



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

**Utilização de métodos computacionais para  
descrever a interação da quitosana com  
contaminantes**

Lourival Rodrigues de Sousa Neto

UBERLÂNDIA-MG

2022

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

# **Utilização de métodos computacionais para descrever a interação da quitosana com contaminantes**

Tese apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de DOUTOR EM  
QUÍMICA do programa de pós-graduação em  
Química do IQ-UFU.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

\*Bolsista Fapemig

UBERLÂNDIA-MG

2022

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

S725  
2022 Sousa Neto, Lourival Rodrigues de, 1989-  
Utilização de métodos computacionais para descrever a  
interação da quitosana com contaminantes [recurso  
eletrônico] / Lourival Rodrigues de Sousa Neto. - 2022.

Orientador: Eduardo de faria franca.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.579>

Inclui bibliografia.

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

CDU: 54



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química  
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



### ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 132, PPGQUI				
Data:	Vinte e seis de agosto de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	19:00
Matrícula do Discente:	11813QMI010				
Nome do Discente:	Lourival Rodrigues de souza Neto				
Título do Trabalho:	Utilização de métodos computacionais para descrever a interação da quitosana com contaminantes				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	HYPERLINK " <a href="http://www.ppgqui.iq.ufu.br/areas-e-linhas-de-pesquisa/quimica-teorica-efisico-quimica-de-macromoleculas-e-coloides">http://www.ppgqui.iq.ufu.br/areas-e-linhas-de-pesquisa/quimica-teorica-efisico-quimica-de-macromoleculas-e-coloides</a> " Química Teórica e Físico-Química de Macromoléculas e Coloides				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"HYPERLINK " <a href="http://www.ppgqui.iq.ufu.br/projetos-de-pesquisa/controlmolecularenadescontaminacaoambientalecriacao-deprodutos">http://www.ppgqui.iq.ufu.br/projetos-de-pesquisa/controlmolecularenadescontaminacaoambientalecriacao-deprodutos</a> " CONTROLE MOLECULAR NA DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E CRIAÇÃO DE PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E COMPLEXOS METÁLICOS"				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Conferencia web, link: <http://conferenciaweb.rnp.br/webconf/lourival-rodrigues-de-souza-neto>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Daniel Pasquini, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia; Sarah Arvelos Altino, da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia; Roberto Dias Lins Neto, da Instituto Aggeu maragalhães FioCruz; Odonório Abrahão Junior, do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Eduardo de Faria Franca, orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Eduardo de Faria Franca, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, 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 11/10/2022, às 13:24, 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 **Daniel Pasquini, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/10/2022, às 13:31, 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 11/10/2022, às 15:02, 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 **Roberto Dias Lins Neto, Usuário Externo**, em 12/10/2022, às 15:37, 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 **Sarah Arvelos Altino, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/10/2022, às 08:53, 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](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3992872** e o código CRC **2819C0E6**.

## DEDICATÓRIA

À minha família  
Avôs Lourival e Laerte(*in memorian*)  
Às minhas avós: Nízia Sanches e Maria aparecida  
Aos meus pais: Lourival Júnior e Lunamar  
À minha namorada: Marcela  
Aos meus tios, padrinhos, irmãos, primos e aos meus afilhados.

*Eu acredito que o maior valor do conhecimento científico  
só é conquistado quando ele é usado com ética e em prol da humanidade.  
(Lourival Rodrigues de Sousa Neto)*

## **AGRADECIMENTOS**

- Em especial ao meu orientador Eduardo de Faria Franca, pela dedicação na minha formação como aluno, pelo excelente suporte durante a pesquisa e pela amizade adquirida nesse período.
- A Fapemig pela concessão da bolsa de doutorado.
- Aos professores membros da banca, por terem aceitado o convite para avaliarem o meu trabalho.
- À minha família, avós, pais, tios, primos, irmãos e marcela, pela paciência e incentivo nos momentos de maior necessidade.
- Aos amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.
- Aos meus colegas e amigos de laboratório que participaram direta e indiretamente deste trabalho.



## RESUMO

Neste trabalho, os métodos computacionais de simulação por dinâmica clássica e quântica foram usados para a obtenção das propriedades moleculares dos três agregados distintos, que são formados pelo biopolímero de quitosana com as moléculas orgânicas dos herbicidas diclofop, metildiclofop e glifosato. A quitosana por ser um material biodegradável, 100% biocompatível com o ser humano, possuir uso farmacêutico e tecnológico, com alto potencial quelante de herbicidas, corantes e até mesmo de metais pesados, foi escolhida para remover esses herbicidas de ambientes aquáticos através da simulação do processo de biossorção. Este estudo utilizou de simulações por dinâmica molecular clássica e quântica para a caracterização das interações envolvidas nesses processos de adsorção. Os sistemas modelados por dinâmica clássica com o biopolímero e os herbicidas foram solvatados com água e também foram adicionados um pequeno excesso (neutralizante) de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloretos ( $\text{Cl}^-$ ) para atingir a força iônica de ambientes aquáticos. As cargas negativas dos grupos específicos do glifosato ( $\text{CO}_2^-$  e  $\text{PO}_3\text{H}^-$ ) e do diclofop ( $\text{CO}_2^-$ ) influenciaram na biossorção desses herbicidas e aumentaram o grau de interações atrativas, devido à interações eletrostáticas mais numerosas e mais fortes com os grupos aminoprotonados ( $\text{NH}_3^+$ ) da quitosana em comparação com o herbicida metildiclofop. As energias livres de ligação do glifosato [-29 (3) kJ/mol] e do metildiclofop [-18 (7) kJ/mol] com a quitosana, obtidos pela metodologia *LIE* nas dinâmicas moleculares clássicas de equilíbrio (DM), confirmaram a espontaneidade de ambas biossorções, sendo que o glifosato apresentou um maior grau de adsorção. Os potenciais de força média (*PMF*) calculados a partir das dinâmicas moleculares direcionais (SMD) com a metodologia *umbrella sampling* (ou amostragem guarda chuva) revelaram que o diclofop [-110 (2) kJ/mol] também apresentou maior energia de ligação em módulo do que o metildiclofop [-48 (4) kJ/mol]. Além disso através dos potenciais de Coulomb e de Lenard-Jones foi possível observar a maior contribuição das interações eletrostáticas em relação as interações de Van der Waals para o diclofop. Em contrapartida, as interações de Van der Waals do metildiclofop com a quitosana contribuíram mais para a formação do complexo. Além disso, através do mais recente método de dinâmica quântica semiempírica em solvente implícito, com o campo de força GFN2-xTB, foi confirmado a formação das interações intermoleculares no sistema contendo o metildiclofop. Este método quântico também confirmou a estabilidade desse complexo, que exibiu o menor valor de RMSD = 0,5 (1) nm durante a simulação em comparação com o RMSD clássico que foi igual a 1,1 (1) nm. O número de ligações de hidrogênio [de 44 (4), e desvio padrão de 9,46%] ao

redor do agregado estabilizaram esse complexo e influenciaram no valor do RMSD obtido na DM. Com base em todas essas informações, a quitosana é apresentada aqui como um excelente material bioadsorvente de herbicidas devido ao seu alto grau de quelação desses compostos, além de ser um material biologicamente compatível com o ser humano.

***Palavras-chaves:*** Dinâmica molecular clássica, dinâmica molecular quântica, bioadsorção, quitosana, herbicidas, energia livre de ligação, mecanismo de interação.

## ABSTRACT

In this work, computational methods based on classical and quantum dynamics simulation were used to obtain the molecular properties of the three distinct aggregates, which are formed by the chitosan biopolymer with the organic molecules of the herbicides dicyclofop, methyldicyclofop, and glyphosate. Chitosan, is a biodegradable material, 100% biocompatible with humans, with pharmaceutical and technological use, with high chelating potential of herbicides, dyes and even heavy metals. It was chosen to remove these herbicides from aquatic environments through the simulation of the biosorption process. This study used classical and quantum molecular dynamics simulations for the characterization of the interactions involved in these adsorption processes. The systems modeled by classical dynamics with the biopolymer and the herbicides were solvated with water and a small excess (neutralizing) of sodium ( $\text{Na}^+$ ) and chloride ( $\text{Cl}^-$ ) ions were added to achieve the ionic strength of aquatic environments. The negative charges of the specific groups of glyphosate ( $\text{CO}_2^-$  and  $\text{PO}_3\text{H}^-$ ) and dicyclofop ( $\text{CO}_2^-$ ) influenced the biosorption of these herbicides and increased the degree of attractive interactions, due to more numerous and stronger electrostatic interactions with the amino-proton groups ( $\text{NH}_3^+$ ) of chitosan compared to the methyldicyclofop herbicide. The binding free energies of glyphosate [-29 (3) kJ/mol] and methyldicyclofop [-18 (7) kJ/mol] with chitosan, obtained by LIE method in equilibrium classical molecular dynamics (DM), confirmed the spontaneity of both biosorptions, with glyphosate showing a higher degree of adsorption. The mean force potentials (PMF) calculated from the directional molecular dynamics (DMP) with the umbrella sampling methodology revealed that dicyclofop (-110 (2) kJ/mol) also showed a higher degree of biosorption than methyldicyclofop (-48 (4) kJ/mol). Furthermore, through the Coulomb and Lenard-Jones potentials it was possible to observe a greater contribution of electrostatic interactions than Van der Waals interactions for dicyclofop. In contrast, the Van der Waals interactions contributed more to the formation of the complex methyldicyclofop-biopolymer. Furthermore, these intermolecular interactions were confirmed by the latest semiempirical quantum dynamics method in implicit solvent with the GFN2-xTB force field. This quantum method also confirmed the stability of this complex, which exhibited the lowest RMSD value = 0.5 (1) nm during the simulation compared to the classical RMSD which was equal to 1.1 (1) nm. The number of hydrogen bonds (of 44 (4), and standard deviation of 9.46%) around the aggregate stabilized this complex influenced the RMSD value obtained in DM. Based on all this information, chitosan is presented here as an

excellent bioadsorbent material for herbicides due to its high degree of chelation of these compounds, besides being a biologically compatible material for humans.

**Keywords:** classical molecular dynamics, quantum molecular dynamics, biosorption, chitosan, herbicides, binding free energy, interaction mechanism.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- (A) Molécula do herbicida metildiclofop (código Pubchem 39985) no modelo licorice (B) Fórmula estrutural do metildiclofop criada através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013.5 .....	13
Figura 2 - Fórmula estrutural de Lewis do diclofop (a) diclofop protonado em $\text{pH} > 7$ e (b) diclofop desprotonado em $\text{pH} = 6,5$ .....	15
Figura 3 - Representação bidimensional do glifosato (a) faixa de $\text{pH}$ básico (b) faixa de $\text{pH}$ neutro .....	20
Figura 4 - Unidade de quitobiose de quitina, os grupos <i>N</i> -Acetil glicosamina (GlcNAc) estão na cor azul, sendo $n$ o grau de polimerização, onde $R^1$ representa grupos GlcNAc(ZARGAR; ASGHARI; DASHTI, 2015)(SANTOS <i>et al.</i> , 2020) .....	22
Figura 5 - Representação do filamento decamérico de quitina formada por cinco quitobioses de <i>N</i> -acetil- $\beta(1-4)$ - <i>D</i> -glicosamina. ....	23
Figura 6 - Esquema idealizado da biossorção pelo biopolímero de quitosana em ambientes aquáticos contaminados com diclofop.....	25
Figura 7 - Unidade de quitobiose de quitina, os grupos em azul são de <i>N</i> -Acetil glicosamina (GlcNAc) e em vermelho os grupos glicosamina (GlcN), sendo $n$ o grau de polimerização de ambas. $R^1$ , $R^2$ e $R^3$ podem ser GlcNAc ou GlcN .....	26
Figura 8 - Decâmero de quitosana e seus respectivos resíduos. Os grupos acetil estão no segundo e nono monómero. Os grupos aminoprotonados estão destacados em azul e os grupos <i>N</i> -acetil em vermelho e grupo amino desprotonados em preto. ....	27
Figura 9 - Condições periódicas de contorno. (GRIMLOCK, 2007) .....	48
Figura 10 - Representação do raio de corte para um sistema periódico em duas dimensões. ...	49
Figura 11 - Construção de um sistema de células periódicas no método de Ewald .....	50
Figura 12 - (a) resíduos não protonados de quitosanas NGUO, NGLU e NGUC, respectively; (b) resíduos protonados de quitosana NGPO, NGLP e NGPC, respectivamente. ....	69

Figura 13 - (a) quitosana e metildiclofop , (b) quitosana diclofop e (c) quitosana e glifosato	72
Figura 14 - representação das janelas simuladas na dinâmica metildiclofop com a quitosana na direção +y. ....	76
Figura 15 - Critério geométrico da ligação de hidrogênio.....	78
Figura 16 - Potenciais de Coulomb (vermelho) e de Lenard-Jones (preto) das simulações. (a) quitosana com metildiclofop, (b) quitosana com diclofop e (c) quitosana com glifosato.....	81
Figura 17 - Representação de Lewis para a molécula de glifosato, simulada em pH = 6,5. ....	83
Figura 18 - <i>RDFs</i> entre os átomos de oxigênio dos herbicidas e o nitrogênio presente no grupo aminoprotonado da quitosana ( $\text{NH}_3^+$ ) durante os últimos 5 ns de simulação. (A) oxigênio do grupo carbonila ( $\text{C} = \text{O}$ ) do metildiclofop, (B) oxigênio do grupo carboxilato ( $\text{CO}_2^-$ ) do diclofop e (C) oxigênios dos grupos carboxilato ( $\text{CO}_2^-$ ) e fosfonato ( $\text{PO}_3\text{H}^-$ ) do glifosato.....	85
Figura 19 - Comparação de valores de energia livres experimentais e teóricos de diversos sistemas.....	87
Figura 20 - Dissociação dos componentes durante a SMD. (a) distância do centro de massa da quitosana com o metildiclofop (b) distância do centro de massa da quitosana com o diclofop (c) quantidade de contatos entre a quitosana e o metildiclofop (d) quantidade de contatos entre a quitosana e o diclofop.....	90
Figura 21 - Mudanças energéticas de interação ao longo do tempo durante a simulação SMD. (a) interações eletrostáticas e Van der Waals entre metildiclofop e quitosana (b) interações eletrostáticas e Van der Waals entre o diclofop e a quitosana (c) número de ligações de hidrogênio (L.H) entre a quitosana e o metildiclofop e (d) L.H entre quitosana e diclofop. ...	91
Figura 22 - Trajetória de dissociação durante a SMD. No início as ligações de hidrogênio intactas, no meio estiramento da ligação de hidrogênio e finalmente a dissociação. (a)-(c) sistema com quitosana e o metildiclofop e (d)-(f) quitosana e diclofop. ....	92
Figura 23- Curvas do potencial de fora média (PMF) para os sistemas.....	93
Figura 24 - (a) RMSD do agregado de quitosana e metildiclofop durante os últimos cinco nanossegundos de simulação por dinâmica clássica (b) RMSD do agregado de quitosana e	

metildiclofop durante 50 picossegundos de simulação por dinâmica quântica semiempírica, após 50ns de dinâmica clássica. (c) configuração do agregado de metildiclofop e quitosana obtido na DM e (d) Configuração desse complexo obtido na DMBO. .... 96

Figura 25 - Distribuição radial de pares obtida pela dinâmica clássica (vermelho) e quântica (preto) ..... 97

## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Valores de <i>RMSD</i> (nm) dos sistemas durante os últimos 5 ns de simulação. ....	80
Tabela 4.2 - Valores de <i>RMSF</i> (nm) e raio de giro (nm) para a quitosana nos três sistemas, durante os últimos 5 ns de cada simulação. ....	81
Tabela 4.3- Potenciais de Lenard-Jones e de Coulomb para os sistemas. ....	82
Tabela 4.4 - Resultados dos termos de energias de Van der Waals (vdw), energia de Coulomb (coul) na forma livre e na forma ligada, parâmetros $\alpha$ e $\beta$ e energia livre de ligação $\Delta G_{LIE}$ nos últimos 5ns de simulação, para metildiclofop e o glifosato. ....	86
Tabela 4.5- Energias livres de ligação obtidas por SMD e por DM. O símbolo x indicam que a energia não foi calculada pela respectiva metodologia. ....	94



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>AES</i>	<i>Anisotropic electrostatic potential</i>
	Potencial electrostático anisotrópico
<i>AFM</i>	<i>Atomic force microscope</i>
	Microscópio de força atômica
<i>AMBER</i>	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
	Campo de força Modelo de confecção assistida com refinamento energético
<i>AXC</i>	<i>Electrostatic exchange potential</i>
	Potencial electrostático de troca
<i>BOMD</i>	<i>Born-Oppenheimer Molecular Dynamics</i>
	Dinâmica molecular de Born-Oppenheimer (DMBO)
<i>BPTI</i>	<i>Bovine pancreatic trypsin inhibitor</i>
	Inibidor de tripsina pancreática bovina
<i>CHARMM</i>	<i>Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics</i>
	Campo de força para Mecânica Macromolecular Química de Harvard
<i>CPU</i>	<i>Central Processing Unit</i>
	Unidade Central de Processamento
<i>DA</i>	<i>Degree of acetylation</i>
	Grau de acetilação (GA)
<i>DFT</i>	<i>Density functional theory</i>
	Teoria funcional da densidade

<i>DFTB</i>	<i>Density functional tight-binding</i>
	Densidade funcional de ligação rígida
<i>DP</i>	<i>Degree of protonation</i>
	Grau de protonação (GP)
<i>FAO</i>	<i>Food and Agriculture Organization</i>
	Organizações das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
<i>FF</i>	<i>Force field</i>
	Campo de força (CF)
<i>fs</i>	<i>Femtoseconds (10<sup>-15</sup>s)</i>
	Fentossegundos
<i>GBSA</i>	<i>Generalized Born Surface Area</i>
	Área de Superfície Genérica Born
<i>GFN2 – xTB</i>	<i>Geometry, Frequency, Noncovalent, eXtended and Tight Binding</i>
	Geometria, frequência, não covalente, estendido e ligação rígida
<i>GlcN</i>	<i>Glucosamine</i>
	Glicosamina
<i>GlcNAc</i>	<i>N-Acetyl-glucosamine</i>
	N-Acetil glicosamina
<i>GPU</i>	<i>Graphics Processing Units</i>
	Unidades de processamento gráfico

<b>GROMACS</b>	<i>GRO</i> ningen <i>MA</i> chine for <i>C</i> hemical <i>S</i> imulations
	Pacote computacional para simulações químicas de groningen
<b>GROMOS</b>	<i>GRO</i> ningen <i>MO</i> lecular <i>S</i> imulation
	Campo de força de átomos unidos de simulação molecular de groningen
<b>IUPAC</b>	<i>I</i> nternational <i>U</i> nion of <i>P</i> ure and <i>A</i> ppplied <i>C</i> hemistry
	União internacional de química pura e aplicada
<b>LCAO</b>	<i>L</i> inear <i>c</i> ombination of <i>a</i> tomic <i>o</i> rbital <i>s</i>
	Combinação linear dos orbitais atômicos
<b>LIE</b>	<i>L</i> inear <i>c</i> ombination of <i>a</i> tomic <i>o</i> rbital <i>s</i>
	Combinação linear dos orbitais atômicos
<b>LINCS</b>	<i>L</i> inear <i>c</i> onstraint <i>s</i> olver <i>a</i> lgorithm
	Algoritmo de solução de restrição linear
<b>MD</b>	<i>M</i> olecular <i>d</i> ynamic
	Dinâmica molecular (DM)
<b>MM</b>	<i>M</i> olecular <i>m</i> echanics
	Mecânica molecular
<b>MO</b>	<i>M</i> olecular <i>o</i> rbital <i>s</i>
	Orbitais moleculares (OM's)
<b>NGLP</b>	<i>C</i> enter <i>P</i> rotonated <i>N</i> - <i>A</i> cetyl- <i>g</i> lucosamine
	Resíduos protonados de <i>N</i> -Acetil-glicosamina centrais

NGLU	<i>Unprotonated N-Acetyl-glucosamine</i>
	Resíduos não protonados de <i>N</i> -Acetil-glicosamina
NGPC	<i>Center Protonated N-Acetyl-glucosamine</i>
	Resíduos protonados de <i>N</i> -Acetil-glicosamina centrais
NGPO	<i>Hydroxyl Protonated N-Acetyl-glucosamine</i>
	Resíduos protonados de <i>N</i> -Acetil-glicosamina hidroxilados
NGUC	<i>Chain end Unprotonated N-Acetyl-glucosamine</i>
	Resíduos não protonados de <i>N</i> -Acetil-glicosamina de extremidade
NGUO	<i>Unprotonated N-Acetyl-glucosamine with hydroxyl</i>
	Resíduos não protonados de <i>N</i> -Acetil-glicosamina hidroxilado
NL	<i>Non-local</i>
	Não local
NPT	<i>ensemble Mols, constant pressure and temperature</i>
	Conjunto Mols, pressão e temperatura constante
ns	<i>Nanoseconds (10<sup>-9</sup>s)</i>
	Nanossegundos
NVE	<i>ensemble Mols, volume and constant energy</i>
	Conjunto Mols, volume e energia constante
NVT	<i>ensemble Mols, volume and constant temperature</i>
	Conjunto Mols, volume e temperatura constante

<i>OPLS-AA</i>	<i>Optimized Potentials for Liquid Simulations all atoms</i>	Potenciais Optimizados para Simulações atomísticas de Líquidos
<i>PBC</i>	<i>Periodic bondaury conditions</i>	Condições periódicas de contorno
<i>PES</i>	<i>Potential energy surface</i>	Superfície de energia potencial
<i>PM6</i>	<i>Parametric model 6</i>	Modelo paramétrico 6
<i>PM7</i>	<i>Parametric model 7</i>	Modelo paramétrico 7
<i>PME</i>	<i>Particle mesh ewald</i>	Malha de partículas de Ewald
<i>PMF</i>	<i>Potential mean force</i>	Potencial de força média
<i>ps</i>	<i>Picoseconds (10<sup>-12</sup>s)</i>	Picossegundos
<i>QM</i>	Quantum mechanics	Mecânica quântica
QM/MM	Quantum mechanics/Molecular mechanics	Mecânica quântica/ mecânica molecular

<i>RDF</i>	<i>Radial Distribution Function</i>
	Distribuição radial de pares
<i>RESP</i>	<i>Restrained Electrostatic Potential</i>
	Potencial Electrostático Restrito
<i>RMSD</i>	Root mean square deviation
	Raíz quadrada do desvio quadrático médio
<i>RMSF</i>	Root mean square fluctuation
	Raíz quadrada da flutuação quadrática média
<i>SETTLE</i>	<i>Constraint solver algorithm for water</i>
	Algoritmo de solução de restrição para a água
<i>SMD</i>	<i>Steered molecular dynamics</i>
	Dinâmica molecular direcional
<i>SQM</i>	<i>Semiempirical quantum mechanics</i>
	Mecânica quântica semiempírica
<i>TIP4P</i>	<i>Transferable intermolecular potential four point</i>
	Potencial intermolecular transferível quatro pontos
<i>VMD</i>	<i>Visual molecular dynamics</i>
	Programa para visualização de dinâmica molecular
<i>WHAM</i>	<i>Weighted Histogram Analysis</i>
	O método de análise de histograma ponderado

*XC*      *Exchange correlation*

Correlação de troca

*ZDO*      *Zero differential overlap*

Sobreposição diferencial nula

# SUMÁRIO

<b>Capítulo 1</b> .....	12
<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	12
1.1 - O herbicida metildiclofop.....	12
1.2 - O herbicida diclofop.....	14
1.3 - O herbicida glifosato .....	16
1.4 - O biopolímero quitina .....	21
1.5 - O biopolímero quitosana .....	24
1.6 - Dinâmica molecular clássica (DM), dirigida (SMD) e o cálculo da energia livre de ligação .....	28
1.7 - Dinâmica quântica semiempírica .....	31
1.8 - OBJETIVOS .....	35
<b>Capítulo 2</b> .....	36
<b>FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	36
2.1 - Mecânica Molecular (MM) .....	36
2.2 - Dinâmica molecular (DM) .....	40
2.2.1 - O Algoritmo de Verlet .....	42
2.2.2 - <i>Ensembles</i> .....	43
2.2.3 - Termostato e Barostato .....	46
2.2.4 - Condições periódicas de contorno (PBC) .....	48
2.2.5 - Tratamento dos potenciais de Lenard-Jones e de Coulomb.....	49



2.2.6 – Modelos de água.....	52
2.2.7 - Minimização de energia e otimização estrutural.....	53
2.2.8 - Função Distribuição Radial de Pares .....	55
2.3 - Dinâmica Molecular de <i>Born Oppenheimer</i> (DMBO).....	56
2.3.1 - Termo de ordem zero .....	61
2.3.2 - Termo de primeira ordem.....	63
2.3.3 - Termo de segunda ordem .....	64
2.3.4 - Termo de terceira ordem .....	65
2.3.5 – O Método GFN2-xTB .....	66
<b>Capítulo 3</b> .....	68
<b>METODOLOGIA</b> .....	68
3.1 - Os parâmetros do campo de força OPLS-AA nas simulações DM.....	68
3.2 - Sistemas simulados por DM.....	70
3.3 – Determinação da energia livre de ligação quitosana herbicidas por DM.....	73
3.4 – Determinação da energia livre de ligação biopolímero herbicidas por <i>SMD</i> .....	74
3.5 - Dinâmica molecular quântica ou <i>DMBO</i> .....	77
3.6 - Ligações de Hidrogênio .....	78
<b>Capítulo 4</b> .....	79
<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	79
4.1 - Mudanças conformacionais e das interações energéticas nas DMs .....	79
4.2 - Interações nos sistemas simulados nas DMs .....	83

4.3 - Energia livre de ligação entre os herbicidas e a quitosana obtidos pelo método <i>LIE</i> .....	86
4.4 - Energia livre de ligação nas simulações <i>SMD</i> .....	89
4.5 - Mudanças conformacionais e nas interações por DM e por BOMD.....	95
<b>Capítulo 5</b> .....	98
<b>CONCLUSÕES</b> .....	98
<b>Capítulo 6</b> .....	100
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	100
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	101

## Capítulo 1

### INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

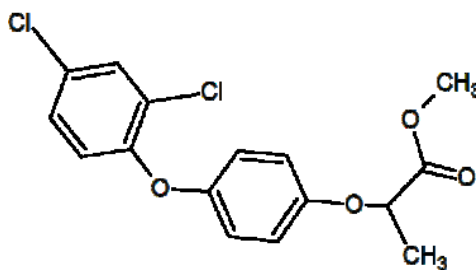
#### 1.1 - O herbicida metildiclofop

Na última década, as vendas globais de herbicidas chegaram a US\$ 17 bilhões anuais. Apesar de serem utilizados para o aumento da produtividade agrícola, muitos herbicidas podem causar danos aos organismos vivos, como por exemplo, o efeito do herbicida metildiclofop na tireóide de peixes-zebra (*Danio rerio*) que é um animal amplamente utilizado na avaliação da toxicidade de drogas, pois as sequências de seu genoma em comparação com o humano atingem 87% de homologia.<sup>1-3</sup> Esse defensor químico é classificado pela agência europeia de produtos químicos com toxicidade aguda nível 4, e a sua produção é feita pela empresa Bayer CropScience Ltda. Em 5 de dezembro de 2008, o seu uso foi proibido na união europeia (UE), porém em 2011 um novo pedido de revisão conseguiu reverter tal proibição até o ano de 2023. Os índices permitidos para o diclofop na UE são: dose diária aceitável, *ADI* = 0,001 mg/kg corporal/dia, dose aguda de referência, *ARFD* = 0,03mg/kg corporal/dia e nível aceitável de exposição do operador, *AOEL* = 0,003mg/kg corporal/dia. No Brasil esse herbicida é identificado como perigoso ao meio ambiente (classe III). (EUROPA.EU, [s. d.]) Esse agroquímico pode ser distribuído na água, solo sedimentar e biota. O nome comercial do herbicida metildiclofop é Illoxan, sendo classificado como um composto organoclorado que possui fórmula molecular  $C_{16}H_{14}Cl_2O_4$ , cujo nome IUPAC é ácido [methyl 2-[4-(2,4 dichlorophenoxy)phenoxy] propanoate, sendo a sua massa molar igual a  $341,2 \text{ g mol}^{-1}$ . Esse composto possui uma região lipofílica, na qual estão presentes um éter e um diclorobenzeno, sendo que os cloros estão representados por duas ligações de maior comprimento no anel aromático. Na outra extremidade da molécula, há uma região polar cujo grupamento funcional éster de ácido carboxílico que é responsável por interagir com a quitosana, Figura 1.

