lydon, J., Koskinen, W. C., Moorman, T. B., & Chaney, R. L. (2012). Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere microbiota, and plant disease in glyphosate-resistant crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10375–10397.
<https://doi.org/10.1021/jf302436u>

Mahoney, M. W., & Jorgensen, W. L. (2000). Quantum, intramolecular flexibility, and polarizability effects on the reproduction of the density anomaly of liquid water by simple potential functions. *Journal of Chemical Physics*, 112(20), 8910–8922.
<https://doi.org/10.1063/1.481505>

Martin, M. G. (2006). Comparison of the AMBER, CHARMM, COMPASS, GROMOS,

OPLS, TraPPE and UFF force fields for prediction of vapor-liquid coexistence curves and liquid densities. *Fluid Phase Equilibria*, 248(1), 50–55.

<https://doi.org/10.1016/j.fluid.2006.07.014>

Martins Júnior, H. A. (2005). Estudo de determinação de resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de soja e água usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem com ionização por electrospray (LC-ESI/MS/MS), 121.

Mathur, N. K., & Narang, C. K. (1990). Chitin And Chitosan, Versatile Polysaccharides From Marine Animals. *Journal of Chemical Education*, 67(11), 938–942.

<https://doi.org/10.1021/ed067p938>

Mattos, M. L. T., Peralba, M. C. R., Dias S. L. P. Prata, F., & Camargo, L. (2002). Monitoramento ambiental do glifosato e do seu metabolito (Acido aminometilfosfonico) na agua de lavoura de arroz irrigado. *Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 12, 145 a 154.

<https://doi.org/10.5380/pes.v12i0.3156>

McDonald, N. A., & Jorgensen, W. L. (1998). Development of an All-Atom Force Field for Heterocycles. Properties of Liquid Pyrrole, Furan, Diazoles, and Oxazoles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102(41), 8049–8059. <https://doi.org/10.1021/jp981200o>

Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J. F., Carter, S., & Negri, A. P. (2014). Glyphosate persistence in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, 85(2), 385–390.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.021>

Methacanon, P., Prasitsilp, M., Pothsree, T., & Pattaraarchachai, J. (2003). Heterogeneous N-deacetylation of squid chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Polymers*, 52(2), 119–123. [https://doi.org/10.1016/s0144-8617\(02\)00300-4](https://doi.org/10.1016/s0144-8617(02)00300-4)

Miljković, M. (2010). Chemistry of the Glycosidic Bond. In *Carbohydrates* (pp. 323–421).

https://doi.org/10.1007/978-0-387-92265-2_12

Mink, P. J., Mandel, J. S., Scurman, B. K., & Lundin, J. I. (2012). Epidemiologic studies of

- glyphosate and cancer: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63(3), 440–452. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.05.012>
- Miretzky, P., & Cirelli, A. F. (2009). Hg(II) removal from water by chitosan and chitosan derivatives: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1–3), 10–23. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389409000880>
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.060>
- Moller, C., & Plesset, M. S. (1934). Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems. *Phys. Rev.*, 46(7), 618–622. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.46.618>
- Mudi, A., & Chakravarty, C. (2004). Effect of the Berendsen thermostat on the dynamical properties of water. *Molecular Physics*.
<https://doi.org/10.1080/00268970410001698937>
- Murzyn, K., Bratek, M., & Pasenkiewicz-Gierula, M. (2013). Refined OPLS all-atom force field parameters for n-pentadecane, methyl acetate, and dimethyl phosphate. *Journal of Physical Chemistry B*, 117(51), 16388–16396. <https://doi.org/10.1021/jp408162d>
- Myers, J. P., Antoniou, M. N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L. G., ... Benbrook, C. M. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: A consensus statement. *Environmental Health: A Global Access Science Source*. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0117-0>
- Neese, F. (2012). The ORCA program system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2(1), 73–78. <https://doi.org/10.1002/wcms.81>
- Nutt, D. R., & Smith, J. C. (2007). Molecular Dynamics Simulations of Proteins: Can the Explicit Water Model Be Varied? *J. Chem. Theory Comput.*, 3(4), 1550–1560.
<https://doi.org/doi:10.1021/ct700053u>
- Ogawa, K., Yui, T., & Okuyama, K. (2004). Three D structures of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34(1–2), 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2003.11.002>

