



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Química – Depto. de Físico-Química
Grupo de Química Teórica



Parâmetros de Carga para o Campo de Força e
Análise Estrutural do Aminoesteróide
Esqualamina

Jéferson Segalin
Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, fevereiro de 2008.

Jéferson Segalin
Dissertação de Mestrado

**Parâmetros de Carga para o Campo de Força e Análise
Estrutural do Aminoesteróide Esqualamina**

Dissertação de Mestrado Acadêmico
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul como
requisito parcial para obtenção do título
de Mestre.

Orientador:

Prof. Dr. Hubert K. Stassen

Co-Orientador:

Prof. Dr. Paulo F. B. Gonçalves

Porto Alegre, fevereiro de 2008.

Não sei como o mundo me vê, mas eu me sinto como um garotinho brincando na praia, contente em achar uma pedrinha lisa ou uma concha mais bonita, tendo sempre diante de mim, ainda por descobrir, o grande oceano da Verdade.

(Isaac Newton)

Que tenhamos coragem para mudar o que pode ser mudado; serenidade para aceitar o que ainda não pode ser mudado e a sabedoria para distinguir uma coisa da outra.

(Reinhold Niebuhr - modificação própria)

Agradecimentos

Ao orientador, Prof. Hubert K. Stassen, e ao co-orientador, Prof. Paulo F. B Gonçalves, por terem me dado todo suporte necessário para a realização desse trabalho e por terem me aceitado como aluno, mesmo sabendo da minha total inexperiência em Química Teórica quando ingressei no mestrado.

Ao Prof. Dr. Paulo Augusto Netz, por estar sempre prestativo e disposto a colaborar com sua ajuda sempre esclarecedora.

Ao Prof. Dr. Paolo Livotto, Raquel da Silva Leviski e demais colegas de laboratório: Leandro Greff, Alexandro Cardoso de Andrade, Jones Andrade, Melina Mottin.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil.

Resumo

A Esqualamina, primeiramente isolada do tubarão *Squalus acanthias*, é um aminoesteróide promissor para o desenvolvimento de novas drogas, como antibióticos, agentes para o tratamento de vários tipos de câncer e degeneração macular da retina.

O principal objetivo desse trabalho é propor um conjunto de cargas atômicas ajustadas para compor o campo de força utilizado em simulações por Dinâmica Molecular para essa molécula. Através de estruturas geradas com a Dinâmica Molecular, obtem-se as cargas atômicas por meio de cálculos quânticos, com metodologia do potencial eletrostático ChelpG. A análise estrutural da molécula revelou que no vácuo ela apresenta formato semelhante a um anel, enquanto que, em meio fisiológico, sua conformação é alterada para uma forma linear. Os resultados obtidos são apoiados pela análise de ligações de hidrogênio, Função de Distribuição Radial (RDF) e Desvios Quadráticos Médios (RMSD).

Abstract

Squalamine, initially isolated from *Squalus acanthias* shark, is an aminosterol promising in the development of new drugs, such as antibiotics, agents for the treatment of several kinds of cancer and retina macular degeneration.

The aim subject of this work is to propose an atomic charge set to be used in force field by Molecular Dynamics simulations for this molecule. Using structures generated by Molecular Dynamic, the atomic charges were obtained from quantum calculations, with the electrostatic potential methodology ChelpG. According to structural analysis, this molecule was revealed it has a ring shape in vaccum, whereas in physiological environment its conformation changes to linear form. The results obtained are supported by analysis of hydrogen bonds, Radial Distribution Function (RDF) and Root Mean Square Deviation (RMSD).

SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Fundamentação Teórica	2
2.1	A Esqualamina	2
2.2	Dinâmica Molecular	6
2.3	Parâmetros Utilizados na dinâmica Molecular	13
2.3.1	Minimização da Energia	13
2.3.2	Evolução Temporal – Algoritmo <i>Leap-frog</i> :	14
2.3.3	Interações Eletrostáticas de Longo Alcance	14
2.3.4	Condições Periódicas de Contorno	17
2.3.5	Lista de Vizinhos e Malha	18
2.3.6	Termostato	18
2.3.7	Barostato	19
2.4	Cálculo <i>Ab Initio</i>	20
2.5	Modelo Contínuo para Solvatação	25
3	Parte Experimental	27
3.1	Parâmetros Utilizados na simulação por Dinâmica Molecular	27
3.2	Estrutura da Molécula Estudada	28
3.3.	Metodologia Aplicada	30
4	Resultados e Discussões	36
4.1	Conjuntos de Cargas	36
4.1.1	Desvio Padrão dos Conjuntos de Cargas	40
4.1.2	Comparação Entre Cargas de Mulliken e ChpG	42
4.2	Cálculo <i>Ab Initio</i> das Cargas com a Molécula Solvatada	44
4.3	Ligações de Hidrogênio	45
4.4	Função de distribuição Radial	49
4.5	Desvio Quadrático Médio (<i>RMSD</i>)	79
5	Conclusões e Perspectivas Futuras	84

6	Referências Bibliográficas	85
7	Anexos	90
7.1	Anexo 1 - Esqualamina.itp	90
7.2	Anexo II – Arquivo de Parâmetro das Simulações Groamcs	96

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1 - Estrutura da Esqualamina (2).
- Fig. 2 - *Squalus acanthias*. Tubarão de onde a Esqualamina foi primeiramente extraída (4).
- Fig. 3 - Peixe infectado pelo parasita em que foi encontrada a molécula de Esqualamina (4).
- Fig. 4 - Peixe parasita *Petromyzon marinus* (4).
- Fig. 5 - Replicação da caixa nas condições periódicas de contorno em duas dimensões (17).
- Fig. 6 - Representação da caixa envolvendo a molécula de água para cálculo das cargas pelo potencial eletrostático ChelpG (23).
- Fig. 7 - Conformações diferentes para a molécula de etanol que produzem uma diferença de quase 30% nos cálculos das cargas com potencial eletrostático (25).
- Fig. 8 - Estrutura da Esqualamina utilizada no trabalho (28).
- Fig. 9 - Estrutura da Esqualamina sugerida pela referência 7 (29).
- Fig. 10 - Estrutura da Esqualamina sugerida pela referência 14 (29).
- Fig. 11 - Estrutura sugerida pela referência 12 (29).
- Fig. 12 - Otimização da Estrutura da Esqualamina no vácuo por método semi-empírico (AM1) (31).
- Fig. 13 a 22 - Estruturas usadas na obtenção do último conjunto de cargas (34 e 35).
- Fig. 23 - Estrutura com especificação dos átomos da molécula (36).
- Fig. 24 - Estrutura obtida após 1,2 ns de simulação com as cargas originais utilizada na obtenção do segundo conjunto de cargas (37).
- Fig. 25 - Critério geométrico para Ligação de Hidrogênio (46).
- Fig. 26 - Função de distribuição radial $[g(r)]$ para o par oxigênio-oxigênio do modelo de água SPC (46).
- Fig. 27 e 28 - Gráficos da distribuição das distâncias e distribuição dos ângulos para as ligações de hidrogênio das moléculas de solvente do sistema (47).
- Fig. 27 a 34 - Gráficos da distribuição das distâncias e distribuição dos ângulos para as ligações de hidrogênio de alguns grupos da molécula (47 e 48).
- Fig. 35 - Definição das fatias em $g(r)$ (49).
- Fig. 36 - RDF dos três oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água (50).
- Fig. 37 a 41 - Gráfico das Ligações de Hidrogênio dos oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água (51 a 53).
- Fig. 42 - RDF do enxofre do sulfato (S2) com os oxigênios das moléculas de água (54).
- Fig. 43 - RDF do oxigênio da hidroxila (O25) com hidrogênios das moléculas de água (55).
- Fig. 44 a 48 - Gráficos do número de ligações de hidrogênio e regressões lineares envolvendo oxigênio da hidroxila com as moléculas de solvente (56 a 58).
- Fig. 49 - RDF do hidrogênio da hidroxila (H26) com os oxigênios das moléculas de água (59).
- Fig. 50 a 54 - Gráficos do número de ligações de hidrogênio e regressões lineares envolvendo o hidrogênio da hidroxila com as moléculas de solvente (60 a 62).
- Fig. 55 - RDF dos hidrogênios H36 e H37 com os oxigênios das moléculas de água (63).

Fig. 56 a 60 - Gráficos do número de ligações de hidrogênio e regressões lineares envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 35 (64 a 66).

Fig. 61 - RDF dos hidrogênios H42 e H43 com os oxigênios das moléculas de água (67)

Fig. 62 a 66 - Gráficos do número de ligações de hidrogênio e regressões lineares envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 (68 a 70).

Fig. 67 - RDF dos hidrogênios H49, H50 e H51 com os oxigênios da água (71).

Fig. 68 a 72 - Gráficos do número de ligações de hidrogênio e regressões lineares envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48. (72 a 74).

Fig. 73 - RDF do oxigênio ligado ao sulfato (O5) com os hidrogênios da água (75).

Fig. 74 a 78 - Gráficos dos números de ligações de hidrogênio e regressões lineares envolvendo o oxigênio (O5), com os hidrogênios da molécula de água (76 a 78).

Fig. 79 - Estrutura inicial da simulação para verificar a abertura do anel (79).

Fig. 80 - Estrutura final após os 500 ps de simulação a partir da estrutura aberta (80).

Fig. 81 - Vista lateral da estrutura após 500 ps de simulação para verificar a abertura do anel (80).

Fig. 82 - RMSD com a estrutura inicial de referência da fig. 79 (forma fechada) (81).

Fig. 83 - Ampliação dos primeiros 20 ps utilizando como referência a forma fechada (81).

Fig. 84 - RMSD que compara a trajetória com a estrutura final da simulação (referência) (82).

Fig. 85- Ampliação dos 20 primeiros ps utilizando a estrutura aberta como referência (82).

Fig. 86 - Ampliação dos últimos 20 ps utilizando a estrutura aberta como referência (83).

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Atividade antimicrobiana da Esqualamina e algumas outras substâncias (3).

Tabela II - Comparação da carga parcial do átomo de oxigênio na molécula de água e momento de dipolo resultante calculado no nível de teoria Hartree-Fock (24).

Tabela III - Comparação da carga parcial do átomo de oxigênio na molécula de água e momento de dipolo resultante calculado no nível de teoria B3LYP .(24).

Tabela IV - Valores das média das cargas obtidas (38).

Tabela V – Desvios padrões das Cargas.(40).

Tabela VI - Cargas do potencial eletrostático ChelpG e Mulliken (42).

Tabela VII - Cargas com efeito da solvatação (44).

LISTA DE ABREVIATURAS

- DM - Dinâmica Molecular.
PC - Fosfatidilcolina (do inglês, *phosphatidylcholine*).
PG - Fosfatidilglicerol (do inglês, *phosphatidylglycerol*).
POPG - Palmitoiloleoilfosfatidilglicerol (do inglês, *palmitoyloleoylphosphatidylglycerol*).
ATP - Adenosina trifosfato.
PME - do inglês, *particle-mesh Ewald*.
HF - *Hartree-Fock*.
DFT - Teoria do Funcional de Densidade (do inglês, *Density Functional Theory*).
SPC - do inglês, *Simple Point charge*.
ChelpG - do inglês, *Charges from Electrostatic Potentials Using a Grid Based Method*.
PCM - do inglês, *Polarizable Continuum Model*.
IPCM - do Inglês, *Isodensity Polarizable Continuum Model*.
RHF - *Hartree-Fock* de camada restrita.
UHF - *Hartree-fock* de camada irrestrita.
RDF - do inglês, *Radial Distribution Function*.
RMSD - do inglês, *Root Mean Square Deviation*.

1. INTRODUÇÃO

A computação alcançou uma enorme importância nas mais diversas áreas de pesquisa científica. Seu nível atual de desenvolvimento é suficientemente aprimorado a ponto de permitir experimentos *in silico*, ou seja, muitas pesquisas podem ser conduzidas sem a necessidade das rotinas convencionais de laboratório. Atualmente, podemos utilizar em alguns casos, apenas métodos computacionais para obtenção de resultados com acurada confiabilidade.

As refinadas técnicas computacionais de Modelagem e Dinâmica Molecular permitiram um enorme avanço na compreensão de processos químicos e biológicos em escala atômica e molecular, bem como o entendimento e aprimoramento de estudos empíricos. Com as simulações dinâmicas, obtemos as flutuações das posições relativas dos átomos de um sistema em função do tempo. Os resultados gerados em nível microscópico permitem o entendimento de fenômenos e características pontuais do sistema, ou ainda, a obtenção de propriedades macroscópicas quando se faz uso da análise estatística, permitindo a interconexão entre esses dois níveis.