Figura 1- (A) Molécula do herbicida metildiclofop (código Pubchem 39985) no modelo licorice (B) Fórmula estrutural do metildiclofop criada através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013.5



(A)



(B)

Fonte: Autor, (a) através do VMD(HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996a) e (b) através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013.5(HUNTER, 2009)

## 1.2 - O herbicida diclofop

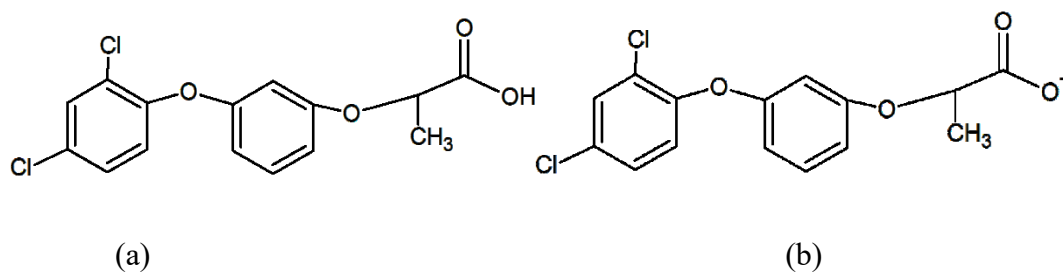
O diclofop é o principal produto de degradação do metildiclofop, sendo classificado como um composto organoclorado que possui fórmula molecular  $C_{15}H_{12}Cl_2O_4$  e nome IUPAC ácido [(*R,S*)-2-[4-(2,4-dichlorophenoxy)phenoxy] propanóico, sendo a sua massa molar igual a 327,2 g mol<sup>-1</sup>. O isomero *R* é a forma ativa deste herbicida, nas ervas daninhas. No entanto, a proteína albumina de soro humano sofre maior inibição pelo isomero *S*.(DING *et al.*, 2020a) Esse agroquímico pode ser distribuído na água, solo sedimentar e biota. É um herbicida seletivo no qual inibe a atividade enzimática da acetil coenzima A carboxilase (ACCCase ou acetil-CoA carboxilase) somente de gramíneas, salvo algumas exceções. As gramíneas metabolizam mais lentamente o diclofop do que os vegetais da cultura e por isso são mais sensíveis a esse herbicida. (EMBRAPA, 2021)

A detecção de diclofop no ambiente é de fundamental importância para a proteção da biota local e pode ser realizada através de nanobiossensores com a ponta do cantilever funcionalizada. Em trabalhos publicados pelo grupo de pesquisa deste trabalho, um nanobiossensor com especificidade para detecção de diclofop foi desenvolvido usando a enzima ACCCase, sendo que as medidas obtidas experimentalmente corroboraram com os resultados teóricos produzidos por simulação computacional, na qual utilizou-se de modelos teóricos de docking molecular, simulações por dinâmica molecular e dinâmica molecular direcional (*SMD*), baseados na biomimética do mecanismo de ação de herbicidas em plantas, a fim de simular a detecção do herbicida, sendo que para isso a ponta do cantilever foi funcionalizada com a enzima acetil-CoA. De acordo com esses e outros estudos, o diclofop inibe a atividade enzimática da ACCCase. A inibição da ACCCase, presente em espécies de ervas daninhas, interrompe a biossíntese de ácidos graxos, resultando em morte de plantas gramíneas. Esse contaminante é utilizado em aplicações pós-emergente, ou seja, realizadas após a emergência de plantas infestantes nas culturas de cebola, feijão, soja e trigo, antes que elas interfiram no desenvolvimento das culturas, devido à competição por nutrientes, luz, água dentre outros. (AMARANTE *et al.*, 2014; FRANCA, Eduardo F *et al.*, 2011)

Esse composto é um éter aromático do ácido 2-(4-hidroxifenoxi) propanóico, no qual o hidrogênio do grupo hidroxil foi substituído por um grupamento 2,4-diclorofenil. A Figura 2 representa a estrutura do diclofop com código Pubchem CID 38687.(PUBCHEM, [s. d.]) este herbicida possui uma região lipofílica, na qual estão presentes um éter e um diclorobenzeno

aromáticos. Nas regiões polares da molécula de diclofop há um grupamento do tipo ácido monocarboxílico e um diéter, Figura 2. Na faixa de pH neutro o diclofop apresenta o seu grupo carboxílico desprotonado. (AMARANTE *et al.*, 2014)

Figura 2 - Fórmula estrutural de Lewis do diclofop (a) diclofop protonado em  $\text{pH} > 7$  e (b) diclofop desprotonado em  $\text{pH} = 6,5$



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013.<sup>5</sup>

### 1.3 - O herbicida glifosato

Na última década, o uso global de formulações à base de glifosato chegou a aproximadamente 825.000 toneladas/ano, aplicados numa área total de cerca de 400 milhões de hectares em todo o mundo.(BENBROOK, 2016)(SOUKUP *et al.*, 2020) Este é um herbicida de amplo espectro mais usado como ingrediente ativo em formulações agrícolas. Assim sendo, é o principal defensivo químico usado globalmente para o controle de ervas daninhas, tendo como alvo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) na via do chiquimato, encontrada em plantas e alguns microrganismos.(FERREIRA; FRANCA; LEITE, 2017; MOTTA; RAYMANN; MORAN, 2018)

A larga utilização por grandes períodos o torna um contaminante do solo e de sistemas aquáticos, sendo necessária à sua remoção. Além de seu uso contra ervas daninhas, nos seres humanos, os pesticidas são conhecidos por afetar adversamente os sistemas nervoso, gastrointestinal, reprodutivo, respiratório, endócrino e serem agentes cancerígenos.(SINGH *et al.*, 2020)(BHATT *et al.*, 2021) Em 2015, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer o classificou como um carcinógeno Classe 2A, sendo assim o interesse global por esse produto químico disparou principalmente no que diz respeito à exposição da população em geral.(NOVA; CALHEIROS; SILVA, 2020)

A literatura científica mostrou inúmeras controvérsias em relação a pesquisa global de glifosato, além de relatar a sub-representação dos países em desenvolvimento na pesquisa sobre esse contaminante (embora nesses locais haja um alto nível de consumo desse defensivo químico).(KLINGELHÖFER *et al.*, 2021) O Brasil, por ser um dos maiores produtores de soja do mundo, está entre os países com maior consumo de glifosato(MENDONÇA *et al.*, 2020), juntamente com Estados Unidos da América, China e Argentina. Além disso, foram observados o grande financiamento científico pelo departamento de agricultura dos Estados Unidos e pela empresa Monsanto (empresa produtora do *roundup*), que é auxiliada economicamente pelo governo estadunidense, além dos interesses de todo o mercado agrícola, pois o glifosato é um herbicida de custo relativamente baixo, abundante no mercado, não seletivo e bastante eficaz no combate as ervas daninhas e há poucas espécies que possuem tolerância ao glifosato.(ÖZKARA; AKYIL; KONUK, 2016)(MARQUES *et al.*, 2021)

A quantidade de defensivo químico que não é absorvida pelas plantas, causa a contaminação do meio ambiente, em particular da água e, por isso há críticas severas ao uso

desenfreado desses produtos e existem grandes preocupações sobre os efeitos nocivos noticiados que esses desperdícios provocam. Em 2020, um estudo mostrou que a formulação *Roundup* (mistura na qual o ingrediente ativo é o glifosato) é prejudicial a saúde de gametas masculinos de porcos. (NEROZZI *et al.*, 2020) Embora haja controvérsias em relação aos malefícios do glifosato à saúde humana, inúmeros prejuízos, como: aos microrganismos do solo, alterações na fertilidade do solo e desequilíbrio ecológico, bem como os impactos nos ambientes aquáticos derivados de mudanças na cadeia alimentar e efeitos nocivos em humanos também são relatados na literatura científica.(FRANKE *et al.*, 2021)(DE SOUZA; RODRIGUES; REYES, 2021)

Como dito anteriormente, o glifosato inibe a atividade enzimática da enzima 5-enolpiruvil-chiquimate-3-fosfatase sintase (EPSPS). (FERREIRA; FRANCA; LEITE, 2017; JÚNIOR, 2016). Esses compostos atuam através do bloqueio na rota do ácido chiquímico, que é essencial na síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, fenilalanina, tirosina e triptofano, os quais são precursores de outros produtos, como lignina, alcalóides, flavonóides e ácidos benzóicos, além de outros importantes precursores de compostos aromáticos, incluindo os reguladores do crescimento e as fitoalexinas. Por ser solúvel em água, é conduzido por toda estrutura da planta e é considerado eficiente por não ser degradado rapidamente na superfície das ervas. O glifosato é sistematicamente transportado para o metabolismo alcançando todos os lugares da planta causando sintomas de morte (“amarelamento” dos meristemas, necrose e morte em dias ou semanas). (FUNKE *et al.*, 2006; HEAP, 2014; JOHAL; HUBER, 2009)(AMARANTE JR, O. P. ; DOS SANTOS, C. R. ; BRITO, N. M. ; RIBEIRO, 2002; BAER; MARCEL, 2014; CARNEIRO *et al.*, 2015)

Em 2017, nosso grupo de pesquisa publicou um estudo relacionado à atuação do glifosato no sítio ativo da enzima EPSPS, com o intuito de fornecer um suporte teórico no sentido de auxiliar na construção de um nanobiossensor específico para quantificar o herbicida glifosato em amostras de soja para exportação. Esse trabalho reportou os resultados das simulações de dinâmica molecular direcional nas quais o herbicida foi desvinculado do sítio ativo da enzima EPSPS ao longo de três direções diferentes. Após as simulações, os cálculos do Potencial da Força Média (*PMF*) foram realizados, a partir de uma expansão cumulativa de Jarzynski. (HUMMER, 2001; JÚNIOR, 2016; PERIŠIĆ; LU, 2014) Os valores de *PMF* variaram de acordo com as direções do caminho livre de cada simulação, exibindo valores de energia livre de ligação 10,7; 14,7 e 19,5 kJ mol<sup>-1</sup>(FERREIRA; FRANCA; LEITE, 2017).



Em 2018 nosso grupo de pesquisa também publicou o desenvolvimento do campo de força OPLS-AA (*all-atom optimized potentials for liquid simulations*) para o glifosato, no qual as cargas atômicas parciais e ângulos diedros foram obtidos à nível quântico para a molécula de glifosato. Nesse estudo, a curva de energia potencial quântica foi utilizada para descrever os diedros que ainda não haviam sido parametrizados (P – C – O – H e P – C – N – H). Os resultados foram consistentes e mostraram que o herbicida pode ser usado em simulações de DM com o campo de força atômico.(FARIA *et al.*, 2018) Além disso, foram criadas condições para as simulações contendo o herbicida glifosato em diferentes situações.

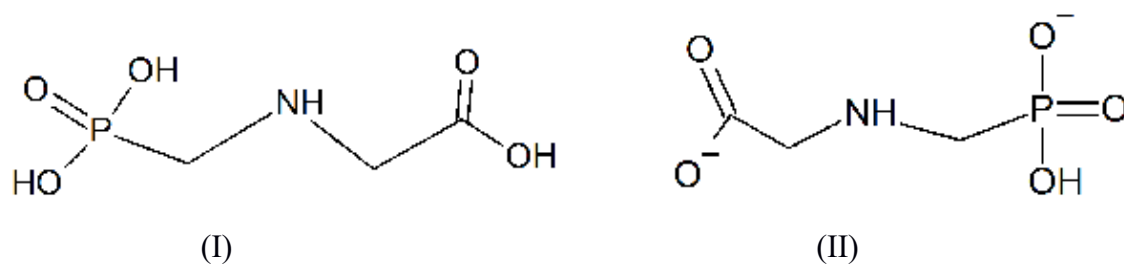
Assim como dito anteriormente, trabalhos envolvendo dinâmica molecular direcional já foram desenvolvidos nos estudos de inibição enzimática por contaminantes, como no caso do diclofop(AMARANTE *et al.*, 2014; FRANCA, Eduardo F. *et al.*, 2011). Além disso, foi obtido potencial de força média (*PMF, do inglês Potential of Mean Force*) da interação entre o glifosato e o sítio de interação com a enzima EPSPS no processo de inibição enzimática dessa proteína com esse herbicida.(FERREIRA; FRANCA; LEITE, 2017) Em 2019, em trabalhos com o glifosato, Faria *et al.* desenvolveu o trabalho do cálculo do *PMF*, utilizando a metodologia *Umbrella Sampling*, entre a quitosana e o glifosato para avaliar a energia livre de ligação entre essas duas moléculas.(QUÍMICA; FARIA, 2019)

Existem outros métodos clássicos para obtenção de energia livre de ligação, através de simulações de DM, porém o presente trabalho tratou somente do método interação linear de energia *LIE* (do inglês: *Linear Interaction Energy*) e da amostragem guarda-chuva ou *Umbrella Sampling*. (QUÍMICA; FARIA, 2019)

O glifosato pode ser aplicado no solo e na água para o controle de plantas aquáticas. É um composto hidrofílico, ou seja, muito solúvel em água. Esse composto tem fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$  ( $M = 169,1$  g/mol), e em condições ambientais sua solubilidade em água é 12 g/L a 25 °C, é pouco solúvel em solventes orgânicos comuns, tais como: acetona, etanol entre outros. A sua fusão normal ocorre a 200 °C e a densidade aparente é de 0,5 g/cm<sup>3</sup> em condições ambientes. Em relação à sua estabilidade, se apresenta bastante estável em presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a 60 °C.(AMARANTE JR, O. P. ; DOS SANTOS, C. R. ; BRITO, N. M. ; RIBEIRO, 2002; TONI; DE SANTANA; ZAIA, 2006) A sua estrutura pode ser encontrada no Pubchem com o código 3496. (GLYPHOSATE PUBCHEM, [s. d.]A representação da fórmula estrutural plana do herbicida glifosato é mostrada na Figura 3. A

nomenclatura IUPAC dessa molécula é [N-(fosfomonometil)glicina] e em pH = 6,5 essa molécula possui dois grupos hidroxila desprotonados.(LIU *et al.*, 2016)

Figura 3 - Representação bidimensional do glifosato (a) faixa de pH básico (b) faixa de pH neutro



Fonte: Autor, com o modelo de AMARANTE et al., 2002<sup>a</sup>, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/201

## 1.4 - O biopolímero quitina

A quitina é o mais abundante dos polissacarídeos renováveis no ambiente marinho e o mais abundante na Terra depois da celulose. É o principal polímero estrutural encontrado na parede celular dos fungos, garras de lagostas, carapaças de besouros, fungos e plantas semelhantes. Esse carboidrato também está presente em peixes, fungos, em exoesqueletos de insetos e artrópodes, mas ausentes em mamíferos. A partir desse carboidrato, obtém-se a quitosana que é o seu principal derivado, sendo que ambas são usadas industrialmente em diversas aplicações. (ABIDIN *et al.*, 2020)(SANTOS *et al.*, 2020)(JOSEPH *et al.*, 2021)

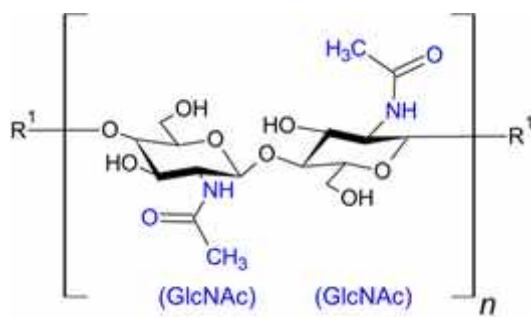
Uma das principais fontes de proteína animal dos países em desenvolvimento frequentemente utilizadas para a nutrição de humanos são peixes, camarões e caranguejos. Os dois últimos possuem a quitina na sua casca. A Organizações das Nações Unidas para alimentação e agricultura (FAO) que trabalha no combate à fome e a pobreza por meio da melhoria da segurança alimentar, juntamente com o desenvolvimento agrícola, emitiu relatórios em 2018 que indicaram que cerca de 3,4 milhões de toneladas de camarões foram capturados em todo o mundo. O continente asiático foi a região que mais capturou camarões, e este se configura um problema ambiental, pois é acompanhada por um aumento substancial na quantidade do material descartado em processos manuais e industriais de processamento de frutos do mar. Sabendo disso, a fácil obtenção da quitina *in natura* torna-se atraente, pois ela pode ser extraída a partir da matéria-prima encontrada nos descartes residuais da indústria pesqueira (MATHUR; NARANG, 1990)(PILLAI, K. S.. PAUL, W AND C. P., 2009)(VESTBO *et al.*, 2018)(CAUCHIE, 2002)(FERNANDO *et al.*, 2016).

Muitas pesquisas estudaram a obtenção de compostos valiosos a partir da casca de camarão, que é a principal fonte desse produto químico com alto valor agregado, como a quitina. Esse biopolímero é considerado pelos institutos de pesquisa alimentícias, médicas e nutricionais nos Estados Unidos e na Europa como o sexto fator essencial para a saúde humana, depois de proteínas, gorduras, açúcar, vitaminas e minerais. Essa substância pode ser usada como excelentes biomateriais médicos, novos materiais de proteção ambiental (descontaminação), biofilmes em embalagens para a indústria alimentícia, carreador de fármacos, dentre outros. A importância desse biopolímero em várias indústrias emana de suas propriedades únicas, como: não toxicidade, biocompatibilidade, alta capacidade de adsorção e biodegradabilidade. (ARBIA *et al.*, 2013)(AHMAD *et al.*, 2020)(WANG, Huarui *et al.*,

2020)(GHORBEL-BELLAAJ *et al.*, 2013)(CAMPANA *et al.*, 2007)(BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2009; COSTA SILVA; DOS SANTOS; FERREIRA, 2006; PAULINO *et al.*, 2007)

A unidade dimérica fundamental da quitina é a quitobiose, que contém a ligação glicosídica do tipo  $\beta(1-4)$ , gerando o dímero N-acetil- $\beta(1-4)$ -D-glicosamina, de acordo com a Figura 4. A unidade monomérica possui nome IUPAC 2-acetamido-2-deoxy-hexopyranose. (ABIDIN *et al.*, 2020) (SANTOS *et al.*, 2020) (JOSEPH *et al.*, 2021) (BRIGODE *et al.*, 2020)

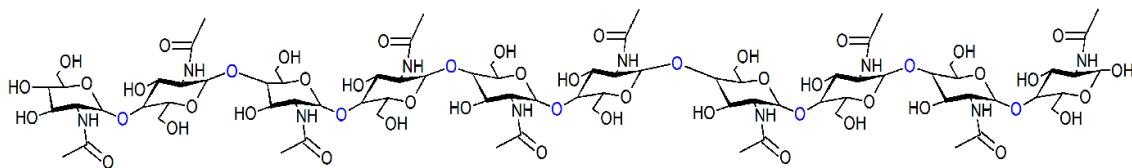
Figura 4 - Unidade de quitobiose de quitina, os grupos N-Acetil glicosamina (GlcNAc) estão na cor azul, sendo n o grau de polimerização, onde R<sup>1</sup> representa grupos GlcNAc.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013.(HUNTER, 2009)

A quitina encontrada em caranguejos está presente na forma polimérica, poli- $\beta(1\rightarrow4)$ -N-Acetil-D-glicosamina, é um pó incolor, semicristalino, que é pouco solúvel em água, solventes orgânicos, ácidos e álcalis diluídos. Este é um biopolímero pertencente ao grupo dos carboidratos e possui fórmula molecular  $(C_8H_{13}O_5N)_n$ , onde n = número de monômeros. A Figura 5 representa um decâmero de quitina com n = 10.(CRINI, 2019; FERNANDO *et al.*, 2016)(VACHOUD; ZYDOWICZ; DOMARD, 2000)

Figura 5 - Representação do filamento deca mérico de quitina formada com  $n = 5$ .



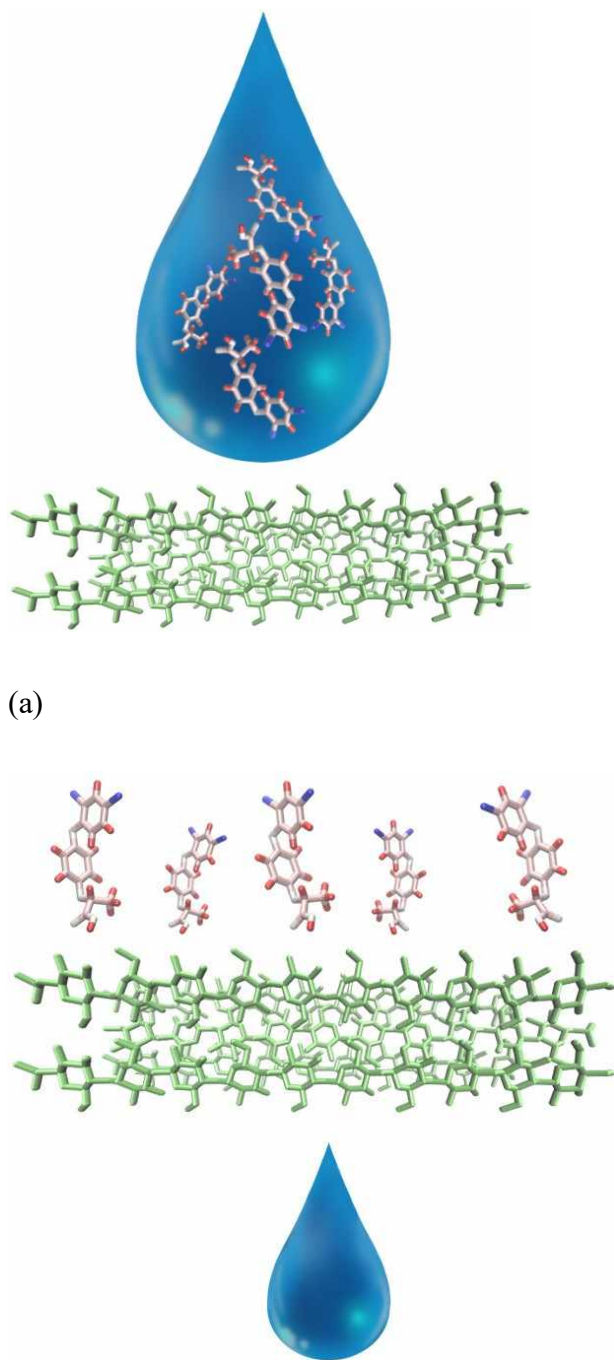
Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013. Os oxigênios das ligações glicosídicas estão destacados em azul.

## 1.5 - O biopolímero quitosana

Como citado anteriormente, a quitina é um biopolímero muito abundante, de fácil obtenção e é extraída de resíduos de frutos do mar como camarões, caranguejos, lagostas e etc. O seu principal derivado é a quitosana e esta também possui inúmeras aplicações e pode ser usada como biocida, inibidor de corrosão e em aplicações tecnológicas nas indústrias em geral. (CHEN, Aijun *et al.*, 2021)(HADIDI *et al.*, 2020)

A exposição aos herbicidas pode causar danos irreparáveis à saúde ou acabar com a vida dos seres vivos que a eles são expostos. Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento e a utilização de materiais que atuem de maneira eficiente na remoção desses contaminantes dos ambientes contaminados por eles. Então, a fim de seguir os princípios da química verde com o desenvolvimento sustentável de novos materiais se deve utilizar matérias-primas que sejam biodegradáveis, biocompatíveis, renováveis, de fácil obtenção e de baixo custo como a quitina e a quitosana. Diversos métodos podem ser usados para a remoção dos herbicidas de águas residuais, dentre os quais cita-se: adsorção, oxidação e ozonização. No entanto, nenhum método é de fato tão eficiente e tão economicamente viável como a remoção de contaminantes por biopolímeros de fontes renováveis como, por exemplo, a quitina e a quitosana. Assim sendo, há relatos de que a biossorção de contaminantes por diferentes membranas contendo quitosana, Figura 6, são as que apresentaram os melhores resultados para o tratamento de água contaminada com defensores químicos que são nocivos à saúde humana. (BOAMAH *et al.*, 2015; CARNEIRO *et al.*, 2015)(CAO *et al.*, 2020)(DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2018)(DING *et al.*, 2020b)(VERMA, Maya, 2020; VERMA, R; GUPTA, 2015)(GUO *et al.*, 2021)(FENG *et al.*, 2020)(FENG; SORIC; BOUTIN, 2020)

Figura 6 - Esquema idealizado da biossorção pelo biopolímero de quitosana em ambientes aquáticos contaminados com diclofop.

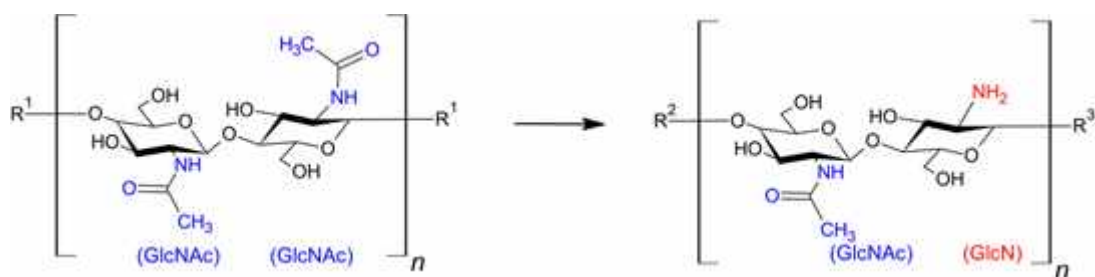


Para ser considerada quitosana, a quantidade de grupos acetilados devem ser no máximo 50%, ou seja, o grau de acetilação da molécula (GA) deve ser  $GA \leq 50\%$ . A unidade dimérica fundamental da quitosana é a quitobiose, que contém a ligação glicosídica do tipo  $\beta(1-4)$  que forma o dímero  $\beta(1,4)$ -2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose e  $\beta(1,4)$ -2-amino-2-deoxi-D-



glicopirranose, de acordo com a Figura 7. A unidade monomérica desacetilada possui nome IUPAC 2-amino-2- deoxi-D-glicopirranose. (ABIDIN *et al.*, 2020) (SANTOS *et al.*, 2020) (JOSEPH *et al.*, 2021)(BRIGODE *et al.*, 2020)(ZARGAR; ASGHARI; DASHTI, 2015)

Figura 7 - Unidade de quitobiose de quitina, os grupos em azul são de *N*-Acetil glicosamina (GlcNAc) e em vermelho os grupos glicosamina (GlcN), sendo  $n$  o grau de polimerização de ambas.  $R^1$ ,  $R^2$  e  $R^3$  podem ser GlcNAc ou GlcN

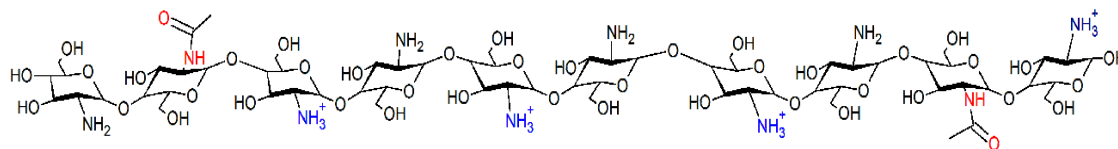


Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch (Freeware 2012) versão 14.0/2013.

Os estudos computacionais relacionados à interação dos herbicidas com biopolímeros quitosana são importantes para a descrição a nível molecular do mecanismo de interação de adsorção desses poluentes com essas membranas biopoliméricas. No presente trabalho serão reportadas simulações de quitosana com três herbicidas, que são o metildiclofop o diclofop e o glifosato.(QUÍMICA; FARIA, 2019)

A quitosana por possuir grupamentos amino ( $pK_a \sim 6,5$ ) terá grupos aminoprotionados em pH ácido e neutro, por isso os estudos reportados na literatura relataram a adsorção de ions por quitosana, que ocorrem devido as interações eletrostáticas coulômbicas envolvendo os grupos amino e aminoprotionados. Neste trabalho, o modelo quitosana possui os grupamentos protonados e desprotonados alternados na sua estrutura. O biopolímero possui grau de acetilação igual a 20% ( $GA = 0,2$ ), sendo que os resíduos acetilados são situados no segundo e no nono anel, sendo o grau de protonação igual a 40% ( $GP = 0,4$ ), Figura 8. O grau de protonação da quitosana foi ajustada para reproduzir o  $pH = 6,5$ .(CUNHA *et al.*, 2013; FRANCA, Eduardo de Faria, 2009)

Figura 8 - Decâmero de quitosana e seus respectivos resíduos. Os grupos acetil estão no segundo e nono monômero. Os grupos aminoprotonados estão destacados em azul e os grupos N-acetil em vermelho e grupo amino desprotonados em preto.



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

## 1.6 - Dinâmica molecular clássica (DM), dirigida (*SMD*) e o cálculo da energia livre de ligação

A dinâmica molecular (DM) é a ciência da simulação de movimento de um sistema de  $N$  partículas de acordo com as equações clássicas de movimento de Newton. É um campo estimulante, não apenas na interface da teoria e experimento, mas também no encontro da matemática, biologia, química, física e informática. De acordo com Schlick (1996, p.219) pode-se entender a DM como uma inteligência similar a aquela dita por Laplace (1749-1827) há quase dois séculos

“Uma inteligência que pudesse, a qualquer momento, compreender todas as forças pelas quais a natureza é animada e as respectivas posições dos seres que a compõem e, além disso, se essa inteligência fosse suficientemente abrangente para submeter esses dados à análise, englobaria nessa fórmula tanto os movimentos dos maiores corpos do universo e os do átomo mais leve: para ela nada seria incerto, e o futuro, assim como o passado, seria presente aos seus olhos. A mente humana nos oferece, na perfeição que deu à astronomia, um fraco esboço dessa inteligência.”

A DM é a capacidade de analisar e prever o movimento das moléculas biológicas e fornece a ligação entre o passado e o futuro. Claramente, uma imagem estática de uma biomolécula obtida da cristalografia de raios-X, mesmo sendo extremamente valioso, ainda é insuficiente para compreender uma ampla gama de eventos moleculares envolvidos na atividade biológica, por exemplo. Ela fornece apenas uma visão média e congelada de um complexo sistema, mas as moléculas são entidades dinâmicas, com seus átomos constituintes interagindo continuamente entre si e com seu ambiente. Desta forma, DM é necessário para explicar a ampla gama de estados termicamente acessíveis de um sistema e conectar estrutura a função. Ao seguir a dinâmica de um sistema molecular no tempo, podemos obter uma rica quantidade de informações sobre flutuações atômicas médias, capacidades caloríficas, taxas de mudanças de configuração, ligação receptor-ligante, energia livre de ligação e vários tipos de movimentos e, em última análise, talvez, dobramento de proteínas. (SCHLICK, 1996)

A DM, em princípio, é a simulação do movimento sob a influência de um campo de força especificado seguindo configurações no tempo de acordo com as equações de movimento de Newton. Essas equações são escritas para um sistema de  $N$  átomos com equações diferenciais de primeira ordem que serão mostradas na metodologia.

Na mecânica molecular, a molécula é considerada como um sistema mecânico, no qual as partículas são átomos e as molas são as ligações. Potenciais aditivos simples, aos pares, são então construídos para expressar como os átomos do composto se esticam, vibram e giram em torno das ligações em resposta a forças intra e intermoleculares. Essencialmente, essa energia é parametrizada na base de três fontes principais: mecânica quântica (quando disponível), medições experimentais (espectros vibracionais, conformações moleculares, calores de formação, funções termodinâmicas, momentos dipolares, propriedades cristalinas, etc.), bem como tentativa e erro, para reproduzir propriedades observadas de sistemas modelo. (SCHLICK, 2010)

Embora existam muitas variações nas expressões de energia potencial que governam as simulações de moléculas numa DM, os componentes básicos são os termos não ligados e ligados. Na primeira categoria são normalmente utilizados os potenciais de Lenard-Jones ( $E_{LJ}$ ) e de Coulombic ( $E_{qq}$ ) e, na segunda, energias de ligação ( $E_{\text{ligação}}$ ) da ligação covalente, termos angulares entre três átomos ( $E_{\text{ang}}$ ) covalentemente ligados e o termo torsional de ângulo diedro ( $E_{\text{tors}}$ ) para quatro átomos ligados. (RIZZO; JORGENSEN, 1999)

Uma vez que estabelecemos esta função de energia aproximada, a minimização fornece informações sobre regiões favoráveis no espaço de configuração e a integração das equações de movimento revela a dinâmica do sistema sob a influência do campo de força associado. Assim, as equações do movimento de Newton são fundamentais porque se relacionam três grandes quantidades: tempo, configuração e energia. Além de fornecer informações dinâmicas contínuas, a DM também é usada hoje como uma ferramenta de busca conformacional para contornar o problema de múltiplos mínimos e como um veículo para refinar dados de raios-X ou RMN (ressonância magnética nuclear) de baixa resolução. (MACKERELL; BANAVALI; FOLOPPE, 2001)

Uma das informações que se pode obter por DM é a energia livre de ligação, e esta foi explorado no trabalho de Åqvist et al., que introduziu um procedimento baseado em teoria energia de interação linear *LIE* (do inglês: *Linear Interaction Energy*). Neste modelo, a energia livre de interação de um soluto com seu ambiente é uma função linear da energia eletrostática (Coulomb) mais a energia de Van der Waals (Lenard-Jones). Para um ligante que se liga a uma biomolécula, as diferenças nas interações entre o ligante no estado não ligado e aquele ligado no complexo, em seguida, fornece uma estimativa da energia livre de ligação,  $\Delta G_{\text{bind}}$ . Nesse trabalho foi estimado as energias livres de ligação entre os herbicidas e a quitosana para propor

o uso desse biopolímero na composição de removedores de herbicidas de corpos aquáticos contaminados. (DUFFY; JORGENSEN, 2000);(NGO *et al.*, 2021; WANG, Wei; WANG; KOLLMAN, 1999)

Além disso, outros métodos de DM podem ser utilizados para a obtenção da energia livre de ligação entre os herbicidas e a quitosana. As simulações de DM são executadas em função do tempo. As regiões no espaço de configuração em torno de um mínimo de energia são tipicamente bem amostradas, enquanto regiões de energia mais alta raramente são amostradas. Para eventos raros (aqueles com uma barreira de energia significativamente maior que  $k_B T$ )<sup>1</sup> a amostragem direta é inviável. Para obter um perfil de energia, no entanto, esses eventos raros (regiões de alta energia) também são necessários. Diversas técnicas foram desenvolvidas para amostrar tais eventos raros.

Neste trabalho, foi abordado a técnica de amostragem guarda-chuva ou *Umbrella Sampling* em que a coordenada de reação é restringida e puxada para um valor alvo por um potencial enviesado. Usualmente, a amostragem guarda-chuva é feita em uma série de janelas, que são combinadas através do método de análise de histograma ponderado (WHAM). No pós-processamento, os resultados das diferentes janelas são combinadas para resultar em um perfil global de energia livre A.(HUB; DE GROOT; VAN DER SPOEL, 2010)

O potencial de polarização pode ser variado para puxar o sistema de um estado para outro em vez de mantê-lo fixo. Se essa variação for lenta em comparação com o tempo de relaxamento do sistema, a análise pode ser realizada assumindo um estado de equilíbrio do sistema, ou seja, as forças médias nas coordenadas de reação podem ser amostradas e integradas. Essa abordagem ganhou popularidade sob o nome de DM dirigido ou direcional *SMD* (do inglês: *Steered Molecular Dynamic*). O *SMD* simula diretamente a força no cantilever do microscópio agindo, por exemplo em uma proteína.(FRANCA, Eduardo F. *et al.*, 2011);(PARK *et al.*, 2003)

---

<sup>1</sup>  $k_B T$ , onde  $k_B$  é a constante de boltzman =  $1,380649 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$  e T é a temperatura em Kelvin.

## 1.7 - Dinâmica quântica semiempírica

O mais recente avanço na utilização dos métodos semiempíricos ou SQM (do inglês: *semiempirical quantum mechanical*) deu-se no desenvolvimento e utilização do campo de força para a realização de dinâmicas moleculares quânticas com sistemas com mais de 1000 átomos. Nesse sentido os elementos do bloco s, p, d e os lantanídeos até o radônio com  $Z = 86$ , foram parametrizados utilizando métodos quânticos e viabilizam uma descrição acurada a nível mecânico quântico da interação da biomolécula de quitosana com os herbicidas orgânicos simulados neste trabalho. (NEUGEBAUER *et al.*, 2020)

A Dinâmica molecular direta ou *on the fly*, é também denominada de dinâmica molecular de Born-Oppenheimer ou BOMD (do inglês: *Born-Oppenheimer Molecular Dynamics*) é semelhante à dinâmica molecular clássica (os graus de liberdade são substituídos por potenciais intra e intermoleculares que consistem no campo de força), exceto pela necessidade de cálculo da função de onda, relacionado à estrutura eletrônica para o cálculo das interações, em cada passo da trajetória. Em cada ponto do trajeto, a energia potencial, e seus gradientes (primeira derivada) foram calculados utilizando métodos mecânico-quânticos que determinam a estrutura eletrônica. (SILVA, 2020)

Considerando que a química quântica visa obter a densidade eletrônica de sistemas moleculares, para descrever reações químicas, a partir das otimizações de geometria, cálculos de frequência vibracional e correlações eletrônicas utilizando a metodologia *DFT* (do inglês: *Density Functional Theory*), que é útil para sistemas contendo até algumas centenas de átomos. (KOCH; HOLTHAUSEN, 2001; STEPHENS *et al.*, 1994) Dessa forma, os métodos SQM, em especial, podem fornecer uma rota alternativa bem conhecida porque são pelo menos duas ordens de magnitude mais rápidas do que os tratamentos *DFT* convencionais, pois para sistemas contendo milhares de átomos as metodologias quânticas atuais, tais como os métodos *ab initio*, *DFT* e semiempíricos não eram exequíveis. Nesse contexto, a dinâmica de sistemas com essa grande quantidade de componentes estava limitada somente as simulações por métodos de dinâmica molecular que utilizam o campo de força clássico, tais como o GROMOS ou o OPLS-AA. (KAMINSKI *et al.*, 2002)

O atual método SQM de dinâmica direta que foi executado nesse trabalho, brevemente descrito a seguir, se beneficia da velocidade do campo de força, já utilizado em dinâmica clássica, com a precisão da mecânica quântica. A sua acurácia é comparável aos métodos SQM

estabelecidos anteriormente na literatura. Este método viabiliza a obtenção de propriedades eletrônicas por dinâmica quântica para conjuntos com 1000 átomos ou mais.

