



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
BACHARELADO EM QUÍMICA INDUSTRIAL

WILLIAM OLIVEIRA SOTÉ

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO ENTRE QUITOSANA E
TRIGLICERÍDIOS DE RESERVA**

UBERLÂNDIA - MG

2019

WILLIAM OLIVEIRA SOTÉ

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO ENTRE QUITOSANA E
TRIGLICERÍDIOS DE RESERVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Química da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito para a obtenção do título de
Bacharel em Química Industrial.

UBERLÂNDIA - MG

2019

WILLIAM OLIVEIRA SOTÉ

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO ENTRE QUITOSANA E
TRIGLICERÍDIOS DE RESERVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Química da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito para a obtenção do título de
Bacharel em Química Industrial.

William Oliveira Soté

William Oliveira Soté

Aprovado em: 24 / 06 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

Eduardo de Faria Franca

Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

Guedmiller Souza de Oliveira

Prof. Dr. Guedmiller Souza de Oliveira

Moacyr Comar Júnior
Prof. Dr. Moacyr Comar Júnior

“É perigoso sair porta afora, Frodo. Você pisa na Estrada, e, se não controlar seus pés, não há como saber até onde você pode ser levado.” – Bilbo Baggins.

“Não vale a pena viver sonhando e se esquecer de viver.” – Alvo Dumbledore.

“Nada na vida é para ser temido, mas somente ser entendido. Agora é a hora de entender mais para que possamos temer menos.” – Marie Curie.

AGRADECIMENTOS

Aos meus Pais, José Soté da Silva e Janice Regina de Oliveira e Silva, que não mediram esforços para pavimentar o melhor caminho que fosse possível para que eu pudesse lutar pelos meus sonhos e chegasse até onde eu estou. Obrigado pelo amor, carinho, paciência, apoio e todo o resto, impossível de ser transcrito nessas folhas.

Ao meu amigo Prof. Eduardo de Faria Franca por todo o tempo dedicado a me apresentar aos caminhos da ciência e me auxiliar a edificar o cientista que sou. Pela paciência, alegria e irmandade diária durante os dois anos de acolhimento em seu grupo de pesquisa, cheios de experiências inesperadas e extremamente enriquecedoras.

Aos meus amigos recém Profs. da UFU Guedmiller Souza de Oliveira e Moacyr Comar Júnior, os quais mesmo com pouco tempo de presença na minha jornada universitária contribuíram grandemente para o meu profissionalismo, ética e qualidade como pessoa e pesquisador.

A todos os inúmeros e verdadeiros amigos conquistados durante estes seis anos de Universidade, os quais me deram força para enfrentar e superar os obstáculos que me foram impostos com a cabeça erguida e muitas boas risadas. Foi um privilégio único ter vocês ao meu lado, senhoras e senhores.

Ao laboratório LCQC, pela ajuda e oportunidade de trabalhar para o engrandecimento da química.

À FAPEMIG, pela concessão das bolsas de iniciação científica.

À CPNq, pela concessão da bolsa do Ciência sem Fronteiras.

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho.

qss

RESUMO

A obesidade é um fator preocupante no Brasil e seus números são expressivos. Em 2013, estudos estimaram um impacto econômico de R\$110 bilhões pela obesidade, equivalente a 2,4% do PIB. Em 2017, o percentual de obesos na população adulta das capitais e do Distrito Federal era de 18,9% e, em excesso de peso, 54,0%. A quitosana, derivado do biopolímero quitina, vem sendo estudada e amplamente utilizada como suplemento alimentar com a finalidade de facilitar a perda de peso e prevenir ou desacelerar a evolução da obesidade, devido sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e adsorção de gordura. O presente trabalho usou a metodologia de Dinâmica Molecular para a criação de modelos representativos de gorduras de reserva e a elucidação, a nível atomístico, do processo de interação presente entre estas e a quitosana. A validação dos modelos criados de triestearina e trioleína se deu por análise de densidade, com um erro relativo, em média, de 1,80 e 1,48% em relação a valores experimentais, respectivamente. As análises de função de distribuição radial e de ligação de hidrogênio mostraram correlação, podendo-se atribuir ao grupo amino protonado da quitosana e ao oxigênio da carbonila dos triglicerídios os sítios de mais expressiva interação, cuja distância interatômica média é de 0,28 nm. Os resultados são condizentes com observações macroscópicas presentes na literatura.

Palavras-chave: quitosana, adsorção, gordura de reserva, parametrização de campo de força, Dinâmica Molecular.

ABSTRACT

Obesity is one of major concerns in Brazil having expressive numbers. In 2013, studies estimated an economic impact of obesity close to R\$100 billion, equivalent to 2.4 percent of GDP. In 2017, the percentage of the obese adult population from all Brazilian capitals and the Federal District was 18.9% and, in overweight, 54.0%. Chitosan, a chitin derivative, has been studied and extensively used as food supplement, considering its claim to ease weight loss and prevent or slow down obesity progression due to its biocompatibility, biodegradability and fat adsorption. This work used Molecular Dynamics methodology to create representative models to describe storage fat and elucidate the atomistic interaction processes between fats and chitosan. The models of tristearin and triolein were validated with density analysis, showing, in average, a relative error of 1.80 and 1.48%, respectively, when compared to experimental values. The analysis of radial distribution function and hydrogen bond distribution of all hydrogen donor and acceptor groups of those two molecules, showed correlated results, and suggested that the most expressive interaction occurs between the protonated amine group of chitosan and the carbonyl oxygen from triglycerides, with an interatomic average distance of 0.28 nm. These results are consistent to the macroscopic observations present in literature.

Keywords: chitosan, adsorption, storage fat, force field parameterization, Molecular Dynamics.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Lipídios saponificável e não-saponificável, sendo A) um fosfolipídio e B), prostaglandina.....	2
FIGURA 2. Molécula do triglicerídio insaturado 1-palmitoil, 2-oleil, 3-linoleilglicerol. Em preto: glicerol. Em azul: palmitato. Em verde: oleato. Em vermelho: linoleato. Ésteres dos ácidos palmítico, oléico e α -linolênico, respectivamente.....	3
FIGURA 3. Unidades estruturais de quitina e quitosana, sendo (A) N-acetilglicosamina e (B) glicosamina. Na quitina, $[A] > [B]$ e, na quitosana, $[B] > [A]$	6
FIGURA 4. Ligação entre átomos i e j e constante de força correspondente.....	11
FIGURA 5. Ângulo entre os átomos i, j e k	11
FIGURA 6. Diedros próprio e impróprio entre os átomos i, j, k e l , respectivamente.....	12
FIGURA 7. Representação em duas dimensões da condição periódica de contorno, conservando o número de partículas na caixa de simulação e reduzindo o efeito de borda.	14
FIGURA 8. Representação em duas dimensões do raio de corte (R_c) ao redor de uma partícula de referência i . A célula central corresponde à caixa inicial e as demais são suas imagens.....	16
FIGURA 9. Triglicerídios modelados: i) triestearina, ii) trioleína e iii) 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol.....	18
FIGURA 10. Comportamento da densidade da triestearina (sistema i) para 2 ns de simulação.....	20
FIGURA 11. Comportamento da densidade da trioleína (sistema ii) para 2 ns de simulação.....	21
FIGURA 12. Comportamento da densidade da 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol (sistema iii) para 2 ns de simulação.....	22
FIGURA 13. Representação gráfica do decâmero de quitosana, com os respectivos átomos O, N, C e H (branco) nas cores indicadas. Os grupos amino protonados estão circulados.....	24
FIGURA 14. Diferenciação dos quatro tipos de hidroxilas presentes no modelo de quitosana: O1, O3, O4 e O6.	26
FIGURA 15. Distribuição radial dos pares $Q_{NX}-T_{OY}$ do sistema i (triestearina).....	27
FIGURA 16. Distribuição radial dos pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema i (triestearina).....	28

FIGURA 17. Comparação entre a distribuição radial mais provável do par $Q_{NX}-T_{OY}$ e todos os pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema i (triestearina).....	29
FIGURA 18. Distribuição radial dos pares $Q_{NX}-T_{OY}$ do sistema ii (trioleína).....	30
FIGURA 19. Distribuição radial dos pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema ii (trioleína).....	30
FIGURA 20. Comparação entre a distribuição radial mais provável do par $Q_{NX}-T_{OY}$ e todos os pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema ii (trioleína).....	31
FIGURA 21. Distribuição radial dos pares $Q_{NX}-T_{OY}$ do sistema iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol).....	32
FIGURA 22. Distribuição radial dos pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol).....	33
FIGURA 23. Comparação entre a distribuição radial mais provável do par $Q_{NX}-T_{OY}$ e todos os pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol).....	34
FIGURA 24. Distribuição radial dos pares mais prováveis dos sistemas i, ii e iii, respectivamente.....	35
FIGURA 25. Distribuição de ligações de hidrogênio dos sistemas i, ii e iii, respectivamente.....	36
FIGURA 26. Snapshots do sistema i (triestearina) nos tempos 0, 50, 100, 200 e 250 ps, respectivamente, da trajetória de DM e suas respectivas distâncias interatômicas em nm..	37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Fontes de energia em um adulto de 70 kg.....	4
TABELA 2. Exemplos de Campos de Força utilizados em modelagem molecular.....	10
TABELA 3. Densidades médias e experimentais dos sistemas simulados e respectivos erros relativos.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NaOH = hidróxido de sódio

KOH = hidróxido de potássio

GA = grau de acetilação

MQ = mecânica quântica

MM = mecânica molecular

OPLS/AA = *Optimized Potentials for Liquid Simulations/All Atoms*

DM = dinâmica molecular

fs = femtosegundos (10^{-15} s)

ps = picosegundos (10^{-12} s)

ns = nanosegundos (10^{-9} s)

rdf = função de distribuição radial

O_A = oxigênio do grupo alcóxido

O_C = oxigênio do grupo carbonila

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	8
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
3.1. MECÂNICA MOLECULAR.....	9
3.1.1. FUNÇÃO POTENCIAL DE LIGAÇÃO (V_B)	10
3.1.2. FUNÇÃO POTENCIAL ANGULAR (V_θ)	11
3.1.3. FUNÇÃO POTENCIAL DIEDRAL (V_ϕ)	12
3.1.4. FUNÇÕES POTENCIAIS NÃO-LIGADAS (V_E E V_{LJ})	12
3.2. DINÂMICA MOLECULAR.....	13
3.2.1. CONDIÇÃO PERIÓDICA DE CONTORNO.....	14
3.2.2. RAIOS DE CORTE.....	15
4. PARAMETRIZAÇÃO DOS TRIGLICERÍDIOS TRIESTEARINA, TRIOLEÍNA E 1-ESTEAROIL, 2-ELAIDOIL, 3-ESTEAROILGLICEROL.....	17
4.1. SISTEMAS SIMULADOS.....	17
4.2. SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR.....	18
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5. SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR DE QUITOSANA E TRIGLICERÍDIOS DE RESERVA.....	24
5.1. SISTEMAS SIMULADOS.....	24
5.2. SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR.....	25
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÕES.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo que compromete significativamente a saúde dos indivíduos. Debilita o sistema locomotor, promove dificuldades respiratórias, além de ser um fator de risco para Doenças Crônicas Não Transmissíveis, em especial doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, câncer e diabetes [1, 2]. Os elevados índices de mortalidade e morbidade podem ser associados, em parcela significativa, às inúmeras complicações fisiopatológicas oriundas da obesidade e estes a caracterizam como um dos mais graves problemas de saúde pública atualmente [3, 4].

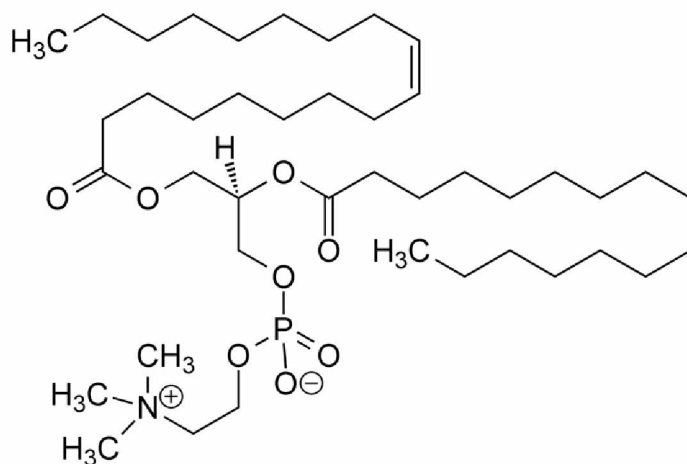
Além de ocupar, em 2014, o quinto lugar no ranking mundial de obesidade [5], no Brasil, de acordo com os relatórios do Ministério da Saúde [6, 7], o percentual de indivíduos com obesidade na população adulta nas capitais dos estados e o Distrito Federal aumentou 7,5% nos últimos onze anos, totalizando um percentual de 18,9%, sem diferença entre sexos. O percentual de indivíduos com excesso de peso, no mesmo intervalo de tempo, aumentou em 11%, totalizando 54,0% da população das 27 cidades, porém agora com uma maioria entre o sexo masculino. Estudos estimaram que o custo da obesidade no Brasil, em 2013, foi de quase R\$110 bilhões, o equivalente à 2,4% do Produto Interno Bruto do país naquele ano [8].

Gorduras, tecnicamente chamadas de lipídios, são um vasto grupo de biomoléculas que não possui uma definição generalizada que consiga descrever, com precisão, todas as funcionalidades atribuídas a estas. De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada, IUPAC (do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*), a única propriedade que une os diversos tipos de lipídios é a solubilidade em solventes apolares.

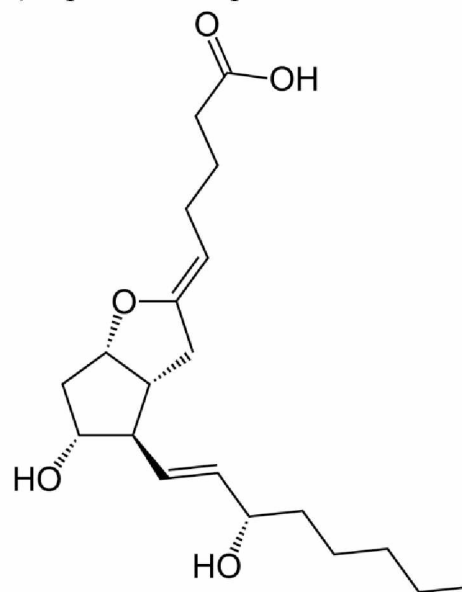
Dentro da categoria lipídios, estes ainda podem ser subdivididos em lipídios saponificáveis e não-saponificáveis, termo relacionado à presença ou ausência de grupos ésteres na constituição molecular [9]. Quando presente, estes grupos podem ser hidrolisados em condições alcalinas, produzindo sais, e, quando ausente, não. Dentro do primeiro grupo, encontram-se os fosfolipídios, glicolipídios, esfingolipídios, glicerídios e ceras. No segundo, colesterol e prostaglandinas. A Figura 1 exemplifica a estrutura de lipídios saponificáveis e não-saponificáveis. A) representa o lipídio saponificável 1-oleil-2-palmitoil-fosfatidilcolina, fosfolipídio de membranas celulares, e, B), o lipídio não-saponificável prostaciclina, uma prostaglandina.

FIGURA 1. Lipídios saponificável e não-saponificável, sendo A) um fosfolipídio e B), prostaglandina.