Esse trabalho tem como objetivo fazer uma análise conformacional da molécula da Esqualamina e propor as cargas do campo de força para ser utilizado em simulações por Dinâmica Molecular (DM). Essa parametrização tem por finalidade futuros estudos teóricos da interação dessa molécula com membranas que podem ajudar a elucidar os mecanismos de ação, relativos à atividade biológica apresentada pela Esqualamina. Essa molécula foi escolhida por três fatores principais: primeiro, em virtude de sua semelhança com o colesterol, molécula de grande importância biológica e objeto de inúmeros estudos na área da Química Teórica; segundo, em vista de apresentar grande potencial no desenvolvimento de fármacos, em vista de sua atividade biológica; e terceiro, por não existir na literatura um campo de força disponível para simulação por Dinâmica Molecular.

Para o desenvolvimento desse trabalho foi necessário utilizar vários programas específicos. Nas simulações de DM foi utilizado o pacote de programas denominados Gromacs (*Gröningen Machine for Chemical Simulations*)^(1, 2). O software foi desenvolvido por pesquisadores do departamento de Química-Biofísica da Universidade de Groningen, na Holanda. São dois os principais motivos para escolha deste programa: por seguir a filosofia de software livre, ou seja, sem custos para o usuário, e o mais importante, em vista que as rotinas em *assembler* são usadas em partes do programa que são limitantes na velocidade, e sendo escritas em *assembler*, permitem que o programa usufrua de instruções programadas

diretamente na CPU, do tipo "on-chip", proporcionando elevada performance, desde que não estejamos considerando processamento em paralelo em redes *fast-ethernet*. Isso confere ao programa alta velocidade de computação, característica fundamental para diminuição do custo computacional das simulações.

Por si só, a simulação de Dinâmica Molecular fornece diretamente pouca informação. O pacote Gromacs inclui um grande conjunto de outros programas de análise desses dados gerados. Os cálculos quânticos para determinação das cargas atômicas foram realizados com o programa Gaussian98⁽³⁾. Os outros programas utilizados no decorrer do trabalho foram Prodr⁽⁴⁾, Molekel⁽⁵⁾ e VMD⁽⁶⁾, sendo os dois últimos, usados apenas para visualização e geração de figuras.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. A ESQUALAMINA

Como aminoesteróide, escolheu-se a Esqualamina - (3 β -N-1-{N-[3-(4-aminobutil)]-1,3-diaminopropano}-7 α , 24R-dihidroxi-5 α -colestano-24-sulfato)⁽⁷⁾ - uma molécula derivada do colesterol e com carga total +2. A forma ionizada da Esqualamina está representada na figura 1.

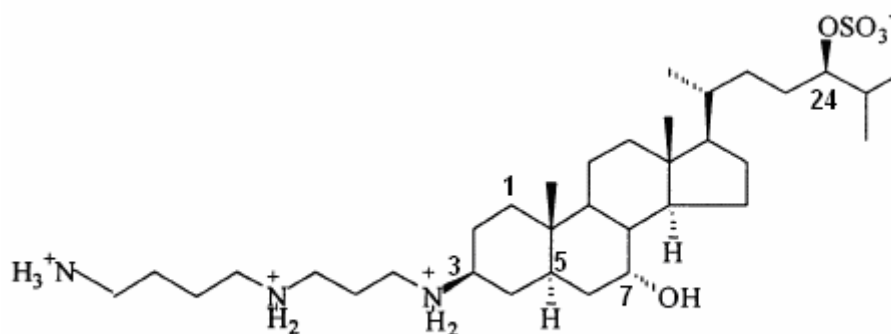


Fig. 1: Estrutura da Esqualamina – Os números indicam as posições segundo recomendação da IUPAC.

A semelhança entre a Esqualamina e o colesterol representa um dos motivos para essa escolha. O colesterol é muito importante na estabilização das membranas. Moléculas com estrutura semelhante podem ter efeito similar, ou, em outras vezes, efeito contrário, promovendo sua desestabilização. O outro motivo está relacionado com recentes trabalhos de aplicações da molécula na área médica. Pesquisas utilizando Esqualamina e análogos

mostram-se promissoras no tratamento de pacientes com câncer (especialmente como inibidora da angiogênese), degeneração macular da retina, malária, asma, doença de Chagas além de apresentar grande atividade antimicrobiana^(7, 8, 9, 10, 11). A Esqualamina, além de possuir significativa atividade tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-Negativas, apresenta propriedades fungicidas e aplicações contra protozoários^(7, 12).

Os estudos sobre sua estrutura mostraram que ela se trata de uma incomum junção da espermidina (uma poliamina) com um sal biliar aniônico intermediário, que possui estrutura semelhante ao colesterol. Separadamente, essas moléculas não possuem uma atividade biológica bactericida significativa. A atividade antibiótica resulta do sinergismo entre essas duas estruturas⁽⁷⁾. A tabela I compara a atividade antimicrobiana da Esqualamina com algumas outras substâncias. Quanto menor o valor da concentração mínima inibidora, maior é a eficiência no combate aos microorganismos.

Tabela I - Atividade antimicrobiana da Esqualamina e algumas outras substâncias⁽⁷⁾.

AMOSTRA	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA - MÍNIMA CONCENTRAÇÃO INIBIDORA (micrograma / mL)							
	<i>E. coli</i> (25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	<i>Streptococcus faecalis</i> (29212)	<i>Proteus vulgaris</i> (13315)	<i>Serratia marcescens</i> (8100)	<i>Candida albicans</i> (14053)	<i>Paramecium caudatum</i>
ESQUALAMINA	1-2	4-8	1-2	1-2	4-8	>125	4-8	4-8
CHAPS	>500	>500	>500	250-500	>500	>500	>500	>260
ÁCIDO TAUROLITOCÓLICO								
3-SULFATO	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>260
ESPERMIDINA	>500	>500	>500	250-500	>500	>500	>500	>260
MELITINA	8-16	16-31	8-16	4-16	16-31	>250	16-31	2-4
MEGANINA-2-AMINA	31-62	31-62	>250	>250	125-250	>250	125-250	33-65
CPF - AMINA	8-16	8-31	8-16	31-62	62-125	>125	62-125	4-8
COHESSINA	>500	>500	>500	>500	>500	>500	31-62	16-33
HOLOTURINA	>500	>500	>500	>250	>500	>500	>500	130-260
AMPICILINA	2-4	62-125	<1	<0.25	8-16	4-62	>125	>65

A presença do substituinte amina no anel do esteróide é de fundamental importância para a atividade antibiótica. A potência e espectro de ação antibiótica possuem uma certa dependência da posição e da natureza da hidroxila e do grupo amino substituintes. Em particular, a adição de grupos amino no carbono C-3 (numeração da figura 1) do anel originado do colesterol, melhora a ação antibiótica⁽⁷⁾.

A Esqualamina foi isolada do tubarão *Squalus acanthias* (dogfish shark), representado na figura 2, no ano de 1993. Em seu fígado está presente numa quantidade de 0,001 a 0,002% de sua massa⁽⁸⁾. Além dos locais onde os sais da bile são sintetizados e armazenados, a molécula pode ser encontrada em outros órgãos dessa espécie, como estômago e intestino⁽⁷⁾.

A presença da Esqualamina nos vários tecidos deste tubarão leva à especulação que ela possa servir como um agente antimicrobiano sistêmico nesse animal⁽⁷⁾, mas ainda faltam evidências para suportar essa especulação.



Fig.2. *Squalus acanthias*. Tubarão de onde a Esqualamina foi primeiramente extraída.

Em 2007, foi divulgado que a Esqualamina foi encontrada em um peixe marinho parasita, chamado *Petromyzon marinus*, mostrado nas figuras 3 e 4 abaixo⁽¹³⁾:



Fig. 3. Peixe infectado pelo parasita em que foi encontrada a molécula de Esqualamina.



Fig. 4. Peixe parasita *Petromyzon marinus*.

A molécula foi encontrada na membrana plasmática dos glóbulos brancos do sangue, sugerindo que ela possui papel importante no sistema imunológico contra microorganismos invasores⁽¹³⁾.

Embora o mecanismo de ação bactericida da Esqualamina não seja bem conhecido, alguns estudos sugerem que a ação deva acontecer junto à membrana⁽¹²⁾. Um grande número de aminoesteróides análogos já foram sintetizados e suas atividades antimicrobianas testadas.

Embora a Esqualamina permaneça como o agente mais ativo, muitos compostos similares também exibem significativa atividade. A estrutura mínima requerida parece ser o anel do esteróide (ou outra cadeia similar hidrofóbica) com um substituinte em que esteja presente o grupo amina, além de algum tipo de carga ou grupo polar (ácido carboxílico ou sulfato) como segundo substituinte⁽¹⁴⁾. A atividade antimicrobiana é modificada pela natureza desses substituintes, tal como tamanho, carga e estrutura da amina ou poliamina, e pela adição de substituintes hidroxil nos anéis do esteróide. A atividade possui maior relação com a presença desses requisitos do que propriamente com uma localização precisa⁽¹⁴⁾.

Experimentalmente tem sido mostrado que a Esqualamina reconhece membranas fosfolipídicas carregadas negativamente⁽⁹⁾. Quando adicionada externamente a vesículas fosfolipídicas pré-formadas (constituídas de fosfolipídio neutro, PC, e negativos, PG e POPG), ocorre o escape de marcadores fluorescentes colocados no interior da vesícula. Defeitos de aproximadamente 2 nm de diâmetro são formados na vesícula pela presença da Esqualamina. Com base em experimentos, foi proposto um modelo para explicar a atividade biológica pela sua interação com as membranas fosfolipídicas dos microorganismos, formando agregados Esqualamina/fosfolipídio⁽¹⁴⁾. Esses agregados desestabilizam a membrana e formam defeitos, permitindo o deslocamento de substâncias através da membrana. Quando esses defeitos persistem, a célula perde recursos necessários para sua manutenção e morre⁽¹⁴⁾.

Alguns estudos^(15, 16) sugeriram a ação pela formação de poros iônicos na membrana aniônica. Os poros dissipariam o gradiente de prótons através da membrana da bactéria incapacitando a sua síntese de ATP, resultando em sua morte. Porém, outros estudos⁽¹⁴⁾ posteriores, não encontraram na Esqualamina capacidade para formação de poros iônicos em inúmeros testes sob diversas condições, embora esta capacidade tenha sido encontrada em moléculas análogas. Isso sugere que pequenas diferenças na estrutura do aminoesteróide conduzem a uma mudança na sua forma de interação com as membranas. Podem existir múltiplos mecanismos para a atividade antimicrobiana ou, ainda, pode existir um mecanismo ainda não conhecido⁽¹⁴⁾.

A Esqualamina tem-se mostrado um potente esteróide anti-angiogênico em muitos ensaios *in vitro* e *in vivo*^(17, 18). A formação de novos vasos sanguíneos, originados de outros preexistentes, é necessária para o crescimento de tumores e aparecimento de metástase^(18, 19, 20). Os testes clínicos encontram-se na fase III para tratamento de pacientes com câncer de pulmão e ovário. A Esqualamina acumula-se dentro das células endoteliais e se concentra em torno do núcleo juntamente com receptores de trombina, sugerindo que ela acumula-se dentro

do compartimento endossomal. Os seus efeitos antitumorais parecem ser resultado do bloqueio da proliferação da mitose e migração de células endoteliais⁽¹⁷⁾.

Atualmente, a molécula, além de poder ser extraída de tecidos do tubarão *Squalus acanthias*, pode ser obtida em laboratório segundo várias rotas sintéticas propostas^(21, 22, 23, 24, 25).

2.2 DINÂMICA MOLECULAR

Uma simulação por dinâmica molecular consiste em resolver as equações do movimento de Newton, ou seja, usa-se uma metodologia baseada na mecânica clássica para descrever o movimento dos átomos. Para um sistema de N partículas interagindo, temos:

$$\vec{F}_i = m_i \frac{\partial^2 \vec{r}_i}{\partial t^2} \quad (1)$$

Na qual:

$i = 1, 2, \dots, N$.

F_i é a força agindo sobre a partícula i ;

m_i é a massa da partícula i ;

r_i a posição da partícula i no tempo t .

As forças são representadas pela derivada negativa da função de potencial $V(r_1, r_2, \dots, r_N)$.

$$\vec{F}_i = -\frac{dV}{d\vec{r}_i} \quad (2)$$

Essas equações são resolvidas simultaneamente em sucessivos e pequenos intervalos de tempo. Na evolução temporal do sistema, as coordenadas das partículas são registradas em cada um desses intervalos, resultando na trajetória do sistema. Com tratamento estatístico desses dados, inúmeras propriedades macroscópicas podem ser obtidas.

Campo de Força

Nas simulações por Dinâmica Molecular, o sistema é descrito pela sua energia potencial.