Desde 2017 há relatos na busca por desenvolvimento de campos de força que sejam úteis na realização da dinâmica direta. Sendo assim, foi desenvolvido um banco de dados chamado de GFNn - xTB, sendo  $n = 0, 1, 2$  ou FF, que são referentes às versões da atualização do banco de dados. O campo de força GFNn - xTB (do inglês, *Geometry, Frequency, Noncovalent, eXtended and Tight Binding*) é um banco de dados genérico, parcialmente polarizável e completamente automatizado para a descrição precisa de geometrias, frequências vibracionais, interações não covalentes, sendo que o termo “x” significa a extensão do conjunto de base dos orbitais atômicos e a forma do hamiltoniano. Este possui parâmetros globais e parâmetros específicos dos elementos (como cargas atômicas e raio atômico) ao invés de parâmetros específicos de pares de elementos.(BANNWARTH; EHLERT; GRIMME, 2019; SPICHER; GRIMME, 2020)

Essa é uma abordagem única dos métodos de GFN e difere fortemente das estratégias de parametrização de outros campos de força. Os parâmetros implementados nesse campo de força foram obtidos por cálculos mecânico quânticos sendo que o termo de Huckel para as ligações depende somente da distância entre os átomos ( $R_{AB}$ ) e dos parâmetros específicos dos elementos ( $k$ ) que foram parametrizados. Nesse sentido esse campo de força é bastante versátil para as aplicações em diversos sistemas químicos de interesse. (MACKERELL; BANAVALI; FOLOPPE, 2001)(SHIVAKUMAR *et al.*, 2010)(NEUGEBAUER *et al.*, 2020; SPICHER; GRIMME, 2020)(GRIMME; BANNWARTH; SHUSHKOV, 2017)

Assim, após cada picossegundo de simulação, a estrutura e a velocidade em cada instante, informações sobre o comportamento dinâmico, dependente do tempo, dos átomos individuais que compõem o sistema, será determinada pelo método de mecânica quântica. Esse método possui as seguintes vantagens: (GRIMME; BANNWARTH; SHUSHKOV, 2017)

As propriedades estruturais em torno do equilíbrio, como frequências vibracionais e interações não covalentes, são as principais quantidades alvo. Estes são difíceis de obter com procedimentos *ab initio* para sistemas com mais de 1000 átomos e são importantes em muitos problemas químicos. As energias das reações químicas não fazem parte do conjunto de treinamento e, portanto, são menos precisas do que os métodos SQM de uso geral. No entanto, algumas propriedades termoquímicas relevantes fora do conjunto de treinamento (energias de

dissociação, afinidades relativas de prótons e potenciais de ionização relativos) são obtidas com razoável precisão, de modo que as superfícies de energia potencial ou PES (do inglês, *potential energy surface*) são úteis para dinâmica molecular de alta temperatura e cálculos na modelagem de espectros de massa. Além disso, as entalpias de formação razoáveis podem ser obtidas corrigindo as energias de atomização computadas com uma soma sobre os termos específicos do átomo. A precisão para energias conformacionais é comparável ou melhor do que os métodos SQM existentes.

- A maioria dos métodos SQM emprega conjuntos de base mínima dos orbitais atômicos, que limitam a precisão e podem levar, às vezes, a resultados não físicos, especialmente para elementos mais pesados. O conjunto de base GFNn-xTB consiste em um conjunto de base mínimo de funções Slater centradas no átomo, aproximadas, aumentadas com uma segunda função *s* para hidrogênio para melhorar a descrição de ligações de hidrogênio e funções de polarização *d* para elementos na parte superior da tabela periódica (H, C, O e N) para facilitar a descrição de arranjos de com ligações hipervalentes. As funções Slater são aproximadas como contrações de funções padrão de Gaussianas primitivas (STO- mG)
- O método é aplicável a diversos sistemas químicos compostos de elementos de diferentes regiões da tabela periódica e abrange desde moléculas orgânicas a compostos inorgânicos do grupo principal e complexos metálicos (de transição). Sistemas bioquímicos como metaloproteínas, RNA e DNA, e suas interações inter e intramoleculares são de interesse primário. Sistemas eletronicamente degenerados (multiconfiguracionais) são tratados por uma abordagem de temperatura eletrônica finita que permite a descrição qualitativamente correta de birradicais, simetria de orbital em reações proibidas e processos de dissociação.

Nesse sentido, após a realização da dinâmica molecular clássica, as coordenadas cartesianas dos átomos na configuração estrutural termodinamicamente mais representativa da simulação foi utilizada como ponto de partida para a realização da BOMD num programa químico quântico, autônomo e gratuito chamado xtb(GRIMME; BANNWARTH, 2016) como campo de força GFN2-xtb. Ele possui gradientes nucleares analíticos, paralelização de memória compartilhada, um otimizador de geometria eficiente baseado em coordenadas normais aproximadas do modelo Hessiano de Lindh, dinâmica molecular, pesquisas conformacionais e módulos de otimização de caminho de reação. Foi testado em otimizações



de estrutura de proteína completa com até 3000 átomos, algumas centenas de *ps* dinâmicos para cerca de 500 átomos e em cálculos de único campo auto consistente da densidade orbital para cerca de 10.000 átomos. Além disso, foi desenvolvido um modelo de solvatação eficiente e computacionalmente barato complementado com gradientes nucleares analíticos. É baseado no modelo generalizado de Born para a constante dielétrica do solvente, um termo proporcional à área de superfície acessível ao solvente (SA) e uma contribuição de ligação de hidrogênio. O programa completo pode ser obtido mediante solicitação.(SCIENCES, 2016)

## 1.8 - OBJETIVOS

### Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo, a elucidação mecanística do potencial quelante de quitosana sobre herbicidas, através da aplicação da DM clássica e quântica para simular a remoção desses contaminantes de ambientes aquáticos contaminados por eles.

### Objetivos específicos

- I) Cálculo da formação de interações específicas entre diferentes herbicidas, metildiclofop, diclofop e glifosato com a quitosana através de dinâmicas clássicas e quânticas;
- II) Cálculo da energia livre de ligação entre a quitosana e os herbicidas para confirmar a espontaneidade da formação desses agregados através de dinâmica clássica;

## Capítulo 2

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

#### 2.1 - Mecânica Molecular (MM)

O método teórico que foi extensivamente usado no presente trabalho, é a Mecânica Molecular (MM). A MM elucida as propriedades dos sistemas usando as leis da Mecânica clássica de Newton e da termodinâmica estatística.(BARLETTE; FREITAS, 1999) Este é o campo da mecânica estatística, que trata de sistemas em equilíbrio por funções de probabilidade, e com algumas suposições elementares, conecta os microestados de um sistema com as grandezas termodinâmicas macroscópicas (como temperatura e energia livre).(WERESZCZYNSKI; MCCAMMON, 2012) Na MM os átomos são considerados como esferas carregadas e unidas por molas com constante de força característica para cada ligação. Na MM os sistemas moleculares são descritos pelas energias de interações ligadas que podem ser de quatro tipos: ligações entre dois átomos, ângulos de ligação entre três átomos e os ângulos diedros. Estes últimos são aqueles formados por quatro átomos. Já as energia das interações de átomos não ligados são as interações eletrostáticas (ligações de hidrogênio por exemplo) e interações hidrofóbicas ou de Van der Waals .

A ideia central por trás das simulações de DM é estudar o comportamento dependente do tempo de sistemas microscópicos. Isso é obtido resolvendo as equações diferenciais de segunda ordem representadas pela segunda lei de Newton:

$$F_i(t) = m_i a_i(t) = -\frac{\partial V(x(t))}{\partial x_i(t)} \quad (1)$$

Onde  $F_i(t)$  é a força resultante que atua no  $i$ -ésimo átomo do sistema em um dado ponto no tempo  $t$ ,  $a_i(t)$  é a aceleração correspondente e  $m_i$  é a massa. Na equação 1, a configuração instantânea do sistema é representada pelo vetor  $x(t)$  que descreve a posição dos  $N$  átomos que interagem no espaço cartesiano ( $x = \{x_1, y_1, z_1, x_2, y_2, z_2, \dots, x_N, y_N, z_N\}$ ). Normalmente, na descoberta computacional de novas drogas, adota-se uma descrição da mecânica clássica para as forças. Notavelmente, essa aproximação vale para partículas massivas, como núcleos, enquanto os movimentos dos elétrons devem ser calculados em média. Para isso, é introduzida uma função de energia potencial empírica  $V(x)$  que inclui os potenciais dos átomos ligados e os potenciais dos não ligados. O modelo resultante dessa

representação simplificada é denominado campo de força (CF), ou mecânica molecular (MM), que pode ser escrito como na equação 2.

$$V(x) = \sum_i^{linear} k_x (x - x_0)^2 + \sum_i^{angular} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_\varphi^{torsional} \left( \frac{V_1}{2} [1 + \cos (\varphi - \varphi_1)] + \frac{V_2}{2} [1 - \cos (2\varphi - \varphi_2)] + \frac{V_3}{2} [1 + \cos (3\varphi - \varphi_3)] + \frac{V_4}{2} [1 - \cos (4\varphi - \varphi_4)] \right) + \sum_{i < j}^{pares} 4\varepsilon_{ij} \left[ \frac{\sigma_{ij}^{12}}{(r_{ij})^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{(r_{ij})^6} \right] f_{ij} + \frac{q_i q_j e^2}{r_{ij}} \quad (2)$$

Os três primeiros termos na equação 2 representam as energias de interação dos átomos ligados covalentemente. Eles descrevem a variação da energia potencial devido ao alongamento, flexão e torção da ligação covalente. Eles são representados por somas sobre comprimentos de ligação ( $x$ ), ângulos ( $\theta$ ) e ângulos diedros ( $\varphi$ ), respectivamente. O alongamento de ligação e as contribuições de flexão compartilham a mesma forma funcional, pois são ambos descritos por potenciais harmônicos com valores de referência  $x_0$ ,  $\theta_0$ , constantes de força  $k_x$  e  $k_\theta$ , respectivamente. No entanto, devido à sua periodicidade intrínseca, os termos de torção são naturalmente definidos por uma série cossenos com até seis termos para cada ângulo diedro. (CASTILLO *et al.*, 2004) Assim,  $\varphi$  é o ângulo de fase correspondente, e  $V_n$  é a constante que define a altura da barreira de energia potencial rotacional ( $n = 1, 2, \dots, 6$ ), sendo  $n$  o número de mínimos para a torção de uma ligação química. Tomado como um todo, este grupo de contribuições é geralmente referido como os termos “ligados” do campo de força. (ROBERTSON; TIRADO-RIVES; JORGENSEN, 2015)

Os diedros impróprios também podem ser tratados da mesma forma que as deformações angulares, onde a contribuição para a energia potencial molecular é dada por:

$$U(\varphi_{ABCD}) = \frac{1}{2} k_{ABCD} (\varphi_{ABCD} - \varphi_{ABCD,eq})^2 \quad (3)$$

em que  $\varphi$  é o ângulo diedro.

O quarto e quinto termos na equação 2 representam o potencial de Lenard-Jones devido as interações de Van der Waals e o potencial de Coulomb devido as interações eletrostáticas entre átomos, respectivamente, e são indicados como termos “não vinculados”. Essas contribuições atuam para pares de átomos no sistema que não estejam vinculados covalentemente. A energia é expressa como um inverso da potência da distância entre os átomos considerados,  $r_{ij}$ . As interações de Van der Waals são geralmente tratadas com uma potência 12 e outra 6 no potencial de Lenard-Jones. O termo  $+\frac{\sigma_{ij}^{12}}{(r_{ij})^{12}}$  representa a contribuição

repulsiva e o termo  $-\frac{\sigma_{ij}^6}{(r_{ij})^6}$  representa a parte atrativa do potencial de Lenard-Jones. O parâmetro  $\epsilon_{ij}$  é um parâmetro que define a profundidade do poço de energia de interação, enquanto  $r_{ij}$  é o mínimo distância de energia que é igual à soma dos raios de Van der Waals dos dois átomos que interagem. São empregadas regras de combinação geométrica para os coeficientes de Lenard-Jones:  $\sigma_{ij} = (\sigma_{ii}\sigma_{jj})^{1/2}$  e  $\epsilon_{ij} = (\epsilon_{ii}\epsilon_{jj})^{1/2}$ . A soma percorre todos os pares de átomos  $i < j$  nas moléculas A e B ou A e A para as interações intramoleculares. Além disso, no último caso, o coeficiente  $f_{ij}$  é igual a 0,0 para quaisquer pares  $i-j$  conectados por uma ligação covalente ou um ângulo de ligação de valência (átomos separados por duas ligações). A constante  $f_{ij} = 0,5$  para interações 1-4 (átomos separados por exatamente três ligações) e  $f_{ij} = 1,0$  para todos os outros casos.

Finalmente, o potencial eletrostático é descrito com o potencial de Coulomb, onde  $q_i$  e  $q_j$  são as cargas parciais de um par de átomos que podem ser obtidos por modelos mecânico quânticos, como por exemplo as cargas obtidas para o glifosato e a quitosana. (FARIA *et al.*, 2018; QUÍMICA; FARIA, 2019; WANG, Junmei *et al.*, 2004)

A grande vantagem da MM é que os cálculos são consideravelmente rápidos, especialmente em comparação com a mecânica quântica (MQ). A MQ é uma teoria mais precisa para tratar sistemas moleculares, (DEPARTMENT OF DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT, ITALIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY, VIA MOREGO 30, I-16163 GENOVA, ITALY, 2011)mas é intrinsecamente difícil resolver a equação de Schrödinger para muitas interações entre as partículas. Isso praticamente evita que a MQ seja aplicada em sistemas muito grandes de vários milhares de átomos, como exemplo o uso de solvente explícito. Recentemente, no entanto, abordagens precisas baseadas em mecânica quântica semiempírica têm encontrado aplicabilidade na descoberta de novos compostos e nesse trabalho a dinâmica molecular quântica com método semiempírico GFN2-xtb foi aplicada ao sistema contendo metildiclofop e quitosana em solvente implícito para a descrição das interações intermoleculares. (BANNWARTH; EHLERT; GRIMME, 2019; GRIMME; BANNWARTH; SHUSHKOV, 2017; NEUGEBAUER *et al.*, 2020; SPICHER; GRIMME, 2020) O item 3.5 descreve como a simulação quântica foi realizada.

Neste contexto, os CFs obtiveram uma longa história de sucesso, permitindo a produção de simulações de DM consideravelmente longas (da ordem até mesmo de microssegundos) de

grandes sistemas biomoleculares, apesar de algumas limitações intrínsecas, como por exemplo, a necessidade de parametrização de novos ligantes e a impossibilidade de descrever as reações químicas. Os CFs amplamente usados atualmente para simulações biomoleculares (campos de força para descrever fase condensada) incluem: GROMOS,(HUANG; LIN; VAN GUNSTEREN, 2011; LEMKUL; ALLEN; BEVAN, 2010; LINS; HÜNENBERGER, 2005b; OOSTENBRINK *et al.*, 2005) AMBER, CHARMM, OPLS entre outros.(MARTIN, 2006)

Estes atingiram um padrão de qualidade tão alto que a preferência de um sobre o outro é muitas vezes ditado por questões práticas, relacionadas a escolha dos sistemas simulados e das propriedades que pretendem ser extraídas da simulação. Por isso, foi utilizado nesse trabalho, o campo de força atomístico OPLS-AA que produz resultados precisos e que segundo Grime, as propriedades obtidas são comparáveis a dados obtidos por mecânica quântica semiempírica.(SPICHER; GRIMME, 2020) Além disso, a simulação por dinâmica clássica com campo de força atomístico forneceu as coordenadas cartesianas atômicas iniciais para a simulação quântica, algo que não seria possível com a utilização de um campo de força com átomos unidos.

Vários parâmetros dos aminoácidos, ácidos nucleicos, lipídios, carboidratos e várias espécies iônicas foram incluídos nos campos de força originais nos últimos anos, estendendo adequadamente a parametrizações originais.(YAN *et al.*, 2017) No entanto, a variabilidade estrutural de pequenas moléculas tem desafiado seriamente o uso dos CFs de fase condensada. Para contornar isso, o usuário deve fornecer parametrizações específicas para o seu trabalho. O glifosato simulado neste trabalho não possuía parâmetros adequados para sua simulação no campo de força OPLS-AA. Por isso, o grupo desse trabalho desenvolveu os parâmetros desse herbicida no campo de força OPLS-AA para a simulação com o biopolímero de quitosana. Os parâmetros torsionais foram obtidos por cálculos quânticos e clássicos. Esse estudo foi intitulado como *parameters for glyphosate in OPLS-AA force field*.(FARIA *et al.*, 2018) O biopolímero de quitosana também foi parametrizado em trabalho anterior do grupo de pesquisa desse trabalho e podem ser obtidos no estudo nomeado como “Parametrização e validação da quitosana no campo de força OPLS-AA para caracterizar a remoção de íons fosfato”.(UBERL; DE; QU, 2018) Esses dois últimos trabalhos são indicados ao leitor para o entendimento mais detalhado dessas parametrizações.

## 2.2 - Dinâmica molecular (DM)

Embora os campos de força possam reduzir a carga computacional, a equação 1 somente pode ser resolvida analiticamente para alguns átomos. Para simulações de macromoléculas, métodos numéricos devem ser usados para dividir a integração das equações de movimento em intervalos de tempo, chamados de passos de tempo ou intervalo de integração  $\delta t$ . Ao fazê-lo, as forças são assumidas como constantes durante cada etapa de integração. No entanto, como visto na equação 1, as forças dependem de posições atômicas que variam com o tempo. Assim, um pequeno  $\delta t$  garante forças confiáveis. O  $\delta t$  deve ser menor do que o tempo gasto nos movimentos moleculares de rotação e vibração, que ocorrem caracteristicamente em frequências que variam entre  $10^{11}$ ,  $10^{14}$  s<sup>-1</sup> (correspondente a comprimentos de ondas de 3-3300 cm<sup>-1</sup>). Sendo assim, o  $\delta t$  deve ser da ordem de femtossegundos fs ( $10^{-15}$  s) ou menos, pois assim é possível modelar tais movimentos com precisão suficiente. Na prática, o  $\delta t$  de 1 ou 2 fs (femtossegundos) pode ser considerado com segurança como uma boa relação entre precisão e eficiência do cálculo.(DE VIVO *et al.*, 2016)

Outras estratégias prevêm, por exemplo, que ao reparticionar a massa de átomos pesados ligados nos átomos de hidrogênio, pois assim é possível retardar os movimentos de maior frequência da macromolécula em estudo, o que permite o passo de tempo da simulação seja aumentado em até um fator de 2, de forma estável, mas sem aumentar significativamente o erro de discretização.(HOPKINS *et al.*, 2015)

Os sistemas moleculares das simulações computacionais por DM podem se tornar instáveis quando as vibrações das ligações são muito elevadas, por causa da intensidade das forças externas. Uma maneira de evitar tal instabilidade seria manter as ligações e os ângulos entre os átomos restringidos, eliminando os modos vibracionais de maior frequência. O uso algoritmo LINCS permite esta possibilidade. Neste trabalho, as equações de movimento foram resolvidas satisfazendo as restrições geométricas para os graus de liberdade (alongamento e a flexão de ligações envolvendo átomos de hidrogênio). Isso foi feito com o uso algoritmo LINCS (do inglês: *linear constraint solver*).(HESS, 2008) O algoritmo LINCS é o algoritmo de restrição padrão no pacote GROMACS, ao lado do algoritmo SETTLE que é usado apenas para moléculas de água.(HESS *et al.*, 1997)

O algoritmo LINCS restringe o movimento dos átomos no nível das ligações e ângulos, aplicando multiplicadores de Lagrange às forças de restrição, o que permite integrar as

equações de Newton com  $\delta t > 1$  fs. Esses multiplicadores são resolvidos aproximando o inverso do Jacobiano a cada iteração. Desta forma, o algoritmo opera sempre que o sistema se torna instável.(HESS, 2008)

A vantagem dos modelos com restrições é clara, porém os modelos utilizados para reproduzir a dinâmica de sistemas sem restrições possuem limitações, assim como mostrado por Van Gunsteren e Karplus. (VAN GUNSTEREN; KARPLUS, 1982) Através de simulações no vácuo, da proteína bovina tripsina, inibidora pancreática (BPTI do inglês, bovine pancreatic trypsin inhibitor), eles concluíram que o uso de comprimentos de ligação fixados não altera significativamente as propriedades dinâmicas do sistema, enquanto que fixando os ângulos de ligação, ocorrem alterações significativas. (GELIN; KARPLUS, 1975; VAN GUNSTEREN; BERENDSEN, 1990)



### 2.2.1 - O Algoritmo de Verlet

A integração das equações de movimento foi realizada com o algoritmo de Verlet. (VERLET, 1967) Este é um algoritmo de integração por diferença finita, simples e amplamente utilizado em códigos de DM. Dentro de tal integrador, as posições no tempo  $(t + \delta t)$  são calculadas pelas correntes posições, velocidades  $(v(t))$  e acelerações de acordo com a equação 4:

$$x_i(t + \delta t) = x_i(t) + v_i(t)\delta t + \frac{1}{2} a_i(t)\delta t^2 \quad (4)$$

As acelerações, por sua vez, são calculadas pelas forças que atuam em cada átomo, ou seja, pelo negativo da primeira derivada da energia potencial em relação às posições, conforme mostrado na equação 1. Então, as velocidades são propagadas de acordo com a equação 5.

$$v_i(t + \delta t) = v_i(t) + \frac{1}{2}[a_i(t) + a_i(t + \delta t)] \delta t \quad (5)$$

Como visto na equação 5, o segundo termo do lado direito corresponde à média aritmética das acelerações em relação ao tempo  $t$  e  $(t + \delta t)$ . Além disso, para calcular as acelerações no passo seguinte, as posições devem ser atualizadas antes de avançar as velocidades. De fato, para serem precisos em uma simulação DM, os integradores numéricos devem satisfazer alguns requisitos práticos e teóricos. Os passos na trajetória analítica devem ser o mais próximo possível e devem preservar as propriedades físicas das equações clássicas do movimento, com a energia mecânica  $H(x, p)$ , constante na trajetória, dado pela soma do potencial e da energia cinética  $(K(p))$

$$H(x, p) = V(x) + K(p) \quad (6)$$

onde  $H(x, p)$  é o hamiltoniano clássico do sistema que depende das coordenadas e momentos das partículas que fornece a energia total do sistema. A partir dessas considerações, deve ficar claro que, desde que o integrador funcione adequadamente, a DM segue naturalmente o movimento de um sistema microscópico isolado, onde nem matéria nem energia são trocadas com o ambiente. (DE VIVO *et al.*, 2016)

### 2.2.2 - Ensembles

A dinâmica newtoniana amostra um conjunto estatístico de microestados que são caracterizados por um número constante de partículas ( $N$ ), volume ( $V$ ) e energia ( $NVE =$  constante, ou conjunto microcanônico). No entanto, é possível reproduzir melhor o comportamento macroscópico ao controlar outros parâmetros como a temperatura e a pressão do sistema durante a simulação. (BASCONI; SHIRTS, 2013) A escolha apropriada de um *ensemble* está associada às condições de contorno impostas ao sistema em estudo. (BARLETTE; FREITAS, 1999)

Uma propriedade termodinâmica observável consiste em uma média do conjunto infinito de estados microscópicos de um sistema. (BARLETTE; FREITAS, 1999) Onde a função  $\rho(p,x,t)$  descreve a densidade de probabilidade de encontrar o sistema em um elemento de volume  $dpdx$  no espaço de fase ao tempo  $t$ . O conjunto de pontos  $(p,x)$  com probabilidade ao tempo  $t$  seria  $\rho(p,x,t)dpdx$ , formando um conjunto termodinâmico estatístico. Os pontos representam as cópias exatas do sistema para um microestado diferente, sendo  $p$  e  $x$  equivalente ao momento e a posição, respectivamente.

Caso o sistema possua  $N$  partículas, ele é caracterizado como  $6N$  coordenadas no espaço dimensional (três de posição atômica e três componentes do momento), denominado de espaço de fase do sistema, ocupando um ponto no espaço de fase para cada intervalo de tempo. Dessa forma, um ponto no espaço de fase é função da posição e do momento:

$$H(x, p) \tag{7}$$

Um microestado é definido por um valor instantâneo de  $3N$  posições e  $3N$  momentos. As equações hamiltonianas que governam a trajetória do sistema no espaço de fase são, portanto:

$$\frac{dx_i}{dt} = \frac{\partial H(p,x)}{\partial p_i} \tag{8}$$

$$\frac{dp_i}{dt} = -\frac{\partial H(p,x)}{\partial x_i} \tag{9}$$

onde  $i = 1, \dots, 3N$ ,  $H(p, x)$  é o Hamiltoniano do sistema e  $(p, x)$  representa um ponto ou vetor no espaço de fase com  $6N$  componentes. Considerando um sistema clássico de  $N$  partículas,

isolado,  $H$  não dependem explicitamente do tempo, o sistema é conservativo e  $H$  é uma constante do movimento que corresponde a energia mecânica:

$$H(p, x) = E \quad (10)$$

O espaço de fase é constituído por todo e qualquer estado possível de um sistema, sendo que o valor médio de uma propriedade  $A$  no equilíbrio (isto é, o seu valor esperado) para um sistema com temperatura, volume e o número de partículas constantes (NVT), por exemplo, pode ser escrito de acordo com a equação 11, como uma integral sobre o espaço de fase;

$$\langle A \rangle = \iint A(x, p) P(x, p) dx dp \quad (11)$$

Em que,  $P$  é a probabilidade de um ponto de fase específico. A mecânica estatística relaciona a dependencia energética da probabilidade que é associada ao ponto de fase, de acordo com a equação 12;

$$P(x, p) = Q^{-1} e^{-E(x,p)/k_B T} \quad (12)$$

Na qual  $E$  é a energia total (a soma da energia cinética e potencial em função de  $p$  e  $x$ , respectivamente),  $k_B$  é a constante de Boltzmann,  $T$  é a temperatura e  $Q$  é a função de partição do sistema que é dada pela equação 13;

$$Q = \iint e^{-E(x,p)/k_B T} dx dp \quad (13)$$

$Q$  é considerada como a constante de normalização de  $P$ .

Num sistema inicial em que o ponto de fase é de baixa energia, é provável que o sistema conserve sua energia ao longo da sua trajetória em regiões relevantes da amostragem no espaço de fase. Assim, uma maneira aceitável para o cálculo da média de uma determinada propriedade envolve simplesmente calcular o valor da propriedade periodicamente nos instantes  $t_i$ , de acordo com a equação 14,

$$\langle A \rangle = \frac{1}{M} \sum_i^M A(t_i) \quad (14)$$

onde,  $M$  é o número de amostragens da propriedade. O valor instantâneo de  $A$  é alterado em cada instante, devido às interações entre as partículas, que também sofrem alterações periódicas.

Experimentalmente, a média temporal equivale à média dos valores instantâneos de A durante o tempo t. (MORGON; COUTINHO, 2007) Então, quando  $t \rightarrow \infty$ ,  $\langle A \rangle \rightarrow \langle A \rangle_{\text{real}}$  :

$$\langle A \rangle = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{t} \int_{t_0}^{t_0+t} A(\tau) d\tau \quad (15)$$

A hipótese ergódica\* afirma que a média obtida para um pequeno número de partículas durante um longo período de tempo é equivalente à média sobre um grande número de partículas sobre um curto intervalo de tempo. Essa hipótese valida a equação (15) independente da escolha de  $t_0$ . As equações (11) e (15) são equivalentes para um gás no modelo de esfera rígida. Essa equivalência não foi provada para sistemas mais realísticos, mas muitas evidências experimentais sugerem que a maioria das simulações moleculares estão de acordo com hipótese ergódica (HÖFLIN, 2011; MITHEN, 2012; WERESZCZYNSKI; MCCAMMON, 2012)

O cálculo da média temporal de A, pode ser realizado quando se conhecem as interações que ocorrem nas partículas do sistema (que são determinadas pelo campo de força) e a posição inicial do sistema (configuração). (VAN GUNSTEREN; BERENDSEN, 1990) Com base nessas informações é possível determinar a aceleração de cada partícula, pela segunda lei de Newton. Ao integrar as equações newtonianas será obtido a aceleração, velocidade e trajetória de cada partícula, o que torna possível a obtenção das propriedades macroscópicas desejadas.

---

\* A dinâmica molecular se baseia na hipótese ergódica, que pressupõe que média obtida para um pequeno número de partículas durante um longo período de tempo é equivalente à média sobre um grande número de partículas sobre um curto intervalo de tempo.

### 2.2.3 - Termostato e Barostato

A temperatura constante é mantida por meio de algoritmos, chamados termostatos, que permitem flutuações na energia cinética como se o sistema simulado fosse imerso em um banho termostático com *ensemble* NVT = constante, conjunto canônico. No entanto, a analogia com um banho termostático não deve ser tomada ao pé da letra, pois o fluxo de calor não é simulado. Ao invés disso, a temperatura do sistema é forçada a atingir, em média, o valor macroscópico desejado por meio de alterações adequadas das equações de movimento. (BASCONI; SHIRTS, 2013; ROSTA; BUCHETE; HUMMER, 2009) Utiliza-se um termostato para aplicar uma renormalização das velocidades em cada passo da simulação. Um termostato de Berendsen de primeira ordem é definido através da equação diferencial:

$$\frac{dT}{dt} = 1/\tau (T_0 - T) \quad \langle T \rangle = \text{constante} \quad (16)$$

$\tau = 0,01$  ps na termalização e  $\tau = 0,5$ ps no equilíbrio.

$$v'_i = \lambda v_i \rightarrow \Delta K = (\lambda^2 - 1) 3N_{gl}kT/2 \quad (17)$$

Que leva ao fator de normalização,  $\lambda$ :

$$\lambda = (1 + \frac{\delta t}{\tau_B} (T_0 - T))^{1/2} \quad (18)$$

onde  $\delta t$  corresponde ao intervalo de integração e  $\tau_B$  é a constante de tempo para o termostato de berendsen,  $T_0$  é a temperatura desejada e  $T$  é a temperatura instantânea. O reescalonamento da velocidade pode ser facilmente incorporado ao algoritmo de Verlet. (MUDI; CHAKRAVARTY, 2004)

Considerações muito semelhantes se aplicam aos algoritmos chamados barostato pelos quais a pressão é controlada pelo ajuste adequado (isotropicamente ou não) do volume do sistema com *ensemble* NPT = constante, conjunto isotérmico-isobárico. Neste ensemble a pressão do sistema é constante e o volume pode variar. As moléculas simuladas na DM sofrem atuações de diferentes intensidades de forças no centro e nas bordas da caixa de simulação, devido a energia superficial. (LIN *et al.*, 2017) Considere um sistema cúbico que contém N moléculas e seu volume é  $V = L^3$ . O barostato Berendsen usa um fator de normalização,  $\eta$ , que é uma função da pressão, P, para dimensionar comprimentos do sistema.

Utiliza-se um barostato para aplicar uma renormalização em todas as coordenadas cartesianas das partículas (CM das moléculas) e dimensões da caixa em cada passo da simulação ou num intervalo  $\Delta t$ . O barostato de Berendsen é definido através da equação diferencial:

$$\frac{dP}{dt} = 1/t (P_0 - P) \quad \langle P \rangle = \text{constante} \quad (19)$$

O fator de normalização  $\eta$  em todas as direções para sistemas isotrópicos é:

$$\eta = (1 - \frac{\delta t}{t} \gamma (P_0 - P))^{1/3} \quad (20)$$

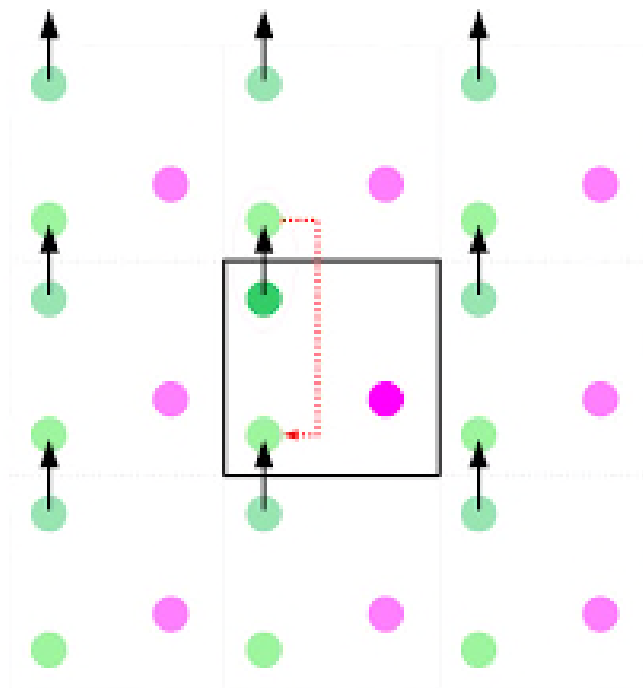
$\gamma$  = compressibilidade isotérmica do sistema e  $-\frac{\Delta t}{t} \gamma = \tau_p$  que é chamado de fator de acoplamento efetivo. Aqui,  $\delta t$  é o passo de tempo e  $P_0$  é a pressão desejada. Após o processo de dimensionamento através da equação 13, o volume do sistema se torna  $V=(\mu L)^3=[1-\Delta t \tau P(P-P_0)]V_0$  e cada vetor de posição da molécula se torna  $\mu r$ . Este processo de redimensionamento é viável de implementar em programação.