A) Lipídio Saponificável



B) Lipídio Não-saponificável



As principais funções de lipídios são estruturais, armazenagem de energia, regulação térmica e sinalização bioquímica [10, 11]. A versatilidade dos diversos tipos de lipídios os confere aplicabilidades em variadas indústrias como as alimentícias, cosméticas e nanotecnológicas [12].

O armazenamento de energia através de lipídios no organismo animal se localiza no tecido adiposo, sendo este constituído por células especializadas para esta função denominadas adipócitos. Os principais constituintes da gordura armazenada nos adipócitos são os glicerídios, lipídios compostos por uma unidade de glicerol e até três unidades de ácidos graxos. A quantidade de ácidos graxos presentes na molécula a caracteriza como mono, di ou triglicerídios, sendo os últimos os mais comumente encontrados na gordura de reserva animal e vegetal [13].

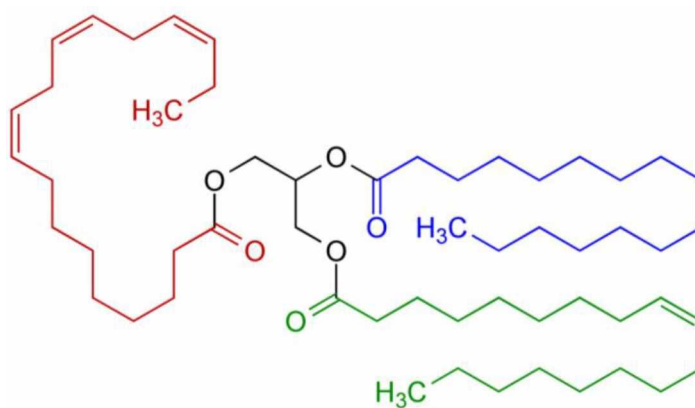
Além do tecido adiposo, triglicerídios também se encontram no sangue, permitindo a transferência de gordura e açúcar do fígado, e são componentes principais dos óleos presentes na pele humana [14].

O acesso biológico aos triglicerídios pode ser dar a partir de três fontes distintas, porém interconectadas: gorduras ingeridas na dieta, gorduras armazenadas nos adipócitos e/ou gorduras sintetizadas pelo fígado. A síntese de triglicerídios se dá a partir da conversão do excesso de carboidratos ingeridos após sua saturação em seu próprio metabolismo e esta

contribuição é limitada, diferentemente da ingestão direta de gordura. Estes triglicerídios sintetizados também são armazenados nos adipócitos e não se distinguem dos outros [15].

A principal diferença dentre os triglicerídios está na estrutura dos três ácidos graxos presentes. Estes podem apresentar cadeias idênticas ou distintas entre si e podem apresentar nenhuma, uma ou múltiplas insaturações, as quais também podem se diferenciar entre configurações *cis* ou *trans* [16], conforme ilustra a Figura 2.

FIGURA 2. Molécula do triglicerídio insaturado 1-palmitoil, 2-oleil, 3-linoleilglicerol. Em preto: glicerol. Em azul: palmitato. Em verde: oleato. Em vermelho: linoleato. Ésteres dos ácidos palmítico, oléico e α -linolênico, respectivamente.



Os ácidos graxos presentes na estrutura são derivados de hidrocarbonetos e apresentam estruturas altamente reduzidas semelhantes aos seus precursores presentes em combustíveis fósseis, o que resulta, em uma oxidação completa, na liberação de aproximadamente 38 kJ g^{-1} , viabilizando sua função energética, uma vez que este valor é significativamente superior à de proteínas e carboidratos com o mesmo peso [13].

Além da energia liberada, por apresentarem grande mobilidade estrutural, as cadeias de ácidos graxos presentes nos triglicerídios permitem a formação de empacotamentos moleculares, os quais, aliados ao caráter hidrofóbico das gorduras, resultam em aglomerados com alta densidade energética, justificando sua função de armazenamento [17]. A Tabela 1 compara fontes de energia biológicas e a energia armazenada em uma respectiva massa, para um adulto com setenta quilogramas.

TABELA 1. Fontes de energia em um adulto de 70 kg.

Fonte energética	Massa (g)	Energia (kcal)
<i>Tecido Adiposo</i>		
Triglicerídio	13.000	120.000
<i>Fígado</i>		
Glicogênio	100	400
Triglicerídio	50	450
<i>Músculo</i>		
Glicogênio	500	2000
Triglicerídio	300	2700
<i>Sangue</i>		
Glicose	15	60
Triglicerídio	4	35
Ácidos graxos livres	0.5	5

Fonte: KLEIN e ROMIJN, 2016.

A compactação e a energia armazenada nos triglicerídios permitem que, em uma menor massa de aglomerados moleculares, haja uma maior liberação de energia.

O caráter hidrofóbico dos triglicerídios, apesar de contribuir para seu empacotamento, dificulta seu processo de metabolização, uma vez que, insolúveis em água, toda gordura ingerida demanda emulsificação para que haja a formação de micelas finamente dispersas capazes de serem digeridas. Outro obstáculo para esta metabolização é a dificuldade de internalização celular da sua estrutura, o que demanda clivagens sequenciais das gorduras até obtenção de gliceróis e ácidos graxos livres. Tanto a emulsificação quanto as clivagens se dão, efetivamente, no duodeno, o último componente do trato gastrointestinal superior (composto por boca, faringe, esôfago, estômago e duodeno) [13].

A solubilização dos aglomerados de gorduras se dá por propriedades detergentes dos sais biliares produzidos no fígado e armazenados na vesícula. Estes sais são originados, principalmente, do ácido taurocólico, um derivado do colesterol. Havendo o rompimento dos aglomerados e a formação de micelas, as lipases intestinais são capazes de clivar o glicerol dos seus respectivos ácidos graxos. Ambos são absorvidos separadamente pela mucosa intestinal e, posteriormente, retomam suas ligações, porém agora na presença de colesterol e proteínas específicas que permitem a formação de agregados lipoprotéicos denominados quilomícrons.

Estes agregados concentram os lipídios hidrofóbicos em seu centro e mantêm as proteínas hidrofílicas em sua superfície, tendo, portanto, transporte facilitado através do sistema linfático e sanguíneo até o tecido adiposo [13].

Em suma, o consumo excessivo de triglicerídios resulta na formação de mais adipócitos, os quais, fisiologicamente, caracterizam o indivíduo com excesso de peso ou até obesidade, desencadeando todos os malefícios já elucidados.

Bioquimicamente, existem duas abordagens padrão para a redução de gordura corporal, as quais não se excluem mutuamente. Estas são redução da caloria ingerida, traduzida como ingestão de alimentos, e/ou aumento do gasto energético ou exercícios físicos. Idealmente, havendo um ou ambos, é esperado que haja uma redução da reserva energética do corpo. Uma variação do primeiro são os estudos feitos para reformular e otimizar os diversos tipos de dietas que existem, seja limitando o número de porções ou o consumo de alimentos específicos com base em suas propriedades agregadas [18].

Entretanto, para indivíduos obesos em níveis de médio e alto risco, as debilitações locomotoras e todas as demais complicações provocadas pela obesidade muitas vezes dificultam ou impedem que as abordagens mencionadas sejam factíveis. Nesses casos, existem outros tipos de tratamentos abrangendo farmacoterapia e intervenções cirúrgicas. De forma generalizada, não havendo muitas complicações crônicas, a primeira é indicada a pacientes em início de obesidade e, a segunda, pacientes com obesidade extrema [19].

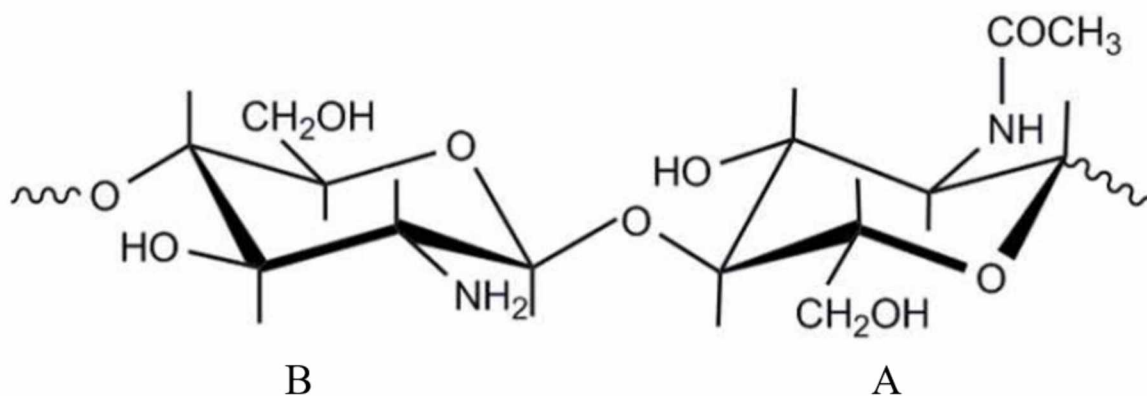
Por se tratar de uma doença, mesmo as intervenções mais brandas possuem riscos e efeitos adversos, compreendendo desde náuseas, fadiga e dor de cabeça até depressão e problemas cognitivos [20].

Outro tipo de abordagem que vem crescendo atualmente é o uso de suplementos alimentares para facilitar a perda de peso e prevenir ou desacelerar a evolução da obesidade. Dentre esses suplementos disponíveis, pode-se destacar os que são derivados de quitina (quitosana), pois demonstraram significativa potencialidade devido a sua capacidade de interação com triglicerídios [21, 22].

A quitosana é um polissacarídeo composto por duas unidades monoméricas, glicosamina e N-acetilglicosamina, conectadas por ligações β -(1,4), com presença majoritária da primeira unidade (Figura 3). Sua origem vem do biopolímero natural quitina, componente primário da parede celular de fungos e exoesqueletos de artrópodes como crustáceos e insetos, e é o segundo biopolímero mais abundante na natureza [23, 24].

De forma análoga ao seu derivado, a quitina também pode ser formada pelas unidades glicosamina e N-acetilglicosamina, contudo, com maior concentração da segunda. A Figura 3 ilustra as unidades estruturais de ambos.

FIGURA 3. Unidades estruturais de quitina e quitosana, sendo (A) N-acetilglicosamina e (B) glicosamina. Na quitina, $[A] > [B]$ e, na quitosana, $[B] > [A]$.



Fonte: DE QUEIROZ ANTONINO *et al.*, 2017.

A substituição dos grupos acetamida pelos grupos amino usualmente se dá pela hidrólise básica do primeiro na presença de bases concentradas (NaOH ou KOH) e a temperaturas elevadas. Outro método empregado é através da hidrólise enzimática utilizando quitina deacetilases [25, 26].

A quitosana obtida é então caracterizada pelo seu grau de acetilação (GA), ou seja, a quantidade de grupos N-acetilglicosamina restantes no polímero. A distribuição desses grupos está intrinsecamente relacionada às condições do processo de preparação, portanto pode-se obter faixas razoavelmente consideráveis de GA [27]. Este processo se tornou de interesse comercial tanto pela ampla possibilidade do estudo de sucessivos derivados desta a partir dos grupos hidroxila, amino e acetamida presentes em sua estrutura, quanto pela enorme gama de aplicações como tratamento de efluentes [28], cosméticos [29], medicina [30], agricultura [31] e, conforme estudos sugerem, no desenvolvimento de suplementos alimentares destinados a redução da absorção de gordura alimentar [21, 22].

Estudos experimentais *in vitro* foram realizados simulando condições estomacais (pH 1,0-2,0) e intestinais (pH 6,5-7,5), em específico do duodeno, com o objetivo de avaliar as interações microscópicas entre quitosana e triglicerídios habitualmente utilizados na dieta. O

resultado obtido foi um aumento da formação de emulsões do tipo água/óleo conforme o pH do meio aumenta, até a formação de flocos em pH 6,5-7,5 [32].

Considerando seu pKa de 6,5, a quitosana se solubiliza em meio ácido e, conforme o pH aumenta, precipita [33]. A formação dos flocos é atribuída a esta precipitação, a qual favorece a formação de interações entre quitosana e triglicerídios expressivas a ponto de haver aprisionamento de até 45% do triglicerídio inicialmente adicionado, nas condições utilizadas.

Supõe-se, portanto, que a ingestão de suplementos alimentares a base de quitosana aja de forma similar, reduzindo um percentual da gordura ingerida a ser metabolizada e absorvida no intestino, a qual será posteriormente eliminada ao término do trato gastrointestinal.

Apesar dos resultados observados experimentalmente, ainda não é sabido o mecanismo de interação pelo qual o contato entre quitosana e triglicerídios alimentares se dá de forma a promover o aprisionamento do último. Considerando que o Brasil ocupa um lugar significativo no ranking mundial de obesidade e a quitosana apresenta interações com as moléculas de gordura, é de interesse acadêmico e industrial compreender em detalhes este mecanismo de interação, visando à síntese de compostos mais eficientes a base de quitosana com foco em perda de peso e, consequentemente, auxiliar a diminuição dos casos de obesidade no Brasil, melhorando a qualidade de vida da população.

Portanto, para compreender o mecanismo de adsorção da gordura pela quitosana e permitir aprimoramentos para tal processo, torna-se necessário o seu entendimento a nível molecular. Neste contexto, a Mecânica Molecular, em particular a metodologia de Dinâmica Molecular, foi utilizada buscando elucidar esses processos atomísticos.

2. OBJETIVOS

Simular computacionalmente, a nível molecular, a interação da quitosana com sistemas contendo triglicerídios saturados, insaturados *cis* e/ou insaturados *trans*.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Criar modelos mecânico moleculares representativos dos triglicerídios: triestearina, trioleína e 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol, no campo de força OPLS/AA;
- Avaliar e, se possível, propor algum mecanismo de interação entre os pares triglicerídios-quitosana com base nos resultados da Dinâmica Molecular.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. MECÂNICA MOLECULAR

O interesse principal da modelagem molecular é o estudo e o desenvolvimento de modelos matemáticos capazes de descrever átomos e moléculas com a finalidade de reproduzir propriedades termodinâmicas reais de sistemas químicos através de simulações computacionais. Uma vez desenvolvido um modelo representativo de determinado sistema, é possível adquirir informações atomísticas a nível molecular de processos microscópicos não observáveis empiricamente. Estas informações possuem grande valia no entendimento desses processos [34].

Os modelos matemáticos são criados baseando-se no formalismo da mecânica quântica (MQ) ou mecânica molecular (MM) e seu emprego varia conforme o tipo de informação que se deseja obter de um sistema químico.

A MQ, por considerar os elétrons de forma discreta, é capaz de descrever, com maior detalhamento, informações sobre a estrutura eletrônica dos átomos, através de inúmeras abordagens metodológicas como os métodos *ab initio* e semi-empírico, os quais apresentam graus de simplificação e ajustes próprios. Apesar do maior detalhamento eletrônico, sua aplicabilidade em sistemas complexos resulta em um número desmedido de equações a serem solucionadas computacionalmente, resultando em tempos de simulação e capacidade computacional pouco factíveis [35].

A MM, por sua vez, ignora a movimentação eletrônica e calcula a energia do sistema simulado somente a partir das posições nucleares. Em termos físicos, este considera a estrutura molecular como esferas maciças carregadas conectadas por molas com constantes de forças características. Esta abordagem reduz o número de equações a serem solucionadas computacionalmente, permitindo tempos de simulações mais rápidos na elucidação de sistemas químicos complexos, como o de uma proteína, porém não é capaz de representar ou prever formação ou clivagem de ligações químicas [34, 36].