Um Campo de Força contém dois componentes distintos:

- 1º. O conjunto de equações usado para gerar as energias potenciais;
- 2º. Os parâmetros usados nesse conjunto de equações.

A energia do campo de força é escrita como uma soma de termos, cada um descrevendo a energia requerida para distorcer a molécula em um modo específico. Essa energia pode ser representada por:

$$E_{CF} = E_{\beta} + E_{\theta} + E_{\omega} + E_{\varphi} + E_{vdw} + E_{el} + E_{acopl} \quad (3)$$

Na qual:

E_{CF} é a energia do campo de força (energia potencial);

E_{β} é função de energia potencial para estiramento da ligação entre dois átomos,

E_{θ} representa a energia necessária para alterar (deformar) um certo ângulo formado por 3 átomos;

E_{ω} é o termo do potencial para alterar um certo ângulo entre dois planos formados por um átomo central ligado a outros três átomos (diedro impróprio);

E_{φ} é a energia torcional para uma rotação em torno de uma ligação (diedro próprio);

E_{vdw} (Energia de van der Waals) e E_{el} . (energia eletrostática) descrevem as interações entre átomos não diretamente ligados;

E_{acopl} descreve a interdependência ou acoplamento entre os primeiros três termos.

Uma conformação molecular estável corresponde ao mínimo da superfície de energia potencial, que pode ser localizado pela minimização de E_{CF} como uma função das coordenadas nucleares.

Termo da Energia Potencial de Ligação

Descreve a interação entre dois átomos ligados, representando o movimento vibracional entre os pares através de um potencial harmônico. Esse termo pode ser escrito como:

$$E_{\beta} = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N k_{\beta n} (r_n - r_{on})^2 \quad (4)$$

Na qual:

N é o número total de pares de átomos ligados;

$K_{\beta n}$ é a constante de força de cada um dos n pares;

r_n é a distância entre os átomos que constituem cada par;

r_{on} o comprimento de equilíbrio da ligação entre os pares.

Termo da Energia Potencial Angular

Descreve a energia necessária para deformar um determinado ângulo composto por três átomos ligados em seqüência.

$$E_{\theta} = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N k_{\theta n} (\theta_n - \theta_{on})^2 \quad (5)$$

Em que N é a quantidade total de trios de átomos;

k_{θ} é a constante de força do ângulo;

θ_n é o ângulo;

θ_{on} ângulo de equilíbrio.

Energia Potencial dos Diedros Impróprios

Termo que envolve quatro átomos não ligados sequencialmente. Considera-se um átomo central ligado aos outros três, formando dois planos com um certo ângulo entre si. O ângulo entre esse planos varia harmonicamente.

Esse termo pode ser escrito como:

$$E_{\omega} = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N k_{\omega n} (\omega_n - \omega_{\omega n})^2 \quad (6)$$

Em que N é o numero total de diedros impróprios;

$K_{\omega n}$ é a constante de força angular do diedro impróprio;

ω_n representa o ângulo do diedro impróprio;

$\omega_{\omega n}$ é o ângulo de equilíbrio.

Termo da Energia Potencial Torcional

Esse termo se referente aos diedros próprios, que são constituídos por quatro átomos em seqüência. Os 3 primeiros átomos formariam um plano com um certo ângulo entre outro plano formado pelos 3 últimos. Estes ângulos podem assumir posições preferenciais, associadas às possíveis configurações que o conjunto de átomos pode adquirir, como *cis(Z)*, *trans(E)*, *gauche*. Esse potencial não é harmônico, mas periódico, e pode ser descrito por:

$$E_{\varphi} = \sum_{n=1}^N k_{\varphi n} [1 + \cos(m_n \varphi_n - \delta_n)] \quad (7)$$

Na qual:

N é o número de diedros próprios;

$k_{\varphi n}$ é a constante de torção;

m_n a multiplicidade de mínimos;

φ_n a variação angular do diedro;

δ_n ângulo de diferença de fase.

Termo da Energia van der Waals

Junto com o termo de energia eletrostática, descreve a interação entre os átomos não-ligados. Essas interações podem ser tanto intramoleculares quanto intermoleculares. Como o termo E_{vdW} representa forças de curto alcance, em grandes distâncias interatômicas elas são consideradas igual a zero, e, para pequenas distâncias, tornam-se bastante repulsivas. Como

ilustração pictórica, podemos dizer que a atração é devido à indução pelas interações dipolo induzido-dipolo induzido⁽²⁶⁾.

O potencial de *Lennard-Jones* é um dos modelos mais utilizados em Dinâmica Molecular para tratamento dessa interação. Trata-se de um potencial de curto alcance com um termo repulsivo, originado no fato de que dois elétrons não podem compartilhar os mesmos números quânticos, e um atrativo, com origem nos dipolos oscilantes oriundos das flutuações das nuvens eletrônicas. Este termo é representado por:

$$E_{vdW} = \sum_{i < j}^{N'} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \quad (8)$$

Na qual:

r_{ij} é a distância entre os pares de átomos;

A_{ij} e B_{ij} são termos que dependem de quais são os pares de átomos.

Considerando um átomo i , computa-se sua energia com os átomos j de um total de N' , pois se excluem os seus primeiros e segundos vizinhos ligados, pois são tratados pelos potenciais anteriores.

Energia Potencial Eletrostática

A outra parcela da interação entre átomos não ligados é devida à distribuição interna dos elétrons, criando partes positivas e negativas na molécula. Normalmente, as cargas eletrônicas podem ser tratadas com parâmetros de ajuste análogos às constantes de *van der Waals*. Porém podem ser utilizados métodos baseados na estrutura eletrônica^(26, 27). Para tratamento dessa parcela da energia normalmente utiliza-se o potencial de *Coulomb*.

A expressão que representa esse potencial e descreve as interações entre cargas pontuais simples é dada por:

$$E_{el} = \sum_{i < j}^{N'} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r_{ij}} \quad (9)$$

Na qual:

q_i e q_j representam as cargas para os átomos i e j ;

r_{ij} é a distância entre os átomos i e j ;

ϵ é a constante dielétrica do meio;

ϵ_0 , a permissividade do vácuo.

Considerando um átomo i , computa-se sua interação com os átomos j de um total de N' , pois se excluem os seus primeiros e segundos vizinhos ligados, podendo se tratar a interação com os terceiros vizinhos através de uma constante. Para um par de partículas, as interações, tanto *van der Waals* quanto eletrostáticas, diminuem à medida que a separação aumenta. Buscando uma diminuição no custo computacional, cria-se uma esfera, com um determinado raio, denominado raio de corte. Os cálculos dessas interações somente são computados para os átomos não-ligados contidos nessa região. Para os átomos situados além desse raio, especialmente para o eletrostático, em vista que o potencial de *van der Waals* ser de curto alcance, podem ser aplicadas metodologias com uso de Função Suavizante (*switch*), ou uso de potencial constante. Porém, os mais utilizados são os métodos baseados nas Somas de *Ewald* e suas modificações (PME - *Particle Mesh Ewald* e SPME - *Smooth Particle Mesh Ewald*)^(28, 29) que visam diminuir o custo computacional sem prejudicar os resultados.

Termo de Acoplamento Entre os Potenciais dos Átomos Ligados.

Os potenciais de estiramento, deformação e torcionais são influenciados mutuamente e simultaneamente um pelo outro. Esse termo trata a interdependência entre esses potenciais. Os 6 primeiros termos da expressão $E_{CF} = E_{\beta} + E_{\theta} + E_{\omega} + E_{\varphi} + E_{vdw} + E_{el} + E_{acop}$ são comuns em todos campos de força, porém, o último termo, E_{acopl} , não é (ainda) comumente utilizado,

pois sua implementação gera um alto custo computacional, aumentando muito o tempo de simulação.

Como foi descrito anteriormente na eq. (2), a força é expressada por:

$$\vec{F}_i = -\frac{dV}{d\vec{r}_i}$$

Usando para cálculo do potencial total V a expressão (3):

$$E_{CF} = E_{\beta} + E_{\theta} + E_{\omega} + E_{\varphi} + E_{vdw} + E_{el} + E_{acopl}$$

que, expandindo-se os termos, se obtém:

$$E_{CF} = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N k_{\beta n} (r_n - r_{on})^2 + \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N k_{\theta n} (\theta_n - \theta_{on})^2 + \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N k_{\omega n} (\omega_n - \omega_{on})^2 + \sum_{n=1}^N k_{\varphi n} [1 + \cos(m_n \varphi_n - \delta_n)] + \sum_{i<j}^{N'} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + \sum_{i<j}^{N'} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (10)$$

As simulações por Dinâmica Molecular consistem na resolução das equações acima em função do tempo. Atualmente existem muitos campos de força em uso, que diferem entre si por três aspectos principais: a forma de cada termo de energia, o número de termos de acoplamento incluídos e pelo tipo de informação usada para ajuste dos parâmetros.

Nesse trabalho utilizou-se o campo de força Gromos96⁽³⁰⁾ com parametrização 53A6⁽³¹⁾. Esse campo baseia-se na simplificação *united atom*, que não trata os hidrogênios ligados a átomos de carbono alifático de forma explícita. Essa aproximação reduz o número de variáveis por um fator entre 2 e 3, facilitando sua implementação em sistemas com tamanho considerável.

2.3 PARÂMETROS UTILIZADOS NA DINÂMICA MOLECULAR

2.3.1 Minimização da Energia

Antes de iniciar a simulação por Dinâmica Molecular propriamente dita, é necessário efetuar uma minimização da energia, especialmente quando se efetua alguma modificação no sistema. Essas alterações podem ser uma solvatação, inserção de íons, alteração de temperatura ou modificação dos demais parâmetros da simulação.

O objetivo da minimização é remover qualquer tensão local para impedir a existência de forças demasiadamente grandes, que provocariam um valor elevado na aceleração e velocidade local, implicando em grandes deslocamentos das partículas do sistema, não satisfazendo as condições para a simulação.

Algoritmo *Steepest Descent*

Esse algoritmo não é o mais eficiente para a minimização da energia, porém é robusto e de fácil implementação. Por isso, é muito utilizado em sistemas que não apresentam maiores dificuldades de relaxação. A minimização avança na direção do gradiente negativo (na direção da força), sem consideração com o histórico dos passos anteriores. Possui dois problemas principais: dois passos subsequentes devem ter uma direção perpendicular um do outro. Isso faz com que a busca do mínimo não ocorra, necessariamente, na direção mais adequada, fazendo que a procura oscile ao redor do caminho do mínimo; quando o processo se aproxima desse mínimo, a velocidade de convergência fica muito lenta, e quanto mais próximo, mais lento o avanço⁽²⁶⁾.

Após um primeiro cálculo das forças e energia Potencial do sistema, as novas posições são calculadas por:

$$r_{n+1} = r_n + \frac{F_n}{\max(|F_n|)} h_n \quad (11)$$

Na qual h_n é o máximo afastamento, e F_n é a força ou o gradiente negativo do potencial V . A notação $\max(|F|)$ é o maior valor absoluto dos componentes de força.

As energias e forças são novamente computadas para as novas posições.

Se ($V_{n+1} < V_n$) as novas posições são aceitas e $h_{n+1} = 1.2h_n$

Se ($V_{n+1} \geq V_n$) as novas posições são rejeitadas e $h_n = 0.2h_n$

Em vista do problema de convergência, usa-se algum critério para interromper a minimização, como, por exemplo, um determinado número de passos ou uma certa diferença de energia entre dois passos sucessivos. Se a mudança de energia (ou força) calculada entre esses dois passos for menor que essa diferença estabelecida, encerra-se a minimização.

2.3.2 Evolução Temporal – Algoritmo *Leap-frog*:

Para a integração da equação do movimento, o pacote Gromacs utiliza uma variante do algoritmo de *Verlet*^(27, 32), denominado *Leap-Frog*^(27,32). Esse algoritmo utiliza posições r em um tempo t e velocidades v em um tempo $t - \Delta t/2$, atualizando, assim, posições e velocidades, usando a força $F(t)$ determinada pela posição no tempo t , conforme as equações:

$$v\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = v\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right) + \frac{F(t)}{m} \Delta t \quad (12)$$

$$r(t + \Delta t) = r(t) + v\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) \Delta t \quad (13)$$

Esse algoritmo conduz a resultados equivalentes a outros, como ao *Verlet* original e *Velocity-Verlet*. Suas principais características são a conservação do momento e da energia total do sistema, mesmo utilizando passos de integração relativamente longos, e sua alta reversibilidade no tempo. Em virtude de sua alta performance, é um dos mais empregados em sistemas poliatômicos.