## 2.2.4 - Condições periódicas de contorno (PBC)

O pequeno número de moléculas que é alocado na caixa de simulação, quando comparado a sistemas reais (número de partículas da ordem de  $10^{23}$ ), produziria artificialidades na DM. Isso ocorre devido ao surgimento de forças de diferentes magnitudes no centro e nas bordas da caixa. As condições periódicas de contorno ou limite das condições periódicas PBC (do inglês: *periodic boundary conditions*), são comumente empregados nas DMs para contornar os efeitos de energia superficial ou efeitos de superfície. Com isso, as propriedades de sistemas macroscópicos são reproduzidas com maior precisão. (KASAHARA *et al.*, 2019)

Nesse processo o sistema é replicado tridimensionalmente num arranjo infinito e periódico. Isso faz que as partículas permaneçam no centro da caixa de simulação e sofram efeitos apenas das forças que existem no seio da solução e, portanto elimina os efeitos superficiais. (KASAHARA *et al.*, 2019) Essas réplicas são caixas virtuais que impedem que o número de moléculas na caixa real seja alterado. Para o número de moléculas permanecerem constante, as moléculas que eventualmente migrarem pra imagem virtual na vizinhança será reintroduzido na caixa de simulação real pelo lado oposto de onde ela emergiu, Figura 9. (PARK; SCHULTEN, 2004)

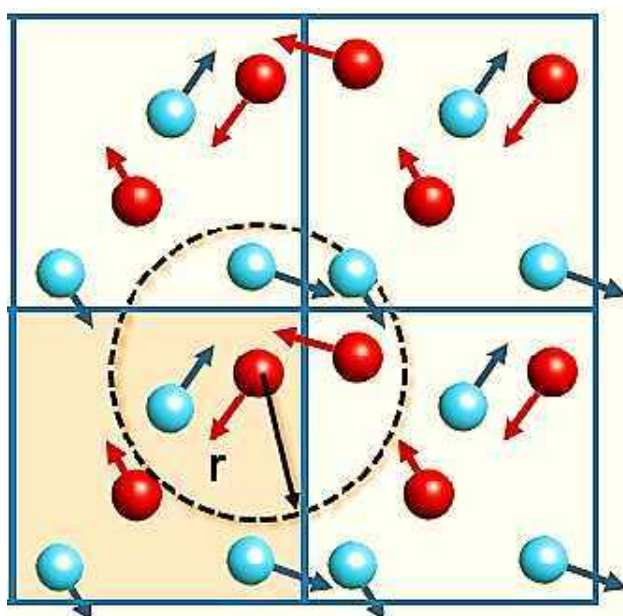
Figura 9 - Condições periódicas de contorno.



## 2.2.5 - Tratamento dos potenciais de Lenard-Jones e de Coulomb

Para moléculas grandes, existe um número grande de interações não ligadas. Sendo assim, a implementação das condições periódicas de contorno para as interações não ligadas se estendem além do limite da caixa englobando as interações com as partículas das caixas imagem, tornando infinitos os termos da soma dos potenciais e na prática, se torna necessário a realização de aproximações. Para evitar a interação da partícula com sua própria imagem ou com a mesma partícula duas vezes e para o tratamento das interações de curto alcance, onde o potencial de interação intermolecular decai rapidamente com o aumento da distância entre as partículas  $V \sim r^{-6}$  (interações de Van der Waals – potencial de Lenard-Jones), emprega-se o procedimento denominado convenção da imagem mínima. Nesse caso, é empregado o truncamento do potencial em um raio de corte esférico  $b$ , geralmente da ordem de  $L/2$  ( $L$  é o comprimento da célula de simulação), Figura 10.

Figura 10 - Representação do raio de corte para um sistema periódico em duas dimensões.



Fonte: Autor

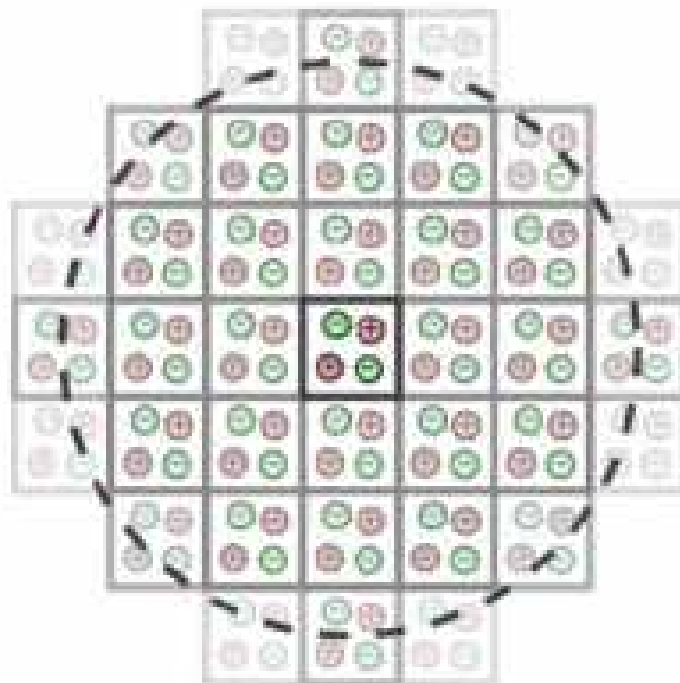
As interações de longo alcance ou eletrostáticas, cujo potencial decaem na ordem de  $r^{-1}$ , possuem partículas que se interagem além deste truncamento ( $L/2$ ), recebem um tratamento especial, através de um campo de reação (do inglês, *Reaction Field*) ou da soma de Ewald para



não fiquem restritas ao raio de corte. A restrição desses potenciais ao raio de corte podem levar a erros significativos de espécies carregadas. O método conhecido como campo de reação (do inglês, Reaction Field) ou da soma de Ewald são utilizados para o tratamento das interações de longo alcance.

Na soma de Ewald, uma partícula interage com todas as outras partículas na caixa de simulação e com todas as suas imagens num arranjo infinito de células periódicas, sendo que no limite, a geometria do arranjo das células é considerada esférica, Figura 11.

Figura 11 - Construção de um sistema de células periódicas no método de Ewald



Fonte: Autor

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

$$V = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (21)$$

onde  $r_{ij}$  é a distância mínima entre as cargas  $i$  e  $j$ , e  $\epsilon_0$  é a permissividade no vácuo. Já a contribuição da interação carga-carga entre as cargas na caixa central e todas as imagens de todas as partículas das seis caixas vizinhas é:

$$V = \frac{1}{2} \sum_{n_{caixa}=1}^6 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 |r_{ij} + r_{caixa}|} \quad (22)$$

Existe, portanto, uma contribuição para a energia total a partir das interações na caixa central somado às interações entre a caixa central e todas as suas caixas imagens.(LEACH; LEACH, 2001)

O método de Ewald é largamente usado em sistemas altamente polares ou carregados. Existem variantes do método original de Ewald como o método PME (do inglês, *Particle mesh ewald*) que utiliza procedimentos de interpolação por *splines* para tratar os termos no espaço recíproco. (DARDEN; YORK; PEDERSEN, 1993) Por ser muito eficiente em termos de precisão e velocidade de processamento, o método PME está implementado em vários pacotes comerciais de simulação e de domínio público.

## 2.2.6 – Modelos de água

Nos cálculos de dinâmica molecular há a possibilidade da inclusão do solvente de forma explícita, isto é, as moléculas estão realmente inseridas na simulação. Muitos modelos de água como solventes são descritos na literatura. (ABASCAL; VEGA, 2005; JORGENSEN *et al.*, 1983a; VAN GUNSTEREN *et al.*, 2006) O melhor modelo de água para uma simulação dependerá da parametrização do campo de força.

O custo computacional de uma simulação de água aumenta com o número de locais de interação no modelo de água. O tempo de CPU é aproximadamente proporcional ao número de distâncias interatômicas que precisam ser calculadas. Para o modelo de 3 pontos, 9 distâncias são necessárias para cada par de moléculas de água (cada átomo de uma molécula contra cada átomo da outra molécula, ou  $3 \times 3$ ). Para o modelo de 4 pontos, 10 distâncias são necessárias (cada site carregado com cada site carregado, mais a interação O-O ou  $3 \times 3 + 1$ ). Para o modelo de 5 pontos, 17 distâncias são necessárias ( $4 \times 4 + 1$ ).

As simulações de DM podem ser produzidas em diversos ambientes, porém a simulação de sistemas bioquímicos são geralmente desenvolvidas em ambientes aquosos. Nesse caso, as moléculas do solvente geram um custo adicional à simulação. O modelo de água de quatro pontos TIP4P (do inglês, *transferable intermolecular potential*) é parametrizado no campo de força OPLS-AA e foi o modelo utilizado aqui nas simulações. Esse modelo possui geometria rígida igual ao da água. (JORGENSEN *et al.*, 1983b)(JORGENSEN; TIRADO-RIVES, 1988)

### 2.2.7 - Minimização de energia e otimização estrutural

A forma como a energia varia em relação às coordenadas (seja interna ou cartesiana) é freqüentemente referida como a curva de superfície energia potencial. Na modelagem molecular, interessa-se especialmente pelos pontos mínimos da superfície energética. Os arranjos de átomos com energia mínima correspondem a estados estáveis do sistema, onde qualquer movimento fora do mínimo gera uma configuração com maior energia. Pode haver um número muito grande de mínimos na superfície energética, onde o de menor energia é conhecido como o mínimo global de energia, enquanto todos os outros são descritos como mínimos locais. Algoritmos de minimização são usados para identificar estas geometrias de sistema que correspondem a pontos na superfície da energia mínima. (MEZA, 2010)

Seja  $f$  uma função que dependa de uma ou mais variáveis independentes  $x_1, x_2, \dots, x_i$ . Encontrar os valores destas variáveis onde  $f$  tem um valor mínimo é o objetivo destes algoritmos, que podem ser classificados em dois grupos. Aqueles que utilizam derivados da energia em relação às coordenadas e aqueles que não o fazem. Os derivados podem ser úteis, pois podem fornecer informações sobre a forma da superfície energética e, se usados corretamente, podem melhorar significativamente a eficiência com a qual o mínimo está localizado e, portanto, são usados pelos métodos mais populares de minimização. (MEZA, 2010)

No ponto mínimo, a primeira derivada da função em relação a cada uma das variáveis é zero e as segundas derivadas são sempre positivas:

$$\frac{\partial f}{\partial x_i} = 0; \frac{\partial^2 f}{\partial x_i^2} > 0 \quad (23)$$

Dentre os métodos que utilizam derivadas se pode citar o método de *Steepest Descent*, (MEZA, 2010) o método do *gradiente conjugado* (HESTENES; STIEFEL, 1952). O método utilizado neste trabalho foi o de *Steepest Descent* e este será descrito em seguida.

O método de *Steepest Descent* é um algoritmo de otimização de primeira ordem que, embora não seja certamente o mais eficiente para minimização, é robusto e de fácil implementação. Para encontrar um mínimo (local) de uma função usa-se um esquema iterativo, onde em cada passo se toma a direção (negativa) do gradiente  $\nabla$ , que corresponde à direção de

declive máximo. Dada uma coordenada inicial  $x_0$ , o método computa uma sequência de iterações  $x_k$ , onde;

$$x_{k+1} = x_k - t_k \nabla f(x_k), k = 0, 1, 2, \dots, \quad (24)$$

No instante  $t_k > 0$  inicia-se a minimização da função de declive máximo;

$$\phi_k(t) = f(x_k - t \nabla f(x_k)) \quad (25)$$

Por natureza, o método de *Steepest Descent* só pode localizar funções mínimas. A vantagem é que o algoritmo é muito simples e requer apenas o armazenamento do vetor gradiente. Além disso, é um dos poucos métodos que garante a diminuição do valor da função. Seu principal uso é “relaxar” rapidamente uma configuração inicial pobre (de elevada energia).

## 2.2.8 - Função Distribuição Radial de Pares

A análise da distribuição radial de pares entre o herbicida e a quitosana fornece a intensidade de interação entre eles e é definida como a razão entre o valor médio da densidade numérica das moléculas do herbicida em uma casca esférica de raio  $r$  ao redor das partículas da quitosana e a densidade da molécula herbicida dentro de uma esfera de raio  $r_{m\acute{a}x}$  (em geral, sendo a metade da aresta da caixa de simulação) ao redor da quitosana,

$$g_{quitosana,herbicida}(r) = \frac{\langle \rho_{herbicida}(r) \rangle}{\langle \rho_{herbicida} \rangle_{local}} \quad (26)$$

Pode-se dizer que  $g_{quitosana,herbicida}(r)$  descreve a variação na distribuição dos átomos  $j$  em relação à distribuição que seria encontrada no líquido, para estes átomos, se o líquido fosse uniforme. Se a distribuição dos átomos  $j$  é a mesma que seria esperada de uma distribuição uniforme,  $\langle \rho_{herbicida} \rangle_{local} \rightarrow \langle \rho_{herbicida}(r) \rangle$ , de modo que  $g(r)_{quitosana,herbicida} \rightarrow 1$ . Esse comportamento é verificado para distâncias de separação  $r$  grandes, tipicamente da ordem de 10Å. (MADEIRA; VITIELLO, 2012)

Experimentalmente, as funções distribuição radial podem ser determinadas a partir de técnicas de difração de raios-X, espalhamento de nêutrons e difração de elétrons.<sup>7,8</sup> Em uma simulação computacional, o cálculo de  $g(r)$  envolve, basicamente, o cálculo das distâncias  $r$  entre os átomos  $i$  e  $j$ . O número de vezes que ocorre o par de átomos em função da distância  $r$  é armazenado em um histograma. Esse histograma é incrementado ao longo da simulação, e por fim, é normalizado para o número  $N$  de moléculas utilizadas na caixa de simulação e para o número de passos usados no cálculo de  $g(r)$ . (MADEIRA; VITIELLO, 2012)

### 2.3 - Dinâmica Molecular de *Born Oppenheimer* (DMBO)

A descrição precisa de grandes sistemas moleculares, particularmente na fase condensada, ainda continua sendo um dos principais desafios enfrentados na química teórica. (NEUGEBAUER *et al.*, 2020)(BANNWARTH; EHLERT; GRIMME, 2019; SPICHER; GRIMME, 2020) Enquanto isso, a nível *ab initio*, a teoria funcional da densidade de Kohn-Sham (*DFT*) pode rotineiramente fornecer estruturas e energias em fase gasosa (ou contínua) para aproximadamente algumas centenas de átomos. O esforços recentes(BRANDENBURG *et al.*, 2018; BRANDENBURG; CALDEWEYHER; GRIMME, 2016; GRIMME *et al.*, 2015; HOSTAŠ; ŘEZÁČ, 2017; KULIK *et al.*, 2016; OTERO-DE-LA-ROZA; DILABIO, 2017; SURE; GRIMME, 2013; WITTE; NEATON; HEAD-GORDON, 2017) para o desenvolvimento de métodos *DFT* e Hartree-Fock de baixo custo para permitir cálculos de simulações de dinâmica molecular semiempírica ou amostragem conformacional têm sido realizados para viabilizar as simulações dinâmicas com o uso de funções de base de orbitais atômicos para sistemas com até mesmo 1000 átomos e que possam ser executadas, por exemplo, dentro do tempo de computação de um dia em um computador desktop padrão. (GRIMME *et al.*, 2015; KALINOWSKI; WENNMÖHS; NEESE, 2017; KOSLOWSKI; BECK; THIEL, 2003; SCHMID; BÖTSCHI; VAN GUNSTEREN, 2010; SURE *et al.*, 2017; UFIMTSEV; MARTINEZ, 2009; YASUDA, 2008; YASUDA; MARUOKA, 2014)

No entanto, muitos problemas interessantes em bioquímica, ciência de materiais, química supramolecular e macromolecular exigiriam métodos quânticos que pudessem lidar com vários milhares de átomos, o que está além deste escopo, mesmo para os métodos de baixo custo mencionados anteriormente. Embora os campos de força clássicos (CFs) possam ser usados rotineiramente para simulações de dinâmica molecular para milhares de átomos em escala de tempo de nanossegundos, (SALSBURY, 2010) suas limitações são múltiplas, pois necessita de uma parametrização específica para ligantes, não permite o cálculo da estrutura eletrônica, dificuldades de simulações com metais, com transferência de prótons, estados de protonação, polarização e as reações químicas só podem ser contornadas por um tratamento mecânico quântico dos elétrons. Mesmo que nos últimos anos com o desenvolvimento de computadores mais rápidos e, mais importante, arquiteturas de computação paralela com placas de vídeo, juntamente com códigos ajustados, tenham se tornado disponíveis, ainda há necessidade de métodos de estrutura eletrônica inerentemente simples, razoavelmente precisos e eficientes para o cálculo de estruturas eletrônicas, que são aplicáveis a grandes sistemas

também sem hardware específico especializado.(ASADCHEV; GORDON, 2012; KALINOWSKI; WENNMÖHS; NEESE, 2017; KUSSMANN; OCHSENFELD, 2017, 2013; SURE *et al.*, 2017; UFIMTSEV; MARTINEZ, 2009; UFIMTSEV; MARTÍNEZ, 2008; WU; KOSLOWSKI; THIEL, 2012; YASUDA, 2008; YASUDA; MARUOKA, 2014)

A abordagem semiempírica preenche a lacuna entre a mecânica quântica *ab initio* e os campos de força clássicos, pois reúne a precisão quântica com a rapidez dos campos de força.(BANNWARTH; EHLERT; GRIMME, 2019) O ajuste bem feito e cuidadoso dos parâmetros permite que os métodos semiempíricos sejam úteis na triagem de uma propriedade desejada. Esses métodos são pelo menos 2 ordens de grandeza mais rápidos do que os métodos *ab initio*, devido a aproximações drásticas das integrais e possuem aplicações mais irrestritas e gerais quando comparada aos CFs.

Atualmente, os métodos Hartree-Fock de sobreposição diferencial nula (ZDO) PM6 e OM2 possuem excelente correlação com dados experimentais e são frequentemente usados.(BIKADI; HAZAI, 2009; DOKUKINA; MARIAN; WEINGART, [s. d.]; DRAL *et al.*, 2016; KORTH *et al.*, 2010; KOSLOWSKI; BECK; THIEL, 2003; KROMANN *et al.*, 2014, 2018; ŘEZÁČ; HOBZA, 2012; S. BRAHMKSHATRIYA *et al.*, 2013; SAITO; KITAGAWA; TAKANO, 2016; STEWART, James J.P., 2009; STEWART, James J.P. P *et al.*, 2018; TUTTLE; THIEL, 2008; WEBER; THIEL, 2000) Enquanto o primeiro encontra uso principalmente no cálculo de estruturas e energias do estado fundamental, este último ainda é amplamente utilizado em estudos de dinâmica de estado excitado. (KAZARYAN *et al.*, 2011; MIRIYALA; ŘEZÁČ, 2018; SPÖRKEL *et al.*, 2014; SPÖRKEL; CUI; THIEL, 2013; SPÖRKEL; JANKOWSKA; THIEL, 2015; STEWART, James J P, 2007) Dos métodos semiempíricos mencionados o PM6 conseguiu maior sucesso na parametrização de 70 elementos químicos.

Nas últimas duas décadas, os métodos de ligação rígida do funcional de densidade DFTB (do inglês: density functional tight-binding) receberam muita atenção, pois neste método, a energia DFT de Kohn-Sham é expandida em termos de flutuações de densidade  $\delta\rho$  em relação a uma superposição de densidades atômicas de referência.(GAUS *et al.*, 2015, 2014; GAUS; CUI; ELSTNER, 2011; GAUS; GOEZ; ELSTNER, 2013; KUBILLUS *et al.*, 2015; LI; TYGAR; HELLERSTEIN, 2005; NIEHAUS *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2007) A variante de nível mais alto (DFTB3) emprega um tratamento de carga autoconsistente, incluindo termos de flutuação de densidade até terceira ordem (GAUS; GOEZ; ELSTNER,



2013; NIEHAUS *et al.*, 2001) e foi parametrizado para uma série de elementos químicos. (GAUS *et al.*, 2015, 2014; GAUS; GOEZ; ELSTNER, 2013; KUBILLUS *et al.*, 2015; VUJOVIĆ *et al.*, 2019)

Em 2019, o GFN2-xTB, completamente livre de parâmetros ligados, foi desenvolvido com a inclusão dos termos de quadrupolo para a correção dos erros de aproximação do tipo monopolo, esfericamente simétrico, existentes na versão GFN1. Além disso, ele é considerado um método físico mais eficiente por possuir o mais recente modelo de interações de dispersão de London D4, o que o torna mais eficiente que o seu antecessor D3. (CALDEWEYHER *et al.*, 2020)

A seguir será mostrado as equações do mais recente método semiempírico GFN2-xTB do grupo GFN $n$ -xTB ( $n = 0, 1$  ou  $2$ ), que foi parametrizado para  $Z \leq 86$  elementos da tabela periódica e fornece as propriedades moleculares alvo com maior precisão do que as abordagens semiempíricas de 'propósito geral' existentes (GFN-xTB, PM6-D3H4, DFTB3-D3 e PM7). (GRIMME; BANNWARTH; SHUSHKOV, 2017);(BANNWARTH *et al.*, 2021) Esse método possui o foco em propriedades moleculares como geometrias, frequências e interações não covalentes.

Ao contrário dos métodos de densidade funcional de ligação rígida anteriores que pressupõem uma aproximação de densidade semilocal de DFT, o GFN2-xTB se diferencia por considerar como ponto de partida uma aproximação funcional de densidade geral, que diferentemente da aproximação semilocal, não negligencia os efeitos de correlação de longo alcance que são responsáveis pelo tratamento das interações de dispersão. Nos métodos anteriores as correções para essas negligências também são usualmente adicionadas a posteriori. O novo método GFN2-xTB assume como ponto de partida um funcional novo que é consideravelmente mais simples que seus predecessores. Esse funcional de Van der Waals, do tipo VV10, inclui uma contribuição de correlação não local (NL) aprimorado e que descreve toda a gama de dispersão de interações de forma contínua, usando apenas a densidade eletrônica como entrada.(VYDROV; VAN VOORHIS, 2010)

Então, a expressão total da energia de Kohn-Sham, em unidades atômicas, é então dada por:

$$E[\rho] = \int \rho(r) [T[\rho(r)] + V_n(r) + \varepsilon_{XC}^{LDA}[\rho(r)] + \frac{1}{2} \int \left( \frac{1}{|r-r'|} + \phi_C^{NL}(r, r') \right) \rho(r') dr'] dr + E_{nn} \quad (27)$$

Aqui,  $T[\rho(r)]$  é a energia cinética por partícula e  $V_n(r)$  o potencial (externo) devido aos núcleos. A notação abreviada é dada por:

$$\int \rho(r) T[\rho(r)] dr = - \sum_i n_i \left\langle \psi_i \left| \frac{1}{2} \nabla_i^2 \right| \psi_i \right\rangle$$

com  $\psi_i$  sendo o orbital molecular e  $n_i$  o número de ocupação correspondente. Os últimos três termos na integral sobre  $dr$  surgem das contribuições eletrônicas para o potencial de campo médio, que correspondem a (semi)correlação de troca local (XC), potencial de Coulomb e a energia de correlação não local, respectivamente. O kernel de correlação não local  $\phi_C^{NL}(r, r')$  calcula os efeitos de correlação de longo alcance.  $E_{nn}$  é a energia de repulsão nuclear clássica.

Na teoria da ligação rígida do funcional de densidade (DFTB), a energia total é expandida em termos de flutuações de densidade em torno de uma superposição de densidades de referência atômicas.

$$\rho_0 = \sum_A \rho_{A_0}$$

$$E[\rho] = E^{(0)}[\rho_0] + E^{(1)}[\rho_0, \delta p] + E^{(2)}[\rho_0, (\delta p^2)] + E^{(3)}[\rho_0, (\delta p^3)] \quad (28)$$

Uma densidade de referência fixa  $\rho_0$  é empregada e o cálculo da estrutura eletrônica é feito em termos das flutuações de densidade  $\delta p$ . As variantes mais utilizadas truncam essa expansão após o termo de terceira ordem. (GAUS; CUI; ELSTNER, 2011; YANG *et al.*, 2007) O mesmo vale para a abordagem GFN2-xTB apresentada aqui. A primeira aproximação feita em métodos de ligação rígida é a suposição de que as flutuações de densidade  $\delta p$  são restritas ao espaço orbital de valência, enquanto a densidade do núcleo permanece congelada. As aproximações individuais para as contribuições de energia para diferentes ordens em  $\delta p$  foram descritas anteriormente. (CHRISTENSEN *et al.*, 2016; GAUS; CUI; ELSTNER, 2011;

HUMENIUK; MITRIĆ, 2015; LUTSKER; ARADI; NIEHAUS, 2015) À seguir serão descritos, brevemente, os termos recém-introduzidos em GFN2-xTB.

### 2.3.1 - Termo de ordem zero

Em derivações anteriores de DFTB, o termo de ordem zero é reduzido a um termo de repulsão clássico. (CHRISTENSEN *et al.*, 2016; GAUS; CUI; ELSTNER, 2011; YANG *et al.*, 2007) Um termo adicional é introduzido, pois parte-se de um princípio diferente em relação a contribuição não local (DFT-NL):

$$E^{(0)}[\rho_0] \approx E_{\text{rep}}^{(0)} + E_{\text{disp}}^{(0)} + \sum_A (E_{A,\text{núcleo}}^{(0)} + E_{A,\text{valência}}^{(0)}) \quad (29)$$

Onde  $E_{\text{rep}}^{(0)}$  e  $E_{\text{disp}}^{(0)}$  correspondem aos termos de Buckingham e Lennard Jones, respectivamente. Todos os termos de um e dois elétrons na equação 27, envolvendo partículas no mesmo átomo se reduzem a um único número, a energia atômica  $E_A$ , que pode ainda ser particionada em duas contribuições (núcleo e valência), veja os dois últimos termos na equação 29.

Uma vez que as densidades de referência  $\rho_0$  se referem a átomos neutros e esfericamente simétricos, as interações de Coulomb somadas ( $e - e$ ,  $n - n$ ,  $e - n$ ) entre átomos distantes desaparecem neste nível de aproximação. No entanto, em regiões com densidades atômicas sobrepostas, forças repulsivas devido à correlação de troca e efeitos de penetração de carga estão presentes. Semelhante a trabalhos anteriores sobre DFTB, este termo é modelado por um termo clássico de repulsão. (CHRISTENSEN *et al.*, 2016; GAUS; CUI; ELSTNER, 2011; HUMENIUK; MITRIĆ, 2015; LUTSKER; ARADI; NIEHAUS, 2015; YANG *et al.*, 2007) Diferente do DFTB, mas de acordo com nosso método anterior GFN-xTB, (Grimme, Bannwarth, and Shushkov 2017) nenhuma parametrização específica do par de elementos será empregada para este termo. Devido à presença de um funcional de correlação NL na expressão de energia na equação 27, uma contribuição de dispersão de London para o par também está presente na ordem zero (ver informações de apoio na Seção 1.5 da referência 85). (Bannwarth, Ehlert, and Grimme 2019)

A soma das energias atômicas é uma constante para um dado sistema e a energia total de ligação rígida é dada em relação à soma das energias do núcleo atômico, ou equivalentemente elas são definidas como zero, ou seja,  $E_{A,\text{núcleo}}^{(0)} = 0$ . A energia  $E_{A,\text{valência}}^{(0)}$  é a soma das energias dos orbitais de valência, que representam autosoluções do hamiltoniano para o átomo livre é dada por:

$$E_{A,\text{valência}}^{(0)} = \sum_{l \in A} \sum_{k \in l} P_{kk}^0 H_A^l \quad (30)$$

A matriz de densidade de ordem zero  $P_{kk}^0$  é diagonal, pois os orbitais atômicos com energia  $H_A^l$  são assumidos como autoestados do átomo livre. Os termos  $E_{rep}^{(0)}$  e  $E_{disp}^{(0)}$  são descritos por expressões clássicas entre átomos “rígidos” em GFN2-xTB (consultar as equações 9 e 32 referentes a  $E_{rep}^{(0)}$  e  $E_{disp}^{(0)}$  nos itens 2.2.1 e 2.2.6 na referência).(Bannwarth, Ehlert, and Grimme 2019) Pode-se ver que a energia de ordem zero na expansão  $\delta p$  está, portanto, relacionada aos conhecidos potenciais do tipo Buckingham ou Lenard-Jones, que podem ser uma aproximação razoável para tratar interações não covalentes de átomos de gases nobres. É notório também que o termo de ordem zero não contribui para a energia eletrônica de ligação rígida, que depende apenas das flutuações  $\delta p$  .

### 2.3.2 - Termo de primeira ordem

Para a escolha de densidades atômicas de referência  $\rho_{A_0}$ , a descrição de ligações covalentes em teorias de ligações rígidas torna-se possível no termo de primeira ordem, devido a expansão  $\delta p$ . Isso é tipicamente alcançado por mudanças na ocupação  $\delta P$  dos níveis de energia atômico invocando a conhecida aproximação estendida de Hückel. Como  $\delta p$  é assumido como diferente de zero apenas no espaço de elétrons de valência (veja acima no último parágrafo do tópico 2.3.1), este último será restrito aos orbitais de valência. Devido às flutuações de densidade de primeira ordem, os átomos podem obter uma carga líquida e não são mais neutros. Isso não tem efeito sobre as interações eletrostáticas interatômicas, uma vez que o potencial eletrostático dos átomos neutros restantes (com  $\rho_{A_0}$ ) ainda é zero. No entanto, desde a partir da expressão DFT-NL na equação 27 em GFN2-xTB, a energia de primeira ordem em  $\delta p$  é aumentada com uma contribuição de dispersão de primeira ordem:

$$E^{(1)}[\rho_0, \delta p] \approx E_{disp}^{(1)} + \sum_A E_{A, valência}^{(1)} \quad (31)$$

O último termo da equação 31 descreve as mudanças de primeira ordem na ocupação e nas energias dos níveis eletrônicos de valência. Ao combinar a equação 31 com a equação 30, obtém-se é essencialmente à teoria estendida de Hückel (EHT), ou seja,  $E_{EHT} = \sum_A (E_{A, valência}^{(0)} + E_{A, valência}^{(1)})$ . A expressão explícita para a energia estendida Hückel, em GFN2-xTB, pode ser encontrada na seção 2.2 da referência. (Bannwarth, Ehlert, and Grimme 2019) Devido ao potencial de dispersão de London de ordem zero que não desaparece nos outros átomos de carga neutra, a energia de dispersão muda em  $\delta p$  no termo de primeira ordem. A expansão/contração da densidade atômica aumentará/diminuirá a magnitude da interação. Em GFN2-xTB estes e os efeitos de segunda ordem (veja abaixo) serão levados em consideração dentro do modelo de dispersão D4 autoconsistente (veja na seção 2.2.6 da referência). (Bannwarth, Ehlert, and Grimme 2019) (Caldeweyher et al. 2019; Caldeweyher, Bannwarth, and Grimme 2017) Deve-se mencionar que também existem efeitos de primeira ordem e de ordem superior para a energia de repulsão, que geralmente são negligenciados nos métodos DFTB. O mesmo vale para o método GFN2-xTB aqui apresentado, embora esses efeitos negligenciados possam ser parcialmente incorporados com parametrização de outros termos.

### 2.3.3 - Termo de segunda ordem

Na segunda ordem em  $\delta\rho$ , surgem contribuições de energia, que requerem um cálculo de ligação apertada auto-consistente.

$$E^{(2)}[\rho_0, (\delta\rho)^2] \approx E_{ES}^{(2)} + E_{XC}^{(2)} + E_{disp}^{(2)} \quad (32)$$

Na segunda ordem, são acrescentados os termos eletrostáticos interatômicos ( $E_{ES}^{(2)}$ ) e de correlação de troca ( $E_{XC}^{(2)}$ ). Em esquemas DFTB, estes termos são geralmente condensados em uma interação Coulomb amortecida entre monopolos atômicos. (Klopman 1964; Ohno 1964) O mesmo é feito em GFN2-xTB. No entanto, iremos além da aproximação monopolo para  $E_{ES}^{(2)}$  e  $E_{XC}^{(2)}$  e incluiremos efeitos anisotrópicos de segunda ordem na expansão multipolar. Os efeitos isotrópicos  $\delta\rho$  de segunda ordem na energia de dispersão também estão incluídos no modelo de dispersão D4 autoconsistente em GFN2-xTB.

### 2.3.4 - Termo de terceira ordem

Basicamente todas as contribuições de energia da expressão de energia de Kohn-Sham na equação 27 que requerem uma solução autoconsistente no nível da teoria DFT, também contribuirão para correções de energia de ordem superior ( $\geq 2$ ) em  $\delta\rho$ . Como em trabalhos anteriores sobre DFTB e GFN-xTB, (Grimme, Bannwarth, and Shushkov 2017; Yang et al. 2007) todos os termos de terceira ordem foram desprezados, exceto um termo isotrópico local, que se origina principalmente de efeitos Coulomb (ES) e de troca (XC) de curto alcance.

$$E^{(3)}[\rho_0, (\delta\rho)^3] \approx E_{ES}^{(3)} + E_{XC}^{(3)} \approx \frac{1}{3} \sum_A \sum_{l \in A} r_{A,l} q_{A,l}^3 \quad (33)$$

Diferente dos trabalhos anteriores, no entanto, o termo de terceira ordem é expresso em termos de cargas parciais de casca (aproximação de Mulliken) em GFN2-xTB.