No geral, dentro da MM, a estrutura molecular é descrita matematicamente através de um somatório de funções potenciais das contribuições ligadas e não-ligadas entre cada átomo presente, as quais descrevem a relação entre estrutura e energia do sistema de interesse. Estes potenciais são calculados com base em parâmetros e equações inseridos em bancos de dados denominados campos de força.

Os potenciais ligados compreendem potenciais de ligação (V_B), ângulos (V_θ) e diedros (V_ϕ) (próprio ou impróprio), enquanto os não-ligados, eletrostáticos (V_E) e de Lennard-Jones (V_{LJ}). A Equação 1 representa uma descrição matemática simplificada de um potencial total de uma única molécula.

$$V_{\text{total}} = V_B + V_\theta + V_\phi + V_E + V_{LJ} \quad (1)$$

Existem inúmeros campos de força disponíveis para o uso em *softwares* de simulação computacional, cada um podendo conter funções e/ou parâmetros próprios. A Tabela 2 exemplifica alguns dos campos de força mais populares encontrados na literatura [37]:

TABELA 2. Exemplos de Campos de Força utilizados em modelagem molecular.

Campo de Força	Referência
<i>Groningen Molecular Simulation 1996 (GROMOS-96)</i>	[38]
<i>Optimized Potentials for Liquid Simulations/All Atoms (OPLS/AA)</i>	[39]
<i>Assisted Model Building with Energy Refinement (AMBER)</i>	[40]
<i>Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics (CHARMM)</i>	[41]

Neste trabalho, o campo de força utilizado foi o OPLS/AA e suas funções potenciais serão descritas em detalhes a seguir [39].

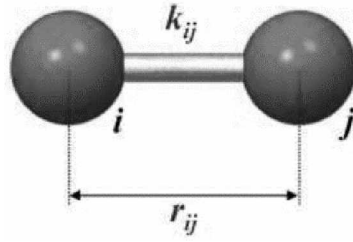
3.1.1. FUNÇÃO POTENCIAL DE LIGAÇÃO (V_B)

A função potencial que descreve o estiramento covalente de ligações entre átomos i e j é uma função potencial harmônica, $V_b(r_{ij})$ [kJ mol⁻¹], sendo:

$$V_b(r_{ij}) = \frac{1}{2} k_{ij}^b (r_{ij} - b_{ij})^2 \quad (2)$$

- r_{ij} [nm] = distância de ligação;
- b_{ij} [nm] = distância da mesma ligação no equilíbrio;
- k_{ij}^b [N m⁻¹ mol⁻¹] = constante elástica do oscilador.

FIGURA 4. Ligação entre átomos i e j e constante de força correspondente.



A constante k_{ij}^b e a distância b_{ij} são os parâmetros presentes no campo de força.

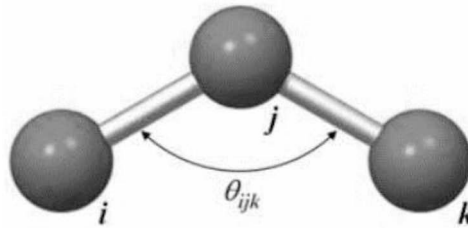
3.1.2. FUNÇÃO POTENCIAL ANGULAR (V_θ)

A função potencial que descreve a vibração angular entre átomos i , j e k também é representada por uma função potencial harmônica, $V_a(\theta_{ijk})$ [kJ mol⁻¹], sendo

$$V_a(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2} k_{ijk}^\theta (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (3)$$

- θ_{ijk} [rad] = ângulo formado entre os átomos;
- θ_{ijk}^0 [rad] = ângulo formado no equilíbrio;
- k_{ijk}^θ [kJ mol⁻¹ rad⁻²] = constante angular do oscilador.

FIGURA 5. Ângulo entre os átomos i , j e k .



A constante k_{ijk}^θ e o ângulo θ_{ijk}^0 são os parâmetros presentes no campo de força.

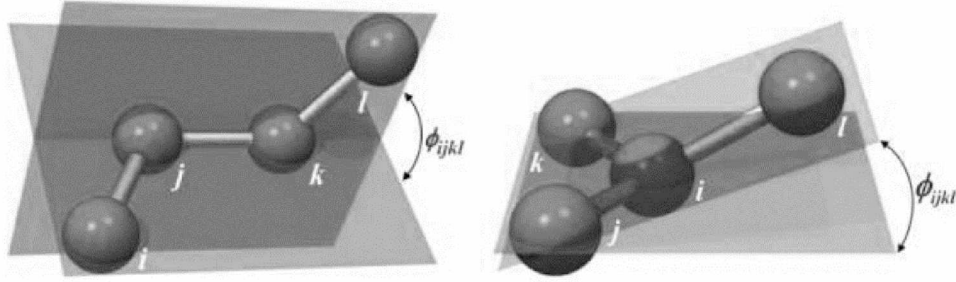
3.1.3. FUNÇÃO POTENCIAL DIEDRAL (V_ϕ)

A função potencial que descreve a torsão diedral própria entre os planos ijk e jkl (Figura 6) é representada pela função potencial híbrida de Ryckaert-Bellemans e Fourier, $V_{RB}(\phi_{ijkl})$ [kJ mol^{-1}], sendo:

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

- F_{1-4} [kJ mol^{-1}] = coeficientes na série de Fourier;
- ϕ_{ijkl} [rad] = ângulo diedro entre os planos;

FIGURA 6. Diedros próprio e impróprio entre os átomos i, j, k e l , respectivamente.



Os coeficientes F e o ângulo ϕ são os parâmetros presentes no campo de força.

O campo de força OPLS/AA não possui um termo para diedros impróprios, sendo necessário um ajuste específico por parte dos *softwares* que utilizam esse banco de dados.

3.1.4. FUNÇÕES POTENCIAIS NÃO-LIGADAS (V_E E V_{LJ})

A função potencial (V_{NL}) que descreve as interações não-ligadas entre átomos i e j é uma soma das funções potenciais eletrostática [kJ mol^{-1}] e de Lennard-Jones [kJ mol^{-1}], respectivamente, sendo:

$$V_{NL} = f \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (5)$$

- $f[\text{kJ mol}^{-1} \text{ nm C}^{-2}] = \text{constante de Coulomb};$
- $q_{ij} [\text{C}] = \text{carga atômica};$
- $r_{ij} [\text{nm}] = \text{distância entre os átomos};$
- $\epsilon_{ij} [\text{kJ mol}^{-1}] = \text{energia mínima de potencial};$
- $\sigma_{ij} [\text{nm}] = \text{distância finita na qual o potencial é nulo};$

No potencial de Lennard-Jones as potências 12 e 6 correspondem às contribuições repulsivas e atrativas, respectivamente.

As cargas q_{ij} , a energia ϵ_{ij} e as distâncias σ_{ij} são os parâmetros presentes no campo de força.

3.2. DINÂMICA MOLECULAR

Em suma, Dinâmica Molecular (DM) é uma metodologia que usa dados mecânicos moleculares para avaliar a evolução temporal de sistemas químicos dentro e fora do equilíbrio. Na DM, através de médias de um conjunto estatístico representativo de um sistema molecular, é possível obter informações sobre algumas propriedades macroscópicas desse sistema [42], uma vez que os parâmetros inseridos no campo de força sejam representativos para o mesmo.

As simulações por DM resolvem, simultaneamente, as equações (6) e (7) a seguir, para o número i de moléculas presentes no sistema simulado.

$$F_i = \frac{\partial^2 x_i}{\partial t^2} m_i \quad (6)$$

A Equação (6) corresponde à segunda lei do movimento de Newton e as coordenadas x em função do tempo t representam a evolução temporal ou trajetória desse sistema.

$$F_i = -\frac{\partial V_i}{\partial x_i} \quad (7)$$

No mesmo sistema, as forças atuantes também são função das coordenadas através da derivada parcial negativa da função potencial total resultante da descrição mecânico molecular já elucidada. Desta forma, a integração da Equação (6) para cada átomo em intervalos de tempo na ordem de femtosegundos ($1\text{fs} = 10^{-15}$ segundos), após perturbações aleatórias iniciais e sob temperatura e pressão estabelecidas, resulta em uma série de trajetórias e o sistema tende a um

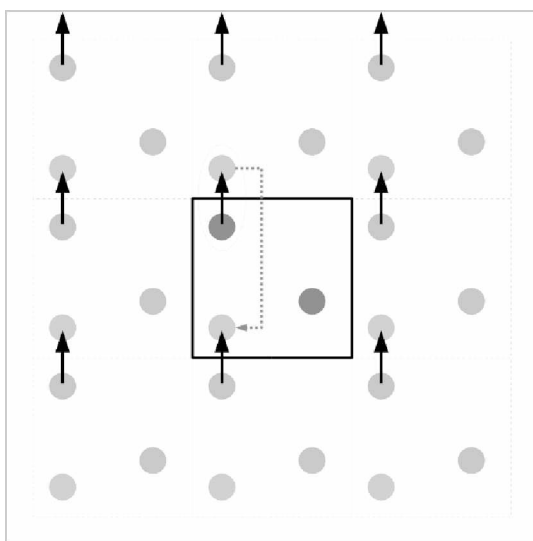
estado de equilíbrio. A partir de médias da trajetória nesse equilíbrio é possível extrair informações macroscópicas desse sistema [38].

3.2.1. CONDIÇÃO PERIÓDICA DE CONTORNO

O confinamento do sistema molecular a ser simulado em um espaço virtual tridimensional limitado causa duas artificialidades básicas. A primeira é a diferença de forças exercidas em partículas próximas à borda da caixa em relação às do centro, resultado de um efeito de borda. A segunda é a amostragem de partículas simuladas, a qual, para se obter resultados estatisticamente representativos de propriedades macroscópicas reais, exige-se uma amostragem comparável à de um sistema físico real, que tende à ordem de Avogadro. Contudo, não é factível a criação de um sistema contendo este número de partícula.

A solução para estas artificialidades se deu pela replicação do mesmo espaço virtual inicial em todas as dimensões, efeito conhecido por condição periódica de contorno. Desta forma, por menor que seja o sistema, o número de cópias tendendo ao infinito atenua o erro gerado em decorrência da baixa amostragem [34, 43, 44].

FIGURA 7. Representação em duas dimensões da condição periódica de contorno, conservando o número de partículas na caixa de simulação e reduzindo o efeito de borda.



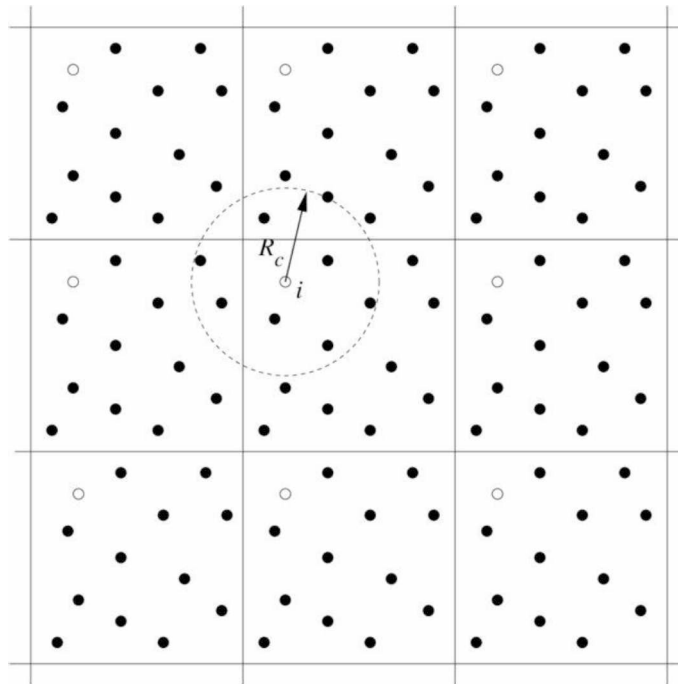
Na Figura 7, o quadrado destacado corresponde ao sistema de referência e os demais são réplicas originadas das condições periódicas de contorno. Devido à reprodução da mesma trajetória em todas as caixas, matematicamente o número de partículas presentes é conservado, uma vez que a saída de uma partícula da caixa inicial é sempre compensada pela entrada da mesma partícula, porém agora oriunda de sua réplica adjacente, conforme ilustra a Figura.

3.2.2. RAIOS DE CORTE

Com uma amostragem estatisticamente relevante, o número de contabilizações de interações não-ligadas de curto alcance também se torna mais alto, resultando, primeiro, em um maior tempo computacional para sua resolução e, segundo, podendo criar uma artificialidade de interação de determinada partícula com sua própria imagem, a qual não é de interesse. Portanto, para evitar esses dois efeitos, utiliza-se do conceito de raio de corte.

O raio de corte é uma restrição de espaço de simulação por uma esfera de raio específico (R_c) com centro em uma partícula i de referência. Este raio deve ser da ordem de $L/2$ ($R_c \leq L/2$), sendo L o comprimento da caixa [45]. Desta forma, a demanda computacional é reduzida, pois somente as interações de curto alcance dentro desse raio serão computadas, e a artificialidade mencionada anteriormente é evitada, uma vez que as partículas só irão interagir com aquelas dentro dessa região. A Figura 8 ilustra a construção do raio de corte.

FIGURA 8. Representação em duas dimensões do raio de corte (R_c) ao redor de uma partícula de referência i . A célula central corresponde à caixa inicial e as demais são suas imagens.



Apesar dos ajustes mencionados, cabe salientar que todos são ferramentas com a finalidade de atenuar possíveis erros resultantes da limitação metodológica.

4. PARAMETRIZAÇÃO DOS TRIGLICERÍDIOS TRIESTEARINA, TRIOLEÍNA E 1-ESTEAROIL, 2-ELAIDOIL, 3-ESTEAROILGLICEROL

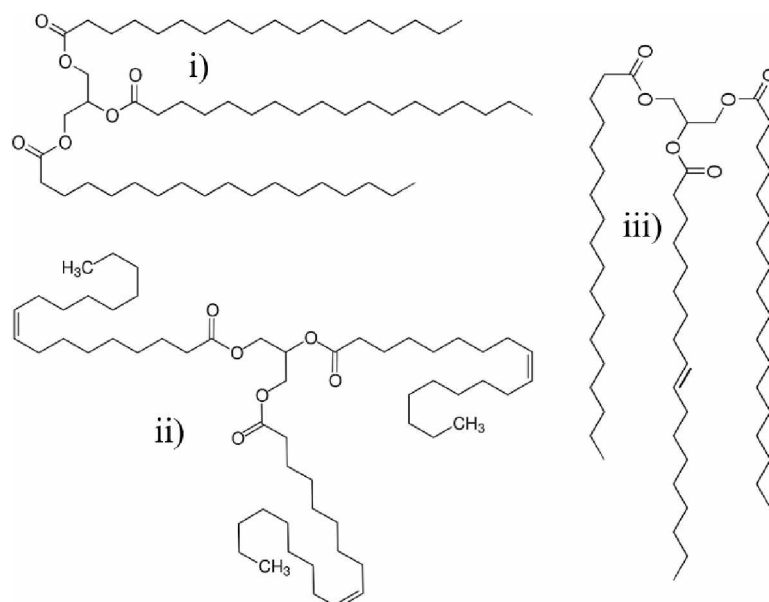
4.1. SISTEMAS SIMULADOS

Previamente à simulação do sistema final de interesse, foi necessária a criação de modelos representativos de triglicerídios no campo de força OPLS/AA, o qual desprovia de tais modelos. A escolha dos triglicerídios i) triestearina, ii) trioleína e iii) 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol se deu por suas similaridades estruturais e suas ocorrências em inúmeras matérias-primas e produtos consumidos frequentemente. Pode-se destacar os óleos vegetais e gorduras animais, para o primeiro [46]; e margarina, chocolate, sorvetes, bolos, pão, entre outros, para o segundo [47].