2.3.3 Interações Eletrostáticas de Longo Alcance

Muitos métodos utilizados para o cálculo das interações eletrostáticas de sistemas periódicos estão fundamentados nas Somas de *Ewald*. A distribuição das densidades de cargas no sistema $\rho(r_i)$ é representada por:

$$\rho(r_i) = \sum_{i \neq j_{0,0,0}}^N q_i \delta(r_i - r) \quad (14)$$

Na qual q_i é a carga pontual;

δ refere-se a função que representa as cargas pontuais.

Nessa metodologia, utilizam-se funções gaussianas com origem nas mesmas coordenadas da função original δ , de tal maneira que a sua integral seja igual às cargas no ponto em questão, mas com sinal invertido. Dessa forma, representamos as cargas pontuais por funções de densidade de cargas. A utilização de cargas não-pontuais impossibilita o cálculo das interações pelo potencial de *Coulomb*, pois este só é aplicado para cargas pontuais. Assim, escreve-se o potencial eletrostático que é representado por quatro contribuições:

$$U_{elet} = U_{direto} + U_{reciproco} - U_{AI} + U_{sup} \quad (15)$$

Na qual:

U_{direto} corresponde a um termo de curta distância, com rápida convergência no espaço real;

$U_{reciproco}$ corresponde ao termo de longa distância no espaço recíproco;

U_{AI} corresponde ao termo de auto-interação (desconta a interação de uma partícula com suas imagens periódicas).

U_{sup} corresponde ao termo de correção de superfície.

Este último termo é incluído tendo em vista que a energia potencial do sistema depende do meio circundante. Por exemplo, um sistema circundado por um bom condutor metálico, possui uma energia potencial diferente daquela que o mesmo sistema teria se fosse circundado pelo vácuo (diferentes constantes dielétricas).

A relação entre esses dois potenciais é dada por:

$$U_{condutor} = U_{vacuo} - U_{sup} \quad (16)$$

O termo correspondente ao U_{sup} é dado por:

$$U_{sup} = \frac{2\pi}{3L^3} \left| \sum_{i=1}^N z_i r_i \right|^2 \quad (17)$$

Na qual:

z_i corresponde à carga;

r_i , à distância;

L , ao tamanho do sistema de simulação.

Cabe ressaltar que o termo U_{sup} não contribui de forma muito significativa com o potencial eletrostático total.

Utilizando as Somas de *Ewald*, a avaliação da energia de interação eletrostática de um sistema com N partículas normalmente implica em um problema computacional de ordem N^2 . Com ajustes e otimização de parâmetros, o problema torna-se de ordem $N^{3/2}$. A maior parte do custo computacional é devido ao termo recíproco do potencial eletrostático, tornando inviáveis as simulações de sistemas muito grandes.

O Gromacs pode tratar as interações de longo alcance com o método PME ^(28,29) (*particle-mesh Ewald*), que está baseado na interpolação da Soma de *Ewald* no espaço recíproco e na avaliação da convolução dos resultados usando Transformada Rápida de *Fourier*. Com o uso da metodologia PME (ou SPME – *Smooth Particle Mesh Ewald*) para o tratamento das interações eletrostáticas, o custo computacional fica reduzido ao um problema $N \times \log(N)$, sem prejuízo na precisão dos resultados obtidos.

Estas metodologias apresentam uma proposta de divisão do termo recíproco do potencial (decaimento lento) em duas parcelas de decaimento rápido. Faz-se uma interpolação desse termo de forma que as cargas pontuais que definem $\rho(r)$ são removidas de suas posições originais e projetadas em diversas componentes de uma rede fixa. Dessa forma, o potencial eletrostático fica representado por

$$\rho_{mesh}(R) = \frac{1}{h} \int_0^L W(R-r)\rho(r)dr \quad (18)$$

Na qual R refere-se às posições discretas geradas na rede;

W representa a função de interpolação da densidade da carga;

L , o tamanho da caixa em cada uma das três dimensões;

h , o espaçamento entre os pontos da rede.

A melhora da velocidade de cálculo está na possibilidade do uso dessa rede com coordenadas espaciais e distribuição de cargas conhecidas, tornando possível a utilização de transformada Rápida de *Fourier* em três dimensões, com custo computacional proporcional à $N \log(N)$.

2.3.4 Condições Periódicas de Contorno

Considerando uma simulação por Dinâmica Molecular de um sistema macroscópico (na ordem de 10^{23} a 10^{24} partículas), devemos especificar na ordem de 10^{23} condições iniciais que descrevem o sistema. Além disso, para cada uma das N partículas, temos que calcular 3 componentes de momento e 3 componentes de força, o que torna a simulação impraticável em vista do custo computacional envolvido.

Para contornar esse problema, procedemos a simulação de um sistema microscópico, constituído por um número muito menor de componentes. Definem-se os limites desse sistema pela inserção do mesmo no interior de uma caixa com dimensões adequadas. Para minimizar os efeitos de se trabalhar com um sistema finito (delimitado pelas paredes da caixa), podemos replicar essa caixa em todas as direções, conforme representado na figura 5.

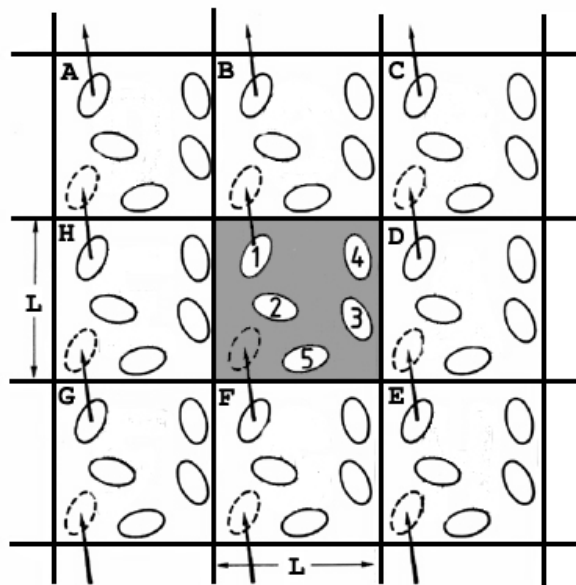


Fig. 5. Replicação da caixa nas condições periódicas de contorno em duas dimensões. Quando uma partícula abandona uma das caixas, outra idêntica entra em seu lugar.

Replicação da caixa para eliminação dos efeitos de fronteira

Para manter o número de partículas constante, quando uma certa partícula chega na parede da caixa e passa para a seguinte, ao mesmo tempo, essa caixa que perdeu a partícula recebe outra idêntica, que entra pela face oposta com mesma direção e velocidade.

O uso da periodicidade da caixa implica na definição de um raio de corte de tal forma que uma determinada partícula do sistema não possa sentir os efeitos da presença de sua imagem periódica.

2.3.5 Lista de Vizinhos e Malha

O cálculo das interações eletrostáticas e *van der Waals* para os pares não-ligados é responsável pela maior parte do custo computacional em uma simulação por DM. Para facilitar e aumentar a velocidade no reconhecimento dos pares usados no cálculo das interações, utiliza-se uma lista de vizinhos.

Podemos identificar átomos vizinhos contabilizando todos os pares possíveis do sistema que implica num custo computacional da ordem N^2 ou, entre outros métodos, com o uso de uma malha (*grid*). Utilizando essa malha, a caixa é dividida em subunidades, onde se determina quais átomos se encontram no interior de cada uma dessas subunidades. Dessa forma, os pares de átomos vizinhos são facilmente reconhecidos. Essa metodologia tem um custo computacional proporcional a N . Assim, os pares de átomos vizinhos são disponibilizados em uma lista. Esta lista é utilizada para o cálculo das interações e sua frequência de atualização é normalmente entre 5 a 20 passos.

Aqui também usamos um raio de corte para que sejam computados apenas os átomos que estiverem a um raio menor ou igual ao raio de corte. Porém, com a evolução temporal do sistema, átomos entram e saem da região de corte estabelecida. Para evitar erros nos cálculos das energias ocasionados por esse deslocamento, determina-se uma distância além do raio de corte para que os átomos que estejam nessa faixa de transição constem na lista de vizinhos e sejam levados em consideração nos cálculos das interações.

2.3.6 Termostato

Durante uma simulação, devemos controlar a temperatura do sistema em vista da possibilidade de aquecimento devido a forças externas ou de fricção, além de flutuações originadas no processo de equilíbrio ou eventuais erros de integração. Nesse trabalho utilizou-se o termostato de *Berendsen*⁽³³⁾. Se ocorrer um desvio na temperatura T_o do sistema, esse algoritmo corrige lentamente de acordo com a expressão:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{T_0 - T}{\tau} \quad (19)$$

O desvio da temperatura que o sistema sofre decai exponencialmente com uma constante de tempo igual a τ . A vantagem desse método é que a rigidez do controle da temperatura pode ser variada e adaptada segundo as necessidades do usuário. O fluxo de calor para fora ou para dentro do sistema é efetuado escalando-se as velocidades de cada partícula em cada passo com um fator λ dependente do tempo e dado por:

$$\lambda = \left[1 + \frac{\Delta t}{\tau_T} \left\{ \frac{T_0}{T(t - \frac{\Delta t}{2})} - 1 \right\} \right]^{1/2} \quad (20)$$

O parâmetro τ_T não é exatamente igual à constante de tempo τ , mas apresenta valor próximo e é dado por:

$$\tau = \frac{2C_V \tau_T}{N_{lib} k} \quad (21)$$

Na qual C_V é a capacidade calorífica total do sistema, k é a constante de *Boltzmann* e N_{lib} é o número total de graus de liberdade. A divergência ocorre em virtude da mudança de energia cinética causada pelo escalonamento das velocidades é redistribuída entre energia Potencial e Cinética.

2.3.7 Barostato

O controle da pressão do sistema pode ser feito pelo uso de barostato. Nesse trabalho usou-se o algoritmo de *Berendsen*⁽³³⁾. Esse algoritmo altera as coordenadas e o tamanho do sistema (caixa) a cada passo com uma matriz μ . A pressão do sistema relaxa com uma cinética de primeira ordem em direção a uma pressão de referência.

$$\frac{dP}{dt} = \frac{P_o - P}{\tau_p} \quad (22)$$

Na qual P_0 é a pressão de referência e τ_p é o tempo característico do sistema (tempo de relaxação).

A matriz μ que ajusta a pressão do sistema é dada por:

$$\mu_{ij} = \delta_{ij} - \frac{\Delta t}{3\tau_p} \beta_{ij} [P_{oij} - P_{ij}(t)] \quad (23)$$

Na qual β é compressibilidade isotérmica do sistema e τ_p é o tempo característico do sistema (tempo de relaxação).

2.4 CÁLCULO *AB INITIO*

Encontrar e descrever soluções aproximadas para a equação de Schrödinger tem sido uma das principais preocupações na Química Quântica desde o desenvolvimento da Mecânica Quântica. A aproximação Hartree-Fock normalmente constitui o primeiro passo em direção a aproximações mais precisas para o tratamento da equação de Schrödinger. Esta metodologia descreve a função de onda, que pode ser usada para descrever o estado fundamental de um sistema de N-elétrons, por um único determinante de Slater formado por um conjunto de spins orbitais (χ), conforme a equação:

$$|\Psi_0\rangle = |\chi_1 \chi_2 \dots \chi_a \chi_b \dots \chi_N\rangle \quad (24)$$

De acordo com o principio variacional, os spins orbitais mais adequados são aqueles que minimizam a energia eletrônica, conforme a equação 25:

$$E_0 = \langle \Psi_0 | H | \Psi_0 \rangle \quad (25)$$

Na qual H representa o Hamiltoniano.

Introduzindo-se o uso do operador de Fock, a equação de Hartree-Fock (HF) pode ser escrita como:

$$f|\chi_a\rangle = \varepsilon_a|\chi_a\rangle \quad (26)$$

Na qual f é o operador de Fock e ε_a , a energia do spin-orbital χ_a .

A equação de HF é resolvida por procedimentos iterativos. Acha-se f , substitui-se na equação de HF, volta-se para o cálculo de f , até se encontrar um valor auto-consistente, ou seja, até encontrar em 2 ciclos uma diferença menor que um certo valor determinado.

O método de Hartree-Fock origina uma energia maior que a exata. Este método gera soluções para a equação de Schrödinger onde a real interação elétron-elétron é trocada por uma média de interações. Com o uso de uma base sofisticada, a função de onda HF contabiliza aproximadamente 99% da energia total. O restante (aproximadamente 1%), frequentemente também é importante na descrição de fenômenos químicos⁽²⁶⁾. A diferença entre a energia HF e a mais baixa possibilidade energética que o sistema pode assumir é denominada de energia de correlação eletrônica. Esta parcela da energia pode ser tratada com o uso de DFT (do inglês, *Density Functional Theory*). As DFT baseiam-se na determinação da energia como funcional da densidade eletrônica. Existem inúmeras metodologias que incorporam de alguma forma a correlação eletrônica. Nesse trabalho foi empregado a DFT denominada de B3LYP, funcional híbrido que utiliza o funcional de Becke com inclusão de 3 parâmetros empíricos de ajuste. Além disso, incorpora os funcionais de correlação de Lee, Yang e Parr. Atualmente, essa metodologia é um dos métodos de DFT mais empregados, em vista do excelente desempenho quando aplicado a uma enorme variedade de sistemas, apresentando ‘um custo computacional baixo em relação a algumas outras técnicas de DFT.