### 2.3.5 – O Método GFN2-xTB

Tendo relacionado os componentes de energia individuais a diferentes ordens em  $\delta\rho$ , descreveremos as contribuições específicas para a energia GFN2-xTB a seguir. A expressão total de energia GFN2-xTB é dada por:

$$E_{\text{GFN2-xTB}} = E_{\text{rep}} + E_{\text{disp}} + E_{\text{EHT}} + E_{\text{IES+IXC}} + E_{\text{AES}} + E_{\text{AXC}} + G_{\text{Fermi}} \quad (34)$$

As abreviações introduzidas nos subscritos indicam as energias eletrostática isotrópica (IES), isotrópica de correlação de troca (IXC) e da mesma forma as energias eletrostática anisotrópicas (AES) e anisotrópica de troca (AXC), respectivamente. É importante notar que nenhuma correção de ligação de halogênio ou hidrogênio está incluída no GFN2-xTB. A descrição dessas interações é aprimorada pela inclusão do novo termos de energia  $E_{\text{AES}}$ . O termo  $E_{\text{rep}}$  corresponde ao termo de energia de repulsão clássica. O termo  $G_{\text{Fermi}}$  refere-se formalmente à contribuição entrópica de uma energia livre eletrônica na temperatura eletrônica finita,  $T_{el}$ , devido ao espalhamento de Fermi. (Mermin 1965) A parcela  $E_{\text{EHT}}$  refere-se a contribuição estendida de Hückel e é o ingrediente crucial para descrever ligações covalentes em métodos de ligação rígida. Em GFN2-xTB, as interações de dispersão são tratadas por meio de uma variante autoconsistente do modelo de dispersão D4 recentemente publicado. (Caldeweyher et al. 2019; Caldeweyher, Bannwarth, and Grimme 2017) Em métodos de campo médio semiempíricos típicos, as interações de dispersão de London são geralmente tratadas por meio de correções a posteriori a obtenção do campo autoconsistente. (Christensen et al. 2016; Grimme et al. 2016) Embora o modelo de dispersão D3 amplamente empregado leve em consideração os efeitos ambientais através do número de coordenação geométrica, os efeitos da estrutura eletrônica estão ausentes. Em um contexto de ligação rígida, a energia de dispersão D3 deve ser considerada como um termo de ordem zero; ou seja, corresponde a  $E^{(0)}_{\text{disp}}$ . Para o modelo GFN2-xTB, foi incluído os termos  $E^{(1)}_{\text{disp}}$ ,  $E^{(2)}_{\text{disp}}$  dentro da formulação autoconsistente do modelo de dispersão D4, (Caldeweyher, Bannwarth, and Grimme 2017) portanto:

$$E_{\text{disp}} = E^{(0)}_{\text{disp}} + E^{(1)}_{\text{disp}} + E^{(2)}_{\text{disp}} \quad (35)$$

O leitor pode consultar os detalhes do desenvolvimento e implementação de cada termo individual da equação 34 na referência. (Bannwarth, Ehlert, and Grimme 2019) Como de

costume, os orbitais moleculares espaciais (OMs)  $\psi_i$  são expressos como combinações lineares de orbitais centrados no átomo (CLOA), (Chemistry and John 1952; Roothaan 1951)

$$\psi_i = \sum_k^N c_{ki} \phi_k(\zeta_k, STO - mG) \quad (36)$$

Onde  $\phi_{ki}$  referem-se a orbitais atômicos gaussianos contraídos, que são usados para aproximar um orbital esférico do tipo Slater com expoente  $\zeta_k$ . O número de primitivas  $m$  varia entre 3 e 6. A minimização variacional da expressão de energia na equação 34 em relação aos coeficientes lineares  $c_{ki}$  na equação 36 leva ao problema geral de autovalor, que também é encontrado na teoria funcional da densidade de Hartree-Fock e Kohn-Sham

$$FC = SC \in \quad (37)$$

Onde  $F$  é a matriz hamiltoniana ou de “Fock”,  $S$  é a matriz de sobreposição e  $C$  é a matriz de coeficientes CLOA-OM e  $\in$  é uma matriz diagonal contendo as energias orbitais. Para a resolução da equação 37 de uma forma autoconsistente, é necessário calcular a matriz de densidade. Quanto à energia total, os elementos da matriz do Hamiltoniano GFN2-xTB podem ser decompostos nas seguintes contribuições individuais:

$$F_{k\lambda} = H_{k\lambda} + F_{k\lambda}^{IES+IXC} + F_{k\lambda}^{AES} + F_{k\lambda}^{AXC} + F_{k\lambda}^{D4} \quad (38)$$

Devido à analogia com Hartree-Fock, denotaremos esta matriz simplesmente como matriz TB-Fock a seguir. Onde  $k$  e  $\lambda$  representam os orbitais atômicos e o termo  $H_{k\lambda}$  é a matriz estendida de Huckel. Essa matriz é definida a partir do termo referente a contribuição energética estendida de Huckel,  $E_{EHF}$ , na equação 34. As contribuições isotrópicas ES e de correlação de troca XC são dadas no segundo termo da matriz TB-Fock. Os três últimos termos são novos e suas derivações podem ser encontradas na referência.(Bannwarth, Ehlert, and Grimme 2019) Os termos relacionados as contribuições anisotrópicas (AES) e (AXC) possuem termos que incluem o dipolo elétrico e o quadrupolo, bem como as integrais de sobreposição e por fim o termo  $F_{k\lambda}^{D4}$  equivale a correção de dispersão autoconsistente de London (D4) dependente da carga parcial atômica.(Caldeweyher et al. 2019)

## Capítulo 3

### METODOLOGIA

#### 3.1 - Os parâmetros do campo de força OPLS-AA nas simulações DM

A realização da dinâmica molecular é precedida pela construção do banco de dados ou campo de força. A implementação dos parâmetros dos átomos ligados e não ligados das moléculas de quitosana e dos herbicidas foi feita no campo de força OPLS-AA. Este é um campo de força atômico que foi útil para fornecer estruturas que foram simuladas por mecânica quântica. A carga dos átomos dos herbicidas metildiclofop e diclofop já estavam disponíveis nesse banco de dados. A estrutura inicial desses dois herbicidas foi inicialmente submetida à otimização estrutural no programa *MOPAC* 2016, a nível semiempírico, com hamiltoniano *PM7*. O glifosato foi parametrizado no OPLS-AA pelo grupo de pesquisa desse trabalho no estudo intitulado como *Parameter for glyphosate in OPLS-AA force field*. (Faria et al. 2018) As cargas da quitosana, assim como as do glifosato, foram obtidas pela metodologia *RESP* (do inglês: *Restrained Electrostatic Potential*).(Woods and Chappelle 2000) Os parâmetros ligados adicionados foram:

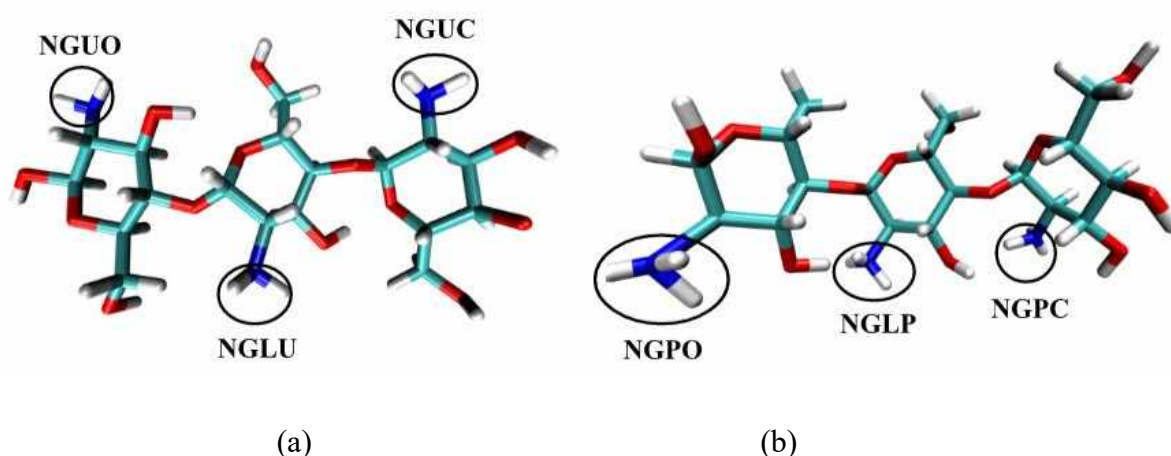
- i) Tipo de ligação covalente entre os átomos
- ii) Ângulos entre três átomos unidos por ligações covalentes
- iii) Ângulos torsionais entre quatro átomos ligados covalentemente

Dessa forma, não foi necessário adicionar a massa atômica, número atômico e o código do átomo, pois eles já estavam presente no campo de força. A estrutura do biopolímero simulada nesse trabalho já havia sido parametrizada previamente pelo grupo desse trabalho, sendo que a otimização estrutural da quitosana, foi executada com o método *DFT* com o funcional híbrido B3LYP e função de base 6-31G\* no programa ORCA 3.0. (Parr and Yang 1994)(Becke 1993)(Neese 2012)(Uberl, De, and Qu 2018)

Em seguida, as cargas dos átomos da quitosana foram obtidas pelo método *RESP*, através do programa *NWCHEM* 5.1 a nível mecânico quântico pela metodologia Hartree-Fock e função de base 6-31G\*. Segundo a metodologia de Lins *et al.*, foram feitos grupos de carga com átomos semelhantes para obtenção do valor correto das cargas. (Valiev et al. 2010)

Para o cálculo das cargas atômicas se deve saber que as frações desacetiladas de quitosana são compostas por seis tipos específicos de resíduos glicopiranosídicos, sendo três desprotonados que possuem a letra U (do inglês: *unprotonated*): NGUO, NGLU, NGUC e três protonados que possuem a letra P (do inglês: *protonated*): NGPO, NGLP e NGPC, Figuras 12 (a) e 12 (b), respectivamente. O resíduo NGUO e NGPO estão nas extremidades e possuem uma hidroxila do tipo hemiacetal que encerra o trímero. Na extremidade oposta há o NGUC e NGPC que possuem uma hidroxila de álcool secundário no fim da cadeia. Ao centro estão os resíduos NGLU e NGLP. Todos os anéis possuem um grupamento lateral nitrogenado e uma hidroxila primária na extremidade oposta ao elemento nitrogênio.

Figura 12 - (a) resíduos não protonados de quitosanas NGUO, NGLU e NGUC, respectively; (b) resíduos protonados de quitosana NGPO, NGLP e NGPC, respectivamente.



No próximo passo as cargas foram implementadas no campo de força OPLS-AA para realização das simulações computacionais por dinâmica molecular. Os trabalhos sobre a parametrização da quitosana e dos contaminantes glifosato e diclofop, foram publicados pelo grupo de pesquisa desse trabalho entre 2008 a 2019. (Lins and Hünenberger 2005a)(Performance and Chemistry 2010)(Kaminski et al. 2001)

### 3.2 - Sistemas simulados por DM

A simulação de sistemas moleculares requer a geração de conformações estatisticamente representativas. No presente caso, a caracterização adequada da dinâmica estrutural dos sistemas estudados requereu estruturas adequadas ao meio em que essas foram inseridas. Para isso foi utilizado o método de Dinâmica Molecular (DM), o qual recorre à integração das equações clássicas de movimento, para determinar a posição, a velocidade e a aceleração das partículas do sistema em um dado instante do tempo. Desta forma, foi feito o levantamento de informações sobre o comportamento dinâmico, dependente do tempo, dos átomos que compõem o sistema. (Frenkel and Auer 2001)

As propriedades macroscópicas de interesse (como pressão, volume, temperatura, entre outras) puderam ser obtidas aplicando-se técnicas de mecânica estatística a partir dos dados microscópicos providos da simulação. (Hess, Kutzner, van der Spoel, et al. 2008)

A trajetória obtida a partir da Dinâmica Molecular foi validada com as propriedades obtidas dos resultados experimentais. Esta comparação é uma forma de avaliar a precisão e representabilidade dos métodos computacionais utilizados para descrever os sistemas estudados. (Ryckaert, Ciccotti, and Berendsen 1977)

Inicialmente foram produzidas as simulações por dinâmica molecular clássica do filamento decamérico de quitosana contendo 237 átomos, junto aos herbicidas metildiclofop, diclofop e glifosato para investigar a ocorrência de interações entre os contaminantes e o biopolímero. As DMs foram realizadas usando o pacote computacional GROMACS 2016.4 (M.J. Abraham, D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess and development team 2004) com o conjunto de parâmetros no campo de força OPLS-AA. A configuração inicial da simulação em solução aquosa foi obtida após a produção da dinâmica do contaminante e a biomolécula no vácuo.

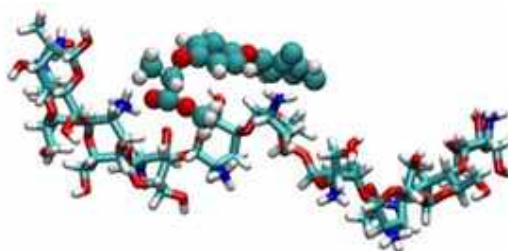
A minimização de energia foi realizada usando o algoritmo de minimização *steepest descent* por 1000 passos com limite energético de  $100 \text{ kJ.mol}^{-1}$ . O raio de Coulomb e de Van der Waals para o tratamento das interações de curto alcance foi de 1.2 nm, sendo que o tratamento das interações eletrostáticas foi realizado pelo método *particle mesh ewald PME*. À seguir, o sistema anidro foi equilibrado em temperaturas consecutivas (50K, 150K e 300K) durante 1ns em um conjunto NVT e com um passo de integração de 2fs com o termostato V-

rescale usado para manter a temperatura constante. A caixa modelada era uma caixa cúbica, o integrador utilizado foi Verlet e as condições periódicas de contorno foram utilizadas em todas as dimensões x, y e z. Adicionalmente, este sistema foi simulado durante um tempo de 50ns a temperatura 300K e com intervalo de integração de 2fs. Em seguida os sistemas foram solvatados separadamente em caixa cúbica com modelo de água TIP4P. Para atingir a força iônica desejada, um conjunto com pequeno excesso (neutralizante) de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloretos ( $\text{Cl}^-$ ) foram adicionados para gerar uma difusão mais rápida dos íons dentro do sistema. Esse procedimento se fez necessário devido a quitosana possuir carga +4, o herbicida metildiclofop carga 0, o diclofop -1 e o glifosato -2.

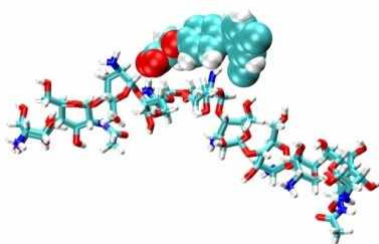
Após a solvatação, cada sistema contendo a quitosana teve a sua energia minimizada, com o algoritmo *steepest descent*. Em seguida, o solvente foi equilibrado através de três sucessivas termalizações de 1 ns cada, nos referidos sistemas. As temperaturas utilizadas foram 50, 150 e 300 K. Durante este processo, a posição dos átomos mais pesados (exceto o hidrogênio) novamente foram fixados aplicando-se uma constante de força de  $1,0 \times 10^3 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$ . Após a equilibração do solvente, um total de 50 ns de simulação por dinâmica molecular foi executada para os sistemas. Essas simulações foram realizadas em um ensemble isotérmico-isobárico (NPT) e utilizando o algoritmo de Verlet para a obtenção da velocidade das partículas. Durante a simulação por dinâmica molecular, a cada passo de integração, os movimentos translacionais e rotacionais também foram removidos do centro de massa dos sistemas. A temperatura foi mantida por 300 K acoplando os solutos e os solventes paralelamente aos barostato de Berendsen com um tratamento isotrópico. Os comprimentos de ligação, bem como os movimentos de estiramento linear e angular envolvendo os átomos de hidrogênio foram fixados utilizando o algoritmo *LINCS*. As contribuições eletrostáticas de longo alcance foram tratadas por meio da aproximação do método *PME*. Finalmente, as trajetórias das simulações DM foram analisadas pela energia das interações eletrostáticas e de Van der Waals, cálculo do valor médio temporal da função  $g(r)$  normalizada, raiz quadrada do desvio quadrático médio *RMSD* (do inglês: *Root mean square deviation*), cálculo do número de ligações de hidrogênio, cálculo da energia livre de ligação entre a quitosana e os herbicidas e análises de agrupamento (*cluster*). A análise de grupamento forneceu a configuração mais estatisticamente representativa do complexo, que foi utilizada na produção das dinâmicas quânticas. A produção em solução aquosa foi realizada para confirmar a ação da quitosana como bioadsorvente dos herbicidas que podem contaminar os corpos aquáticos.

A Figura 13 (a), (b) e (c) representam cada um dos sistemas simulados com as moléculas de água e íons ocultos, para melhor visualização.(Hess 2008)(Hess, Kutzner, Van Der Spoel, et al. 2008)

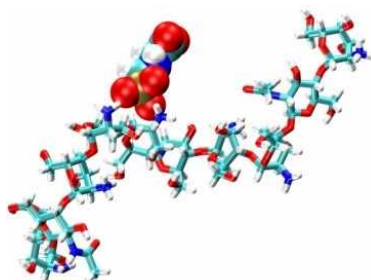
Figura 13 - (a) quitosana e metildiclofop , (b) quitosana diclofop e (c) quitosana e glifosato



(a)



(b)



(c)

Fonte: Autor, representação de licorice para a quitosana e VDW (Van der Waals ) para os herbicidas. Oxigênio (vermelho), Nitrogênio (azul), Carbono (verde) e Hidrogênio (branco), através do programa VMD (Humphrey, Dalke, and Schulten 1996a)

### 3.3 – Determinação da energia livre de ligação quitosana herbicidas por DM

A constatação da espontaneidade de formação de interações atrativas entre os herbicidas (metildiclofop e glifosato) e o biopolímero foi feita pela estimativa de energia livre de ligação entre essas moléculas. Assim sendo, o método *LIE* (do inglês: *Linear interaction Energy*), implementado no pacote computacional GROMACS, obtém a energia livre de ligação com base em uma análise de energia de potenciais intermoleculares. Para uma análise precisa, são necessárias duas simulações, uma contendo os herbicidas em solução aquosa na presença de quitosana e outra na ausência do biopolímero. Para a produção de valores médios das energias de Van der Waals  $\langle U_{li\ g-env}^{vdw} \rangle$  e eletrostática  $\langle U_{li\ g-env}^{coul} \rangle$  adequados foram necessários considerar os potenciais de Lenard-Jones e de Coulomb somente para a quitosana e os herbicidas. A estimativa *LIE* completa é baseada em energias médias de campo de força que permite o cálculo de energia livre de ligação apenas por meio de amostragem de energias potenciais entre o ligante e o solvente ou o receptor, sem a necessidade de pós-processamento. Nesse estudo a equação da abordagem *LIE* pode ser expressa a seguir pela equação 39.

$$\Delta G_{bind} = \alpha \Delta \langle U_{li\ g-env}^{vdw} \rangle + \beta \Delta \langle U_{li\ g-env}^{coul} \rangle \quad (39)$$

Sendo que  $\Delta G_{bind}$  é a energia livre de interação entre a quitosana e o metildiclofop,  $\langle U_{li\ g-env}^{vdw} \rangle$  é a energia média de vdW entre o herbicida e o ambiente,  $\langle U_{li\ g-env}^{coul} \rangle$  é a energia média coulômbica entre o metildiclofop e o ambiente. O termo  $\Delta$  corresponde às duas simulações, uma na presença da quitosana e a outra na ausência dela. O valor de  $\alpha = 0,181$ , foi escolhido como parâmetro para dimensionar as energias de interação vdW e  $\beta = 0,5$  parâmetro para dimensionar as energias de interação eletrostática.



### 3.4 – Determinação da energia livre de ligação biopolímero herbicidas por *SMD*

A partir das estruturas equilibradas, foram realizadas dinâmicas direcionadas para obtenção da energia livre (propriedade em equilíbrio) a partir do cálculo do potencial de força média. O tamanho total dos sistemas para os cálculos de energia livre foi aproximadamente 300 átomos. A partir dessas estruturas, foram produzidas simulações independentes de energia livre para calcular o trabalho necessário para desconectar os herbicidas da quitosana (propriedade fora do equilíbrio).

A partir da integração da força média de um *ensemble*<sup>2</sup> de configurações, pode ser calculado o potencial de força média, no qual exibe um importante papel na investigação de processos moleculares, em que o espaço configuracional é descrito por uma coordenada de reação. Sendo assim, 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 o da coordenada de reação.

Uma simulação dinâmica direcional é um processo de fora do equilíbrio, enquanto que o PMF é uma propriedade em equilíbrio. Portanto, é necessária correlacionar esses processos em equilíbrio e em não-equilíbrio, que se dá especificamente através da igualdade de Jarzynski (mecânica estatística em não-equilíbrio). Assim, torna-se possível extrair propriedades em equilíbrio de sistemas em não-equilíbrio. A igualdade de Jarzynski, equação 40, estabelece uma conexão entre o cálculo de energia livre em equilíbrio e o trabalho realizado no processo em não-equilíbrio, e por isso, permite calcular o *PMF* sobre processos fora do equilíbrio, tais como as simulações de *Umbrella Sampling*.(Hub, De Groot, and Van Der Spoel 2010)<sup>119</sup>

$$e^{-\beta\Delta F} = \langle e^{-\beta W} \rangle \quad (40)$$

Sendo  $\Delta F$  a variação de energia livre entre os estados inicial e final,  $W$  o trabalho externo e  $\beta=(K_B T)^{-1}$ ,  $K_B$  e  $T$  são a constante de Boltzmann e a temperatura, respectivamente. A propriedade mais importante desta relação é que ela não se restringe somente a sistemas em

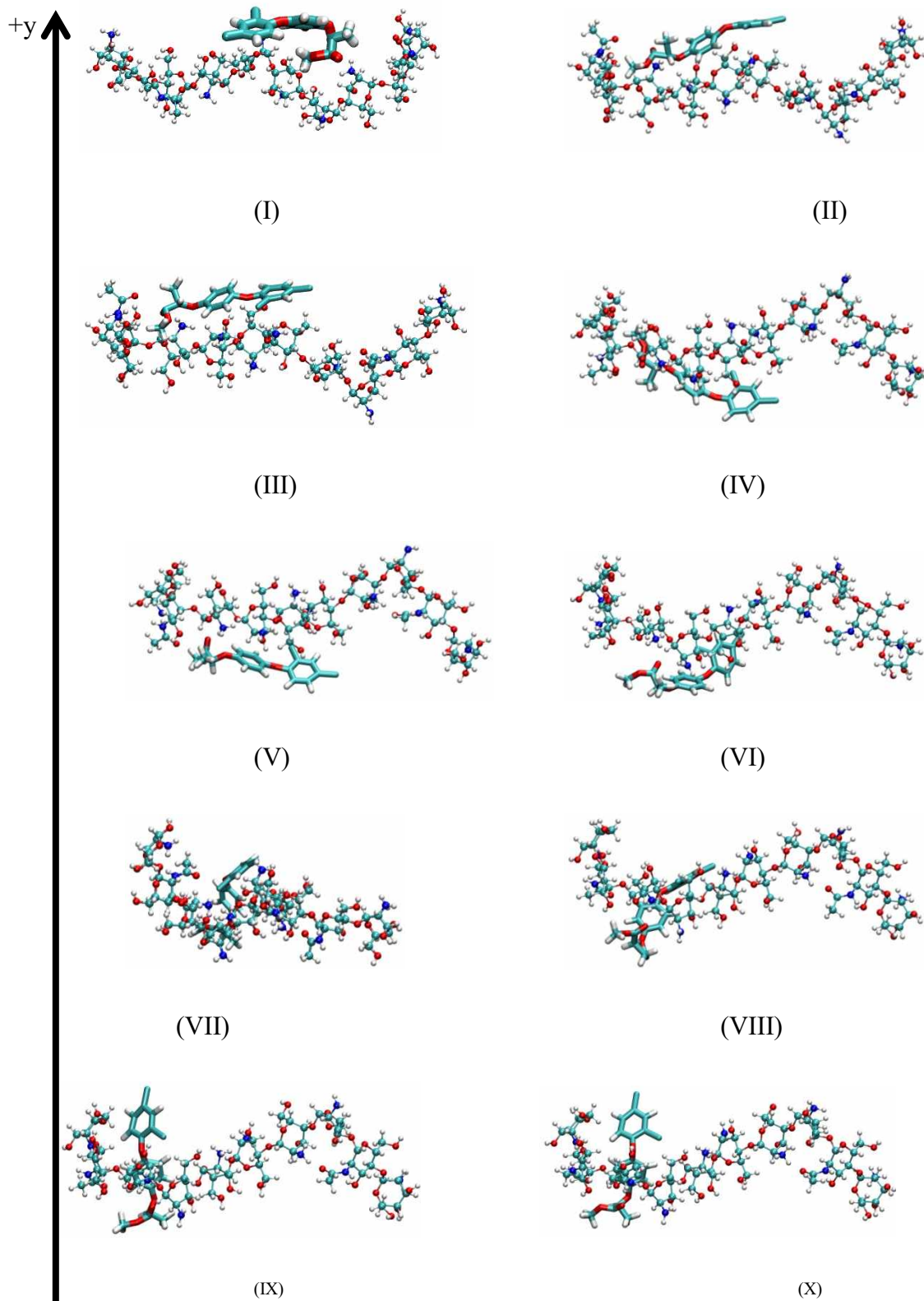
---

<sup>2</sup> *Ensemble* é conjunto cujos elementos são sistemas de partículas que servem para descrever um único sistema dado. Esse conceito de grande utilidade na termodinâmica estatística, foi inicialmente proposto como uma maneira de se obter o valor médio no tempo do sistema dado tomando-se a média dos elementos do ensemble num determinado tempo.

equilíbrio. A igualdade é satisfeita para qualquer perturbação, desde que amostragens suficientes sejam realizadas. (Zhang and Ouyang 2021)

As simulações de energia livre foram conduzidas com amostragem guarda-chuva ou *Umbrella Sampling* para o cálculo do potencial de força média em função da separação entre o centro de massa *COM* (do inglês: *centre of mass*) da quitosana e dos herbicidas, na qual o biopolímero serviu como grupo de referência, enquanto os contaminantes foram afastados gradualmente ao longo da coordenada de reação  $+y$ . Foi usado uma constante de mola  $k_b = 820 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$  e constante de velocidade  $v = 0,001 \text{ nm ps}^{-1}$  para que o herbicida fosse gradualmente puxado. Para a realização das análises, a trajetória foi salva a cada 10 ps, no *ensemble* NVT. A coordenada de reação que usamos descreve a fração de contatos das cadeias de interesse a serem desligadas da superfície da quitosana. A distância de corte para os contatos corresponde à distância de corte sem ligação de 12 Å para garantir que as cadeias desconectadas não interagem com o biopolímero. As janelas foram executadas por 2 ns cada, a partir de uma coordenada de reação na qual valor de  $F = 0$  onde os contatos são formados e para  $F = 1$  onde todos os contatos foram rompidos. O intervalo do centro da janela de 0,05 nm para o sistema contendo o metildiclofop correspondeu a 10 janelas no total e 20 ns e para o sistema contendo diclofop o intervalo entre as janelas foi de 0,05 nm ao longo de  $F$  com o total de 30 janelas. Destas 30, somente 10 janelas equidistantes com tempo integral de 30 ns de tempo de simulação por cenário de remoção para garantir a convergência. As cadeias de interesse foram desconectadas por aproximadamente 2 nm. As simulações de amostragem de guarda-chuva foram analisadas com o histograma ponderado *WHAM* e a análise do erro sobre o potencial da força média foi realizado com *bootstrap*. (Hub, De Groot, and Van Der Spoel 2010) A Figura 11 (I) à (X) exibe as janelas simuladas nas 10 dinâmicas direcionais, separadas por 0,05 nm, que foram utilizadas no puxamento do metildiclofop da quitosana no eixo  $+y$  para a obtenção do potencial de força média. (Beckham and Crowley 2011)

Figura 14 - representação das janelas simuladas na dinâmica metildiclofop com a quitosana na direção +y.



Fonte: Autor, através do programa VMD(Humphrey, Dalke, and Schulten 1996a)

### 3.5 - Dinâmica molecular quântica ou *DMBO*

O recente campo de força GFN2-xTB parametrizado para o estudo de interações intermoleculares, é um dos métodos *DFT* semi-empíricos mais recentemente desenvolvidos pela equipe de Grimme. Este é um pacote de programa semi-empírico eXtended Tight-Binding (xtb) especialmente projetado para otimização de geometria, frequência de vibração e interação não covalente (GFN) e foi utilizado nas dinâmicas quânticas deste trabalho.

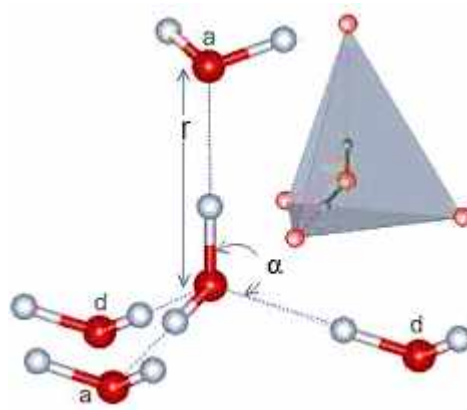
Neste trabalho foram produzidas dinâmicas quânticas para o sistema de quitosana com o metildiclofop e quitosana com glifosato, na qual a sua geometria foi minimizada pelo campo de força clássico OPLS-AA e em seguida otimizado a nível semiempírico com o campo de força GFN2-xTB. Esse tipo de dinâmica molecular também pode ser chamado de dinâmica molecular de *Born Oppenheimer* (DMBO) ou dinâmica direta. As coordenadas cartesianas iniciais da DMBO foram obtidas pela análise de agrupamento da dinâmica clássica que em seguida foram utilizadas no programa xtb. A amostragem foi conduzida considerando o modelo de solvatação implícita *GBSA* (do inglês: *Generalized Born Surface Area*).

A simulação por DMBO foi conduzida por um tempo total de 50 ps, com passos de 1 fs, na temperatura de 298,15 K em um ensemble NVT. Além disso, foi realizada a análise do RMSD em relação ao tempo por dinâmica quântica do agregado de biopolímero e do herbicida além das análises das interações de curto alcance a partir das simulações quânticas. A formação das ligações de hidrogênio entre o ligante e o receptor foi avaliada através da análise da distribuição radial de pares  $g(r)$  e o resultado foi agregado aos resultados da dinâmica clássica.

### 3.6 - Ligações de Hidrogênio

As evidências para a formação de ligações de hidrogênio podem ser experimentais ou teóricas, ou idealmente, uma combinação de ambas. Nesse trabalho, o número de ligações de hidrogênio será abordado e por isso foi necessário a definição de critérios para ocorrência dessas interações. Alguns critérios geométricos são úteis para caracterizar típicas ligações de hidrogênio. Nesse estudo, os critérios estabelecidos para essas forças intermoleculares, foram os critérios geométricos definidos pelo GROMACS na qual  $r \leq 0,4 \text{ nm}$  e  $\alpha \leq 35^\circ$ , Figura 15. (Arunan et al. 2011)(hydrogen bonds n.d.)

Figura 15 - Critério geométrico da ligação de hidrogênio



Fonte: Autor

## Capítulo 4

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 4.1 - Mudanças conformacionais e das interações energéticas nas DMs

Sabe-se que a estabilidade dos complexos depende das condições do solvente em torno da macromolécula e das interações intermoleculares. A seguir foram reportados os resultados e análises das três simulações independentes de quitosana em solução aquosa (pH = 6,5), sendo uma realizada com glifosato (carga = -2) e as outras duas sendo uma com o metildiclofop (molécula neutra) e a outra com o diclofop (carga = -1). Os valores reportados foram obtidos após o tempo total de 150ns de simulação, 50ns para cada um dos três sistemas. A primeira análise foi realizada pelo cálculo da raiz quadrada do desvio quadrático médio *RMSD* (do inglês: *root mean square deviation*), que estimou a mudança conformacional dos sistemas. Primeiramente, um baixo valor de *RMSD* indica alta estabilidade estrutural e vice e versa. Os valores foram analisados nas seguintes situações: (Química and Faria 2019)(Oyewusi et al. 2021)

- i) Quitosana em relação a sua estrutura inicial em cada um dos sistemas contendo os herbicidas, totalizando três sistemas;
- ii) Cada um dos herbicidas em relação as suas estruturas iniciais
- iii) Agregados de quitosana com herbicida em cada um dos três sistemas

Foram observadas mudanças conformacionais similares para a quitosana nos três sistemas. As alterações conformacionais dos herbicidas também foram próximas. Os agregados foram relaxados durante a simulação de DM e os baixos valores de *RMSD*, mostrados na Tabela 4.1, estão relacionados às suas altas estabilidades conformacionais atingidas nas simulações. Em outras palavras, isso significa dizer que a quitosana se conecta aos herbicidas de maneira similar, sendo eles eletricamente carregados ou não. (Anbarasu and Jayanthi 2018)

Tabela 4.1 - Valores de *RMSD* (nm) dos sistemas durante os últimos 5 ns de simulação com os respectivos desvios entre parênteses.