Ambos os ácidos graxos são constituídos de dezoito carbonos, porém em i) não há insaturações, em ii), uma insaturação em configuração *cis* em cada cadeia entre os átomos de carbono 9 e 10 e, em iii), uma insaturação na configuração *trans* na cadeia central também entre os átomos de carbono 9 e 10, como ilustrado na Figura 9.

A nomenclatura se origina dos ácidos graxos presentes, sendo ácido esteárico, oléico e eláidico os ácidos de dezoito carbonos saturado, insaturado *cis* e insaturado *trans* entre C9-C10, respectivamente.

FIGURA 9. Triglicerídios modelados: i) triestearina, ii) trioleína e iii) 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol.



4.2. SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR

Após a devida inserção e/ou adaptação dos parâmetros necessários para descrever os modelos de triglicerídios no banco de dados do campo de força, todos os sistemas foram construídos independentemente, porém de forma padronizada, contendo setenta e cinco (75) moléculas em uma caixa de simulação retangular. Estas caixas possuíram dimensões geométricas arbitrárias com o único critério de conter todas as moléculas.

Inicialmente, todos os sistemas tiveram suas energias minimizadas através de um algoritmo *steepest descent* com um número máximo passos de 50.000 ou uma força máxima menor que $1.000 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$, com a finalidade de prevenir geometrias inapropriadas e/ou sobreposição estérica.

Em seguida, os sistemas foram equilibrados por três simulações consecutivas de 50 ps em *ensemble* NVT (Número de partículas, Volume e Temperatura constantes), utilizando o algoritmo *leap-frog* [48] com passo de integração de 1 fs. A temperatura foi aumentada gradualmente durante cada simulação. Em ambos os sistemas, as duas equilibrações iniciais

foram à 50 e 150K, respectivamente, e a temperatura final variou de acordo com os valores experimentais de densidade que seriam utilizados para a validação dos modelos, sendo 353K em i e 288K em ii. Para o sistema iii não foram encontrados dados experimentais e sua validação foi feita com base nos parâmetros dos dois anteriores. As temperaturas foram mantidas constantes acoplando-se o termostato *velocity-rescaling* [49].

Após a equilibração inicial, foram realizados 2 ns de simulação por DM no *ensemble* NPT (Número de partículas, Pressão e Temperatura constantes), utilizando, novamente, o algoritmo *leap-frog*, porém com passo de integração de 0,2 fs. As respectivas temperaturas foram mantidas constantes com o mesmo termostato anterior. A pressão foi mantida à 1 bar acoplando-se o barostato *Parrinello-Rahman* [50].

O algoritmo utilizado de restrição de comprimento de ligação e estiramentos linear e angular foi o *linear constrain solver* (LINCS) [51]. As coordenadas de cada átomo foram contabilizadas a cada 1 ps de simulação.

Todas as simulações e análises deste trabalho foram realizadas pelo *software* gratuito GROMACS [37], versão 2016.4, em um computador Intel® Core™ i7-3770, *quad core*, 12 GB de RAM, sistema operacional Ubuntu 17.10. O tempo médio gasto para as três simulações por DM foi de 2,084 ns dia⁻¹.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

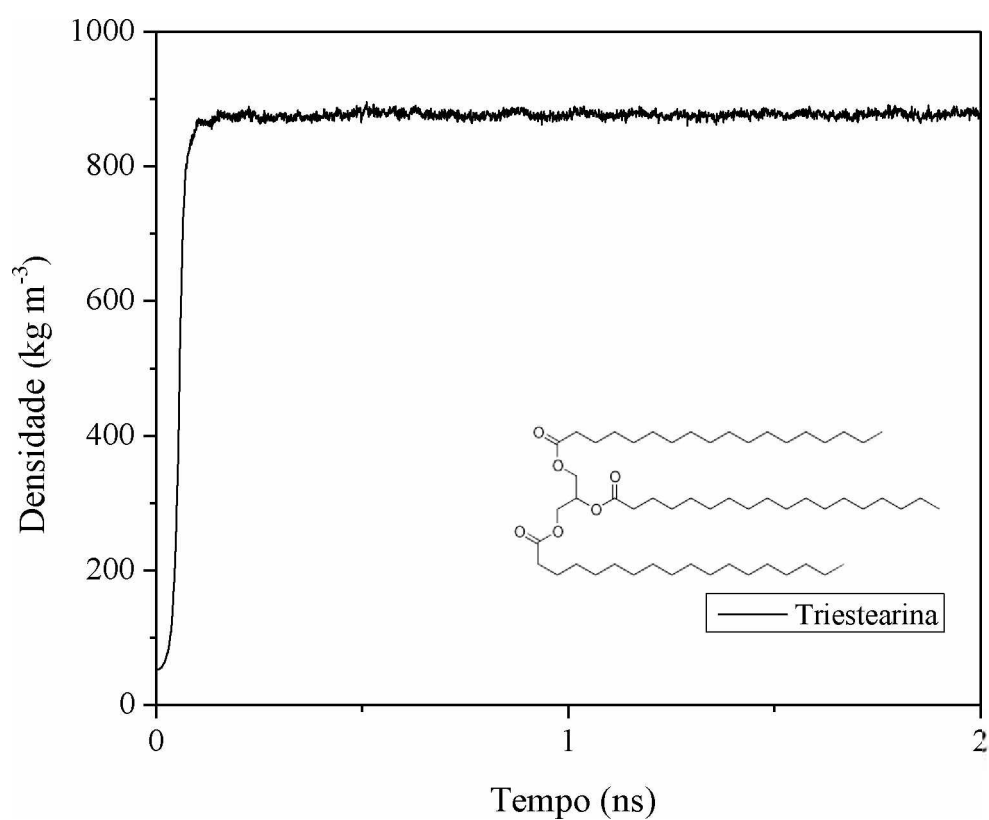
Os modelos mecânico moleculares dos triglicerídios foram avaliados através da comparação das densidades obtidas pelas simulações por DM e dados experimentais, disponíveis na literatura [16].

Devido a equilibração inicial ter sido feita em *ensemble* NVT, não havia pressão externa sendo aplicada na caixa de simulação. Após o início das simulações em *ensemble* NPT, há um aumento gradual da pressão até o valor estabelecido de 1 bar e, conseqüentemente, uma diminuição do volume desta caixa. A diminuição do volume resulta em um aumento da densidade do sistema, uma vez que o número de partículas é constante.

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (8)$$

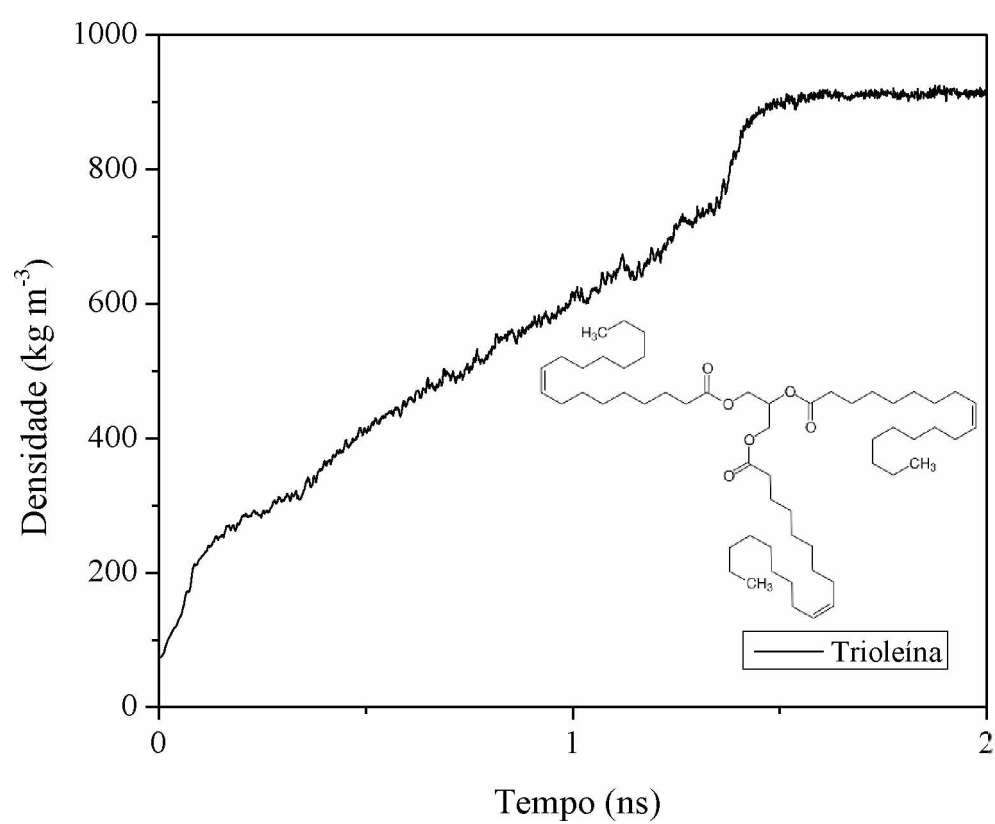
Com a estabilização da pressão, os sistemas começam a entrar em estado de equilíbrio termodinâmico. Os comportamentos de densidade obtidos por DM são apresentados nas Figuras 10-12.

FIGURA 10. Comportamento da densidade da triestearina (sistema i) para 2 ns de simulação.



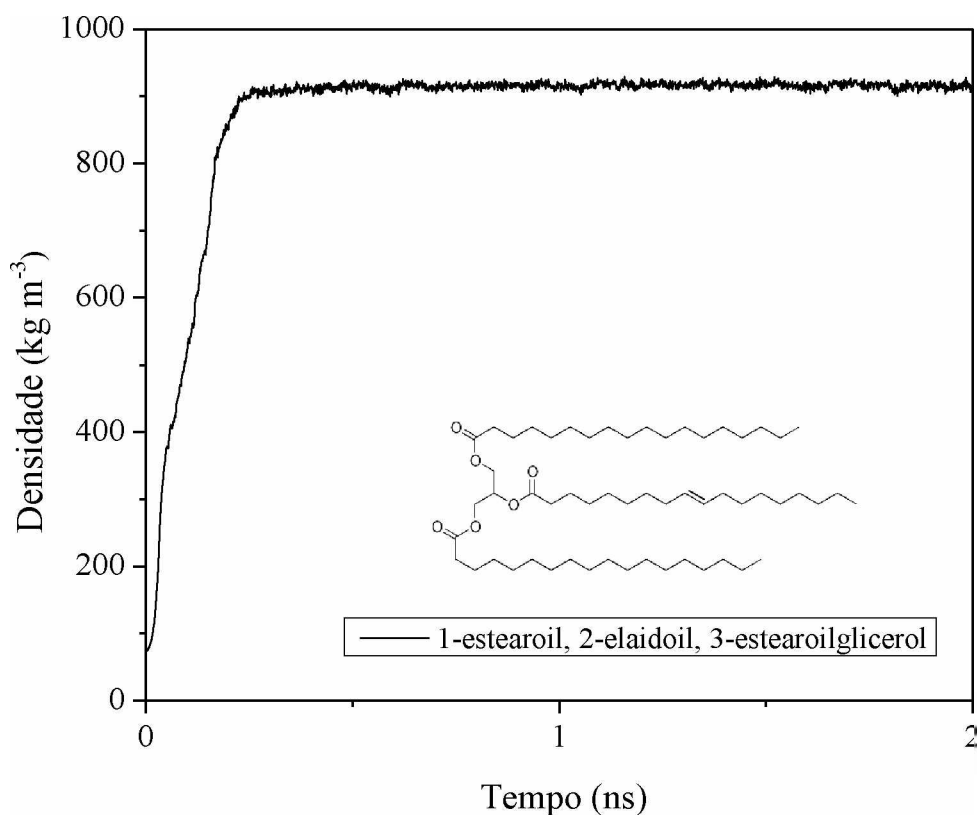
Fonte: OriginPro 8.5.0 [52].

FIGURA 11. Comportamento da densidade da trioleína (sistema ii) para 2 ns de simulação.



Fonte: OriginPro 8.5.0.

FIGURA 12. Comportamento da densidade da 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol (sistema iii) para 2 ns de simulação.



Fonte: OriginPro 8.5.0.

Todos os sistemas apresentaram o aumento acentuado de densidade esperado no início de simulação e um estado de equilíbrio ao final. A diferença entre o tempo necessário para o estado de equilíbrio pode ser atribuída à diferença estrutural entre os triglicerídios.

Por apresentarem mais cadeias móveis saturadas, os sistemas i e iii se empacotam mais facilmente sob o acréscimo da pressão, se comparados ao sistema ii, o qual contém cadeias com insaturações *cis*, menos móveis devido a mesma. A limitação estérica do sistema ii resulta em uma resistência, a qual justifica o maior tempo para atingir o estado de equilíbrio.

Para normalizar a amostragem de simulação entre os sistemas, foram calculadas as médias de densidade no estado de equilíbrio para somente os últimos 0,5 ns de simulação. Os valores de densidade média calculados, empíricos da literatura [16] e erros relativos, em módulo, são descritos na Tabela 3.

TABELA 3. Densidades médias e experimentais dos sistemas simulados e respectivos erros relativos.

	SISTEMAS		
	Triestearina	Trioleína	1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol
$\bar{\rho}_{teo} \text{ [kg m}^{-3}\text{]}$	878,7	929,8	916,0
$\rho_{exp} \text{ [kg m}^{-3}\text{]}$	863,2	916,2	-
Erro Rel.	1,80%	1,48%	-

Apesar de serem usados apenas 500 pontos para a média das densidades no estado de equilíbrio, os erros foram de 1,80 e 1,48% para os sistemas i e ii, respectivamente. Estes valores foram o suficiente para validar os parâmetros utilizados para a descrição dos modelos de triglicerídios.

Os parâmetros utilizados na descrição do modelo de 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol foram validados por extrapolação dos modelos anteriores.

5. SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR DE QUITOSANA E TRIGLICERÍDIOS DE RESERVA

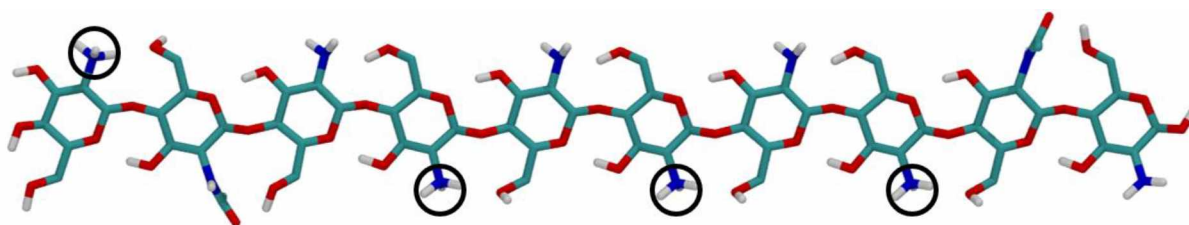
5.1. SISTEMAS SIMULADOS

Após a validação dos parâmetros inseridos no campo de força OPLS/AA para os três triglicerídios presentes nesse trabalho, os modelos puderam ser utilizados para o estudo de interação entre eles e quitosana.