Cálculos das Cargas

As interações eletrostáticas são de fundamental importância na descrição de um sistema simulado por Dinâmica Molecular; por isso, o emprego de um conjunto de cargas atômicas adequadas se faz necessário.

Ao contrário de muitas outras propriedades moleculares, as cargas parciais em cada átomo não podem ser medidas experimentalmente de forma direta. Os formalismos mais utilizados para cálculo de cargas atômicas pontuais são os métodos semi-empíricos e cálculos

ab initio^(34, 35, 36, 37, 38, 39), que tratam os elétrons de um sistema químico pelos fundamentos da Mecânica Quântica. Na prática, aproximações (como a de Born-Oppenheimer) se fazem necessárias para contornar a complexidade dos cálculos que envolvem as funções de onda que descrevem os elétrons.

A escolha da base (funções que descrevem os elétrons) deve ser avaliada com cuidado, pois os valores das cargas sofrem grandes flutuações em função do seu formalismo. Para se obter os primeiros conjuntos de cargas e para se ter uma idéia do tempo computacional necessário, os primeiros cálculos empregaram o nível de teoria RHF 3-21G^(34, 35). Posteriormente aprimorou-se os cálculos pelo uso de um formalismo RHF 6-31++G(d,p)^(34, 35). A base 6-31++G(d,p), além de utilizar três gaussianas para descrever os elétrons externos e uma gaussianas para descrever os elétrons não tão externos (indicado pelo 31 da representação 6-31 da base), utiliza uma combinação linear de seis Gaussianas primitivas em cada camada interna dos orbitais atômicos e adiciona um conjunto de seis funções Gaussianas Cartesianas de polarização tipo *d* ($3d_{xx}$, $3d_{yy}$, $3d_{zz}$, $3d_{xy}$, $3d_{yz}$ e $3d_{zx}$) para cada átomo que não for hidrogênio (indicado pelo *d* da descrição da base) e acrescenta um conjunto de três funções Gaussianas de polarização do tipo *p* em cada átomo de hidrogênio (indicado pelo “*p*”). Além disso, usa quatro funções difusas (*s*, p_x , p_y e p_z) sobre cada átomo diferente de hidrogênio (indicado pelo primeiro sinal de “+”) e inclui uma função difusa do tipo *s* sobre cada átomo de hidrogênio (indicado pelo segundo sinal de “+”).

A escolha desse nível de formalismo da base se justifica pela necessidade de obter bons resultados nas cargas e pelo fato da molécula apresentar sítios com cargas explícitas, tanto negativa quanto positiva, além de hidrogênios polarizados. Essa escolha também é coerente com a presença de átomo de enxofre e com o modelo de água SPC (do inglês, *simple point charge*), utilizado nas simulações de Dinâmica Molecular deste trabalho.

As cargas pontuais podem ser avaliadas de diversas formas, como pela análise de população eletrônica dos orbitais (como cargas de *Mulliken*) ou métodos baseados no ajuste do potencial eletrostático circundante à molécula. As cargas calculadas pelo potencial eletrostático são menos sensíveis à mudança de base que as cargas de *Mulliken*, mas possuem maior dependência com a conformação molecular. Porém, o potencial eletrostático reproduz muito bem as interações dos átomos com seu meio circundante, o que o torna interessante para ser aplicado em simulações por DM em fase condensada.

O conceito de análise populacional proposto por *Mulliken* divide com equidade as densidades eletrônicas entre dois átomos, mesmo que tenham diferentes eletronegatividades. Já os modelos com ajuste por potencial eletrostático, gerados por formalismo quântico *ab*

initio, são obtidos por um número elevado de pontos fora da molécula (1500 a 2500 pontos por átomos) para produzir as cargas atômicas parciais centradas em cada átomo. Como as cargas dependem da conformação da molécula, é necessário mais de um conjunto de cargas para se conseguir reproduzir o potencial da molécula sobre seu espaço conformacional total⁽⁴⁰⁾.

Para obter esse potencial, utilizou-se metodologia *ChelpG* (do inglês, *Charges from Electrostatic Potentials Using a Grid Based Method*)⁽⁴¹⁾. As cargas atômicas são ajustadas para reproduzir o potencial eletrostático a um número de pontos ao redor da molécula. Como um primeiro passo no processo de ajuste, o potencial é calculado em um certo número de pontos em uma malha (*gridpoints*), espaçados de 3.0 pm e distribuídos regularmente em um cubo. As dimensões desse cubo são escolhidas de tal forma que a molécula fique localizada em seu centro. Adiciona-se 28.0 pm de espaço entre a molécula e as paredes desse cubo em todas três dimensões. Todos pontos que caírem dentro do raio de *van der Waals* da molécula são descartados pelo procedimento de ajuste. A única restrição imposta é que a soma de todas as cargas atômicas seja igual à carga total do sistema, Abaixo, um exemplo usando a molécula de água.

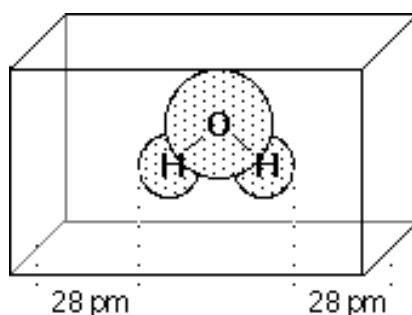


Fig. 6. Representação da caixa envolvendo a molécula de água para cálculo das cargas pelo potencial eletrostático ChelpG⁽⁴²⁾.

As cargas assim obtidas normalmente são consideradas melhores que as cargas de *Mulliken*, pois dependem muito menos da base teórica usada no cálculo quântico *ab initio*⁽⁴³⁾. As tabelas II e III comparam os resultados das cargas parciais e momentos de dipolos resultantes, obtidos para o átomo de oxigênio da molécula de água no vácuo. Podemos verificar que os valores de Mulliken sofrem uma grande variação com a mudança da base utilizada, enquanto que os resultados obtidos com ajuste do potencial eletrostático ChelpG são muito menos sensíveis à mudança da base. Na tabela II foi empregada a metodologia Hartree-Fock, e, na tabela III, usou-se a metodologia com tratamento da correlação B3LYP.

Tabela II – Comparação da carga parcial do átomo de oxigênio na molécula de água e momento de dipolo resultante calculado no nível de teoria Hartree-Fock ⁽⁴³⁾.

Método	Mulliken		ChelpG	
	q_o	μ	q_o	μ
HF/STO-3G	-0.3664	1.0309	-0.6173	1.7370
HF/3-21G	-0.7278	2.0480	-0.8734	2.4576
HF/6-31G	-0.7918	2.2280	-0.9438	2.6558
HF/6-31G(d)	-0.8663	2.4377	-0.8071	2.2709
HF/6-31G(d,p)	-0.6736	1.8953	-0.7923	2.2293
HF/6-311G(d,p)	-0.4985	1.4026	-0.7856	2.2107
HF/6-311+G(2d,2p)	-0.4705	1.3238	-0.7501	2.1107
HF/6-311+G(2df,2pd)	-0.3391	0.9543	-0.7458	2.0985
HF/6-311++G(3df,3pd)	-0.9454	2.6602	-0.7332	2.0631
HF/cc-pVDZ	-0.3054	0.8595	-0.7466	2.1008
HF/cc-pVTZ	-0.4826	1.3580	-0.7376	2.0754
HF/cc-pVQZ	-0.5261	1.4804	-0.7309	2.0567
HF/cc-pV5Z	-0.5611	1.5789	-0.7283	2.0494
HF/cc-pV6Z	-0.3912	1.1008	-0.7248	2.0394
HF/aug-cc-pVDZ	-0.2976	0.8374	-0.7283	2.0494
HF/aug-cc-pVTZ	-0.4381	1.2328	-0.7231	2.0346
HF/aug-cc-pVQZ	-0.5826	1.6394	-0.7218	2.0311
HF/aug-cc-pV5Z	-0.8239	2.3184	-0.7218	2.0310
HF/aug-cc-pV6Z	-0.6817	1.9183	-0.7218	2.0310

Tabela III - Comparação da carga parcial do átomo de oxigênio na molécula de água e momento de dipolo resultante, calculado no nível de teoria B3LYP ⁽⁴³⁾.

Método	Mulliken		ChelpG	
	q_o	μ	q_o	μ
B3LYP/STO-3G	-0.3687	1.0375	-0.6014	1.6921
B3LYP/3-21G	-0.6569	1.8484	-0.8105	2.2806
B3LYP/6-31G	-0.7065	1.9880	-0.8851	2.4904
B3LYP/6-31G(d)	-0.7783	2.1900	-0.7556	2.1261
B3LYP/6-31G(d,p)	-0.6100	1.1764	-0.7374	2.0750
B3LYP/6-311G(d,p)	-0.4753	1.3375	-0.7478	2.1041
B3LYP/6-333+G(2d,2p)	-0.4557	1.2823	-0.7152	2.0124
B3LYP/6-311+G(2df,2pd)	-0.3538	0.9956	-0.7105	1.9993
B3LYP/6-311++G(3df,3pd)	-0.8765	2.4663	-0.6920	1.9472
B3LYP/cc-pVDZ	-0.2546	0.7165	-0.6944	1.9538
B3LYP/cc-pVTZ	-0.4322	1.2163	-0.6996	1.9685
B3LYP/cc-pVQZ	-0.4867	1.3696	-0.6933	1.9508
B3LYP/cc-pV5Z	-0.5578	1.5694	-0.6897	1.9406
B3LYP/cc-pV6Z	-0.4207	1.1836	-0.6836	1.9235
B3LYP/aug-cc-pVDZ	-0.1500	0.4220	-0.6766	1.9038
B3LYP/aug-cc-pVTZ	-0.3457	0.9727	-0.6779	1.9074
B3LYP/aug-cc-pVQZ	-0.5842	1.6438	-0.6773	1.9057
B3LYP/aug-cc-pV5Z	-0.8752	2.4627	-0.6774	1.9062
B3LYP/aug-cc-pV6Z	-0.7208	2.0283	-0.6775	1.9062

Um dos pontos fracos do *ChelpG* (e outras metodologias baseadas no ajuste do potencial eletrostático) é sua aplicação em sistemas muito grandes, que apresentam alguns átomos internos muito afastados dos pontos avaliados. Nesta situação, variações nas cargas atômicas desses átomos não conduzirão mudanças significativas no potencial eletrostático da região exterior da molécula, prejudicando a qualidade dos resultados obtidos. Como a carga depende fortemente da conformação da molécula, para termos um conjunto representativo de cargas de uma molécula flexível (especialmente em simulações por DM), ele deve ser derivado de uma média de valores sobre diversas conformações.

Usando o etanol como exemplo, os parâmetros de carga derivados de uma conformação A e outra B (representas na figura7) possuem uma diferença de quase 30%. Contudo, essa variação muda para as diferentes partes do sistema ⁽⁴²⁾.

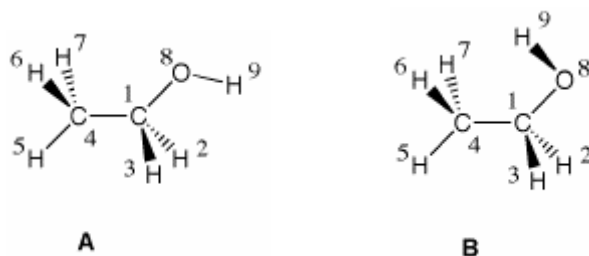


Fig. 7. Duas conformações diferentes para a molécula de etanol, que produzem uma diferença de quase 30% nos cálculos das cargas com potencial eletrostático.

Uma vantagem do uso do *ChelpG*, comparado com alguns outros métodos de potencial eletrostático, é que utiliza uma malha (*grid*) uniforme na análise dos pontos usado para o cálculo. Com isso, os resultados não dependem da orientação da molécula no sistema cartesiano.