Sistemas	RMSD da quitosana (nm)	RMSD dos herbicidas (nm)	RMSD dos agregados (nm)
Quitosana e metildiclofop	0,3 (1)	0,18 (4)	0,8(2)
Quitosana e diclofop	0,4 (1)	0,15 (3)	1,5 (5)
Quitosana e glifosato	0,4 (5)	0,13 (2)	1,3 (1)

Outra análise realizada foi o raio de giro  $R_g$  (do inglês: *radius of gyration*), que pode ser matematicamente definido como a raiz quadrada da distância média ao quadrado, ponderada pelo centro de massa de um conjunto de átomos e é uma análise estrutural complementar que foi realizada para a quitosana nas simulações com cada um dos herbicidas. O raio de giro estimou as mudanças no grau de compactação do biopolímero durante a DM. Nesse sentido, um valor de  $R_g$  razoavelmente pequeno representou maior grau de estabilidade estrutural, sendo que um alto valor de  $R_g$  significa um empacotamento mais frouxo. Nos três sistemas a quitosana apresentou grau de compactação semelhante.

A terceira análise conformacional realizada foi o cálculo flexibilidade do biopolímero, feita através da flutuação quadrática média *RMSF* (do inglês, *root mean square fluctuation*). Nesse sentido, baixos valores de *RMSF* indicam baixo grau dos movimentos atômicos durante a simulação. Portanto, quanto menor for o valor da flutuação maior será a estabilidade do complexo e vice e versa. Também foram observadas flutuações conformacionais similares para a quitosana nos três sistemas. Essas análises também mostraram que a quitosana se conecta aos herbicidas de maneira similar, sendo eles eletricamente carregados ou não. Esses valores reforçam a quitosana como bioadsorvente de herbicidas. A Tabela 4.2 mostra essas tendências.(Oyewusi et al. 2021)

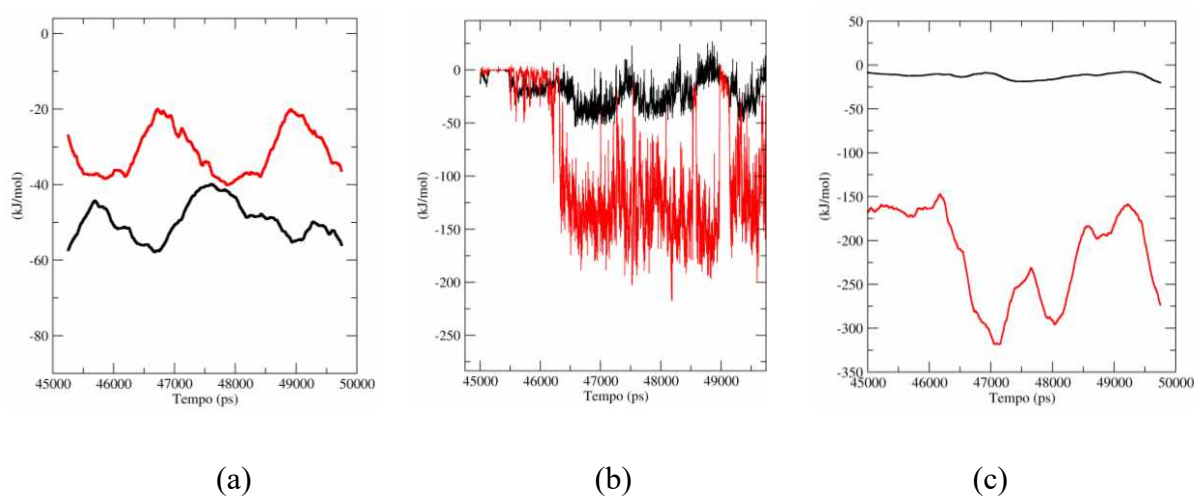
Tabela 4.2 - Valores de RMSF (nm) e raio de giro (nm) para a quitosana nos três sistemas, durante os últimos 5 ns de cada simulação com os respectivos desvios entre parênteses.

Sistemas	Raio de giro da quitosana	RMSF (nm) da quitosana
Quitosana e metildiclofop	1,05(4)	0,24 (8)
Quitosana e diclofop	0,95 (5)	0,30 (1)
Quitosana e glifosato	0,85 (5)	0,24 (1)

Outras análises foram fundamentais para melhorar a elucidação do mecanismo de interação entre o biopolímero e os herbicidas. As análises de potenciais de Coulomb e de Lenard-Jones das DMs mostraram o perfil das energias de interações eletrostáticas e de Van der Waals, respectivamente. (Anbarasu and Jayanthi 2018)(Shtaiwi et al. 2018)(C. V. Kumar et al. 2014)(Lobanov, Bogatyreva, and Galzitskaya 2008)

A Tabela 4.3 exibe os valores dos potenciais de Coulomb e de Lenard-Jones relacionado às interações intermoleculares. Os perfis dos potenciais estão mostrados na Figura 16. Nesse sentido, se pode confirmar a estabilidade das interações intermoleculares eletrostáticas e de Van der Waals nos três sistemas simulados. As dinâmicas foram realistas e mostraram que os sistemas eletricamente carregados formaram interações eletrostáticas mais fortes do que o sistema com metildiclofop que possui carga zero. Esses valores reforçaram a hipótese da ocorrência da bio-sorção de herbicidas por quitosana.

Figura 16 - Potenciais de Coulomb (vermelho) e de Lenard-Jones (preto) das simulações. (a) quitosana com metildiclofop, (b) quitosana com diclofop e (c) quitosana com glifosato.



Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1



Tabela 4.3- Potenciais de Lenard-Jones e de Coulomb para os sistemas

Sistemas	Potencial	
	Lenard-Jones (kJ.mol <sup>-1</sup> )	Coulomb (kJ.mol <sup>-1</sup> )
Quitosana e metildiclofop	-50 (5)	-31 (6)
Quitosana e diclofop	-20 (15)	-90 (62)
Quitosana e glifosato	- 14 (4)	-232 (59)

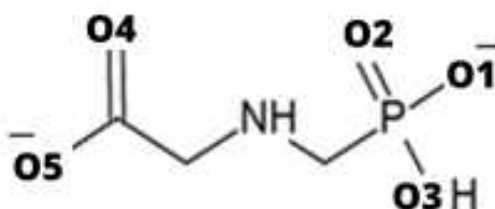
## 4.2 - Interações nos sistemas simulados nas DMs

Nesta seção, a formação de interações intermoleculares entre quitosana e os herbicidas foi discutida com base nos valores de *RDF* dos sistemas. Os valores obtidos foram correlacionados.

Após a comparação da estabilidade estrutural dos três sistemas simulados, foi realizado o cálculo da distribuição radial de pares atômicos (*RDF*, do inglês: *Radial Distribution Function*). Essa análise determina o padrão de distribuição na célula unitária periódica. O *RDF* é imprescindível para analisar as principais interações entre as moléculas simuladas. Esta análise é conjecturada para estimar as extensões mediais entre os pares de átomos durante toda a simulação computacional. A estimativa é realizada através do cálculo do valor médio temporal da função  $g(r)$  normalizada. (Rahman, Foster, and Haque 2013)(Dahanayake et al. 2019)

As interações no sistema contendo o biopolímero e os dois herbicidas metildiclofop e diclofop foram comparadas com o agregado formado entre a quitosana e o glifosato. A Figura 17 representa a estrutura de Lewis do glifosato em pH = 6,5 que foi simulada nesse trabalho.

Figura 17 - Representação de Lewis para a molécula de glifosato, simulada em pH = 6,5.



Fonte: Autor(Hunter 2009)

Para isso, foi fundamental a contraposição dos cálculos de *RDF* nos três sistemas. O estudo de Faria (2019) analisou as diferentes possibilidades de interações entre o glifosato e a macromolécula. O autor mostrou (por uma série de análises de *RDF*) que os grupos aminoprotonados da quitosana interagiram mais fortemente com os oxigênios do glifosato do que com o outro grupo amino específico do herbicida. (Química and Faria 2019) Sendo assim, na Figura 18 foram analisados juntamente os *RDFs* de todos os agregados.

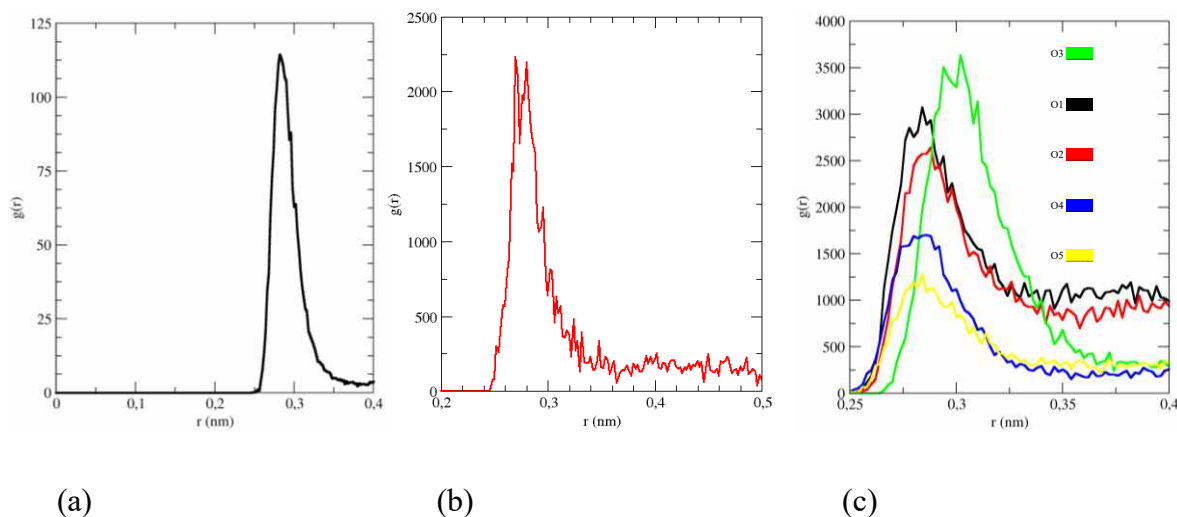
Para o cálculo do *RDF* entre o metildiclofop e a quitosana, os pares atômicos selecionados foram formados pelos oxigênios dos grupos funcionais específicos dos contaminantes com o nitrogênio do grupo aminoprotonado da quitosana ( $\text{NH}_3^+$ ) durante os últimos 5 ns de simulação. A visualização da trajetória da dinâmica molecular forneceu evidências de interação entre esses átomos. Um pico bem definido a uma pequena distância  $r$  no perfil do gráfico de *RDF* sugere a menor movimentação em meio aos átomos, o que indica a formação de interações. A partir disto, foi proposto que o mecanismo de biossorção do metildiclofop pela quitosana ocorre com a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares entre o grupo aminoprotonado da quitosana e o carbonila do herbicida. A Figura 18 (a) indicou que há uma forte interação entre os grupos aminoprotonados do biopolímero e o oxigênio carbonílico ( $\text{C} = \text{O}$ ) do metildiclofop. A existência de interações fortes foi observada devido a formação do pico de  $g(r)$  formado em  $r \sim 0,3$  nm. Esse comprimento de ligação é da ordem do comprimento de ligações de hidrogênio que foram previamente definidas no tópico 3.6 deste trabalho.

Na Figura 18 (b) se pode observar a ocorrência de interação entre o diclofop e a quitosana pelo par atômico formado pelo oxigênio do grupo carboxilato do herbicida ( $\text{CO}_2^-$ ) e o nitrogênio do grupo aminoprotonado da quitosana ( $\text{NH}_3^+$ ). Os picos a uma pequena distância ( $r \sim 0,3$  nm) no gráfico (b) da Figura 18 indicaram uma forte interação entre o biopolímero e o diclofop. Esse comprimento de ligação também está na ordem do comprimento das ligações de hidrogênio. Sendo assim, o mecanismo de adsorção do diclofop pela quitosana também ocorre com a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares.

Na Figura 18 (c) foi mostrado que os grupos fosfonato e carboxilato formam ligações de hidrogênio com a quitosana. O Átomo O3 foi o que mais interagiu com o biopolímero e isso pode ser explicado porque o grupo  $\text{O3} - \text{HO3}$  atua como grupo doador de hidrogênio para a ligação de hidrogênio. Sendo assim, a contraposição dos dados de  $g(r)$  na Figura 18 confirmaram fortes interações entre a quitosana e o glifosato.

Esses resultados inserem a quitosana como um material promissor e importante a ser aplicado na remoção (adsorção) desses herbicidas presentes em águas contaminadas.

Figura 18 - *RDFs* entre os átomos de oxigênio dos herbicidas e o nitrogênio presente no grupo aminoprotonado da quitosana ( $\text{NH}_3^+$ ) durante os últimos 5 ns de simulação. (A) oxigênio do grupo carbonila ( $\text{C} = \text{O}$ ) do metildiclofop, (B) oxigênio do grupo carboxilato ( $\text{CO}_2^-$ ) do diclofop e (C) oxigênios dos grupos carboxilato ( $\text{CO}_2^-$ ) e fosfonato ( $\text{PO}_3\text{H}^-$ ) do glifosato.



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

Assim sendo, após as duas dinâmicas moleculares dos herbicidas metildiclofop e diclofop com a quitosana foram realizadas simulações direcionais do tipo umbrella sampling. Com isso, o mecanismo de bioadsorção foi complementado com o acréscimo da energia livre de ligação obtido pela termodinâmica estatística entre a quitosana e esses herbicidas. (Batuğ et al. 2008)

### 4.3 - Energia livre de ligação entre os herbicidas e a quitosana obtidos pelo método *LIE*

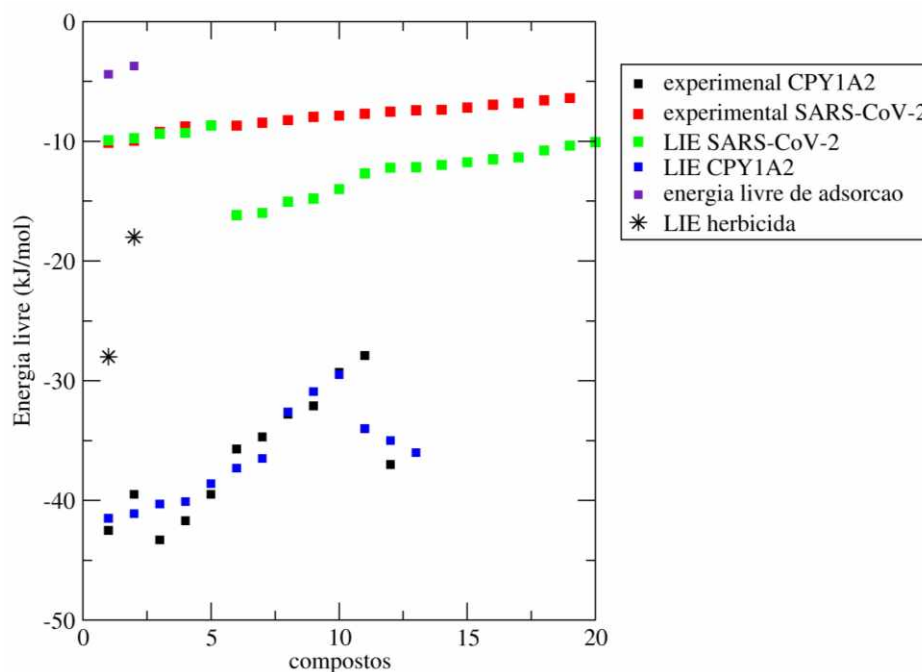
Duas simulações por dinâmica clássica com cada um dos herbicidas em ambiente aquoso (pH = 6,5) foram realizadas adicionalmente para a obtenção do  $\Delta G$  de ligação pelo método *LIE* ( $\Delta G_{LIE}$ ). Uma das simulações foi realizada com o herbicida ligado e outra com ele na forma livre. A convergência das simulações foi verificada periodicamente pelo acompanhamento do RMSD dos agregados, pelas energias totais e pelas energias de interação entre os ligantes e as moléculas circundantes (quitosana e água). A Tabela 4.4 mostrou as energias de interação eletrostáticas e de Van der Waals dos herbicidas livres e nas formas ligadas a quitosana. Novamente, percebe-se que para o sistema contendo metildiclofop as interações de Van der Waals (não polares ou hidrofóbicas) predominaram sobre as interações eletrostáticas para a formação das interações intermoleculares. Os potenciais de Coulomb e Lenard-Jones foram considerados para a obtenção do modelo *LIE* que foi calculado pela aplicação da equação 39. Os parâmetros de Lenard-Jones ( $\alpha = 0,181$ ) e de Coulomb ( $\beta = 0,50$ ) disponíveis no pacote GROMACS foram utilizados neste trabalho e produziram valores de energias livres de ligação que concordaram com os dados *in vitro* e *in silico* reportados na literatura.

Tabela 4.4 - Resultados dos termos de energias de Van der Waals (vdw), energia de Coulomb (coul) na forma livre e na forma ligada, parâmetros  $\alpha$  e  $\beta$  e energia livre de ligação  $\Delta G_{LIE}$  nos últimos 5ns de simulação, para metildiclofop e o glifosato.

Composto	Interações do ligante						$\Delta G_{LIE}$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )
	$\alpha$	$\beta$	$\langle U_{li\ g-env}^{vdw} \rangle_{bound}$	$\langle U_{li\ g-env}^{vdw} \rangle_{free}$	$\langle U_{li\ g-env}^{coul} \rangle_{bound}$	$\langle U_{li\ g-env}^{coul} \rangle_{free}$	
			(kJ.mol <sup>-1</sup> )	(kJ.mol <sup>-1</sup> )	(kJ.mol <sup>-1</sup> )	(kJ.mol <sup>-1</sup> )	
Metildiclofop	0,181	0,50	-40	-16	-7	-63	-18 (7)
Glifosato	0,181	0,50	44	-12	-70	-834	-29 (3)

Outros valores de energia livre podem ser obtidos ao serem utilizados  $\alpha$  e  $\beta$  diferentes, que sejam determinados experimentalmente, mas esse objetivo foge ao escopo deste trabalho. Os valores de energias livres de ligação obtidos entre os herbicidas e a quitosana foram da mesma ordem de grandeza das energias de ligação experimental relacionada a biossorção de dois corantes azo com a quitosana em gluteraldeído, assim como a energia livre de ligação de 13 inibidores das proteínas CPY1A2 e 20 inibidores da proteína SARS-CoV-2 Mpro obtidos em trabalhos recentes, Figura 19. (Ngo et al. 2021; Vasanthanathan et al. 2010)(A. H. Chen and Chen 2009)

Figura 19 - Comparação de valores de energia livres experimentais e teóricos de diversos sistemas.



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

Sendo assim, foi obtido um valor de energia livre de ligação do metildiclofop igual a -18 (7)  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  e de -29 (23)  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  para o glifosato. Esses dados mostraram que a atração entre a quitosana e os herbicidas ocorre de forma espontânea em ambiente aquoso de acordo com as condições físico-químicas apresentadas neste trabalho. Nesse sentido, encoraja-se a incorporação de quitosana em membranas de filtros utilizados no tratamento de água contaminada por esses herbicidas. (Aqvist, Luzhkov, and Brandsdal 2002; Ngo et al. 2021; Vasanthanathan et al. 2010; W. Wang, Wang, and Kollman 1999)(Martínez Gil et al. 2013;

Mayumi Minamisawa, Hiroaki Minamisawa, Shoichiro Yoshida 2004)(Ferreira, Franca, and Leite 2017) Assim, a estimativa teórica do valor da energia de ligação calculado pelo método LIE foi de acordo com os valores reportados na literatura.

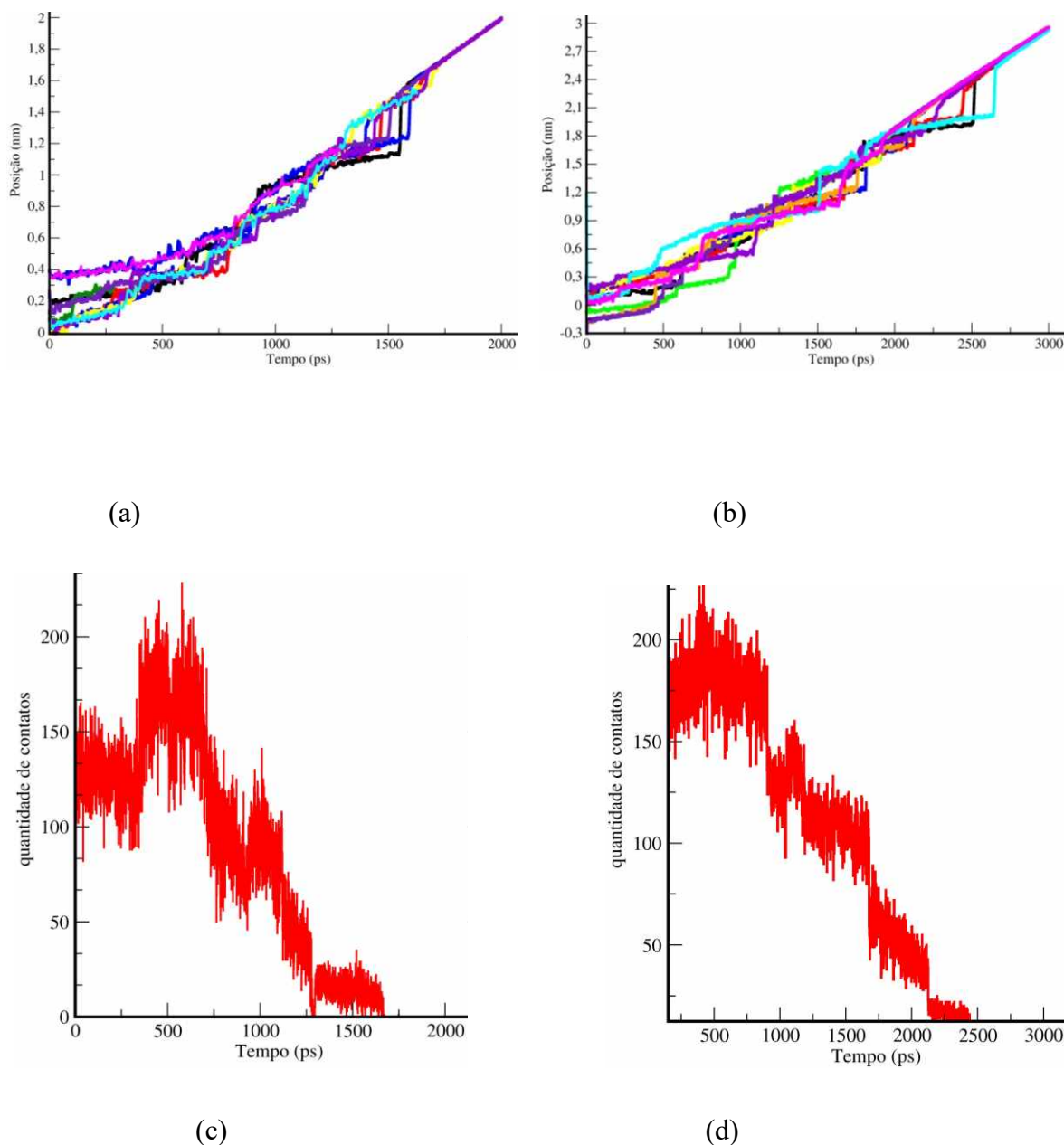
#### 4.4 - Energia livre de ligação nas simulações *SMD*

As simulações direcionais dos dímeros de quitosana com metildiclofop e quitosana com diclofop foram usadas para analisar o processo de dessorção, através das alterações energéticas e conformacionais que ocorreram durante as dissociações diméricas. Os resultados mostraram um padrão específico das alterações energéticas para ligações de hidrogênio e das interações hidrofóbicas formadas durante a DM e que foram rompidas durante a *SMD*.

Pela análise da trajetória e energia no sistema com o metildiclofop, verificou-se que a distância média de alongamento foi de 0,3 nm, próximo a 500ps. A integridade das duas ligações de hidrogênio e das interações hidrofóbicas foi mantida nessa distância e caracterizaram a alta estabilidade do complexo. Em geral, a energia diminuiu gradativamente durante o processo de alongamento. Nos 1000 ps seguintes, quando a distância de tração foi maior do que 0,40 nm, a ligação de hidrogênio se rompeu concomitantemente com a diminuição brusca de energia que casou a dessorção parcial do herbicida. Concomitantemente a quantidade de contatos decaiu para zero o que significou o rompimento das interações hidrofóbicas que não conseguiram manter a integridade do agregado, Figura 20.



Figura 20 - Dissociação dos componentes durante a SMD. (a) distância do centro de massa da quitosana com o metildiclofop (b) distância do centro de massa da quitosana com o diclofop (c) quantidade de contatos entre a quitosana e o metildiclofop (d) quantidade de contatos entre a quitosana e o diclofop. Cada curva é referente a uma simulação direcional.

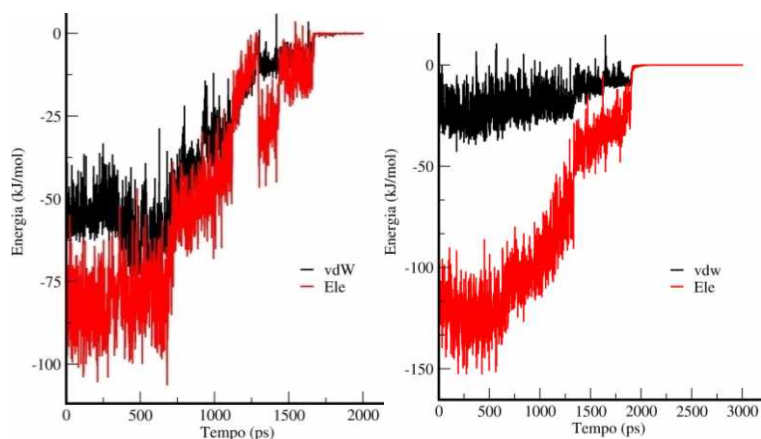


Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1. (a) e (b) running average = 200 e (c) e (d) running average = 300.(Turner 2005)

Em termos de energia de interação, a energia média de ligação de hidrogênio (-43 kJ/mol) foi maior do que a de interação hidrofóbica (-31 kJ/mol) e desempenhou um papel importante na manutenção da conformação complexo. Ao alterar o herbicida que compõe a

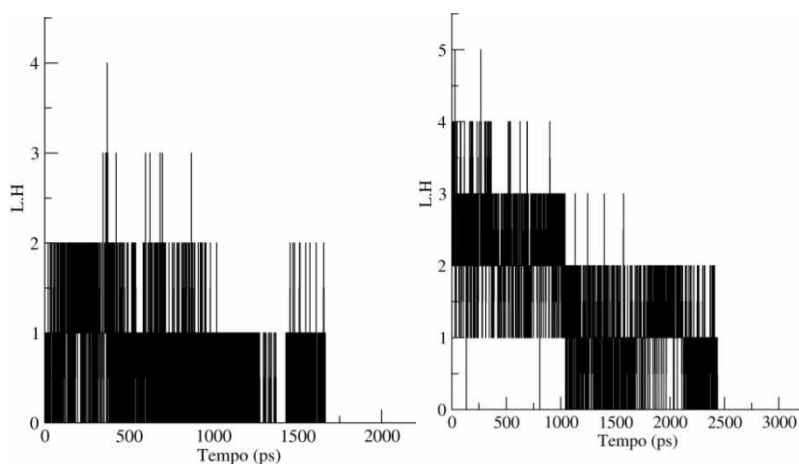
ligação de hidrogênio, a estabilidade do complexo pode alterar assim como a energia da SMD durante o estiramento. Foi percebido um maior número de contatos entre a quitosana e o diclofop, sendo que a energia média das três ligações de hidrogênio (-54 kJ/mol) também foi maior do que a de a energia das interações hidrofóbicas (-11 kJ/mol) e assim sendo também desempenhou um papel importante na estabilização deste complexo, Figuras 21 e 22.

Figura 21 - Mudanças energéticas de interação ao longo do tempo durante a simulação SMD. (a) interações eletrostáticas e Van der Waals entre metildiclofop e quitosana (b) interações eletrostáticas e Van der Waals entre o diclofop e a quitosana (c) número de ligações de hidrogênio (L.H) entre a quitosana e o metildiclofop e (d) L.H entre quitosana e diclofop.



(a)

(b)

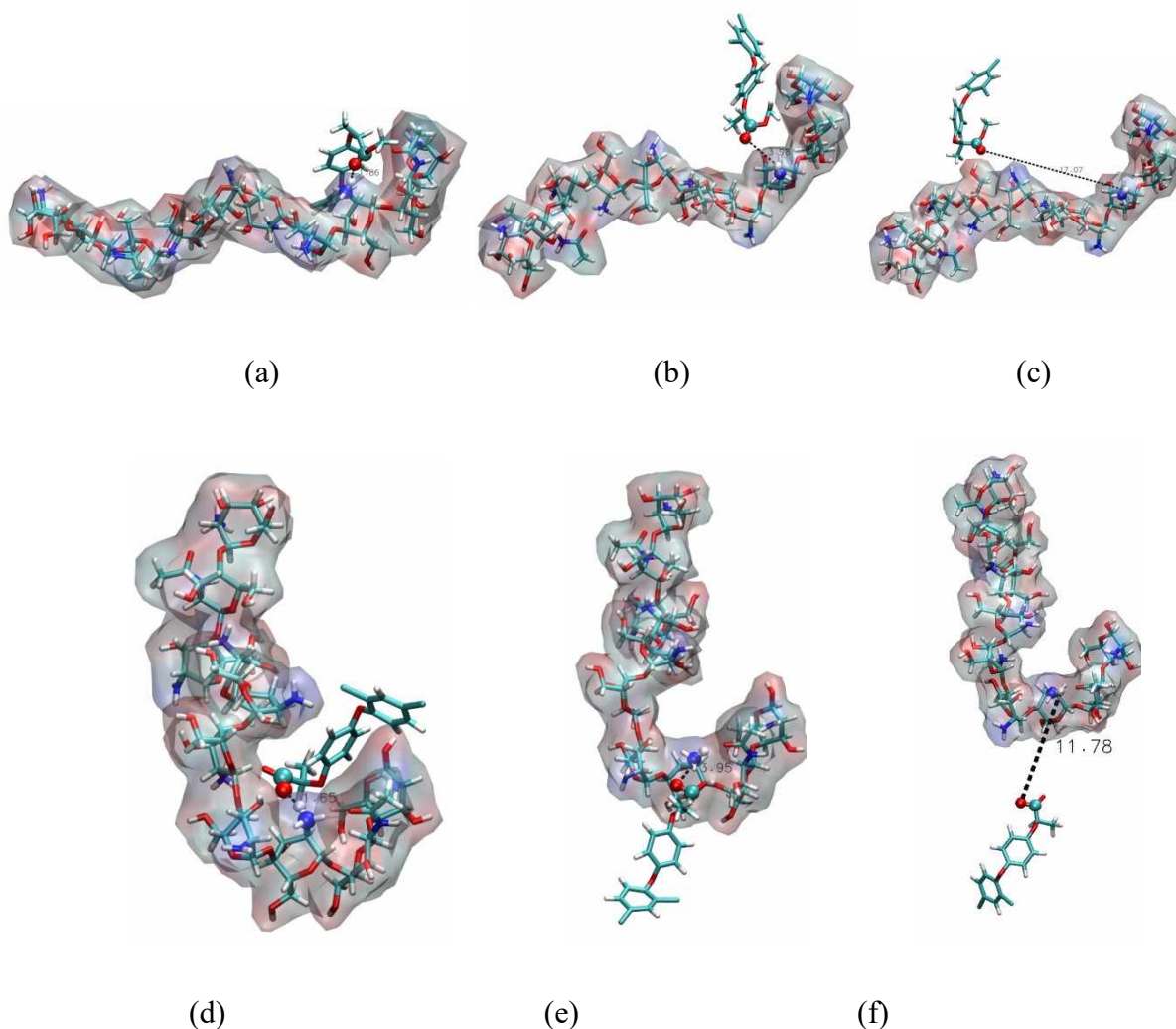


(c)

(d)

Fonte: Autor, através do programa Grace 5.1. (Turner 2005) (a) e (b) média dos pontos da dinâmica = 200 e (c) e (d) média dos pontos da dinâmica = 300.

Figura 22 - Trajetória de dissociação durante a *SMD*. No início as ligações de hidrogênio intactas, no meio estiramento da ligação de hidrogênio e finalmente a dissociação. (a)-(c) sistema com quitosana e o metildiclofop e (d)-(f) quitosana e diclofop.