O modelo de quitosana parametrizado pelo grupo de pesquisa corresponde à forma de decâmero com quatro grupos amino em estado protonado, dos oito disponíveis. Este estado de protonação é resultado de um grau de acetilação de 20% e pH próximo ao pKa de 6,5 da quitosana. Este pH, conforme já elucidado, corresponde à faixa das condições intestinais (6,5-7,5), ambiente de interesse para o presente estudo. O modelo em questão se encontra em processo de escrita para publicação.

Neste Tópico, os sistemas são ordenados analogamente aos do Tópico 4.1., sendo i) triestearina, ii) trioleína e iii) 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol, ambos contendo quitosana.

FIGURA 13. Representação gráfica do decâmero de quitosana, com os respectivos átomos O, N, C e H (branco) nas cores indicadas. Os grupos amino protonados estão circulados.



Fonte: Autor e VMD [53].

5.2. SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR

Os sistemas foram construídos independentemente, porém ambos contendo setenta e cinco (75) moléculas dos respectivos triglicerídios, um (1) decâmero de quitosana e quatro (4) íons cloreto, necessários para neutralização da carga total. As caixas de simulação retangulares tiveram suas dimensões geométricas descritas de forma arbitrária, com o único critério de conter todas as moléculas.

Os protocolos e parâmetros de minimização de energia, equilibração e dinâmica final foram os mesmos utilizados anteriormente, com exceção da temperatura final de simulação que foi de 310K (temperatura corporal). Além disso, o tempo de simulação que foi estendido para 20 ns para garantir o equilíbrio termodinâmico e uma melhor descrição dos contatos entre os constituintes do sistema. O tempo médio gasto para as três simulações por DM finais foi de 2,644 ns dia⁻¹.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo fato da metodologia de DM desconsiderar a movimentação eletrônica, as interações entre quitosana e triglicerídios foram avaliadas apenas por interações não-ligadas, como, por exemplo, ligações de hidrogênio, nas quais os grupos amino, hidroxilas e N-acetil da quitosana seriam doadores e os oxigênios do éster da gordura, receptores de hidrogênio. Sem a clivagem das ligações entre as cadeias de ácidos graxos e o glicerol, não é esperada atividade significativa do grupo alcóxido do éster, porém ele foi incluído nas análises para melhor detalhamento.

A análise utilizada para avaliar prováveis contatos ou aproximações moleculares foi a função de correlação de pares ou de distribuição radial (rdf). Este cálculo descreve a densidade de probabilidade de se encontrar uma partícula de interesse a uma distância específica de uma partícula de referência. Graficamente, a ordenada ($g(r)$) corresponde à distribuição radial de probabilidade e a abscissa (r), a distância específica a ser analisada.

Neste trabalho, a distância de interesse para interações não-ligadas é entre 0,20 a 0,35 nm, o que caracteriza uma distância doador-aceptor da faixa típica de ligação de hidrogênio [54].

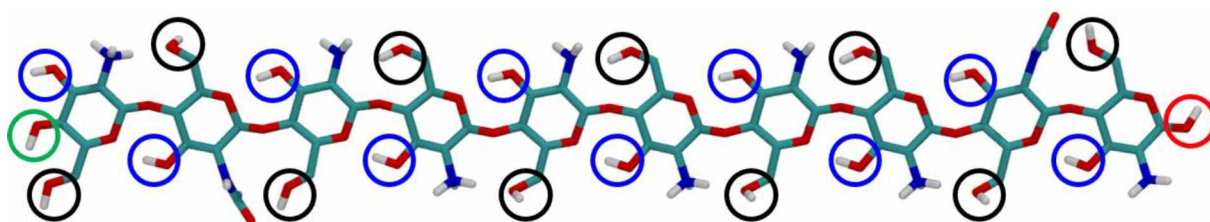
A análise foi feita entre os pares quitosana (Q) e triglicerídio (T), respectivamente, e os resultados foram divididos em dois grupos:

- a) Q_{NX} ($NX = NH_3^+$, NH_2 e NH) – T_{OY} ($OY = O_C$ e O_A);
- b) Q_{OX} ($OX = O1, O3, O4$ e $O6$) – T_{OY} ($OY = O_C$ e O_A).

Dentre os oxigênios dos triglicerídios, o oxigênio da carbonila corresponde ao código O_C e o do grupo alcóxido, O_A .

A Figura 14 ilustra os quatro tipos de hidroxilas presentes na quitosana, distintas com base na composição de sua vizinhança, a qual pode resultar em alterações de reatividade. Para melhor especificação, os quatro tipos de hidroxilas foram explicitados e divididos em O1 (vermelho), O3 (azul), O4 (verde) e O6 (preto).

FIGURA 14. Diferenciação dos quatro tipos de hidroxilas presentes no modelo de quitosana: O1, O3, O4 e O6.

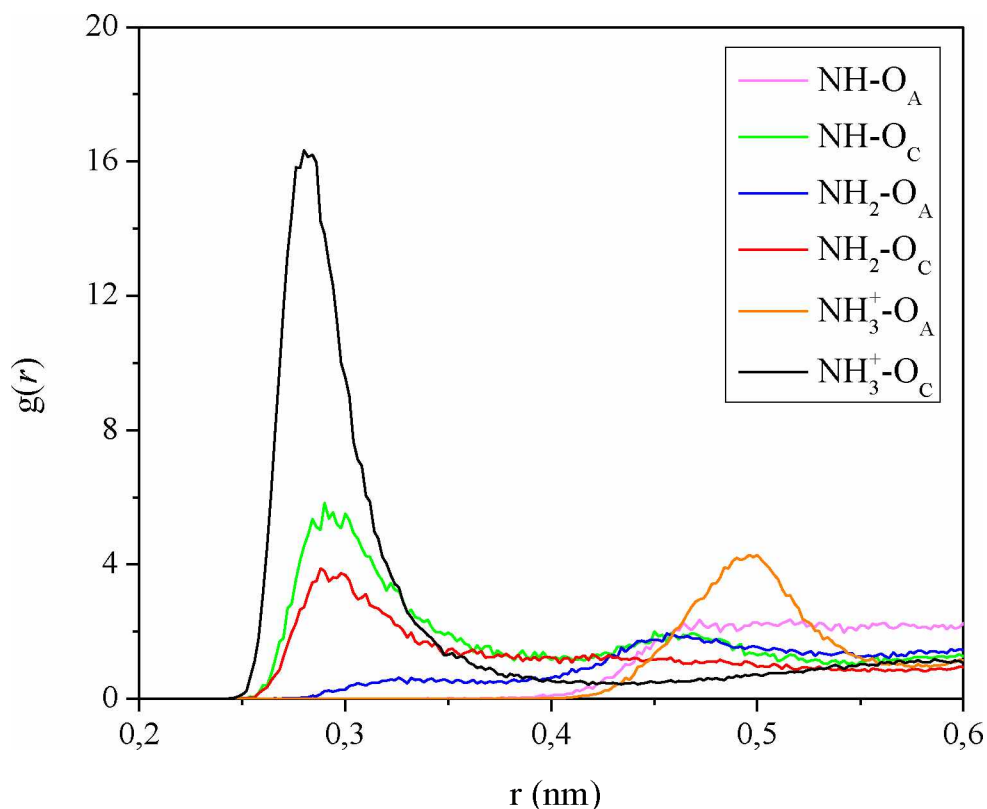


Fonte: Autor e VMD.

O grupo O1 corresponde à uma hidroxila terminal adjacente a um grupo amino e a um oxigênio de anel glicopiranosídico, O3 corresponde a hidroxilas internas adjacentes a um grupo amino/amino protonado e carbono do anel, O4 corresponde à uma hidroxila terminal adjacente a duas outras hidroxilas e O6 corresponde a hidroxilas internas adjacentes a um carbono e a um oxigênio do anel glicopiranosídico

As distribuições radiais dos pares a e b obtidos para o sistema i (triestearina) são mostradas nas Figuras 15 e 16.

FIGURA 15. Distribuição radial dos pares $Q_{NX}-T_{OY}$ do sistema i (triestearina).

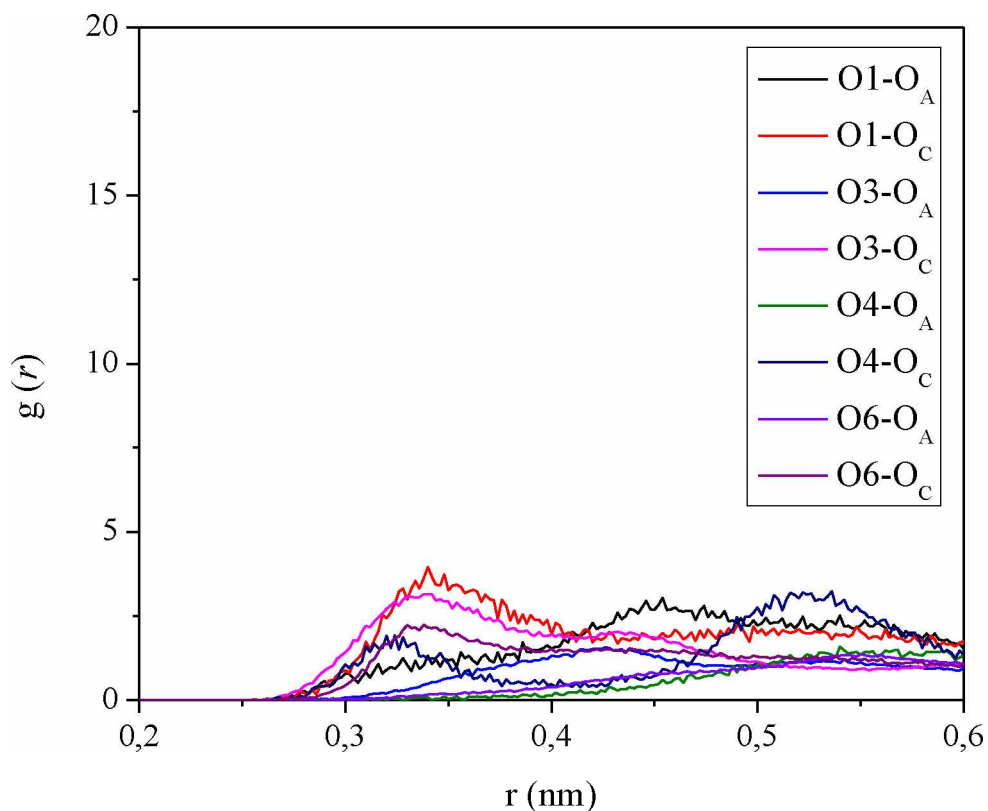


Fonte: OriginPro 8.5.0.

O resultado mostra um comportamento simétrico para os pares $NX-O_C$ e assimétrico para os pares $NX-O_A$. Isto ilustra um comportamento já esperado pelo fato do oxigênio do grupo alcóxido não ter interação (neste caso associada à proximidade) de forma significativa.

Dentre os pares com maior distribuição radial, o par $NH_3^+-O_C$ apresentou a distribuição mais intensa e significativa na região de interesse, a qual é esperada devido ao expressivo caráter eletrostático oposto entre os grupos. A interação pode ser associada aos demais pares $NX-O_C$, porém não tão significativas quanto a do primeiro.

FIGURA 16. Distribuição radial dos pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema i (triestearina)



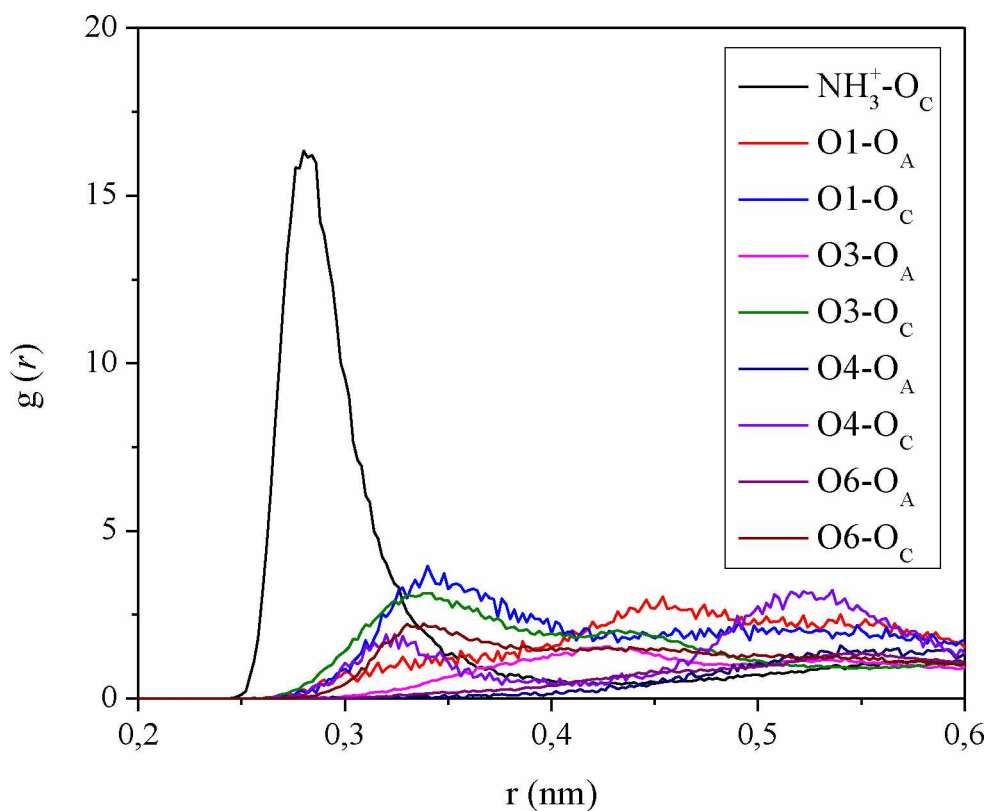
Fonte: OriginPro 8.5.0.

Analogamente à discussão anterior, é possível interpretar que existe uma diferença significativa de distribuição radial dos oxigênios dos triglicerídios ao redor dos quatro tipos de hidroxilas da quitosana, diferença atribuída a composição química ao redor de cada grupo.

Contudo, por não estarem normalizados em função da quantidade de átomos na quitosana, não é possível, e nem foco do trabalho, assinalar o melhor resultado entre eles.

Desta forma, todas as distribuições $Q_{OX}-T_{OY}$ foram comparadas com a distribuição mais provável da Figura 15, sendo o resultado apresentado na Figura 17.

FIGURA 17. Comparação entre a distribuição radial mais provável do par $\text{Q}_{\text{NX}}\text{-T}_{\text{OY}}$ e todos os pares $\text{Q}_{\text{OX}}\text{-T}_{\text{OY}}$ do sistema i (triestearina).