- Okuyama, K., Noguchi, K., Kanenari, M., Egawa, T., Osawa, K., & Ogawa, K. (2000). Structural diversity of chitosan and its complexes. *Carbohydrate Polymers*, 41(3), 237–248. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00142-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00142-3)
- Oostenbrink, C., Soares, T. A., Van Der Vegt, N. F. A., & Van Gunsteren, W. F. (2005). Validation of the 53A6 GROMOS force field. *European Biophysics Journal*, 34(4), 273–284. <https://doi.org/10.1007/s00249-004-0448-6>
- P. Miretzkya, A. F. C. (2009). Hg(II) removal from water by chitosan and chitosan derivatives: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 167(23), 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.060>
- 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>
- Park, S., & Schulten, K. (2004). Calculating potentials of mean force from steered molecular dynamics simulations. *Journal of Chemical Physics*, 120(13), 5946–5961. <https://doi.org/10.1063/1.1651473>
- Parr, R. G., & Yang, W. (1994). *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules (International Series of Monographs on Chemistry)*. Oxford University Press, USA.
- Paulino, A. T., Guilherme, M. R., Reis, A. V., Tambourgi, E. B., Nozaki, J., & Muniz, E. C. (2007). Capacity of adsorption of Pb²⁺ and Ni²⁺ from aqueous solutions by chitosan produced from silkworm chrysalides in different degrees of deacetylation. *Journal of Hazardous Materials*, 147(1–2), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.059>
- Pavinatto, F. J., Caseli, L., & Oliveira, O. N. (2010). Chitosan in Nanostructured Thin Films. *Biomacromolecules*, 11(8), 1897–1908. <https://doi.org/10.1021/bm1004838>
- Peixoto, M. M., Bauerfeldt, G. F., Herbst, M. H., Pereira, M. S., & da Silva, C. O. (2015). Study of the Stepwise Deprotonation Reactions of Glyphosate and the Corresponding

pKa Values in Aqueous Solution. *The Journal of Physical Chemistry A*, 119, 5241–5249. <https://doi.org/10.1021/jp5099552>

Pelaez, V., da Silva, L. R., & Araújo, E. B. (2013). Regulation of pesticides: A comparative analysis. *Science and Public Policy*, 40(5), 644–656.

<https://doi.org/10.1093/scipol/sct020>

Percot, A., Viton, C., & Domard, A. (2003). Optimization of chitin extraction from shrimp shells. *Biomacromolecules*, 4(1), 12–18. <https://doi.org/10.1021/bm025602k>

Perdew, J. P. (1986). Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. *Physical Review B*, 33(12), 8822–8824.

<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.33.8822>

Perdew, J. P., Chevary, J. A., Vosko, S. H., Jackson, K. A., Pederson, M. R., Singh, D. J., & Fiolhais, C. (1992). Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. *Phys. Rev. B*, 46(11), 6671–6687. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.46.6671>

Perdew, J. P., & Wang, Y. (1992). Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. *Phys. Rev. B*, 45(23), 13244–13249.

<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.45.13244>

Performance, H., & Chemistry, C. (2010). NWChem Programmer's Guide, Release 5.1.1. *Group*.

Perišić, O., & Lu, H. (2014). On the Improvement of Free-Energy Calculation from Steered Molecular Dynamics Simulations Using Adaptive Stochastic Perturbation Protocols.

PLoS ONE, 9(9), e101810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101810>

Philipp Schledorn, M. K. (2014). Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 04(02).

<https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000210>

Pilar, F. L. (2001). *Elementary Quantum Chemistry* (Second, Vol. 1).