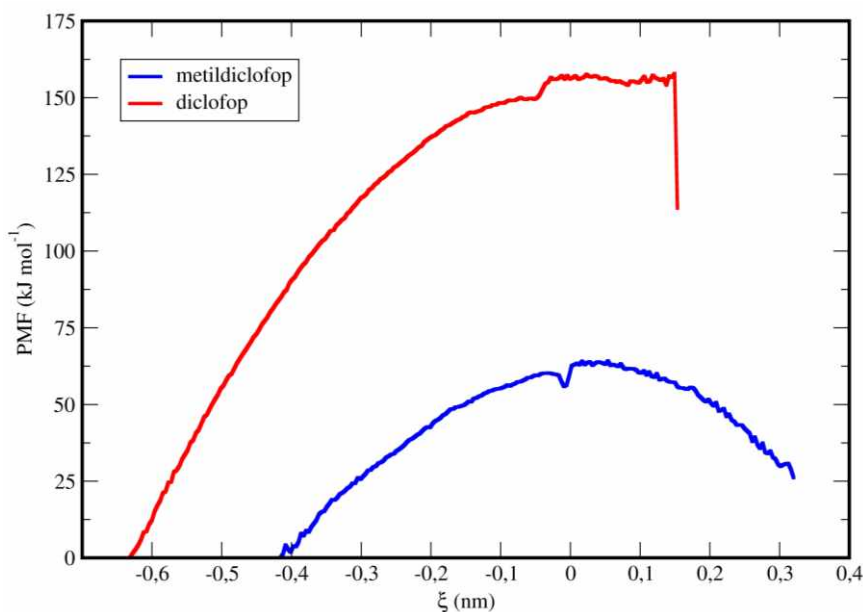


Fonte: Autor, através do programa VMD(Humphrey, Dalke, and Schulten 1996b)

Obviamente, a interação da quitosana com diferentes herbicidas como o metildiclofop e diclofop pode ser confirmada por experimentos que são baseados na aplicação de forças mecânicas em moléculas individuais num determinado sistema, visando estudar propriedades de ligação de biomoléculas e sua resposta a manipulações mecânicas externas, como a Microscopia de Força Atômica (AFM). (Amarante et al. 2014; E. F. Franca et al. 2011b) Esses resultados podem ser obtidos em pesquisas futuras. O metildiclofop apresentou ligações mais fracas com a quitosana quando comparado ao diclofop, que por possuir carga negativa originou interações eletrostáticas mais fortes com o biopolímero que está carregado positivamente. Isso

também foi observado nas análises energéticas e estruturais anteriores que concordam com o PMF obtido ao longo da coordenada de reação ( $\xi$ ), ilustrado na Figura 23.

Figura 23- Curvas do potencial de força média (PMF) para os sistemas.



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

Foi mostrado que a barreira energética para o rompimento das interações mais fracas foi de 48 kJ/mol e erro Bootstrapping = 4 (1), enquanto que para o diclofop foi de 110kJ/mol e Bootstrapping = 2 (1). Essa tendência nas interações energéticas também foi observada nas DMs anteriores, na qual o valor de energia livre de ligação obtido para o metildiclofop (neutro) foi menor do que o calculado para o glifosato, que assim como o diclofop também possui carga negativa.

Há um defeito no perfil PMF em torno de  $\xi = 0$  nm para o metildiclofop e em  $\xi = 0,15$  nm para o diclofop. Entretanto, seriam necessárias mais simulações nessas regiões de  $\xi$  para aumentar a amostragem nesses níveis de alta energia. Como não houve janela centrada nesta região da coordenada de reação, a amostragem deve ser aumentada para corrigir este problema. Em pesquisas futuras realizar-se a simulações adicionais com uma janela centrada em  $\xi = 0,0$  nm e em  $\xi = 0,15$  nm para o metildiclofop e o diclofop, respectivamente para a obtenção de um perfil mais suave que atinja o equilíbrio. Não será necessário refazer as simulações já realizadas, somente será necessário inserir a função de partição das novas simulações no histograma. (Hub, De Groot, and Van Der Spoel 2010; S. Kumar et al. 1992; Roux 1995)

Sendo assim, as simulações deste trabalho reproduziram o esperado na natureza, onde as espécies carregadas se atraem mais intensamente do que moléculas neutras. Além disso, as energias obtidas nas *SMDs* (-48 kJ/mol) e nas *DMs* (-18 kJ/mol) para o metildiclofop são da mesma ordem de grandeza, Tabela 4.5.

Tabela 4.5- Energias livres de ligação obtidas por *SMD* e por *DM*. O símbolo x indicam que a energia não foi calculada pela respectiva metodologia.

Compostos	$\Delta G_{PMF}$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G_{LIE}$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )
Metildiclofop	-48 (4)	-18 (7)
Diclofop	-110 (2)	x
Glifosato	x	-29 (3)

#### 4.5 - Mudanças conformacionais e nas interações por DM e por BOMD

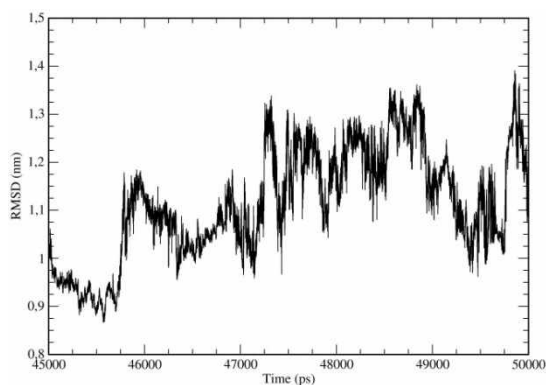
Para obter um maior grau de confiabilidade sobre as informações relacionadas ao mecanismo de biossorção dos herbicidas, a ocorrência de interação entre a quitosana e o herbicida metildiclofop foram feitas a partir da trajetória de BOMD e comparadas às análises de DM. As análises comparadas foram o RMSD, Figura 24 (a) e (b) e a função  $g(r)$  na Figura 25.

As duas simulações independentes de quitosana com metildiclofop, sendo uma por dinâmica clássica, em solução aquosa, Figura 24 (a) e (b) e outra por dinâmica quântica semiempírica em solvente implícito, Figura 24 (c) e (d). Na DM a mudança conformacional foi calculada durante os últimos cinco nanossegundos de simulação. Os valores de *RMSD* em ambas simulações indicaram uma boa estabilidade conformacional do complexo na simulação quântica e clássica e mostraram que os agregados atingiram as suas estabilidades conformacionais nas dinâmicas. Essa estabilidade ocorre devido à formação de interações de Van der Waals e de Coulomb entre os componentes.

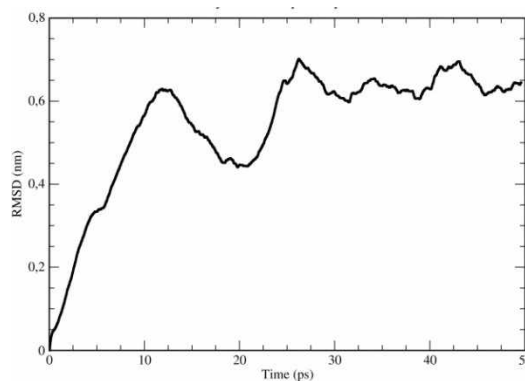
A fim de justificar a maior flutuação conformacional na simulação por mecânica clássica, em solvente aquoso, foi feito o cálculo do número de ligações de hidrogênio na trajetória entre o complexo e as moléculas de água e foi verificado um considerável número médio de ligações de hidrogênio = 44 (4) sendo o desvio padrão de 9,46%. A Figura 24 (a) e (c) exibem o padrão dos RMSDs obtidos nas duas dinâmicas moleculares. A análise da dinâmica quântica que foi produzida durante um intervalo total de 50 ps.

Sabe-se que a estabilidade dos complexos depende das condições do solvente em torno da macromolécula e das interações intermoleculares. O menor valor de *RMSD* desse complexo na dinâmica quântica é explicado pelo cálculo em solvente implícito. Os valores do RMSD clássico e quântico foram iguais a 1,1 (1) nm na simulação clássica e na quântica o valor foi de 0,5 (1) nm. As ligações de hidrogênio entre as moléculas do solvente e o complexo favorecem a maior variação conformacional o que caracteriza uma estrutura da quitosana com menor grau de empacotamento molecular que foi exibida na Figura 24 (b). As propriedades moleculares obtidas pelos diferentes métodos foram comparadas e os valores foram semelhantes.

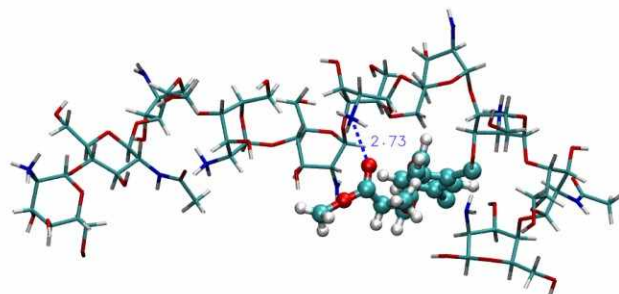
Figura 24 - (a) RMSD do agregado de quitosana e metildiclofop durante os últimos cinco nanossegundos de simulação por dinâmica clássica (b) RMSD do agregado de quitosana e metildiclofop durante 50 picossegundos de simulação por dinâmica quântica semiempírica, após 50ns de dinâmica clássica. (c) configuração do agregado de metildiclofop e quitosana obtido na DM e (d) Configuração desse complexo obtido na DMBO.



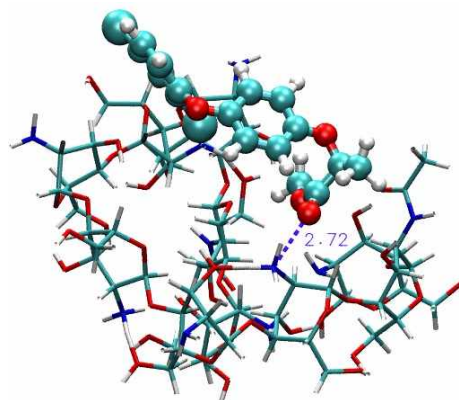
(a)



(b)



(c)



(d)

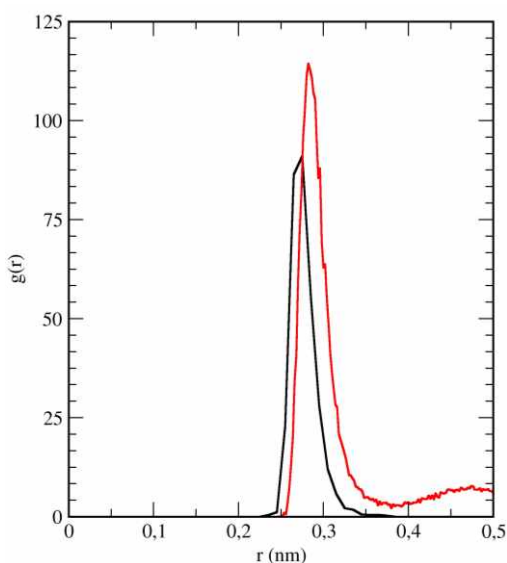
Fonte: Autor, (a) e (b) através do programa Grace 5.1 (Graphing, Advanced Computation and Exploration of Data) e VMD em (c) e (d).(Turner 2005)(Humphrey, Dalke, and Schulten 1996b)

A Figura 25 (a) confronta o *RDF* obtido pela trajetória da DM clássica e pela BOMD para verificar a formação de ligações de hidrogênio no sistema contendo metildiclofop. A curva obtida na simulação quântica teve um pico menor devido ao menor tempo de simulação. É importante ressaltar que foram realizados 50 ps de BOMD quântica e 50 ns de DM. A partir da trajetória de DM foi obtida a formação uma ligação de hidrogênio entre a carbonila do

metildiclofop com o grupo aminoprotonado da quitosana com tempo de vida médio igual a 0,11 ps. A observação do gráfico de RDF na Figura 18 (a) indica uma forte interação entre os grupos aminoprotonados ( $-\text{NH}_3^+$ ) do carboidrato e o oxigênio grupo carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ) do herbicida. A existência de interações fortes foi percebida devido ao pico de  $g(r)$  em  $r \sim 0,3$  nm, o que indica interação e que os átomos dos pares analisados ficaram bastante próximos. Essa distância é característica de interações fortes.

Portanto, as metodologias clássicas e quânticas confirmam que a quitosana pode biossorver o metildiclofop em ambiente aquático. Para confirmar a hipótese da ocorrência de interação entre a quitosana e o herbicida foi realizado cálculo a função  $g(r)$  entre o par interagente também pela dinâmica quântica. Os valores obtidos tiveram excelente concordância. Os perfis mostrados na Figura 25 tiveram uma boa sobreposição e mostraram a formação de interações atrativas no processo de adsorção do herbicida.

Figura 25 - Distribuição radial de pares obtida pela dinâmica clássica (vermelho) e quântica (preto)



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



## Capítulo 5

### CONCLUSÕES

No presente trabalho foram obtidas as propriedades moleculares dos três distintos agregados de quitosana com metildiclofop, diclofop e glifosato, a partir das quais foi possível desenvolver a elucidação mecanística das interações existentes na biossorção desses herbicidas pelo quitosana. A simulação dos modelos teóricos por dinâmica molecular permitiu a elucidação de situações em que os métodos experimentais não conseguem descrever detalhadamente. As diferentes metodologias (clássica e quântica) forneceram resultados que concordaram entre si e indicaram a quitosana (material obtido a partir de fontes renováveis, de fácil obtenção e 100% biocompatível com o ser humano) como um excelente bioadsorvente, versátil e capaz de ser utilizado como material quelante na remoção dos herbicidas em ambientes aquáticos contaminados.

As interações específicas entre os herbicidas e a quitosana foram calculadas nas dinâmicas moleculares com o campo de força clássico e também com o uso da abordagem quântica. As dinâmicas de equilíbrio e de não equilíbrio, ambas clássicas, mostraram que a biossorção desses herbicidas ocorreram devido à formação de ligações de hidrogênio e de Van der Waals, intermoleculares, que estabilizaram os complexos, sendo que nos agregados com os herbicidas diclofop e glifosato as interações eletrostáticas foram as que mais contribuíram para a estabilidade de seus agregados. Esses dois herbicidas se ligaram mais fortemente com a quitosana. Isso ocorreu devido à presença de grupo aminoprotonados ( $\text{NH}_3^+$ ) da quitosana que interagiram principalmente com os grupos específicos ( $\text{CO}_2^-$  do diclofop e  $\text{CO}_2^-$  e  $\text{PO}_3\text{H}^-$  do glifosato) dos ligantes, por interações Coulombicas. Então um aumento no número de grupos aminoprotonados, pode ser capaz de aumentar o grau de biossorção dos herbicidas pelo biopolímero, que poderá ocorrer devido à formação do maior número de interações eletrostáticas intermoleculares. Outro importante fator observado foi que as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os agregados foram responsáveis pelas suas estabilidades.

Em contrapartida, as interações de Van der Waals contribuíram mais do que as eletrostáticas na estabilização do agregado formado pela quitosana com o metildiclofop. Os valores das energias livres de ligação obtidas pelos diferentes métodos clássicos (no equilíbrio e fora do equilíbrio) confirmaram as espontaneidades das biossorções de todos os herbicidas pelo biopolímero. O mecanismo de interação entre a quitosana e os herbicidas a nível

atomístico foi elucidado, através de inúmeras simulações por dinâmicas direcionais, que foram realizadas aplicando-se forças externas para a retirada dos herbicidas sorvidos na quitosana.

A formação das interações intermoleculares também foi observada na dinâmica quântica semiempírica, com campo de força quântico, recentemente desenvolvido pela equipe de Grimme. Neste aspecto, ambas as metodologias clássicas e quânticas exibiram a formação das interações no agregado de quitosana com os herbicidas e confirmaram o potencial quelante da quitosana sobre esses compostos.

## Capítulo 6

### SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A utilização das metodologias clássicas e quântica favoreceu o entendimento do mecanismo de interação da quitosana com diferentes herbicidas, o que levou ao entendimento de que a quitosana além de remover os herbicidas, pode atuar na detecção deles e pode substituir as enzimas (como por exemplo a ACCase) que funcionalizam a ponta do microscópio de força atômica. (E. F. Franca et al. 2011b) Essa solução é uma alternativa economicamente muito mais viável. Então nesse sentido, a realização das seguintes etapas são propostas como atividades a serem realizadas em trabalhos futuros a partir deste trabalho de tese:

- 1 - Realizar dinâmicas as dinâmicas direcionais para o metildiclofop e para o diclofop (tornar a curva de PMF mais suave);
- 2 – Realizar dinâmicas direcionais para o glifosato (comparar os valores de PMF);
- 3 – Realizar experimentos de AFM funcionalizado com a quitosana (detecção de herbicidas);
- 4 – Realizar dinâmica direta com o glifosato e o diclofop (comparar com os dados obtidos para o metildiclofop).

Os cálculos podem ser realizados para os herbicidas deste trabalho, assim como para outros herbicidas. Também poderão ser utilizados outros contaminantes, assim como metais pesados, pesticidas, bisfenol A dentre outros. A abordagem da dinâmica direta ou DMBO é altamente encorajada, pois não necessita de parametrização dos ligantes e é realizada com um baixo custo computacional

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abascal, J. L.F., and C. Vega. 2005. "A General Purpose Model for the Condensed Phases of Water: TIP4P/2005." *Journal of Chemical Physics* 123(23).
- Abidin, Nurul Alyani Zainol et al. 2020. "The Potential of Insects as Alternative Sources of Chitin: An Overview on the Chemical Method of Extraction from Various Sources." *International Journal of Molecular Sciences* 21(14): 1–25.
- Ahmad, Syed Ishraque et al. 2020. "Chitin and Its Derivatives: Structural Properties and Biomedical Applications." *International Journal of Biological Macromolecules* 164: 526–39. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.098>.
- de Albuquerque, Nayara Cristina Perez, Daniel Blascke Carrão, Máisa Daniela Habenschus, and Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira. 2018. "Metabolism Studies of Chiral Pesticides: A Critical Review." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 147: 89–109.
- Amarante, Adriano M et al. 2014. "Modeling the Coverage of an AFM Tip by Enzymes and Its Application in Nanobiosensors." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 53: 100–104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmgm.2014.07.009>.
- 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): 589–93.
- Anbarasu, K., and S. Jayanthi. 2018. "Identification of Curcumin Derivatives as Human LMTK3 Inhibitors for Breast Cancer: A Docking, Dynamics, and MM/PBSA Approach." *3 Biotech* 8(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1239-6>.
- Aqvist, Johan, Victor B. Luzhkov, and Bjørn O. Brandsdal. 2002. "Ligand Binding Affinities from MD Simulations." *Accounts of Chemical Research* 35(6): 358–65.
- Arbia, Wassila, Leila Arbia, Lydia Adour, and Abdeltif Amrane. 2013. "Ftb\_51\_1\_012\_025." *Chitin Recovery Using Biological Methods, Food Technol. Biotechnol* 51(1): 12–25.
- Arunan, Elangannan et al. 2011. "Definition of the Hydrogen Bond (IUPAC Recommendations 2011)." *Pure and Applied Chemistry* 83(8): 1637–41.

- Asadchev, Andrey, and Mark S. Gordon. 2012. "New Multithreaded Hybrid CPU/GPU Approach to Hartree-Fock." *Journal of Chemical Theory and Computation* 8(11): 4166–76.
- Baer, K N, and B J Marcel. 2014. "Glyphosate." In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*,.
- Bannwarth, Christoph et al. 2021. "Extended Tight-Binding Quantum Chemistry Methods." *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* 11(2): 1–49.
- Bannwarth, Christoph, Sebastian Ehlert, and Stefan Grimme. 2019. "GFN2-XTB - An Accurate and Broadly Parametrized Self-Consistent Tight-Binding Quantum Chemical Method with Multipole Electrostatics and Density-Dependent Dispersion Contributions." *Journal of Chemical Theory and Computation* 15(3): 1652–71.
- Barlette, Vania Elisabeth, and Gomide Freitas. 1999. "Statistical Thermodynamics of Liquids Using the Monte Carlo Method. I. Methodology." *Quím. Nova* 22 2. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000200017>.
- Basconi, Joseph E, and Michael R Shirts. 2013. "Effects of Temperature Control Algorithms on Transport Properties and Kinetics in Molecular Dynamics Simulations." *Journal of Chemical Theory and Computation*.
- Batuğ, Turgut, Po Chia Chen, Swarna M. Patra, and Serdar Kuyucak. 2008. "Potential of Mean Force Calculations of Ligand Binding to Ion Channels from Jarzynski's Equality and Umbrella Sampling." *Journal of Chemical Physics* 128(15).
- Becke, A. 1993. "A New Mixing of Hartree-Fock and Local Density-functional Theories." *J. Chem. Phys.* 98(b31yp): 1372–77.
- Beckham, Gregg T, and Michael F Crowley. 2011. "Examination of the  $\alpha$ -Chitin Structure and Decrystallization.Pdf." : 4516–22.
- Benbrook, Charles M. 2016. "Trends in Glyphosate Herbicide Use in the United States and Globally." *Environmental sciences Europe*.
- Bhatnagar, Amit, and Mika Sillanpää. 2009. "Applications of Chitin- and Chitosan-Derivatives for the Detoxification of Water and Wastewater — A Short Review." *Advances in Colloid and Interface Science* 152(1–2): 26–38.

- Bhatt, Pankaj et al. 2021. "Binding Interaction of Glyphosate with Glyphosate Oxidoreductase and C–P Lyase: Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation Studies." *Journal of Hazardous Materials* 409(December 2020): 124927. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124927>.
- Bikadi, Zsolt, and Eszter Hazai. 2009. "Application of the PM6 Semi-Empirical Method to Modeling Proteins Enhances Docking Accuracy of AutoDock." *Journal of Cheminformatics* 1(1): 1–16.
- Boamah, Peter Osei et al. 2015. "Removal of Cadmium from Aqueous Solution Using Low Molecular Weight Chitosan Derivative." *Carbohydrate Polymers* 122: 255–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.004>.
- Brandenburg, Jan Gerit, Christoph Bannwarth, Andreas Hansen, and Stefan Grimme. 2018. "B97-3c: A Revised Low-Cost Variant of the B97-D Density Functional Method." *Journal of Chemical Physics* 148(6). <http://dx.doi.org/10.1063/1.5012601>.
- Brandenburg, Jan Gerit, Eike Caldeweyher, and Stefan Grimme. 2016. "Screened Exchange Hybrid Density Functional for Accurate and Efficient Structures and Interaction Energies." *Physical Chemistry Chemical Physics* 18(23): 15519–23.
- Brigode, Cecile et al. 2020. "Isolation and Physicochemical Properties of Chitin Polymer from Insect Farm Side Stream as a New Source of Renewable Biopolymer." *Journal of Cleaner Production* 275: 122924. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122924>.
- Bueno, Carolina Castro et al. 2014. "Nanobiosensor for Diclofop Detection Based on Chemically Modified AFM Probes." *IEEE Sensors Journal* 14(5): 1467–75.
- Caldeweyher, Eike et al. 2019. "A Generally Applicable Atomic-Charge Dependent London Dispersion Correction." *Journal of Chemical Physics* 150(15).
- Caldeweyher, Eike, Christoph Bannwarth, and Stefan Grimme. 2017. "Extension of the D3 Dispersion Coefficient Model." *Journal of Chemical Physics* 147(3).
- Caldeweyher, Eike, Jan Michael Mewes, Sebastian Ehlert, and Stefan Grimme. 2020. "Extension and Evaluation of the D4 London-Dispersion Model for Periodic Systems." *Physical Chemistry Chemical Physics* 22(16): 8499–8512.

- Campana, S P et al. 2007. "Extraction, Structures and Properties of Alpha- and Beta-Chitin." *Quimica Nova* 30(3): 644–50.
- Cao, Zigang et al. 2020. "Exposure to Diclofop-Methyl Induces Cardiac Developmental Toxicity in Zebrafish Embryos." *Environmental Pollution* 259: 113926. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113926>.
- Carneiro, Rafael T A et al. 2015. "Removal of Glyphosate Herbicide from Water Using Biopolymer Membranes." *Journal of Environmental Management* 151: 353–60. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479715000067?via%3Dihub>.
- Castillo, Hilda, Matthew Yarger, Melissa Rappleye, and Carol Parish. 2004. "A Comparison of the AMBER\*, OPLSAA and HF Potential Energy Surfaces for a Series of Diastereomeric Cyclic Urea HIV-1 Inhibitors." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 710(1–3): 73–76.
- Cauchie, Henry Michel. 2002. "Chitin Production by Arthropods in the Hydrosphere." *Hydrobiologia* 470: 63–95.
- Chang, Jaeon, and Stanley I Sandler. 2004. "Interatomic Lenard-Jones Potentials of Linear and Branched Alkanes Calibrated by Gibbs Ensemble Simulations for Vapor-Liquid Equilibria." *Journal of Chemical Physics* 121(15): 7474–83.
- Chemistry, Theoretical, and Sir John. 1952. "The Molecular Orbital Theory of Chemical Valency. X. A Method of Calculating the Ionization Potentials of Conjugated Molecules." *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* 213(1112): 102–13.
- Chen, Aijun et al. 2021. "Characterization of Chitin-Glucan Complex from Tremella Fuciformis Fermentation Residue and Evaluation of Its Antibacterial Performance." *International Journal of Biological Macromolecules* 186: 649–55. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.048>.
- Chen, Arh Hwang, and Shin Ming Chen. 2009. "Biosorption of Azo Dyes from Aqueous Solution by Glutaraldehyde-Crosslinked Chitosans." *Journal of Hazardous Materials* 172(2–3): 1111–21.

- Christensen, Anders S., Tomáš Kubař, Qiang Cui, and Marcus Elstner. 2016. “Semiempirical Quantum Mechanical Methods for Noncovalent Interactions for Chemical and Biochemical Applications.” *Chemical Reviews* 116(9): 5301–37.
- Costa Silva, Hélio S R, Kátia S C R Dos Santos, and Elizabeth I Ferreira. 2006. “Quitosana: Derivados Hidrossolúveis, Aplicações Farmacêuticas e Avanços.” *Quimica Nova* 29(4): 776–85.
- Crini, Grégorio. 2019. “Historical Review on Chitin and Chitosan Biopolymers.” *Environmental Chemistry Letters* 17(4): 1623–43. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00901-0>.
- CUNHA, R A et al. 2013. “The Molecular Structure and Conformational Dynamics of Chitosan Polymers: An Integrated Perspective from Experiments and Computational Simulations.” *The Complex World of Polysaccharides*. 1: cap. 9.
- Dahanayake, Jayangika N. et al. 2019. “Protein Solvent Shell Structure Provides Rapid Analysis of Hydration Dynamics.” *Journal of Chemical Information and Modeling* 59(5): 2407–22.
- Darden, Tom, Darrin York, and Lee Pedersen. 1993. “*Particle mesh ewald*: An N·log(N) Method for Ewald Sums in Large Systems.” *The Journal of Chemical Physics* 98(12): 10089.
- “Department of Drug Discovery and Development, Italian Institute of Technology, via Morego 30, I-16163 Genova, Italy.” 2011. : 1619–33.
- Ding, Fei, Wei Peng, Yu-Kui Peng, and Bing-Qi Liu. 2020a. “Estimating the Potential Toxicity of Chiral Diclofop-Methyl: Mechanistic Insight into the Enantioselective Behavior.” <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152446>.
- Ding, Fei, Wei Peng, Yu Kui Peng, and Bing Qi Liu. 2020b. “Estimating the Potential Toxicity of Chiral Diclofop-Methyl: Mechanistic Insight into the Enantioselective Behavior.” *Toxicology* 438(April): 152446. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152446>.
- Dokukina, Irina, Christel M Marian, and Oliver Weingart. “New Perspectives On An Old Issue: A Comparative MS-CASPT2 and OM2-MRCI Study of Polyenes and Protonated Schiff



Bases.”

Dral, Pavlo O. et al. 2016. “Semiempirical Quantum-Chemical Orthogonalization-Corrected Methods: Theory, Implementation, and Parameters.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 12(3): 1082–96.

Duffy, Erin M., and William L. Jorgensen. 2000. “Prediction of Properties from Simulations: Free Energies of Solvation in Hexadecane, Octanol, and Water.” *Journal of the American Chemical Society* 122(12): 2878–88.

“Embrapa.” 2021.  
<https://www.embrapa.br/documents/1355291/12492345/Como+funcionam+os+herbicidas/954b0416-031d-4764-a703-14d9b28b178e?version=1.0> (October 5, 2021).

“Europa.Eu.” [https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as\\_id=622](https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as_id=622) (October 5, 2021).

Faria, Roberto Ribeiro. et al. 2018. “Parameters for Glyphosate in OPLS-AA Force Field.” *Molecular Simulation*.

Feng, Dan, Laure Malleret, Audrey Soric, and Olivier Boutin. 2020. “Kinetic Study of Glyphosate Degradation in Wet Air Oxidation Conditions.” *Chemosphere* 247: 125930.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125930>.

Feng, Dan, Audrey Soric, and Olivier Boutin. 2020. “Treatment Technologies and Degradation Pathways of Glyphosate: A Critical Review.” *Science of the Total Environment* 742: 140559. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140559>.

Fernando, Lorenz Anthony T., Myra Ruth S. Poblete, Aileen Grace M. Ongkiko, and Leslie Joy L. Diaz. 2016. “Chitin Extraction and Synthesis of Chitin-Based Polymer Films from Philippine Blue Swimming Crab (*Portunus Pelagicus*) Shells.” *Procedia Chemistry* 19: 462–68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2016.03.039>.

Ferreira, Moacir F., Eduardo F. Franca, and Fábio L. Leite. 2017. “Unbinding Pathway Energy of Glyphosate from the EPSPs Enzyme Binding Site Characterized by Steered Molecular Dynamics and Potential of Mean Force.” *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 72: 43–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmglm.2016.11.010>.

- Franca, Eduardo de Faria, Leite, Fábio L., and F L Amarante. 2010. "Introduction to Atomic Force Microscopy Simulation." In *MICROSCOPY: SCIENCE, TECHNOLOGY, APPLICATIONS AND EDUCATION*, , 1338–49.
- Franca, Eduardo de Faria. 2009. "Caracterização Molecular De Biopolímeros Em Solução Utilizando Simulação Computacional." Universidade Federal de São Carlos.
- Franca, Eduardo F. et al. 2011a. "Designing an Enzyme-Based Nanobiosensor Using Molecular Modeling Techniques." *Physical Chemistry Chemical Physics* 13(19): 8894–99.
- Franca, Eduardo F et al. 2011b. "Designing an Enzyme-Based Nanobiosensor Using Molecular Modeling Techniques." *Physical chemistry chemical physics : PCCP* 13(19): 8894–99.
- Franca, Eduardo F, Luiz C G G Freitas, and Roberto D Lins. 2011. "Chitosan Molecular Structure as a Function of N-Acetylation." *Biopolymers* 95(7): 448–60. %3CGo.
- Franca, Eduardo F, Roberto D Lins, Luiz C G Freitas, and T P Straatsma. 2008. "Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution." *Journal of Chemical Theory and Computation* 4(12): 2141–49. %3CGo.
- Franke, Adrian A., Xingnan Li, Yurii B. Shvetsov, and Jennifer F. Lai. 2021. "Pilot Study on the Urinary Excretion of the Glyphosate Metabolite Aminomethylphosphonic Acid and Breast Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study." *Environmental Pollution* 277: 116848. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116848>.
- Frenkel, Daan, and Stefan Auer. 2001. "Prediction of Absolute Crystal-Nucleation Rate in Hard-Sphere Colloids." *Nature* 409(February): 1020–23. [www.nature.com](http://www.nature.com).
- Funke, Todd et al. 2006. "Molecular Basis for the Herbicide Resistance of Roundup Ready Crops." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(35): 13010–15.
- Gaus, Michael et al. 2015. "DFTB3 Parametrization for Copper: The Importance of Orbital Angular Momentum Dependence of Hubbard Parameters." *Journal of Chemical Theory and Computation* 11(9): 4205–19.
- Gaus, Michael, Qiang Cui, and Marcus Elstner. 2011. "DFTB3: Extension of the Self-Consistent-Charge Density-Functional Tight-Binding Method (SCC-DFTB)." *Journal of*

*Chemical Theory and Computation* 7(4): 931–48.

Gaus, Michael, Albrecht Goez, and Marcus Elstner. 2013. “Parametrization and Benchmark of DFTB3 for Organic Molecules.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 9(1): 338–54.

Gaus, Michael, Xiya Lu, Marcus Elstner, and Qiang Cui. 2014. “Parameterization of DFTB3/3OB for Sulfur and Phosphorus for Chemical and Biological Applications.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 10(4): 1518–37.

Gelin, B. R., and M. Karplus. 1975. “Sidechain Torsional Potentials and Motion of Amino Acids in Proteins: Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72(6): 2002–6.

Ghorbel-Bellaaj, Olfa et al. 2013. “Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Waste with *Bacillus Pumilus* A1 Using Response Surface Methodology.” *International Journal of Biological Macromolecules* 61: 243–50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.07.001>.

“Glyphosate Pubchem.” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glyphosate> (October 5, 2021).

Grimlock. 2007. “Scheme of Periodic Tiles for Space.” : 1. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Limiteperiodicite.svg> (May 8, 2007).

Grimme, Stefan, and Christoph Bannwarth. 2016. “Ultra-Fast Computation of Electronic Spectra for Large Systems by Tight-Binding Based Simplified Tamm-Dancoff Approximation (STDA-XTB).” *Journal of Chemical Physics* 145(5). <http://dx.doi.org/10.1063/1.4959605>.

Grimme, Stefan, Christoph Bannwarth, and Philip Shushkov. 2017. “A Robust and Accurate Tight-Binding Quantum Chemical Method for Structures, Vibrational Frequencies, and Noncovalent Interactions of Large Molecular Systems Parametrized for All Spd-Block Elements ( $Z = 1-86$ ).” *Journal of Chemical Theory and Computation* 13(5): 1989–2009.