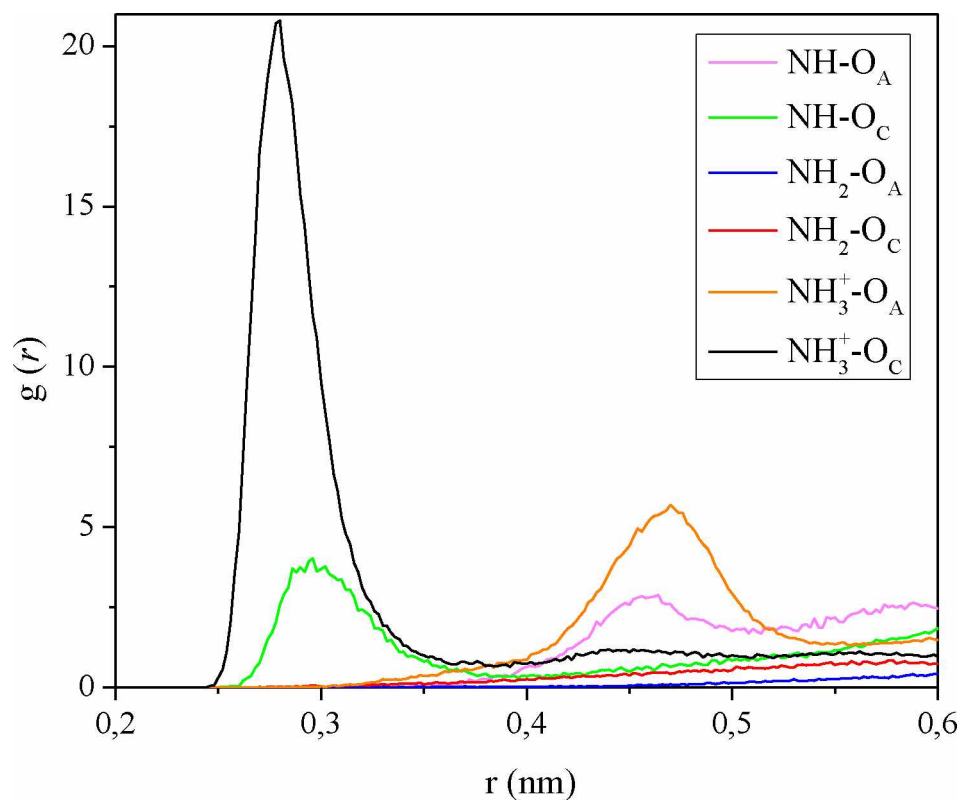
Fonte: OriginPro 8.5.0.

A análise da Figura 17, em conjunto com os rdf anteriores, permite atribuir ao grupo amino protonado ($-\text{NH}_3^+$), expressiva e qualitativamente, a maior distribuição radial dentre os possíveis grupos doadores de hidrogênio do modelo de quitosana utilizado.

Os sistemas ii (trioleína) e iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol) apresentaram resultados análogos ao sistema i (triestearina), atribuindo aos pares $-\text{NH}_3^+\text{-O}_\text{C}$ a maior distribuição radial.

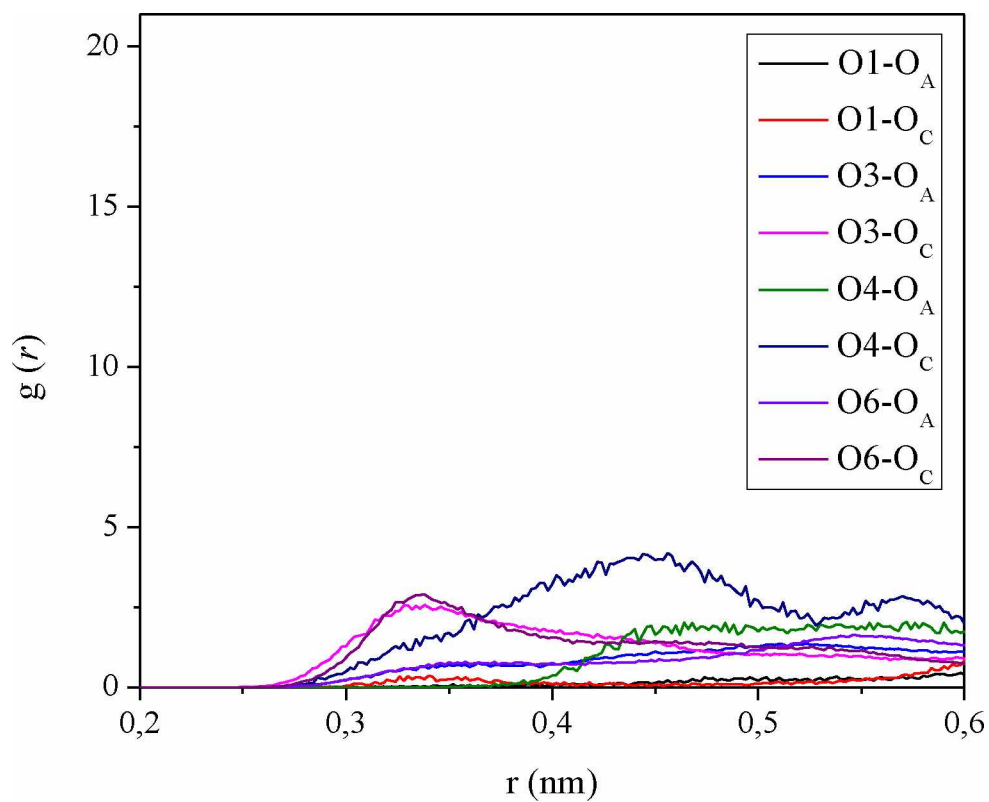
Os resultados de distribuição radial dos demais sistemas analisados são mostrados nas Figuras 18-23, mas não serão discutidos devido à equivalência.

FIGURA 18. Distribuição radial dos pares $Q_{NX}-T_{OY}$ do sistema ii (trioleína).



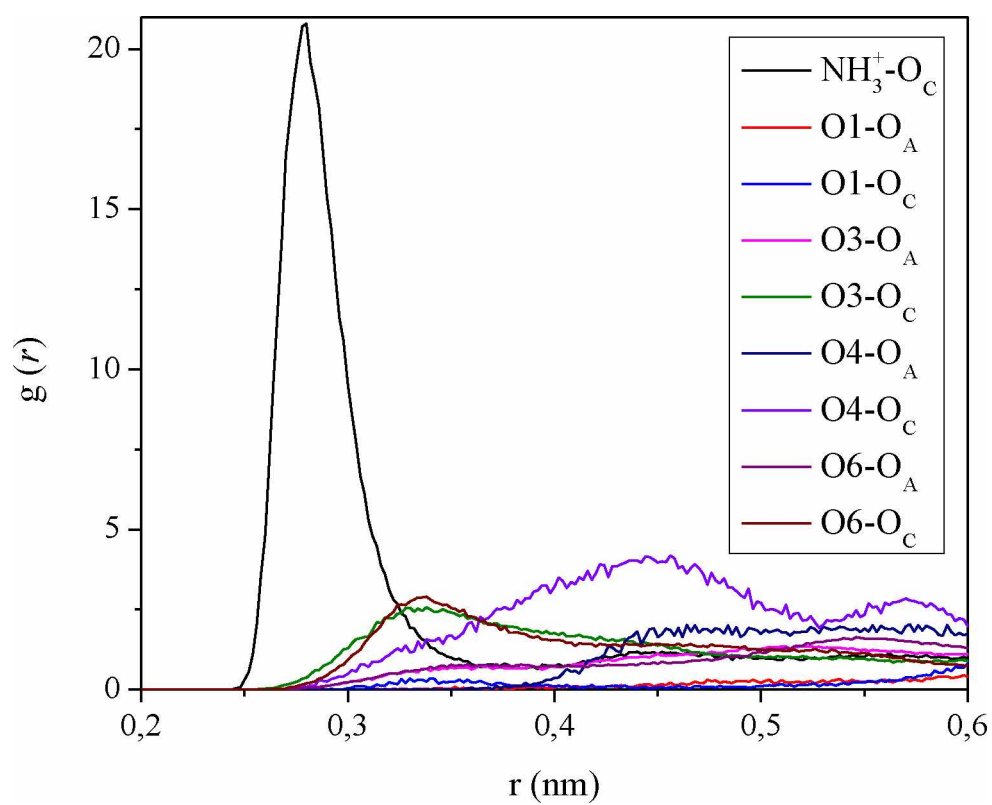
Fonte: OriginPro 8.5.0.

FIGURA 19. Distribuição radial dos pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema ii (trioleína)



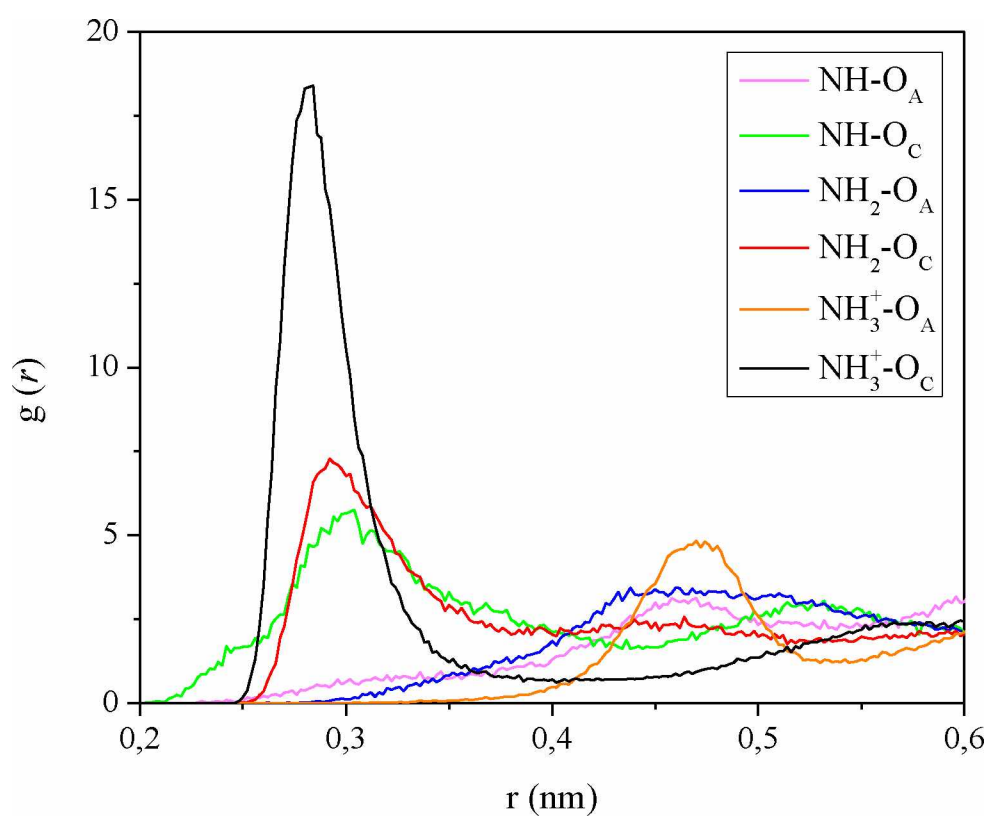
Fonte: OriginPro 8.5.0.

FIGURA 20. Comparação entre a distribuição radial mais provável do par $Q_{NX}-T_{OY}$ e todos os pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema ii (trioleína).



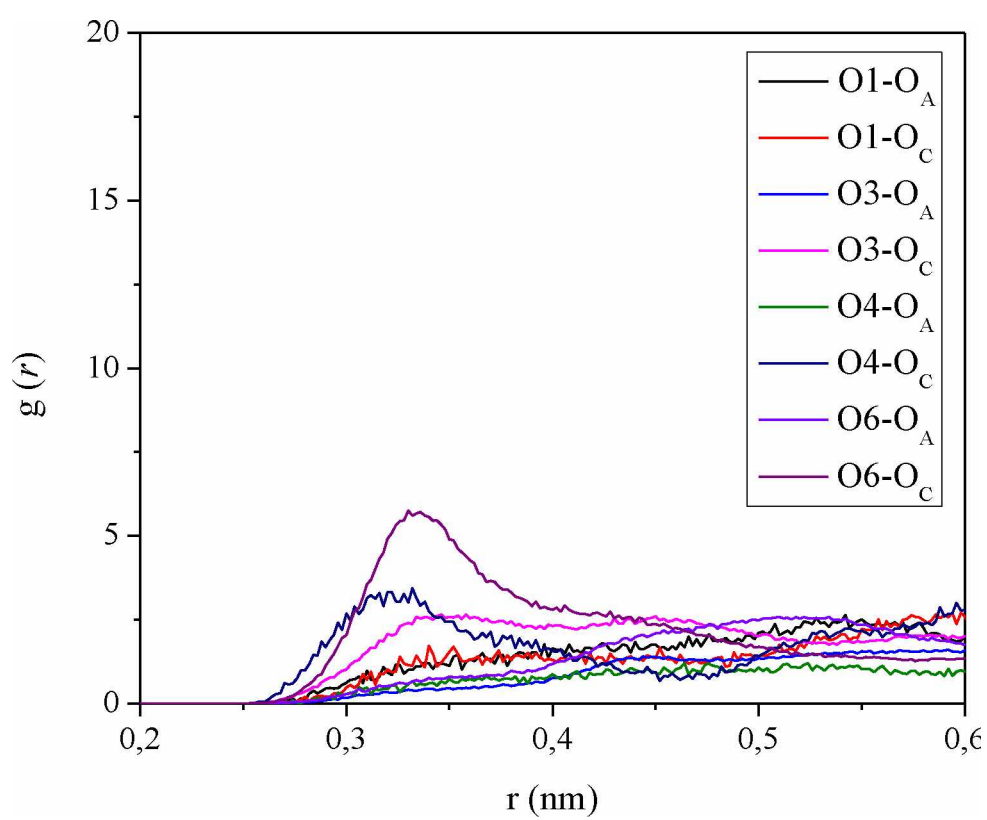
Fonte: OriginPro 8.5.0.

FIGURA 21. Distribuição radial dos pares Q_{NX-TOY} do sistema iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol)



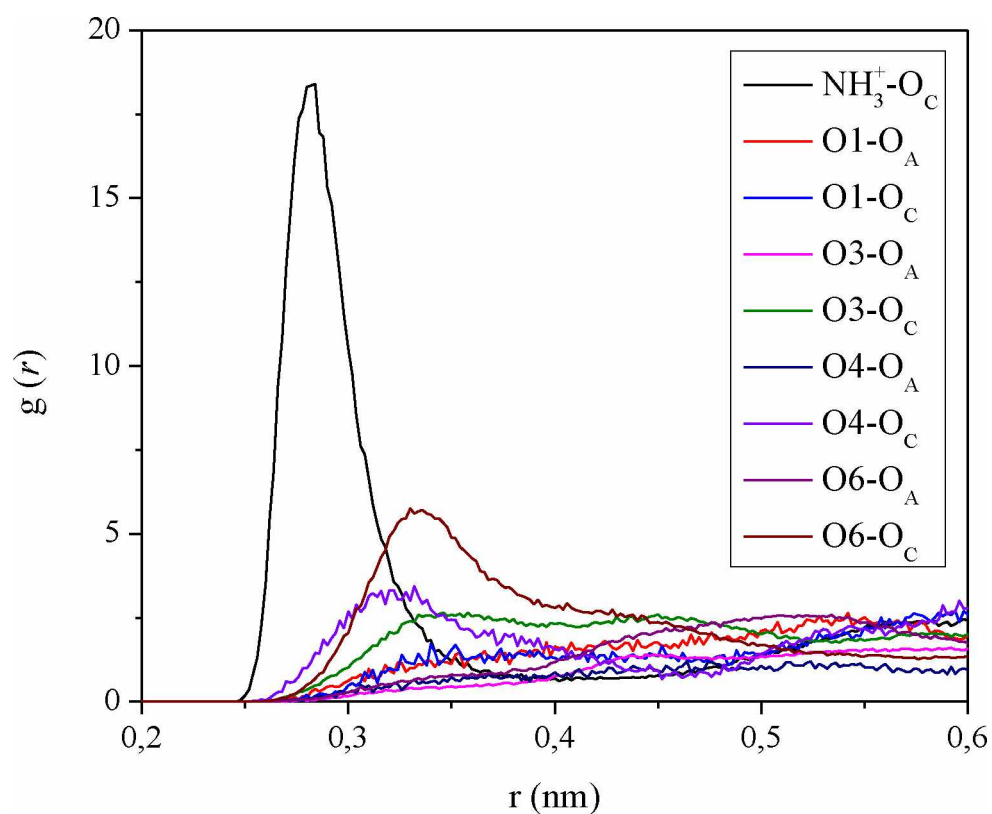
Fonte: OriginPro 8.5.0.