- Pillai, K. S., Paul, W and C. P., S. (2009). Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science* 34, (7), 641–678.
Neajc.Org, 1–6. Retrieved from
http://www.neajc.org/seminar_papers/Adhikari_Sudip.pdf
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>
- Pol-Fachin, L., Verli, H., & Lins, R. D. (2014). Extension and validation of the GROMOS 53A6(GLYC) parameter set for glycoproteins. *Journal of Computational Chemistry*, 35(29), 2087–2095. <https://doi.org/10.1002/jcc.23721>
- Politzer, P., & Truhlar, D. G. (1981). *Chemical Applications of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials. Chemical Applications of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9634-6>
- Pople, J. A., & Nesbet, R. K. (1954). Self-Consistent Orbitals for Radicals. *The Journal of Chemical Physics*, 22(3), 571–572. <https://doi.org/10.1063/1.1740120>
- Prata, F., Cardinali, V. C. do B., Lavorenti, A., Tornisielo, V. L., & Regitano, J. B. (2003). Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. *Scientia Agricola*, 60(1), 175–180. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162003000100026>
- Priestman, M. a., Healy, M. L., Funke, T., Becker, A., & Schönbrunn, E. (2005). Molecular basis for the glyphosate-insensitivity of the reaction of 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase with shikimate. *FEBS Letters*, 579(25), 5773–5780.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.09.066>
- Rapaport, D. C. (2004). *The Art of Molecular Dynamics Simulation* (2nd ed., Vol. 1).
- Ream, J. E., Yuen, H. K., Frazier, R. B., & Sikorski, J. A. (1992). EPSP synthase: Binding studies using isothermal titration microcalorimetry and equilibrium dialysis and their implications for ligand recognition and kinetic mechanism. *Biochemistry*, 31(24), 5528–5534. <https://doi.org/10.1021/bi00139a015>
- Reiner, M. (1948). Elasticity Beyond the Elastic Limit. *American Journal of Mathematics*,

70(2), 433–446. <https://doi.org/10.2307/2372342>

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

Rissouli, L., Benicha, M., Chafik, T., & Chabbi, M. (2017). Decontamination of water polluted with pesticide using biopolymers: Adsorption of glyphosate by chitin and chitosan. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8(12), 4544–4549. <https://doi.org/10.26872/jmes.2017.8.12.479>

Robertson, M. J., Tirado-Rives, J., & Jorgensen, W. L. (2015). Improved Peptide and Protein Torsional Energetics with the OPLS-AA Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11(7), 3499–3509. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00356>

Roothaan, C. C. J. (1951). New Developments in Molecular Orbital Theory. *Rev. Mod. Phys.*, 23(2), 69–89. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.23.69>

Rosta, E., Buchete, N. V., & Hummer, G. (2009). Thermostat Artifacts in Replica Exchange Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*. <https://doi.org/10.1021/ct800557h>

Roux, B. (1995). The calculation of the potential of mean force using computer simulations. *Computer Physics Communications*, 91(1–3), 275–282. [https://doi.org/10.1016/0010-4655\(95\)00053-I](https://doi.org/10.1016/0010-4655(95)00053-I)

Rungnim, C., Rungrotmongkol, T., Hannongbua, S., & Okumura, H. (2013). Replica exchange molecular dynamics simulation of chitosan for drug delivery system based on carbon nanotube. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 39, 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.jmngm.2012.11.004>

Sakurai, J. J. (1967). *Advanced Quantum Mechanics--Another Issue*. Addison-Wesley Publishing Company. Retrieved from <https://books.google.com.br/books?id=ZXEsAAAAYAAJ>

Sammons, R. D., & Gaines, T. A. (2014). Glyphosate resistance: State of knowledge. *Pest*

Management Science. <https://doi.org/10.1002/ps.3743>

Sammons, R. D., Gruys, K. J., Anderson, K. S., Johnson, K. a, & Sikorski, J. a. (1995).

Reevaluating glyphosate as a transition-state inhibitor of EPSP synthase: identification of an EPSP synthase-EPSP-glyphosate ternary complex. *Biochemistry*, 34(19), 6433–6440. <https://doi.org/10.1021/bi00019a024>

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>

Schatz, C., Viton, C., Delair, T., Pichot, C., & Domard, A. (2003). Typical physicochemical behaviors of chitosan in aqueous solution. *Biomacromolecules*, 4(3), 641–648.