2.5 MODELO CONTÍNUO PARA SOLVATAÇÃO

Os modelos de Campo de Reação Auto-Consistentes (SCRF, do inglês, *Self-Consistent Reaction Field*) tratam o solvente como um meio polarizável e uniforme, com o soluto localizado em uma cavidade adequada a este meio e com uma determinada constante dielétrica. A distribuição de cargas elétricas do soluto polariza o meio (induzem momentos de carga), que por sua vez, age de volta sobre a molécula, produzindo assim, a estabilização eletrostática. A energia livre de solvatação de um sistema pode ser escrita pela equação:

$$\Delta G_{\text{solvação}} = \Delta G_{\text{cavidade}} + \Delta G_{\text{dispersão}} + \Delta G_{\text{eletrostática}} \quad (27)$$

Os diversos modelos de campo de reação se diferem especialmente das seguintes formas⁽²⁶⁾:

- Como a forma e tamanho da cavidade é definida;
- Como as contribuições da dispersão são calculadas;
- Como a distribuição de carga do soluto é representada;
- Como o soluto é descrito (representação clássica, semi-empírica ou quântica);
- Como o meio dielétrico é descrito.

O modelo PCM⁽⁴⁴⁾ (do inglês, *Polarizable continuum Model*) emprega uma cavidade com superfície do tipo van der Waals, uma detalhada descrição do potencial eletrostático e parametrizações das contribuições da cavidade e dispersão baseadas na área da superfície. A cavidade é definida por um conjunto de átomos esféricos sobrepostos, com um raio de van der Waals apropriado. A superfície potencial é calculada por diferenciação numérica, e a interação com o solvente pode ser computada como auto-consistente. A energia livre do sistema em que usa-se PCM é dada por:

$$G(\Psi) = \langle \Psi | H_0 | \Psi \rangle + (1/2) \langle \Psi | H_{pol} | \Psi \rangle \quad (28)$$

Na qual o primeiro termo está relacionado com a modificação do Hamiltoniano do soluto pelo campo elétrico do solvente, e o segundo termo, inclui a energia de estabilização do soluto e do solvente, bem como, o trabalho reversível necessário para polarizar o solvente⁽⁴⁵⁾. O segundo termo depende do acoplamento da distribuição de cargas do soluto no campo elétrico do solvente, e pode ser avaliado através das cargas induzidas sobre a superfície da cavidade do campo de reação. O H_{pol} é representado por:

$$H_{pol} = \sum_a \sum_j Z_a (R_a - r_s^j)^{-1} - \sum_i \sum_j q_p^j (r_i - r_s^j)^{-1} \quad (29)$$

Na qual Z_a e R_a são as cargas e coordenadas dos núcleos, q_p é a carga induzida nos pontos fixos r_s sobre a superfície da cavidade, e r_i , representa a localização da distribuição de cargas devido aos elétrons do soluto.

Os cálculos iniciam-se com a densidade eletrônica da fase gasosa. Esta distribuição de cargas do soluto polariza o contínuo (solvente), que por sua vez, volta a afetar o soluto. O

processo se repete até que não se observe mais mudanças significativas nas cargas da superfície.

O modelo IPCM⁽⁴⁵⁾ (do inglês, *Isodensity Polarizable Continuum Model*) trata o campo elétrico de forma analítica. As cargas postas em uma malha (*grid*) podem ser determinadas computando o campo em cada ponto. A área da zona circundante desta malha de pontos é tratada com um conjunto linear de equações. Essa metodologia diminui consideravelmente o custo computacional envolvido. Neste modelo de solvatação, define a cavidade por uma isosuperfície da densidade eletrônica total, calculada no nível de teoria que está sendo aplicado. A cavidade é derivada apenas do ambiente eletrônico e deve ser suave, uniforme e de fácil integração⁽⁴⁵⁾. Após a superfície de isodensidade ser encontrada, segue-se com a metodologia PCM, porém, a cavidade não é fixa como neste modelo. A cada ciclo de atualização da densidade de cargas do soluto, a superfície de isodensidade da cavidade é relaxada.

A principal limitação dos modelos de campo de reação é que eles são incapazes de modelar efeitos de solvatação de curto alcance, como, por exemplo, as pontes de hidrogênio ou orientação preferencial das moléculas de solvente próximo a íons.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 PARÂMETROS UTILIZADOS NA SIMULAÇÃO POR DINÂMICA MOLECULAR

Nas simulações por Dinâmica Molecular, conforme já citado, foi utilizado o pacote Gromacs. Os parâmetros estão representados abaixo. (conforme arquivo de parametrização que consta no anexo II):

Minimização de Energia: *Steepest descent*

Algoritmo para integração das equações do movimento: *leap-frog*

Tempo do passo de integração (*ps*) 0,001

Número de passos: de 1.000.000 a 1.200.000 (1 a 1,2 ns de simulação)

Frequência da atualização da lista de vizinhos: 10

Construção da lista de vizinhos: *grid*

Cut-off da lista de vizinhos (nm): 1,2

Tratamento das interações eletrostáticas: PME

Cut-off interações eletrostáticas e *van der Waals* (nm): 1,2

Termostato: *berendsen*

$\tau = 0,1$

Temperatura de referência: 310 K

Barostato: *Berendsen* (isotrópico)

Compressibilidade: $4,5 \times 10^{-5}$

$\tau_p = 1,0$

Pressão de referência: 1 atm

3.2. ESTRUTURA DA MOLÉCULA ESTUDADA

Os primeiros estudos estruturais da molécula ocorreram no ano de 1993⁽⁷⁾. Os métodos empregados foram RMN e técnicas de espectroscopia de massas. Porém, alguns centros quirais não ficaram determinados, mas trabalhos posteriores resolvem esses centros quirais^(7, 10, 11,12, 14, 25). Por apresentar todos os centros quirais que aparecem resolvidos na literatura, a estrutura utilizada no trabalho foi a da figura 8:

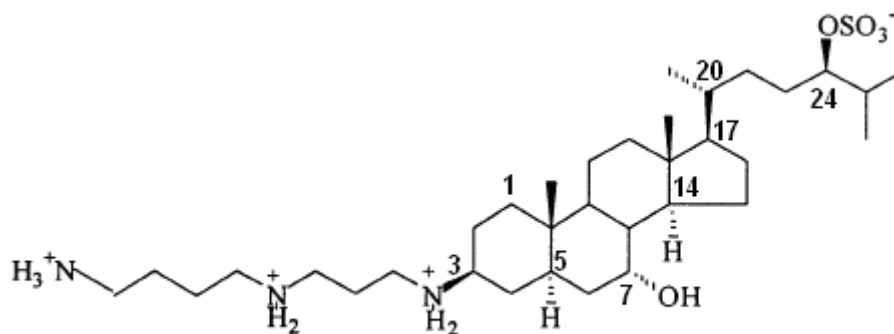


Fig. 8. Estrutura utilizada no trabalho.

A figura 9 representa a estrutura sugerida pela referência 7. Observamos que ela não possui a quiralidade dos carbonos 17, 20 e 24 (numeração sugerida pela IUPAC, conforme figura 8) resolvida. Além disso, a molécula está na forma iônica.

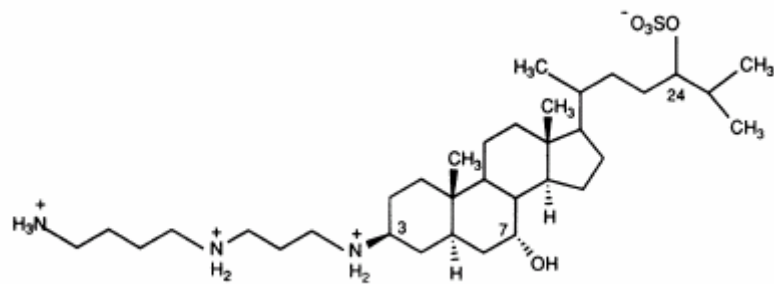


Fig. 9. Estrutura da Esqualamina sugerida pela referência 7, determinada por RMN e espectroscopia de massas (com a técnica *Fast atom bombardment mass spectroscopy*).

A figura 10 representa a estrutura sugerida pela referência 14. Os centros quirais 14 e 24 não estão resolvidos. Além disso, a molécula possui “estrutura de anel” e está na forma iônica.

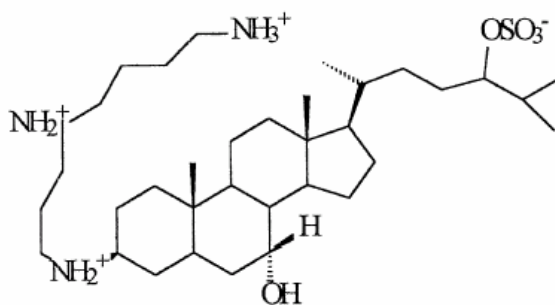


Fig. 10. Estrutura sugerida pela referência 14.

A figura 11 representa a estrutura sugerida pela referência 12. O carbono 25 não está com a quiralidade resolvida. Além disso, a molécula possui “estrutura de anel” e apenas o sulfato ionizado.

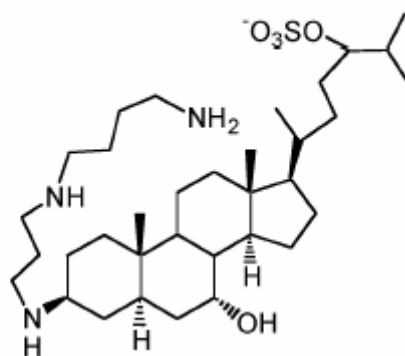


Fig. 11. Estrutura sugerida pela referência 12.

Optou-se em utilizar a estrutura com os nitrogênios protonados com base nos valores de pka do íon amínio, que, para aminas alifáticas primárias, os valores oscilam em torno de 10,6 (propilamina 10,67 e butilamina 10,61), e para aminas alifáticas secundárias entre 10,72 (dimetilamina) e 10,98 (dietilamina e dipropilamina), indicando que, no ambiente fisiológico, o equilíbrio está muito deslocado no sentido da formação da forma iônica⁽⁴⁶⁾. Com isso, a molécula apresenta carga líquida de duas unidades positivas.

3.3. METODOLOGIA APLICADA

Após a construção da estrutura da molécula, utilizou-se o programa Prodrgr beta⁽⁴⁾ para a obtenção da sua topologia. O programa oferece duas opções de campo de força, Gromos87 e Gromos96. Optou-se pela utilização do segundo, por oferecer um conjunto de parâmetros revistos e atualizados em relação ao primeiro. A topologia consiste em um arquivo de parâmetros que contém as informações sobre a estrutura, como conexões entre os átomos, ângulos, diedros e cargas atômicas. Com auxílio do programa, obteve-se um arquivo com extensão *.itp* (arquivo que contém a topologia da molécula – vide Anexo I) e um arquivo com extensão *.pdb* (que contém os tipos de átomos e coordenadas). A topologia fornecida foi conferida para verificação de eventuais falhas geradas no procedimento automático da geração de dados do programa, sendo constatado que o conjunto de cargas não era adequado, pois alguns valores divergiam muito do esperado.

Com a geometria gerada pelo Prodrgr, tentou-se otimizar a estrutura da molécula através do programa Gaussian98, buscando um conjunto de cargas mais adequado ao sistema. Inicialmente, a otimização foi realizada no vácuo usando-se metodologia semi-empírica AM1 (*Austin Model 1*)⁽⁴⁷⁾.

A aplicação desta metodologia resultou na estrutura representada na figura 12:

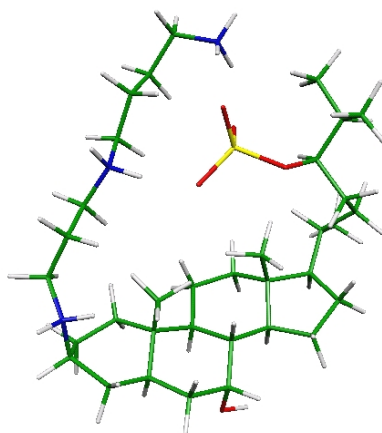


Fig.12. Otimização da Estrutura da Esqualamina no vácuo, obtida por método semi-empírico (AM1).

A molécula possui cargas positivas nas posições dos nitrogênios e carga negativa no sulfato. Em vista da atração eletrostática, temos uma estrutura otimizada, resultante em forma de anel. O mesmo efeito foi observado em uma simulação (1 ns) com Dinâmica Molecular da molécula no vácuo (pacote Gromacs). Partindo de uma estrutura aberta, em poucos picossegundos (aproximadamente 8 ps) a molécula assume a forma de anel, semelhante à representada na figura 12.

Buscou-se também a otimização da estrutura com metodologia *ab initio* da molécula, tanto no vácuo, quanto solvatada (modelo IPCM), através do programa Gaussian98. Inúmeras tentativas foram realizadas na busca das cargas para a estrutura minimizada, mas todas fracassaram.

Empregou-se metodologia RHF (Hartree-Fock de camada restrita) UHF (Hartree-fock de camada irrestrita), além de metodologia com tratamento da correlação eletrônica com o DFT B3LYP. Além disso, mudou-se o formalismo da base empregada (3-21G, 4-31G, 6-31G, 6-31++G(d,p)) e tentou-se alterar a estrutura inicial.