FIGURA 22. Distribuição radial dos pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol)



Fonte: OriginPro 8.5.0.

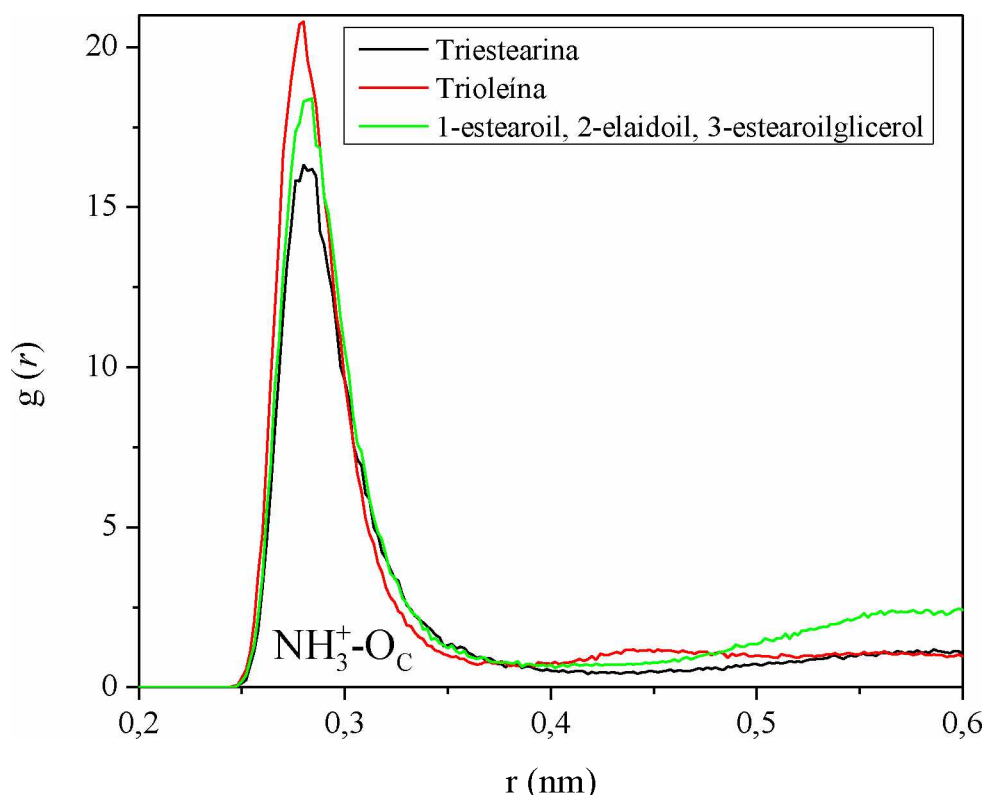
FIGURA 23. Comparação entre a distribuição radial mais provável do par $Q_{NX}-T_{OY}$ e todos os pares $Q_{OX}-T_{OY}$ do sistema iii (1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol).



Fonte: OriginPro 8.5.0.

A Figura 24 mostra a distribuição radial dos pares mais prováveis dos três sistemas analisados.

FIGURA 24. Distribuição radial dos pares mais prováveis dos sistemas i, ii e iii, respectivamente.



A partir dela, nota-se que o aumento do número de insaturações no sistema pode resultar em um aumento da distribuição radial dos oxigênios O_C ao redor do grupo NH_3^+ , haja visto que não há insaturações nos triglicerídios do sistema i, há 225 insaturações *cis* no sistema ii e, 75 *trans* no sistema iii.

Porém, como os triglicerídios não estavam juntos em um mesmo sistema, não é possível assegurar tal hipótese. A maior relevância do resultado obtido é mostrar que, em todos os sistemas, o par $\text{NH}_3^+-\text{O}_\text{C}$ apresentou a maior distribuição radial. Portanto, este é um bom indicativo de que as interações observadas experimentalmente entre quitosana e triglicerídios de reserva em condições intestinais se devem a interações de contato entre esses dois grupos funcionais.

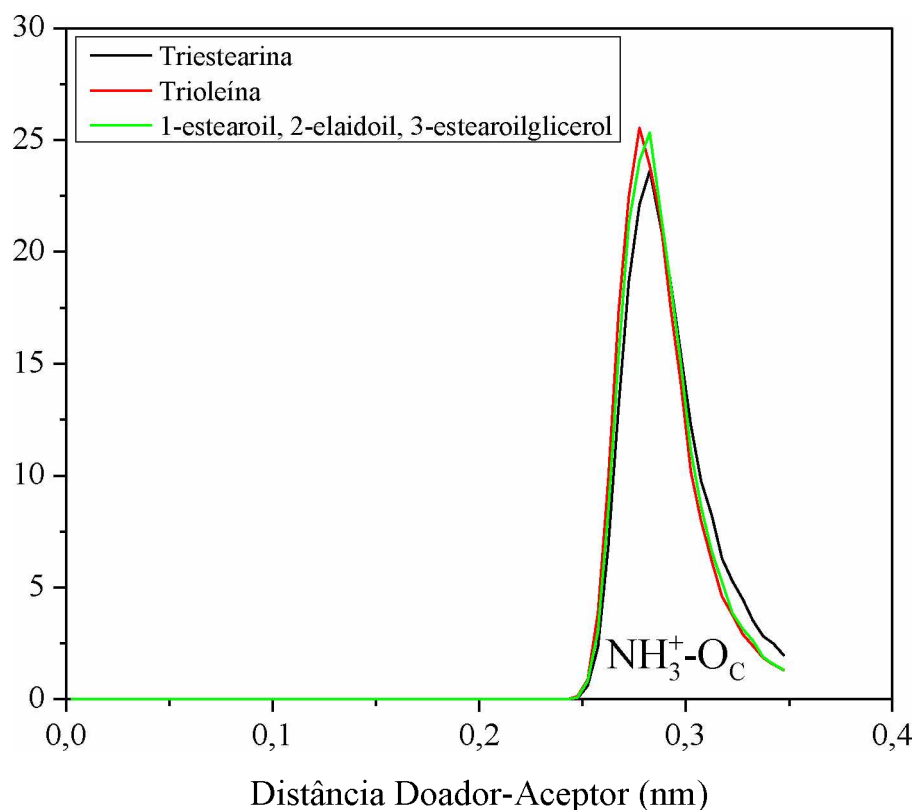
Apesar das diferenças de intensidade dos picos, todos apresentam um máximo de distribuição quando a distância entre as partículas analisadas é em torno de 0,28 nm.

De forma análoga ao cálculo da distribuição radial de pares, foi feito o cálculo de distribuição do número de ligações de hidrogênio. Neste caso, a análise se diferencia da anterior pois o *software* GROMACS utiliza critérios geométricos específicos para caracterizar a interação. Esses critérios são:

$$\begin{aligned} r &\leq 0,35 \text{ nm} \\ \alpha &\leq 30^\circ \end{aligned} \quad (9)$$

Sendo r e α a distância e o ângulo entre doador e aceptor de hidrogênios, respectivamente. Os valores 0,35 nm e 30° se originam da distribuição radial de pares do modelo de água *simple point-charge* [55]. O resultado é apresentado na Figura 25.

FIGURA 25. Distribuição de ligações de hidrogênio dos sistemas i, ii e iii, respectivamente.

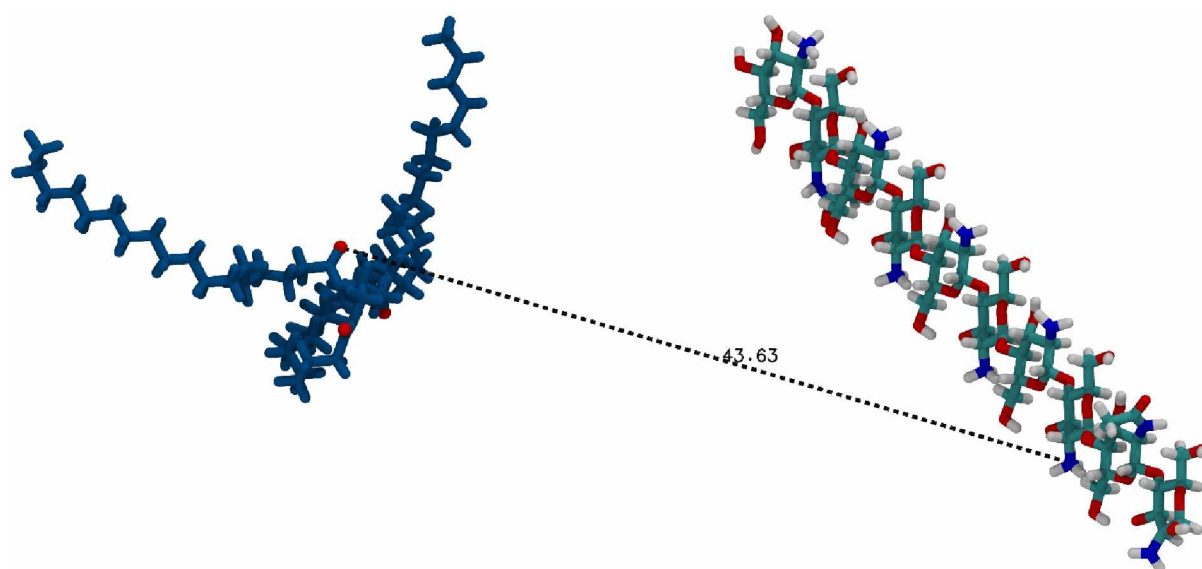


Os picos de máximo de distribuição do par $\text{NH}_3^+ - \text{O}_\text{C}$, dos sistemas triestearina, trioleína e 1-estearoil, 2-elaidoil, 3-estearoilglicerol, nas condições presentes na Equação (2), foram nas distâncias 0,283, 0,278 e 0,282 nm, respectivamente. Estes valores coincidem com o valor de máximo de 0,28 nm obtido pelo rdf, fortalecendo a hipótese de que a interação entre o par analisado é, de fato, uma ligação de hidrogênio.

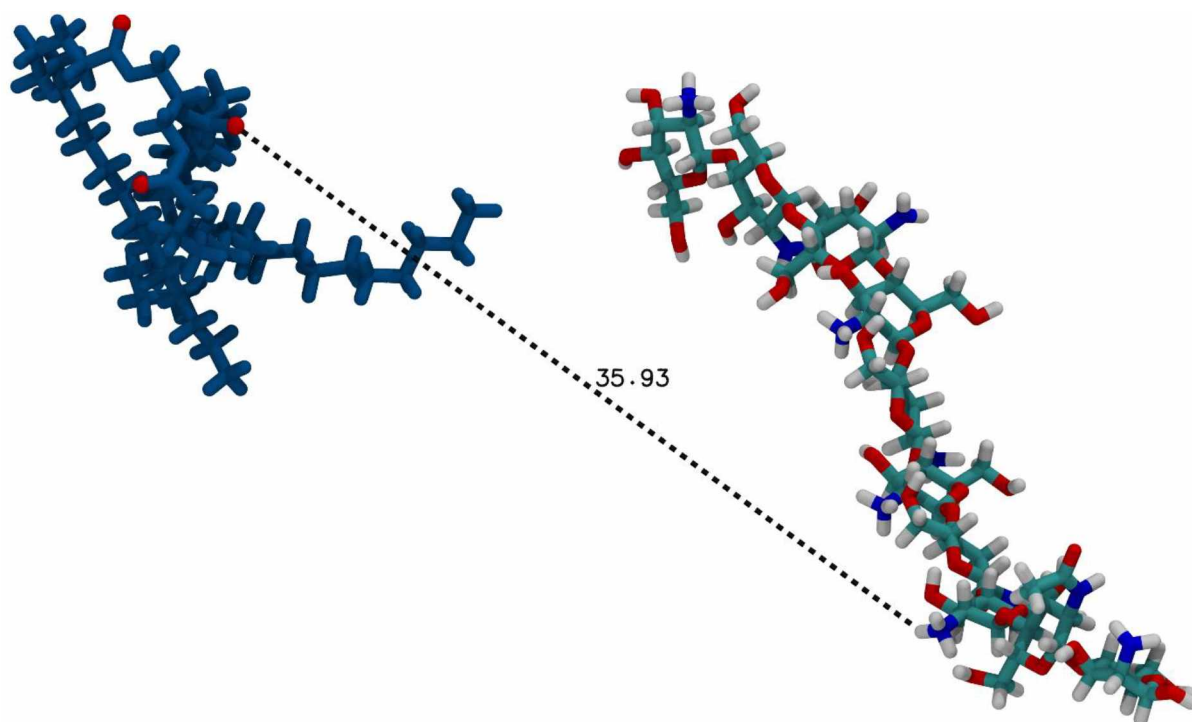
Esta interação pode ser visualizada ao longo da trajetória da DM na Figura 26, elucidando a aproximação do oxigênio da carbonila (O_C) dos triglicerídios (vermelho) ao grupo amino protonado (NH_3^+) ao longo dos primeiros 250 ps de simulação para o sistema i, sendo os demais sistemas análogos. As moléculas restantes de triglicerídios foram ocultadas para melhor

visualização do contato. Após este intervalo de tempo, a distância entre os grupos que mais interagem permanece constante.

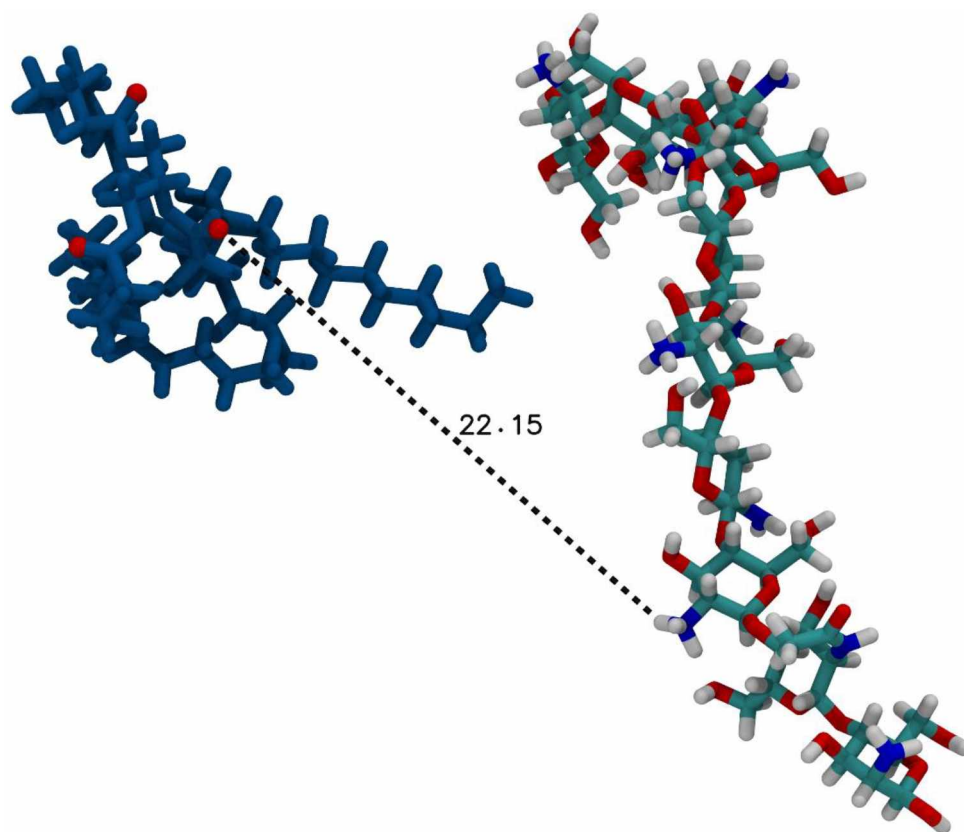
FIGURA 26. Snapshots do sistema i (triestearina) nos tempos 0, 50, 100, 200 e 250 ps, respectivamente, da trajetória de DM e suas respectivas distâncias interatômicas em nm.