<https://doi.org/10.1021/bm025724c>

Schlegel, H. B. (1995). *In Modern Electronic Structure Theory*. (D. R. Yarkony, Ed.).

Singapore: World Scientific Publishing. https://doi.org/10.1142/9789812832108_0008

Schlick, T. (2010). *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide*.

<https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6351-2>

Schönbrunn, E., Eschenburg, S., Shuttleworth, W. a, Schloss, J. V, Amrhein, N., Evans, J. N., & Kabsch, W. (2001). Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(4), 1376–1380.

<https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1376>

Schrödinger. (2018). Force Field - Improvements in the OPLS3 Force Field. Retrieved from

<https://www.schrodinger.com/science-articles/force-field>

Schrödinger, E. (1926). Quantisierung als Eigenwertproblem. *Annalen Der Physik*, 384(4),

361–376. <https://doi.org/10.1002/andp.19263840404>

Schuette, J. (1998). Environmental fate of glyphosate. *Environmental Monitoring & Pest Management - Department of Pesticide Regulation, Sacramento*, 13 p.

- 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>
- Shigemasa, Y., & Minami, S. (1996). Applications of chitin and chitosan for biomaterials. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13(1), 383–420. <https://doi.org/10.1080/02648725.1996.10647935>
- Siu, S. W. I., Pluhackova, K., & Böckmann, R. A. (2012). Optimization of the OPLS-AA force field for long hydrocarbons. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8(4), 1459–1470. <https://doi.org/10.1021/ct200908r>
- Skovstrup, S., Hansen, S. G., Skrydstrup, T., & Schiøtt, B. (2010). Conformational flexibility of chitosan: A molecular modeling study. *Biomacromolecules*, 11(11), 3196–3207. <https://doi.org/10.1021/bm100736w>
- Slamet, M., & Sahni, V. (1992). The gradient expansion approximation for exchange: A physical perspective. *International Journal of Quantum Chemistry*, 44(S26), 333–345. <https://doi.org/10.1002/qua.560440829>
- Slater, J. C. (1930). Atomic Shielding Constants. *Phys. Rev.*, 36(1), 57–64. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.36.57>
- Slater, J. C. (1951). A simplification of the Hartree-Fock method. *Physical Review*. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.81.385>
- Slater, J. C., & Phillips, J. C. (1974). *Quantum Theory of Molecules and Solids Vol. 4: The Self-Consistent Field for Molecules and Solids*. *Physics Today*, 27(12), 49–50. <https://doi.org/10.1063/1.3129035>
- Sorlier, P., Denuzière, A., Viton, C., & Domard, A. (2001). Relation between the degree of acetylation and the electrostatic properties of chitin and chitosan. *Biomacromolecules*, 2(3), 765–772. <https://doi.org/10.1021/bm015531+>
- Sorlier, P., Viton, C., & Domard, A. (2002). Relation between solution properties and degree

of acetylation of chitosan: Role of aging. *Biomacromolecules*, 3(6), 1336–1342.
<https://doi.org/10.1021/bm0256146>

Székács, A., & Darvas, B. (2012). Forty Years with Glyphosate. *Herbicides-Properties, Synthesis and Control of Weeds*, 247–284. <https://doi.org/10.5772/32491>

Thongngam, M., & McClements, D. J. (2004). Characterization of Interactions between Chitosan and an Anionic Surfactant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 987–991. <https://doi.org/10.1021/jf034429w>

Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T., & Satayavivad, J. (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.057>

Tironi, I. G., Sperb, R., Smith, P. E., & Vangunsteren, W. F. (1995). A Generalized Reaction Field Method For Molecular-Dynamics Simulations. *Journal of Chemical Physics*, 102(13), 5451–5459. <https://doi.org/10.1063/1.469273>

Toni, L. R. M., De Santana, H., & Zaia, D. a M. (2006). Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. *Quimica Nova*, 29(4), 829–833. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400034>

Torrie, G. M., & Valleau, J. P. (1977). Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling. *Journal of Computational Physics*, 23(2), 187–199. [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(77\)90121-8](https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90121-8)

Tu, M., Hurd, C., Robison, R., Randall, J. M. M., Tu et al., & et al., T. (2001). Glyphosate. *Weed Control Methods Handbook*, 1–10.