Nos cálculos efetuados no vácuo, a estrutura adquiriu forma de anel ou ocorreu erro na ortogonalização das bases.

Em solução aquosa (modelo IPCM), ocorreu falha na convergência, erro na ortogonalização das bases ou distribuição de carga fora da cavidade, não sendo possível ter acesso à superfície de Born-Oppenheimer.

Em decorrência dessa dificuldade e pelo fato de termos optado por utilizar o ajuste das cargas pelo potencial eletrostático, decidimos seguir o seguinte protocolo:

1. Utilizar as cargas originais obtidas com o programa Prodrgr no pacote Gromacs. Efetuar uma simulação de 1,2 ns por Dinâmica Molecular do sistema, composto pela Esqualamina solvatada em água (modelo SPC – *simple point charge*⁽⁴⁸⁾) com NaCl em concentração fisiológica, tomando cuidado para em manter a carga total do sistema balanceada (igual a zero) pela inserção de dois cloretos adicionais. Este tempo de simulação foi usado para poder avaliar o tempo necessário nos próximos passos, a fim de obter um sistema equilibrado e uma trajetória que permitisse a obtenção de propriedades confiáveis.

2. Após a simulação de 1,2 ns por DM com as cargas atômicas iniciais geradas pelo Prodrgr, utilizar a última estrutura (obtida no tempo de 1,2 ns) no programa Gaussian98 para verificar as cargas sem otimização de estrutura (*single point*) e proceder o seu ajuste com o potencial eletrostático ChelpG. Verificar as eventuais alterações nas cargas (a base utilizada foi 3-21G).

3. Com esse novo conjunto de cargas, simular por Dinâmica Molecular (pacote Gromacs), por aproximadamente 1 ns, o sistema composto pela Esqualamina solvatada em água com NaCl em concentração fisiológica, sempre tomando cuidado para em manter a carga total do sistema balanceada pela inserção de dois cloretos adicionais. Utilizar os últimos 200 *ps* para obter 10 estruturas da molécula independentes entre si, uma a cada intervalo de 20 *ps*. Para cada uma das 10 estruturas, obter por cálculos quânticos com o programa Gaussian98 as cargas atômicas sem otimização da estrutura (*single point*), com ajuste por potencial eletrostático ChelpG. (base 3-21G). Para cada átomo, fazer uma média das cargas obtidas a partir das 10 estruturas.

4. Utilizar essas novas cargas para efetuar outra simulação por Dinâmica Molecular, e repetir todo o procedimento até obter cargas satisfatórias com o uso progressivo de conjuntos de bases mais sofisticadas. Cabe ressaltar que quando se converteu a estrutura do Gromacs (*united atom*) para o Gaussian, foi feita a inserção de todos os hidrogênios. Observou-se que a adição se deu com comprimento de ligação típico para C-H (1,07 Å) e ângulo de ligação de acordo com a hibridação do carbono. Certamente, numa dinâmica com todos átomos explícitos, esses valores sofreriam alguma mudança. Porém, como a proposta principal é trabalhar com uma média de estruturas, esse erro não é muito significativo.

Os conjuntos de cargas obtidos estão descritos abaixo:

Simulação com as cargas originais (1º Conjunto de cargas): cargas fornecidas pelo programa Prodrgr. Com base nas cargas e estrutura da Esqualamina gerada pelo Prodrgr, a

molécula foi inserida em uma caixa cúbica com aresta de 4 nm. A caixa com a molécula foi preenchida com água, usando-se o modelo SPC, padrão do Gromacs. Adicionou-se NaCl em concentração fisiológica (0,154 mol/L), o que corresponde, para o sistema em questão, em 6 íons Na^+ e 6 íons Cl^- . Porém, para manter a carga total do sistema igual a zero, acrescentou-se 2 ânions Cl^- adicionais, pois a molécula de Esqualamina possui carga líquida 2+. Foi efetuada a minimização de energia do sistema (algoritmo *steepest descent minimization*) para remover eventuais tensões locais ou pontos com energia muito elevada, presentes na configuração inicial.

Após a minimização, o sistema foi simulado por 1,2 ns, conforme parâmetros já citados. Com o arquivo de trajetórias, foi criada uma estrutura estática da molécula no tempo de 1,200 ps. Essa estrutura foi utilizada na obtenção das cargas atômicas através do programa Gaussian98 (segundo conjunto de cargas). O cálculo quântico foi efetuado com base 3-21G. A correlação eletrônica foi tratada através do funcional híbrido (B3LYP) e as cargas foram obtidas usando-se o potencial eletrostático ChelpG.

O campo de força Gromos opera com o metodologia *united atom*. Assim, as cargas dos hidrogênios não-ligados a átomo polar foram computadas sobre o átomo pesado. Para átomos equivalentes (como os hidrogênios de uma metila), fez-se uma média das cargas. Com isso, um novo conjunto de cargas foi obtido (segundo conjunto de cargas).

Simulação com o 2º conjunto de cargas: o arquivo de topologia foi editado pela inserção do segundo conjunto de cargas. Usando o sistema gerado no tempo de 1,2 ns da simulação anterior como *input*, a energia do sistema foi minimizada. Uma nova simulação de 1 ns foi processada, usando-se os mesmos parâmetros da anterior. Porém, para a obtenção do terceiro conjunto de cargas, foram utilizadas 10 estruturas independentes dos últimos 200 ps da simulação, uma a cada 20 ps. Essas estruturas foram inseridas no Gaussian98 e as cargas calculadas. Com esses resultados, foi encontrado o valor médio de todas essas cargas.

Para algumas estruturas, as cargas sobre o enxofre e oxigênio do sulfato resultaram em valores absurdos (-10 e -6 respectivamente). Repetiu-se o cálculo para essas estruturas, e os valores se confirmaram. Com isso resolveu-se não utilizar a correlação eletrônica B3LYP. Utilizou-se metodologia *Hartree-Fock* (HF), e os valores obtidos ficaram dentro do esperado. Por isso, repetiu-se os cálculos de cargas no Gaussian para o ciclo anterior (com base 3-21G), gerando outro segundo conjunto de cargas que foi utilizado para obter por DM outras 10 estruturas. As cargas foram calculadas com metodologia HF e base 3-21G e demais parâmetros inalterados. Um terceiro conjunto de cargas foi obtido pela média das cargas dessas 10 estruturas.

Simulação com o 3º conjunto de cargas: repetiu-se o procedimento:

- Edição do arquivo de topologia;
- Minimização da energia, usando como *input* o sistema gerado no final da simulação anterior;
- Simulação por dinâmica molecular por 1,2 ns;
- Seleção de 10 estruturas independentes dos últimos 200 ps de simulação;
- Cálculo das cargas com base 6-31++G(d,p) e demais parâmetros inalterados;
- Média das cargas e obtenção do 4º conjunto de cargas.

Simulação com o 4º conjunto de cargas: editou-se o arquivo de topologia e repetiu-se todo o procedimento anterior, utilizando a base 6-31++G(d,p) e demais parâmetros inalterados, gerando o quinto conjunto de cargas.

As estruturas utilizadas para cálculo do 5º conjunto de cargas estão representadas abaixo (da figura 13 à figura 22):

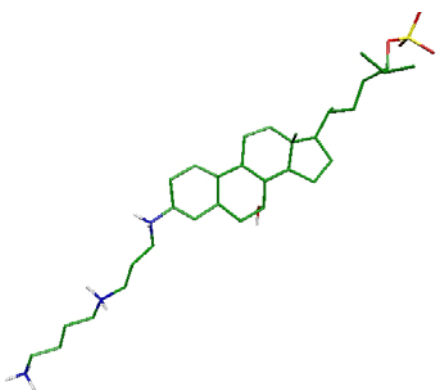


Fig. 13. Estrutura no tempo de 1000 ps.

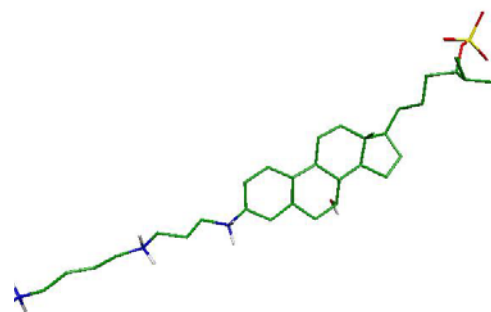


Fig. 14. Estrutura no tempo de 1020 ps.

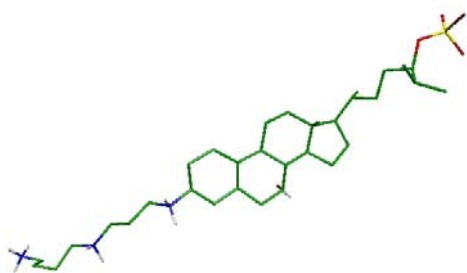


Fig. 15. Estrutura no tempo de 1040 ps.

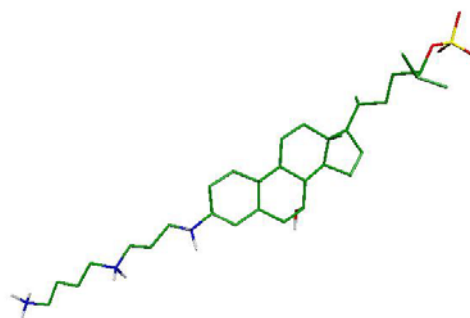


Fig. 16. Estrutura no tempo de 1060 ps.

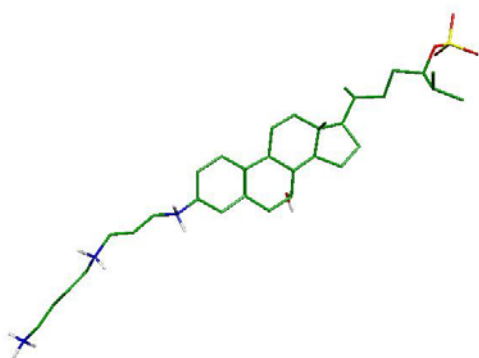


Fig. 17. Estrutura no tempo de 1080 ps.

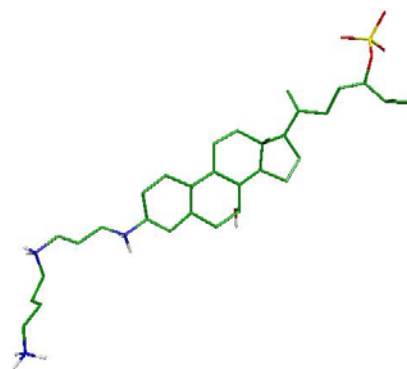


Fig. 18. Estrutura no tempo de 1100 ps.

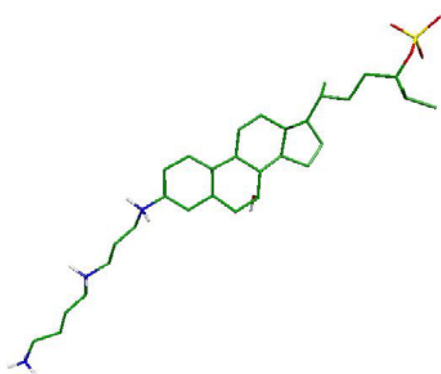


Fig. 19. Estrutura no tempo de 1120 ps.

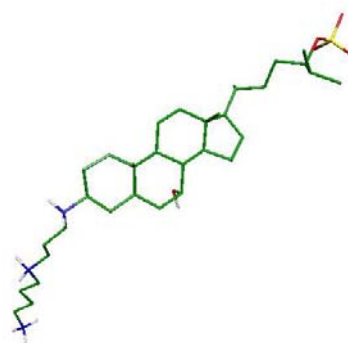


Fig. 20. Estrutura no tempo de 1140 ps.

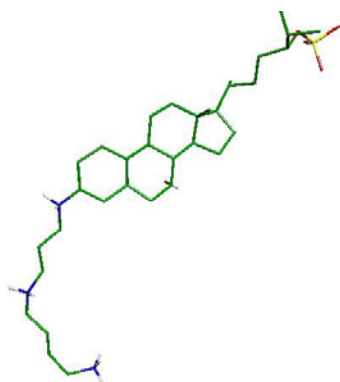


Fig. 21. Estrutura no tempo de 1160 ps.

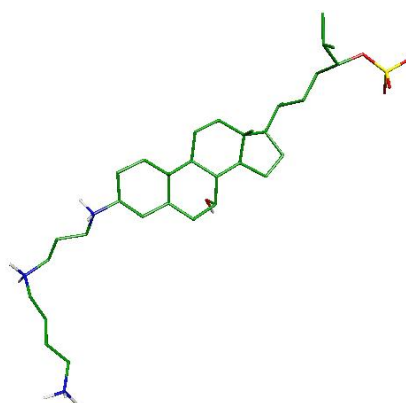


Fig. 22. Estrutura no tempo de 1180 ps.