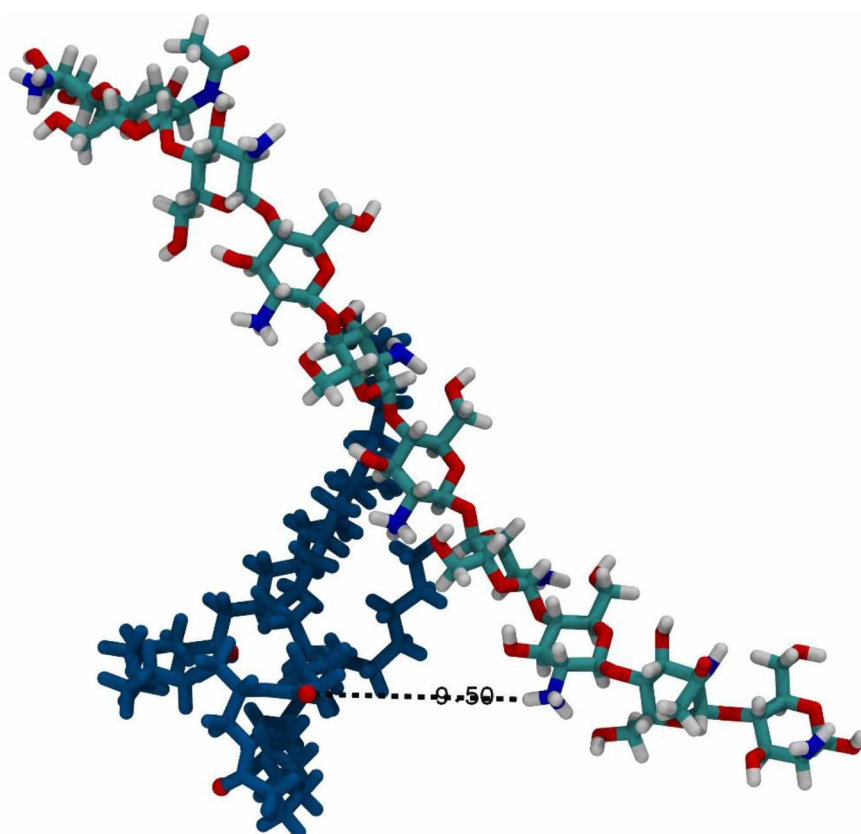
a) 4,363 nm.



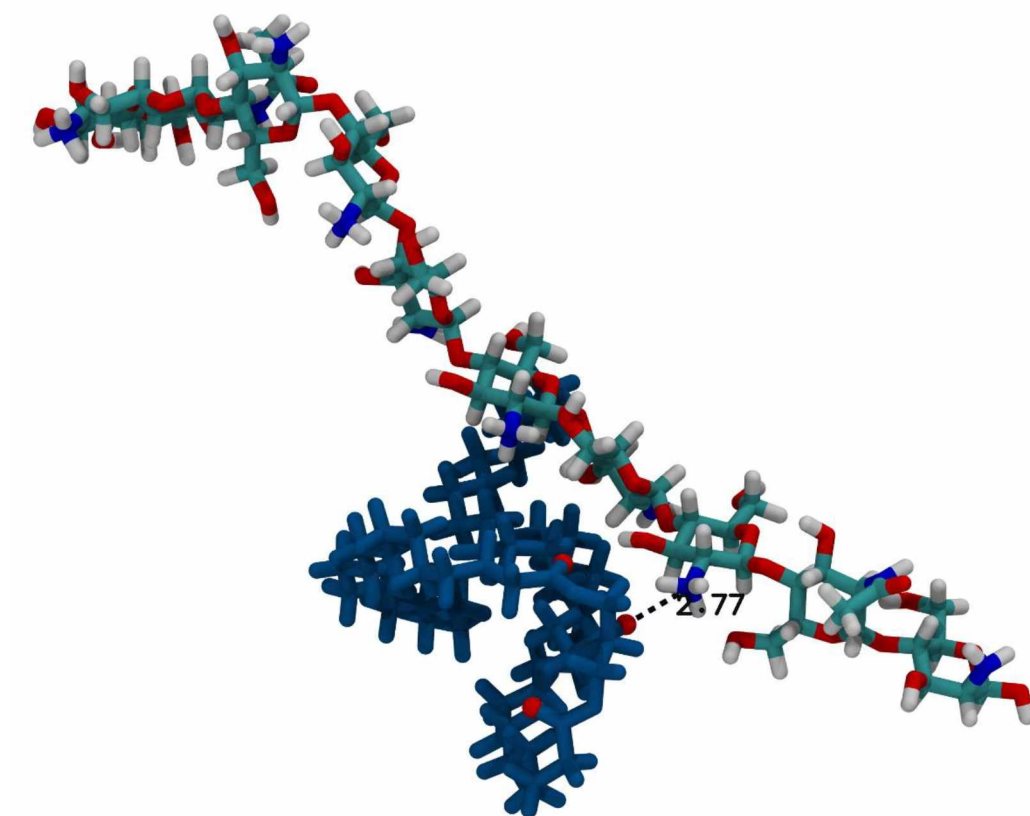
b) 3,593 nm.



c) 2,215 nm.



d) 0,950 nm.



e) 0,277 nm.

Fonte: Autor e VMD.

6. CONCLUSÕES

Através do estudo do comportamento da densidade dos triglicerídios puros em estado líquido, foi possível afirmar que os modelos parametrizados dessas gorduras no campo de força OPLS/AA reproduziram adequadamente o comportamento desses sistemas observado experimentalmente.

O estudo de interação dos sistemas triglicerídios-quitosana pela metodologia de DM, através da análise da distribuição radial de pares e de ligações de hidrogênio, possibilitou, com resultados correlacionados, atribuir ao grupo amino protonado (NH_3^+) da quitosana e ao oxigênio da carbonila (Oc) dos triglicerídios os sítios de maior interação. Isto sugere que interações não-ligadas sejam o mecanismo de adsorção observado experimentalmente entre estes sistemas, independente do grau de insaturação da gordura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PINHEIRO, A.R.O. et al. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. **Revista de Nutrição**; 17(4):523-533 (2004).
- [2] Organização Mundial da Saúde – OMS. Preventing noncommunicable diseases in the workplace through diet and physical activity. **WHO/World Economic Forum report of a joint event**. Geneva: OMS (2008);
- [3] MANCINI, M. C. Obstáculos Diagnósticos e Desafios Terapêuticos no Paciente Obeso. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. Vol. 45. Num. 6 (2001);
- [4] CHAVES, L. e NAVARRO, C. A. Compulsão Alimentar, Obesidade e Emagrecimento. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo v.5, n.27, p.110-120 (2011);
- [5] FLEMING, Ng, M., et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The Lancet**. Elsevier BV (2014);
- [6] VIGITEL – Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico – Ministério da Saúde. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_vigitel_2006_marco_2007.pdf (2006);
- [7] VIGITEL – Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico – Ministério da Saúde. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2017_vigilancia_fatores_riscos.pdf (2017);
- [8] McKinsey Global Institute. Overcoming obesity: An initial economic analysis. Discussion Paper, pp. 18 (2014);
- [9] IUPAC, *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the “Gold Book”) (1997). Versão corrigida online (2006–) “lipids”;
- [10] FAHY E. *et al.* Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. Supplement, pp. S9-S14 (2008);
- [11] SUBRAMANIAM S. *et al.* Bioinformatics and Systems Biology of the Lipidome. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, pp. 6452-6490 (2011);

- [12] MASHAGHI, S. et al. Lipid Nanotechnology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 2, pp. 4242-4282 (2013);
- [13] NELSON, D. L. e COX, M. M. Lehninger, Principles of Biochemistry. 6th ed. New York, N.Y.: W.H. Freeman, pp. 363;667-669 (2013);
- [14] LAMPE, M. A *et al.* Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. **Journal of Lipid Research**, v.24, n. 2, pp. 120–130 (1983);
- [15] ANGEL A., BRAY G. A. Synthesis of fatty acids and cholesterol by the liver, adipose tissue and intestinal mucosa from obese and control subjects. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 9, pp. 355-362 (1979);
- [16] THOMAS, A.; MATTHÄUS, B.; FIEBIG, H. Fats and Fatty Oils. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, pp. 1-84 (2015);
- [17] KLEIN, S.; A. ROMIJN, J. Williams Textbook of Endocrinology. 13 ed. Philadelphia: Elsevier, Inc., pp. 1638 (2016);
- [18] WADDEN, T. et al. Lifestyle Modification for Obesity: New Developments in Diet, Physical Activity and Behavior Therapy. **Circulation**, v. 125, n. 9, pp. 1157-1170 (2012);
- [19] NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults—the evidence report. **Obesity Research**, v. 6, pp. 51S–209S (1998);
- [20] WYATT, H. Update on Treatment Strategies for Obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 98, n. 4, pp. 1299-1306 (2013);
- [21] WALSH, A. et al. Multi-Functional Roles of Chitosan as a Potential Protective Agent against Obesity. **PloS ONE**, v. 8, n. 1, pp. e53828 (2013);
- [22] GADES, M.; STERN, J. Chitosan supplementation and fat absorption in men and women. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 105, n. 1, pp. 72-77 (2005);
- [23] TANG, W. et al. Chitin Is Endogenously Produced in Vertebrates. **Current Biology**, v. 25, n. 7, pp. 897-900 (2015);
- [24] RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, pp. 603-632 (2006);

- [25] DE QUEIROZ ANTONINO, R. et al. Preparation and Characterization of Chitosan Obtained from Shells of Shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Marine Drugs**, v. 15, n. 5, pp. 141 (2017);
- [26] ZHAO, Y.; PARK, R.; MUZZARELLI, R. Chitin Deacetylases: Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 8, n. 1, pp. 24-46, (2010);
- [27] TSAIH, M.L.; CHEN, R.H. The effect of reaction time and temperature during heterogenous alkali deacetylation on degree of deacetylation and molecular weight of resulting chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 88, pp. 2917–2923 (2003);
- [28] NO, L.H.K.; MEYERS, S.P. Application of chitosan for treatment of wastewaters. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 1, pp. 1–27 (2000);
- [29] VO, T.-S.; NG, D.-H.; KIM, S.-K. Cosmeceutical compounds from marine sources. Em “**Kirk-Othmer Chemical Technology of Cosmetics**”; Seidel, A., Bickford, M., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, pp. 483–499 (2013);
- [30] DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, pp. 981–1014 (2011);
- [31] SHARP, R.G. A Review of the Applications of Chitin and Its Derivatives in Agriculture to Modify Plant-Microbial Interactions and Improve Crop Yields. **Agronomy**, v. 3, pp. 757–793 (2013);
- [32] RODRÍGUEZ, M. S.; ALBERTENGO L. E., Interaction between Chitosan and Oil under Stomach and Duodenal Digestive Chemical Conditions. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 69 (11), pp. 2057-2062 (2005);
- [33] GLICKMAN, R. M., Oil absorption and malabsorption. Em “**The Role of Gastrointestinal Tract in Nutrient Delivery**”, eds. Green, M., and Green, H. L., Academic Press, Inc., Orlando, pp. 145-156, (1984);
- [34] LEACH, A. R. Molecular Modelling: Principles and Applications, Addison Wesley Longman Limited (2001);
- [35] LEVINE, I. N. Quantum Chemistry. New York, Prentice Hall (1991);
- [36] BURKET, U. F. & ALLINGER, N. L. Molecular Mechanics. Washington, DC, American Chemical Society, p. 177 (1982);

- [37] VAN DER SPOEL, D., et al. GROMACS: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, pp. 1701-1718 (2005);
- [38] VAN GUNSTEREN *et al.* Biomolecular Simulation: The GROMOS96 manual and user guide. Zürich, Switzerland: Hochschulverlag AG an der ETH Zürich (1996);
- [39] JORGENSEN, W. L., MAXWELL, D. S. and TIRADO-RIVES, J. Development and Testing of the OPLS All-Atoms Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 45, pp. 11225-11236 (1996);
- [40] CORNELL, W. D. *et al.* A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 19, pp. 5179–5197 (1995);
- [41] MACKERREL, A. D. JR., BANAVALI, N. AND FOLOPPE N. Development and Current Status of the CHARMM Force Field for Nucleic Acids. **Biopolymers**, v. 56, n. 4, pp. 257-265 (2001);
- [42] M.J. ABRAHAM, D. VAN DER SPOEL, E. LINDAHL, B. HESS, and the GROMACS development team, GROMACS User Manual version 2016.4, www.gromacs.org (2017);
- [43] HINCHLIFFE, A. Molecular Modelling for Beginners. Chichester, John Wiley & Sons (2003);
- [44] RAPAPORT, D. C. **The Art of Molecular Dynamics Simulation**. 2. Ed. Cambridge University Press (2004);
- [45] ALLEN, M. P. & TILDESLEY, D. J. Computer Simulation of Liquids. Oxford, Oxford University Press. 1987.
- [46] FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fats and fatty acids in human nutrition. Rome, Food and Nutrition Paper (2010);
- [47] RIOS, R. V., PESSANHA, M. D. F., ALMEIDA, P. F., VIANA, C. L. e LANNES, S. C. S. Application of fats in some food products. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, pp. 3-15 (2014);
- [48] HOCKNEY, R. W. The potential calculation and some applications. Em: B. Alder, S. Fernbach *et al.* (Ed.). **Methods in Computational Physics**. New York/London: Academic Press, v. 9 (1970);

- [49] BUSSI, G., DONADIO D. e PARRINELLO, M. Canonical sampling through velocity rescaling. **Journal of Chemical Physics**, v. 126, n. 1, pp. 014101-1-7 (2007);
- [50] PARRINELLO, M., RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics**, v. 52, pp. 7182-7190 (1981);
- [51] HESS, B., BEKKER, H., BERENDSEN, H. J. C., FRAAIJE, J. G. E. M. LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, pp. 1463-1472 (1997);
- [52] Origin(Pro), Version 8.5.0. OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA;
- [53] HUMPHREY, W., DALKE, A. e SCHULTEN, K. VMD – Visual Molecular Dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, 1996, v. 14.1, pp. 33-38;
- [54] JEFFREY, G. e SAENGER, W. Hydrogen bonding in biological structures. Ed. 1. Berlin: Springer, p.18 (1991)
- [55] BERENDSEN, H. J. C., POSTMA, J. P. M., VAN GUNSTEREN, W. F., HERMANS, J. Interactions models for water in relation to protein hydration. Em: **Intermolecular Forces**. PULLMAN, B. et. D. Ridel Publishing Company Dordrecht, pp. 331-342 (1981).