Turner, P. (2005). XMGRACE, Version 5.1. 19. *Center for Coastal and Land-Margin Research, Oregon Graduate Institute of Science and Technology, Beaverton*.
https://doi.org/10.1163/_q3_SIM_00374

Udier–Blagović, M., Morales De Tirado, P., Pearlman, S. A., & Jorgensen, W. L. (2004). Accuracy of free energies of hydration using CM1 and CM3 atomic charges. *Journal of*

Computational Chemistry, 25(11), 1322–1332. <https://doi.org/10.1002/jcc.20059>

Van Bruggen, A. H. C., He, M. M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K. C., Finckh, M. R., & Morris, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>

Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Van Buuren, A. R., Apol, E., Meulenhoff, P. J., ... Berendsen, H. J. C. (2014). Groningen Machine for Chemical Simulations - GROMACS 4.6, (October).

Van Gunsteren, W. F., & Berendsen, H. J. C. (1988). A Leap-Frog Algorithm for Stochastic Dynamics. *Molecular Simulation*. <https://doi.org/10.1080/08927028808080941>

Vangunsteren, W. F., Berendsen, H. J. C., & Rullmann, J. A. C. (1978). Inclusion Of Reaction Fields In Molecular-Dynamics - Application To Liquid Water. *Faraday Discussions*, 66, 58–70. <https://doi.org/10.1039/dc9786600058>

Verli, H. (2014). Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Moleculares. *Sociedade Brasileira de Bioquímica*, 1.

Wang, G. H. (1992). Inhibition And Inactivation Of 5 Species Of Foodborne Pathogens By Chitosan. *Journal of Food Protection*, 55(11), 916–919. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-55.11.916>

Wang, X. Y., Zhang, L., Wei, X. H., & Wang, Q. (2013). Molecular dynamics of paclitaxel encapsulated by salicylic acid-grafted chitosan oligosaccharide aggregates. *Biomaterials*, 34(7), 1843–1851. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.11.024>

Wing, R., Drew, H., Takano, T., Broka, C., Tanaka, S., Itakura, K., & Dickerson, R. E. (1980). Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA. *Nature*, 287, 755. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/287755a0>

Woodburn, A. T. (2000). Glyphosate: Production, pricing and use worldwide. *Pest Management Science*. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1526-4998\(200004\)56:4<309::AID-PS143>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1526-4998(200004)56:4<309::AID-PS143>3.0.CO;2-C)

- Woods, R. ., & Chappelle, R. (2000). Restrained electrostatic potential atomic partial charges for condensed-phase simulations of carbohydrates. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 527(1–3), 149–156. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(00\)00487-5](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(00)00487-5)
- Young, D. (2001). Appendix A. A.2.5 Jaguar. *Computational Chemistry*. Wiley-Interscience.
- Zhang, H., Yun, S., Song, L., Zhang, Y., & Zhao, Y. (2017). The preparation and characterization of chitin and chitosan under large-scale submerged fermentation level using shrimp by-products as substrate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96, 334–339. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.017>
- 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>
- Zheng, S. K., Yang, Z. F., Jo, D. H., & Park, Y. H. (2004). Removal of chlorophenols from groundwater by chitosan sorption. *Water Research*, 38(9), 2315–2322. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.02.010>
- Zheng, S. K., Yang, Z. F., Jo, D. H., Park, Y. H., Ho, Y. S., Zheng, S. K., ... Ho, Y. S. (2005). Comment on “Removal of chlorophenols from groundwater by chitosan sorption.” *Water Research*, 39(1), 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.waters.2004.07.018>