Grimme, Stefan, Jan Gerit Brandenburg, Christoph Bannwarth, and Andreas Hansen. 2015. “Consistent Structures and Interactions by Density Functional Theory with Small Atomic Orbital Basis Sets.” *Journal of Chemical Physics* 143(5).

<http://dx.doi.org/10.1063/1.4927476>.

- Grimme, Stefan, Andreas Hansen, Jan Gerit Brandenburg, and Christoph Bannwarth. 2016. "Dispersion-Corrected Mean-Field Electronic Structure Methods." *Chemical Reviews* 116(9): 5105–54.
- Grimme, Stefan, and Mirko Waletzke. 2000. "Multi-Reference Moller-Plesset Theory: Computational Strategies for Large Molecules." *Physical Chemistry Chemical Physics*.
- Van Gunsteren, Wilfred F. et al. 2006. "Biomolecular Modeling: Goals, Problems, Perspectives." *Angewandte Chemie - International Edition* 45(25): 4064–92.
- van Gunsteren, Wilfred F., and Martin Karplus. 1982. "Effect of Constraints on the Dynamics of Macromolecules." *Macromolecules* 15(6): 1528–44.
- Van Gunsteren, Wilfred F, and Herman J C Berendsen. 1990. "Molecular Dynamics Computer Simulation. Method, Application and Perspectives in Chemistry." *Section Title: Physical Organic Chemistry* 102(9): 1020–55.
- Guo, Fayang et al. 2021. "Glyphosate Adsorption onto Kaolinite and Kaolinite-Humic Acid Composites: Experimental and Molecular Dynamics Studies." *Chemosphere* 263: 127979. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127979>.
- Hadidi, Milad et al. 2020. "Chitosan Nanoparticles Loaded with Clove Essential Oil: Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activities." *Carbohydrate Polymers* 236(November 2019): 116075. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116075>.
- Hansson, Tomas, John Marelius, and Johan Åqvist. 1998. "Ligand Binding Affinity Prediction by Linear Interaction Energy Methods." *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 12(1): 27–35.
- Heap, Ian. 2014. "Global Perspective of Herbicide-Resistant Weeds." *Pest Management Science* 70(9): 1306–15.
- Hess, Berk. 2008. "P-LINCS: A Parallel Linear Constraint Solver for Molecular Simulation." *Journal of Chemical Theory and Computation* 4(1): 116–22. %3CGo.
- Hess, Berk, Henk Bekker, Herman J.C. Berendsen, and Johannes G.E.M. Fraaije. 1997.

- “LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations.” *Journal of Computational Chemistry* 18(12): 1463–72. %3CGo.
- Hess, Berk, Carsten Kutzner, David van der Spoel, and Erik Lindahl. 2008. “GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation.” *J. Chem. Theory Comput.* 4(3): 435–47.
- Hess, Berk, Carsten Kutzner, David Van Der Spoel, and Erik Lindahl. 2008. “GRGMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 4(3): 435–47. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ct700301q>.
- Hestenes, Magnus R, and Eduard Stiefel. 1952. “Methods of Conjugate Gradients for Solving Linear Systems.” *Journal of Research of the National Bureau of Standards* 49: 409–36.
- Höflin, Martin. 2011. “Simulations and Experiments: How Close Can We Get?” *Thesis*: 1–238.
- Hopkins, Chad W., Scott Le Grand, Ross C. Walker, and Adrian E. Roitberg. 2015. “Long-Time-Step Molecular Dynamics through Hydrogen Mass Repartitioning.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 11(4): 1864–74.
- Hostaš, Jiří, and Jan Řezáč. 2017. “Accurate DFT-D3 Calculations in a Small Basis Set.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 13(8): 3575–85.
- Huang, Wei, Zhixiong Lin, and Wilfred F Van Gunsteren. 2011. “Validation of the GROMOS 54A7 Force Field with Respect to  $\beta$ -Peptide Folding.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 7(5): 1237–43.
- Hub, Jochen S., Bert L. De Groot, and David Van Der Spoel. 2010. “G-Whams-a Free Weighted Histogram Analysis Implementation Including Robust Error and Autocorrelation Estimates.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 6(12): 3713–20.
- Humeniuk, Alexander, and Roland Mitrić. 2015. “Long-Range Correction for Tight-Binding TD-DFT.” *Journal of Chemical Physics* 143(13). <http://dx.doi.org/10.1063/1.4931179>.
- Hummer, G. 2001. “Fast-Growth Thermodynamic Integration: Error and Efficiency Analysis.” *Journal of Chemical Physics* 114(17): 7330–37.

- Humphrey, W, A Dalke, and K Schulten. 1996a. "VMD - Visual Molecular Dynamics." *J. Molec. Graphics* 14: 33–38. <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>.
- . 1996b. "VMD - Visual Molecular Dynamics." : 33–38. <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>.
- Hunter, Allen D. 2009. "ACD/ChemSketch 1.0 (Freeware); ACD/ChemSketch 2.0 and Its Tautomers, Dictionary, and 3D Plug-Ins; ACD/HNMR 2.0; ACD/CNMR 2.0." *Journal of Chemical Education*.
- "Hydrogen Bonds." <https://manual.GROMACS.org/current/reference-manual/analysis/hydrogen-bonds.html>.
- "Ja993663t.Pdf."
- Johal, G S, and D M Huber. 2009. "Glyphosate Effects on Diseases of Plants." *European Journal of Agronomy* 31(3): 144–52.
- Jorgensen, William L. et al. 1983a. "Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water." *The Journal of Chemical Physics* 79(2): 926–35.
- Jorgensen, William L et al. 1983b. "Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water." *The Journal of Chemical Physics* 79(2): 926. <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/79/2/10.1063/1.445869%5Cnhttp://link.aip.org/link/?JCPSA6/79/926/1>.
- Jorgensen, William L, and Nora A McDonald. 1998. "Development of an All-Atom Force Field for Heterocycles. Properties of Liquid Pyridine and Diazenes." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 424(1–2): 145–55. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166128097002376>.
- Jorgensen, William L, and Julian Tirado-Rives. 1988. "The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin." *Journal of the American Chemical Society* 110(6): 1657–66.
- Joseph, Sherin M. et al. 2021. "A Review on Source-Specific Chemistry, Functionality, and Applications of Chitin and Chitosan." *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* 2(September 2020): 100036. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100036>.

- Júnior, Moacir 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.
- Kalinowski, Jaroslaw, Frank Wennmohs, and Frank Neese. 2017. “Arbitrary Angular Momentum Electron Repulsion Integrals with Graphical Processing Units: Application to the Resolution of Identity Hartree-Fock Method.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 13(7): 3160–70.
- Kaminski, George A. et al. 2002. “Development of a Polarizable Force Field for Proteins via Ab Initio Quantum Chemistry: First Generation Model and Gas Phase Tests.” *Journal of Computational Chemistry* 23(16): 1515–31.
- Kaminski, George A, Richard A Friesner, Julian Tirado-Rives, and William L Jorgensen. 2001. “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(28): 6474–87.
- Kasahara, Kota, Hiroki Terazawa, Takuya Takahashi, and Junichi Higo. 2019. “Studies on Molecular Dynamics of Intrinsically Disordered Proteins and Their Fuzzy Complexes: A Mini-Review.” *Computational and Structural Biotechnology Journal* 17: 712–20. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.06.009>.
- Kazaryan, Andranik et al. 2011. “Surface Hopping Excited-State Dynamics Study of the Photoisomerization of a Light-Driven Fluorene Molecular Rotary Motor.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 7(7): 2189–99.
- Klingelhöfer, Doris, Markus Braun, Dörthe Brüggmann, and David A. Groneberg. 2021. “Glyphosate: How Do Ongoing Controversies, Market Characteristics, and Funding Influence the Global Research Landscape?” *Science of the Total Environment* 765: 144271. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144271>.
- Klopman, G. 1964. “A Semiempirical Treatment of Molecular Structures. II. Molecular Terms and Application to Diatomic Molecules.” *Journal of the American Chemical Society* 86(21): 4550–57.
- Koch, W, and M Holthausen. 2001. Wiley-VCH *A Chemist’s Guide to Density Functional*

*Theory, 2nd Edition.*

- Korth, M., M. Pitoňák, J. Řezáč, and P. Hobza. 2010. “A Transferable H-Bonding Correction for Semiempirical.Pdf.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 6(1): 344–52.
- Kosłowski, Axel, Michael E. Beck, and Walter Thiel. 2003. “Implementation of a General Multireference Configuration Interaction Procedure with Analytic Gradients in a Semiempirical Context Using the Graphical Unitary Group Approach.” *Journal of Computational Chemistry* 24(6): 714–26.
- Kromann, Jimmy C. et al. 2014. “A Third-Generation Dispersion and Third-Generation Hydrogen Bonding Corrected PM6 Method: PM6-D3H+.” *PeerJ* 2014(1): 1–18.
- Kromann, Jimmy C., Alexander Welford, Anders S. Christensen, and Jan H. Jensen. 2018. “Random versus Systematic Errors in Reaction Enthalpies Computed Using Semiempirical and Minimal Basis Set Methods.” *ACS Omega* 3(4): 4372–77.
- Kubillus, Maximilian et al. 2015. “Parameterization of the DFTB3 Method for Br, Ca, Cl, F, I, K, and Na in Organic and Biological Systems.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 11(1): 332–42.
- Kulik, Heather J., Natasha Seelam, Brendan D. Mar, and Todd J. Martínez. 2016. “Adapting DFT+U for the Chemically Motivated Correction of Minimal Basis Set Incompleteness.” *Journal of Physical Chemistry A* 120(29): 5939–49.
- Kumar, Chundi Vinay, Rayapadi G. Swetha, Anand Anbarasu, and Sudha Ramaiah. 2014. “Computational Analysis Reveals the Association of Threonine 118 Methionine Mutation in PMP22 Resulting in CMT-1A.” *Advances in Bioinformatics* 2014.
- Kumar, Shankar et al. 1992. “The Weighted Histogram Analysis Method for Free-Energy Calculations on Biomolecules.” *Journal of computational chemistry* 13(8): 1011–21.
- Kusmann, Jörg, and Christian Ochsenfeld. 2013. “Pre-Selective Screening for Matrix Elements in Linear-Scaling Exact Exchange Calculations.” *Journal of Chemical Physics* 138(13).
- . 2017. “Hybrid CPU/GPU Integral Engine for Strong-Scaling Ab Initio Methods.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 13(7): 3153–59.



- Leach, A R, and R Leach. 2001. 1 *MOLECULAR MODELLING: Principles and Applications*. Second.
- Lemkul, Justin A, William J Allen, and David R Bevan. 2010. “Practical Considerations for Building GROMOS-Compatible Small-Molecule Topologies.” *Journal of Chemical Information and Modeling* 50(12): 2221–35.
- Li, Yaping, J. D. Tygar, and Joseph M. Hellerstein. 2005. “Private Matching.” *Computer Security in the 21st Century* 58(11): 25–50.
- Lin, Yuqing et al. 2017. “Application of Berendsen Barostat in Dissipative Particle Dynamics for Nonequilibrium Dynamic Simulation.” *Journal of Chemical Physics*.
- Lins, Roberto D., and Philippe H. Hünenberger. 2005a. “A New GROMOS Force Field for Hexopyranose-Based Carbohydrates.” *Journal of Computational Chemistry* 26(13): 1400–1412.
- Lins, Roberto D, and Philippe H Hünenberger. 2005b. “A New GROMOS Force Field for Hexopyranose-Based Carbohydrates.” *Journal of Computational Chemistry* 26(13): 1400–1412.
- Liu, Bijun et al. 2016. “Thermodynamic Study on the Protonation Reactions of Glyphosate in Aqueous Solution: Potentiometry, Calorimetry and NMR Spectroscopy.” *Journal of Physical Chemistry B* 120(9): 2132–37.
- Lobanov, M. Yu, N. S. Bogatyreva, and O. V. Galzitskaya. 2008. “Radius of Gyration as an Indicator of Protein Structure Compactness.” *Molecular Biology* 42(4): 623–28.
- Lutsker, V., B. Aradi, and T. A. Niehaus. 2015. “Implementation and Benchmark of a Long-Range Corrected Functional in the Density Functional Based Tight-Binding Method.” *Journal of Chemical Physics* 143(18). <http://dx.doi.org/10.1063/1.4935095>.
- M.J. Abraham, D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, and the GROMACS, and GROMACS User Manual version 2016.4 development team. 2004. “GROMACS.”
- Mackerell, Alexander D, Nilesh Banavali, and Nicolas Foloppe. 2001. “<MacKerellBiopolymer2001.Pdf>.” : 257–65.

- Madeira, Lucas, and Silvio A. Vitiello. 2012. “A Função Radial de Distribuição de Pares Para Sistemas: Lenard-Jones Bidimensionais.” *Revista Brasileira de Ensino de Física* 34(4).
- Marques, Jonathas Gomes de Carvalho et al. 2021. “Glyphosate: A Review on the Current Environmental Impacts from a Brazilian Perspective.” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 107(3): 385–97. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03295-4>.
- Martin, Marcus 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.
- Martínez Gil, Pablo, Nicolas Laguarda-Miro, Juan Soto Camino, and Rafael Masot Peris. 2013. “Glyphosate Detection with Ammonium Nitrate and Humic Acids as Potential Interfering Substances by Pulsed Voltammetry Technique.” *Talanta* 115: 702–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.030>.
- Mathur, N K, and C K Narang. 1990. “Chitin And Chitosan, Versatile Polysaccharides From Marine Animals.” *Journal of Chemical Education* 67(11): 938–42. %3CCGo.
- Mayumi Minamisawa, Hiroaki Minamisawa, Shoichiro Yoshida, & Nobuharu Takai. 2004. “Adsorption Behavior of Heavy Metals on Biomaterials.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(18): 5606–11.
- Mendonça, Cintia Franco Rodrigues, Marcela Boroski, Gilcélia Aparecido Cordeiro, and Aline Theodoro Toci. 2020. “Glyphosate and AMPA Occurrence in Agricultural Watershed: The Case of Paraná Basin 3, Brazil.” *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 55(10): 909–20. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1794703>.
- Mermin, N. David. 1965. “Thermal Properties of the Inhomogeneous Electron Gas.” *Physical Review* 137(5A): 1–3.
- Meza, Juan C. 2010. “Steepest Descent.” *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics* 2(6): 719–22.
- Miriyala, V. M., and J. Řezáč. 2018. “Testing Semiempirical Quantum Mechanical Methods on

- a Data Set of Interaction Energies Mapping Repulsive Contacts in Organic Molecules.” *Journal of Physical Chemistry A* 122(10): 2801–8.
- Mithen, JP. 2012. “Molecular Dynamics Simulations of the Equilibrium Dynamics of Non-Ideal Plasmas.” *Personal.Ph.Surrey.Ac.Uk* 104(44): 10419–25. [http://personal.ph.surrey.ac.uk/~jm0037/docs/jpmithen\\_thesis.pdf](http://personal.ph.surrey.ac.uk/~jm0037/docs/jpmithen_thesis.pdf).
- Morgon, Nelson H, and Kaline Coutinho. 2007. *Metodos de Quimica Teorica e Modelagem Molecular*. 1st ed.
- Motta, Erick V S, Kasie Raymann, and Nancy A Moran. 2018. “Glyphosate Perturbs the Gut Microbiota of Honey Bees.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Mudi, Anirban, and Charusita Chakravarty. 2004. “Effect of the Berendsen Thermostat on the Dynamical Properties of Water.” *Molecular Physics*.
- Neese, Frank. 2012. “The ORCA Program System.” *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* 2(1): 73–78.
- Nerozzi, Chiara et al. 2020. “Effects of Roundup and Its Main Component, Glyphosate, upon Mammalian Sperm Function and Survival.” *Scientific Reports* 10(1): 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67538-w>.
- Neugebauer, Hagen et al. 2020. “Benchmark Study of Electrochemical Redox Potentials Calculated with Semiempirical and DFT Methods.” *Journal of Physical Chemistry A* 124(35): 7166–76.
- Ngo, Son Tung, Nguyen Minh Tam, Minh Quan Pham, and Trung Hai Nguyen. 2021. “Benchmark of Popular Free Energy Approaches Revealing the Inhibitors Binding to SARS-CoV-2 Mpro.” *Journal of Chemical Information and Modeling* 61(5): 2302–12.
- Niehaus, T. A. et al. 2001. “Tight-Binding Approach to Time-Dependent Density-Functional Response Theory.” *Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics* 63(8): 1–9.
- Nova, Paulo, Cristina S.C. Calheiros, and Margarida Silva. 2020. “Glyphosate in Portuguese Adults – A Pilot Study.” *Environmental Toxicology and Pharmacology* 80: 103462. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103462>.

- Ohno, Kimio. 1964. "Some Remarks on the Pariser-Parr-Pople Method." *Theoretica Chimica Acta* 2(3): 219–27.
- Oostenbrink, Chris, Thereza A Soares, Nico F A Van Der Vegt, and Wilfred F Van Gunsteren. 2005. "Validation of the 53A6 GROMOS Force Field." *European Biophysics Journal* 34(4): 273–84.
- Otero-De-La-Roza, A., and Gino A. DiLabio. 2017. "Transferable Atom-Centered Potentials for the Correction of Basis Set Incompleteness Errors in Density-Functional Theory." *Journal of Chemical Theory and Computation* 13(8): 3505–24.
- Oyewusi, Habeebat Adekilekun, Fahrul Huyop, Roswanira Abdul Wahab, and Azzmer Azzar Abdul Hamid. 2021. "In Silico Assessment of Dehalogenase from *Bacillus Thuringiensis* H2 in Relation to Its Salinity-Stability and Pollutants Degradation." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 0(0): 1–15. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1927846>.
- Özkara, Arzu, Dilek Akyil, and Muhsin Konuk. 2016. "Pesticides, Environmental Pollution, and Health." *Environmental Health Risk - Hazardous Factors to Living Species*: 3–28.
- Park, Sanghyun, Fatemeh Khalili-Araghi, Emad Tajkhorshid, and Klaus Schulten. 2003. "Free Energy Calculation from Steered Molecular Dynamics Simulations Using Jarzynski's Equality." *The Journal of Chemical Physics* 119(6): 3559. <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/119/6/10.1063/1.1590311>.
- Park, Sanghyun, and Klaus Schulten. 2004. "Calculating Potentials of Mean Force from Steered Molecular Dynamics Simulations." *Journal of Chemical Physics* 120(13): 5946–61.
- Parr, Robert G, and Weitao Yang. 1994. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules (International Series of Monographs on Chemistry)*. Oxford University Press, USA.
- Paulino, Alexandre T et al. 2007. "Capacity of Adsorption of Pb<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> from Aqueous Solutions by Chitosan Produced from Silkworm Chrysalides in Different Degrees of Deacetylation." *Journal of Hazardous Materials* 147(1–2): 139–47.
- Performance, High, and Computational Chemistry. 2010. "NWChem Programmer's Guide,

Release 5.1.1.” *Group*.

Perišić, Ognjen, and Hui Lu. 2014. “On the Improvement of Free-Energy Calculation from Steered Molecular Dynamics Simulations Using Adaptive Stochastic Perturbation Protocols.” *PLoS ONE* 9(9): e101810. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101810><http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0101810&representation=PDF><http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0101810>.

Pillai, K. S., Paul, W and C. P., Sharma. 2009. “Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility and Fiber Formation. *Progress in Polymer Science* 34, (7), 641–678.” *Neajc.Org*: 1–6. [http://www.neajc.org/seminar\\_papers/Adhikari\\_Sudip.pdf](http://www.neajc.org/seminar_papers/Adhikari_Sudip.pdf).

“Pubchem.” [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/diclofop\\_acid#section=InChI-Key](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/diclofop_acid#section=InChI-Key).

Química, Programa D E Pós-graduação E M, and Roberto Ribeiro Faria. 2019. “Modelagem Molecular de Quitosana e Glifosato e Análise de Suas Interações Modelagem Molecular de Quitosana e Glifosato e Análise de Suas Interações.”

Rahman, R, J T Foster, and A Haque. 2013. “2013 Molecular Dynamics Simulation and Characterization of Graphene–.Pdf.”

Řezáč, Jan, and Pavel Hobza. 2012. “Advanced Corrections of Hydrogen Bonding and Dispersion for Semiempirical Quantum Mechanical Methods.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 8(1): 141–51.

Rizzo, Robert C., and William L. Jorgensen. 1999. “OPLS All-Atom Model for Amines: Resolution of the Amine Hydration Problem.” *Journal of the American Chemical Society* 121(20): 4827–36.

Robertson, Michael J, Julian Tirado-Rives, and William L Jorgensen. 2015. “Improved Peptide and Protein Torsional Energetics with the OPLS-AA Force Field.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 11(7): 3499–3509.

Roothaan, C. C.J. 1951. “New Developments in Molecular Orbital Theory.” *Reviews of Modern Physics* 23(2): 69–89.

Rosta, Edina, Nicolae Viorel Buchete, and Gerhard Hummer. 2009. “Thermostat Artifacts in

- Replica Exchange Molecular Dynamics Simulations.” *Journal of Chemical Theory and Computation*.
- Roux, Benoît. 1995. “The Calculation of the Potential of Mean Force Using Computer Simulations.” *Computer Physics Communications* 91(1–3): 275–82. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/001046559500053I>.
- Ryckaert, Jean-Paul, Giovanni Ciccotti, and Herman J C Berendsen. 1977. “Numerical Integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes.” *Journal of Computational Physics* 23(3): 327–41. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021999177900985>.
- S. Brahmshatriya, Pathik et al. 2013. “Quantum Mechanical Scoring: Structural and Energetic Insights into Cyclin-Dependent Kinase 2 Inhibition by Pyrazolo[1,5-a]Pyrimidines.” *Current Computer Aided-Drug Design* 9(1): 118–29.
- Saito, Toru, Yasutaka Kitagawa, and Yu Takano. 2016. “Reparameterization of PM6 Applied to Organic Diradical Molecules.” *Journal of Physical Chemistry A* 120(43): 8750–60.
- Salsbury, Freddie R. 2010. “Molecular Dynamics Simulations of Protein Dynamics and Their Relevance to Drug Discovery.” *Current Opinion in Pharmacology* 10(6): 738–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2010.09.016>.
- Santos, Vanessa P. et al. 2020. “Seafood Waste as Attractive Source of Chitin and Chitosan Production and Their Applications.” *International Journal of Molecular Sciences* 21(12): 1–17.
- Schlick, Tamar. 1996. “Pursuing Laplace’s Vision on Modern Computers.” : 219–47.
- . 2010. *21 Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide*. New York, NY: Springer New York. <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-6351-2>.
- Schmid, Nathan, Mathias Bötschi, and Wilfred F Van Gunsteren. 2010. “A GPU Solvent-Solvent Interaction Calculation Accelerator for Biomolecular Simulations Using the GROMOS Software.” *Journal of Computational Chemistry* 31(8): 1636–43.
- Sciences, Health. 2016. “濟無No Title No Title No Title.” 4(1): 1–23. [xtb@thch.uni-bonn.de](mailto:xtb@thch.uni-bonn.de).

- Shivakumar, Devleena et al. 2010. "Prediction of Absolute Solvation Free Energies Using Molecular Dynamics Free Energy Perturbation and the Opls Force Field." *Journal of Chemical Theory and Computation* 6(5): 1509–19.
- Shtaiwi, Amneh, Rohana Adnan, Melati Khairuddean, and Mohammed Al-Qattan. 2018. "Molecular Dynamics Simulation of Human Estrogen Receptor Free and Bound to Morpholine Ether Benzophenone Inhibitor." *Theoretical Chemistry Accounts* 137(7): 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00214-018-2277-1>.
- Silva, Daniel Gabriel da. 2020. "Potenciais de Redução Em Meio Aquoso: Aplicação e Desenvolvimento de Protocolos de Cálculo Baseados Em Modelos Implícitos e Métodos Híbridos." : 97.
- Singh, Simranjeet et al. 2020. "Ijcrph-17-07519.Pdf."
- Soukup, Sebastian T. et al. 2020. "Glyphosate and AMPA Levels in Human Urine Samples and Their Correlation with Food Consumption: Results of the Cross-Sectional KarMeN Study in Germany." *Archives of Toxicology* 94(5): 1575–84. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02704-7>.
- de Souza, Ana Paula Ferreira, Nadia Regina Rodrigues, and Felix Guillermo Reyes Reyes. 2021. "Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) Residues in Brazilian Honey." *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance* 14(1): 40–47. <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1855676>.
- Spicher, Sebastian, and Stefan Grimme. 2020. "Robust Atomistic Modeling of Materials, Organometallic, and Biochemical Systems." *Angewandte Chemie - International Edition* 59(36): 15665–73.
- Spörkel, Lasse, Ganglong Cui, Axel Koslowski, and Walter Thiel. 2014. "Nonequilibrium H/D Isotope Effects from Trajectory-Based Nonadiabatic Dynamics." *Journal of Physical Chemistry A* 118(1): 152–57.
- Spörkel, Lasse, Ganglong Cui, and Walter Thiel. 2013. "Photodynamics of Schiff Base Salicylideneaniline: Trajectory Surface-Hopping Simulations." *Journal of Physical Chemistry A* 117(22): 4574–83.

- Spörkel, Lasse, Joanna Jankowska, and Walter Thiel. 2015. "Photoswitching of Salicylidene Methylamine: A Theoretical Photodynamics Study." *Journal of Physical Chemistry B* 119(6): 2702–10.
- Stephens, P. J., F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, and M. J. Frisch. 1994. "Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields." *The Journal of Physical Chemistry* 98(45): 11623–27.
- Stewart, James J.P. 2009. "Application of the PM6 Method to Modeling Proteins." *Journal of Molecular Modeling* 15(7): 765–805.
- Stewart, James J.P. P et al. 2018. "Testing Semiempirical Quantum Mechanical Methods on a Data Set of Interaction Energies Mapping Repulsive Contacts in Organic Molecules." *Journal of Physical Chemistry A* 24(1): 2702–10.
- Stewart, James J P. 2007. "Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements." *Journal of Molecular Modeling* 13: 1173–1213.
- Sure, Rebecca et al. 2017. "Dynamic Precision for Electron Repulsion Integral Evaluation on Graphical Processing Units (GPUs)." *Journal of Chemical Theory and Computation* 13(6): 3160–70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2010.09.016>.
- Sure, Rebecca, and Stefan Grimme. 2013. "Corrected Small Basis Set Hartree-Fock Method for Large Systems." *Journal of Computational Chemistry* 34(19): 1672–85.
- Toni, L R M, Henrique De Santana, and D a M Zaia. 2006. "Adsorção de Glifosato Sobre Solos e Minerais." *Quimica Nova* 29(4): 829–33.
- Turner, P J. 2005. "XMGRACE, Version 5.1. 19." *Center for Coastal and Land-Margin Research, Oregon Graduate Institute of Science and Technology, Beaverton*.
- Tuttle, Tell, and Walter Thiel. 2008. "OMx-D: Semiempirical Methods with Orthogonalization and Dispersion Corrections. Implementation and Biochemical Application." *Physical Chemistry Chemical Physics* 10(16): 2159–66.
- Uberl, Universidade Federal D E, Mica Programa De, and E M Qu. 2018. "Parametrização e Validação Da Quitosana No Campo de Força OPLS-AA Para Caracterizar a Remoção de



Íons Fosfato Parametrização e Validação Da Quitosana No Campo de Força OPLS-AA Para Caracterizar a Remoção de Íons Fosfato.”

- Ufimtsev, Ivan S., and Todd J. Martinez. 2009. “Quantum Chemistry on Graphical Processing Units. 3. Analytical Energy Gradients, Geometry Optimization, and First Principles Molecular Dynamics.” *Journal of Chemical Theory and Computation* 5(10): 2619–28.
- Ufimtsev, Ivan S., and Todd J. Martínez. 2008. “Graphical Processing Units for Quantum Chemistry.” *Computing in Science and Engineering* 10(6): 26–34.
- Vachoud, Laurent, Nathalie Zydowicz, and Alain Domard. 2000. “Physicochemical Behaviour of Chitin Gels.” *Carbohydrate Research* 326(4): 295–304.
- Valiev, M. et al. 2010. “NWChem: A Comprehensive and Scalable Open-Source Solution for Large Scale Molecular Simulations.” *Computer Physics Communications* 181(9): 1477–89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpc.2010.04.018>.
- Vasanthanathan, Poongavanam et al. 2010. “Computational Prediction of Binding Affinity for CYP1A2-Ligand Complexes Using Empirical Free Energy Calculations.” *Drug Metabolism and Disposition* 38(8): 1347–54.
- Verlet, L. 1967. “Computer ‘Experiments’ on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lenard-Jones Molecules.” *Physical Review* 159(1): 98–111. %3CGo.
- Verma, Maya. 2020. 2 Bioremediation and Biotechnology, Vol 2 *Ecotoxicology of Heavy Metals: Sources, Effects and Toxicity*.
- Verma, R, and B D Gupta. 2015. “Detection of Heavy Metal Ions in Contaminated Water by Surface Plasmon Resonance Based Optical Fibre Sensor Using Conducting Polymer and Chitosan.” *Food Chemistry* 166: 568–75. %3CGo.
- Vestbo, Stine et al. 2018. “Present and Potential Future Distributions of Asian Horseshoe Crabs Determine Areas for Conservation.” *Frontiers in Marine Science* 5(MAY).
- De Vivo, Marco, Matteo Masetti, Giovanni Bottegoni, and Andrea Cavalli. 2016. “Role of Molecular Dynamics and Related Methods in Drug Discovery.” *Journal of Medicinal Chemistry* 59(9): 4035–61.

- Vujović, Milena et al. 2019. “Exploring the Applicability of Density Functional Tight Binding to Transition Metal Ions. Parameterization for Nickel with the Spin-Polarized DFTB3 Model.” *Journal of Computational Chemistry* 40(2): 400–413.
- Vydrov, Oleg A., and Troy Van Voorhis. 2010. “Nonlocal Van der Waals Density Functional: The Simpler the Better.” *Journal of Chemical Physics* 133(24): 0–9.
- Wang, Huarui et al. 2020. “Physicochemical Structure of Chitin in the Developing Stages of Black Soldier Fly.” *International Journal of Biological Macromolecules* 149: 901–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.293>.
- Wang, Junmei et al. 2004. “20035\_Ftp.” *Journal of Computational Chemistry* 25(9): 1157–74.
- Wang, Wei, Jian Wang, and Peter A. Kollman. 1999. “What Determines the Van der Waals Coefficient  $\beta$  in the LIE (Linear Interaction Energy) Method to Estimate Binding Free Energies Using Molecular Dynamics Simulations?” *Proteins: Structure, Function and Genetics* 34(3): 395–402.
- Weber, Wolfgang, and Walter Thiel. 2000. “Orthogonalization Corrections for Semiempirical Methods.” *Theoretical Chemistry Accounts* 103(6): 495–506.
- Wereszczynski, Jeff, and J. Andrew McCammon. 2012. “Statistical Mechanics and Molecular Dynamics in Evaluating Thermodynamic Properties of Biomolecular Recognition.” *Quarterly Reviews of Biophysics* 45(1): 1–25.
- Witte, Jonathon, Jeffrey B. Neaton, and Martin Head-Gordon. 2017. “Effective Empirical Corrections for Basis Set Superposition Error in the Def2-SVPD Basis: GCP and DFT-C.” *Journal of Chemical Physics* 146(23). <http://dx.doi.org/10.1063/1.4986962>.
- Wood, W. W. 1968. “Monte Carlo Calculations for Hard Disks in the Isothermal-Isobaric Ensemble.” *The Journal of Chemical Physics* 48(1): 415–34.
- Woods, R. J., and R. Chappelle. 2000. “Restrained Electrostatic Potential Atomic Partial Charges for Condensed-Phase Simulations of Carbohydrates.” *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 527(1–3): 149–56. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166128000004875>.

- Wu, Xin, Axel Koslowski, and Walter Thiel. 2012. "Semiempirical Quantum Chemical Calculations Accelerated on a Hybrid Multicore CPU-GPU Computing Platform." *Journal of Chemical Theory and Computation* 8(7): 2272–81.
- Yan, Xin Cindy et al. 2017. "Biomolecular Force Field Parameterization via Atoms-in-Molecule Electron Density Partitioning." *Journal of Chemical Theory and Computation* 121(5): 2312–23.
- Yang, Yang et al. 2007. "Extension of the Self-Consistent-Charge Density-Functional Tight-Binding Method: Third-Order Expansion of the Density Functional Theory Total Energy and Introduction of a Modified Effective Coulomb Interaction." *Journal of Physical Chemistry A* 111(42): 10861–73.
- Yasuda, Koji. 2008. "Accelerating Density Functional Calculations with Graphics Processing Unit." *Journal of Chemical Theory and Computation* 4(8): 1230–36.
- Yasuda, Koji, and Hironori Maruoka. 2014. "Efficient Calculation of Two-Electron Integrals for High Angular Basis Functions." *International Journal of Quantum Chemistry* 114(9): 543–52.
- Zargar, Vida, Morteza Asghari, and Amir Dashti. 2015. "A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications." *ChemBioEng Reviews* 2(3): 204–26. <http://doi.wiley.com/10.1002/cben.201400025>.
- Zhang, Dongliang, and Qi Ouyang. 2021. "Nonequilibrium Thermodynamics in Biochemical Systems and Its Application." *Entropy* 23(3): 1–18.