O 5º conjunto de cargas foi utilizado em uma nova dinâmica molecular por 1,2 ns. Os últimos 200 ps de simulação forma utilizados para obter-se as 10 estruturas empregadas nos

cálculos do 6º conjunto de cargas. A base dos cálculos *ab initio* foi a mesma do 4º e 5º conjuntos (6-31++G(d,p)).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CONJUNTOS DE CARGAS

Para cada ciclo discutido, foi calculada a carga para cada átomo. Para uma melhor visualização, a figura 23 exibe a numeração dos átomos na molécula. Cabe ressaltar que essa não é a numeração recomendada pela IUPAC.

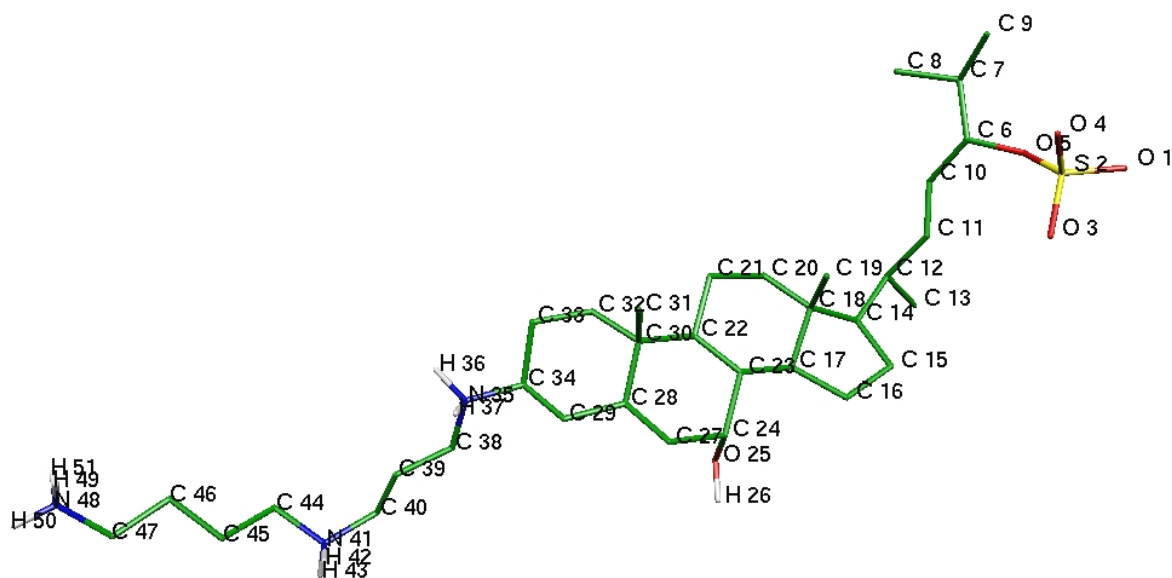


Fig.23. Estrutura com especificação dos átomos da molécula. Explicitaram-se apenas os hidrogênios ligados ao heteroátomo.

Conforme já citado, para cálculo do segundo conjunto de cargas não foi empregada a média dos potenciais eletrostáticos das 10 estruturas independentes. Ao invés disso, foi utilizada uma única estrutura (figura 24), gerada no final da primeira simulação (tempo de 1,2

ps). Tal procedimento foi adotado para verificar a diferença nas cargas ao se avaliar apenas uma estrutura, ao invés de calcular a média através de inúmeras conformações. Essa estrutura está representada abaixo:

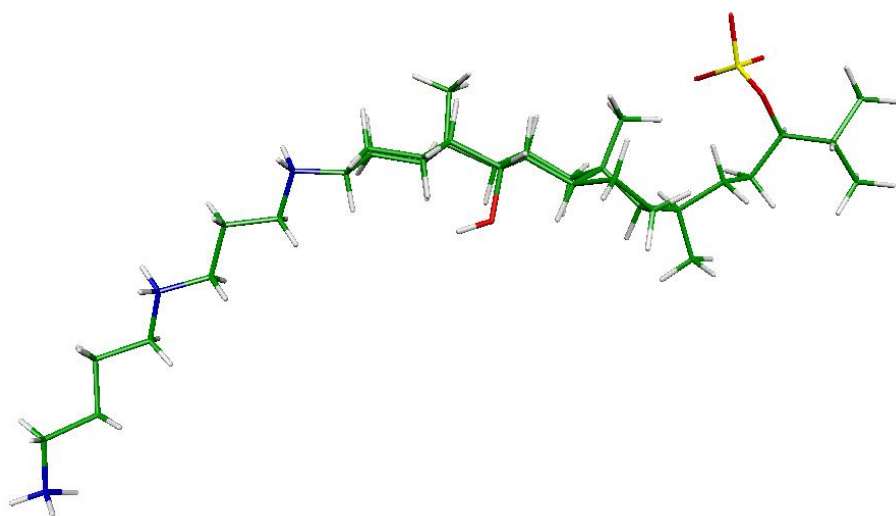


Fig. 24. Estrutura obtida após 1,2 ns de simulação com as cargas originais. Esta conformação foi utilizada na obtenção do segundo conjunto de cargas.

Podemos observar pelos dados da tabela IV uma divergência significativa entre o segundo e o terceiro conjunto de cargas. Em ambos foi empregada a mesma base (3-21G) e estruturas originadas de uma mesma trajetória de simulação, mas as cargas para o terceiro conjunto foram computadas por meio da média de 10 estruturas independentes.

As cargas obtidas no final de cada ciclo estão exibidas na tabela abaixo:

Tabela IV - Valores das médias das cargas obtidas em cada um dos ciclos descritos acima:

No.	Átomo	Cargas originais PRODRG	2º cj. de cargas HF 3-21G	3º cj. de cargas HF 3-21G	4º cj. de cargas HF 6-31++G (d,p)	5º cj. de cargas HF 6-31++G (d,p)	6º. Cj cargas HF 6-31++ (d,p)
1	O	-1,124	-0,503	-0,838	-0,775	-0,772	-0,774
2	S	2,327	1,494	1,819	1,504	1,520	1,518
3	O	-1,124	-0,503	-0,838	-0,775	-0,772	-0,774
4	O	-1,124	-0,503	-0,838	-0,775	-0,772	-0,774
5	O	-0,191	-0,625	-0,667	-0,503	-0,567	-0,525
6	CH	0,118	0,556	0,548	0,465	0,515	0,462
7	CH	0,118	0,183	0,189	0,298	0,289	0,323
8	CH ₃	-0,041	-0,078	-0,117	-0,152	-0,145	-0,166
9	CH ₃	-0,041	-0,065	-0,103	-0,128	-0,138	-0,140
10	CH ₂	0,000	-0,205	-0,191	-0,214	-0,128	-0,191
11	CH ₂	0,000	0,009	-0,045	0,036	-0,120	0,013
12	CH	0,062	0,229	0,430	0,356	0,425	0,399
13	CH ₃	-0,041	-0,088	-0,155	-0,172	-0,146	-0,165
14	CH	0,061	-0,165	-0,234	-0,338	-0,237	-0,335
15	CH	0,000	-0,101	-0,022	0,027	-0,018	0,020
16	CH	0,000	-0,021	-0,102	-0,130	-0,127	-0,139
17	CH	0,033	0,210	0,337	0,313	0,330	0,362
18	CH	0,082	0,545	0,403	0,610	0,528	0,575
19	CH ₃	-0,082	-0,131	-0,122	-0,148	-0,167	-0,164
20	CH	-0,033	-0,128	-0,156	-0,155	-0,196	-0,179
21	CH	0,000	-0,038	-0,040	-0,078	-0,006	-0,054
22	CH	0,065	0,166	0,108	0,074	0,000	0,079
23	CH	0,065	-0,506	-0,405	-0,387	-0,334	-0,378
24	CH	0,065	0,563	0,561	0,537	0,517	0,509
25	O	-0,280	-0,669	-0,797	-0,764	-0,765	-0,769
26	H	0,017	0,399	0,450	0,416	0,417	0,425
27	CH	0,030	-0,265	-0,298	-0,314	-0,289	-0,292
28	CH	0,065	0,468	0,555	0,570	0,456	0,530

29	CH	0,000	-0,321	-0,320	-0,393	-0,334	-0,375
30	CH	0,137	0,110	0,311	0,411	0,461	0,409
31	CH ₃	0,019	-0,096	-0,173	-0,197	-0,198	-0,199
32	CH	0,051	0,056	-0,036	-0,034	-0,043	-0,046
33	CH	0,050	-0,117	-0,073	-0,096	-0,074	-0,071
34	CH	0,108	0,339	0,286	0,398	0,400	0,354
35	N	0,632	-0,210	-0,406	-0,416	-0,448	-0,340
36	H	-0,024	0,284	0,360	0,337	0,342	0,317
37	H	-0,024	0,284	0,360	0,337	0,342	0,317
38	CH ₂	0,051	0,260	0,315	0,324	0,286	0,289
39	CH ₂	0,086	-0,032	0,029	0,009	0,065	0,052
40	CH ₂	0,086	0,007	0,146	0,109	0,117	0,136
41	N	0,780	0,210	-0,090	0,168	0,021	-0,092
42	H	-0,019	0,088	0,309	0,238	0,267	0,298
43	H	-0,019	0,088	0,309	0,238	0,267	0,298
44	CH ₂	0,086	-0,031	0,155	0,071	0,160	0,190
45	CH ₂	0,089	0,028	0,069	0,057	0,037	0,042
46	CH ₂	0,088	0,015	0,091	0,128	0,112	0,109
47	CH ₂	0,089	0,115	0,259	0,245	0,257	0,246
48	N	0,791	-0,151	-0,445	-0,440	-0,448	-0,426
49	H	-0,019	0,237	0,371	0,369	0,371	0,367
50	H	-0,019	0,237	0,371	0,369	0,371	0,367
51	H	-0,019	0,237	0,371	0,369	0,371	0,367

Comparando os resultados das cargas originais fornecidas pelo Prodrq (baseadas no campo de força Gromos) com os demais conjuntos, observamos uma mudança significativa nos valores. Alguns estavam superestimados, e outros, subestimados. Podemos inclusive notar inversão do sinal de algumas cargas. Quando comparamos as cargas do 4º, 5º e 6º conjuntos, em que foi utilizada a mesma base e média de 10 estruturas, podemos verificar que os resultados são bastante próximos, indicando que, para essa base, essas cargas médias são representativas.

4.1.1 Desvio Padrão dos Conjuntos de Cargas

O desvio padrão é uma medida da dispersão em torno da média. É calculado pela raiz quadrada positiva da variância.

A variância é dada por⁽⁴⁹⁾:

$$Var_{(X)} = E[(X-\mu)^2] \quad (4.1)$$

Na qual E é o valor esperado ou esperança de uma variável aleatória;

X é a variável aleatória;

μ é a média.

O desvio padrão é dado por⁽⁴⁹⁾

$$\sigma_x = \sqrt{Var_{(X)}} = \sqrt{E[(X - \mu)^2]} \quad (4.2)$$

Para estimar a dispersão em torno da média de cada conjunto de cargas, a tabela V mostra os desvios padrões encontrados.

Tabela V. Desvios padrões das cargas.

No.	Átomo	Desvio Padrão 3° cj. de cargas HF 3-21G	Desvio Padrão 4° cj. de cargas HF 6-31++G (d,p)	Desvio Padrão 5° cj. de cargas HF 6-31++G (d,p)	Desvio padrão do 6° cj. de cargas HF 6-31++G(d,p)
1	O	0,017	0,028	0,011	0,025
2	S	0,037	0,054	0,043	0,054
3	O	0,023	0,025	0,015	0,008
4	O	0,015	0,027	0,022	0,020
5	O	0,040	0,049	0,048	0,062
6	CH	0,090	0,134	0,101	0,092
7	CH	0,042	0,123	0,073	0,095
8	CH ₃	0,018	0,030	0,017	0,032
9	CH ₃	0,017	0,036	0,028	0,032
10	CH ₂	0,084	0,110	0,057	0,112
11	CH ₂	0,107	0,152	0,120	0,130
12	CH	0,093	0,156	0,115	0,063

13	CH ₃	0,018	0,041	0,015	0,035
14	CH	0,100	0,101	0,130	0,084
15	CH	0,061	0,063	0,050	0,053
16	CH	0,024	0,041	0,040	0,054
17	CH	0,119	0,090	0,107	0,076
18	CH	0,116	0,085	0,145	0,107
19	CH ₃	0,021	0,026	0,017	0,025
20	CH	0,063	0,051	0,037	0,049
21	CH	0,045	0,045	0,025	0,031
22	CH	0,151	0,193	0,074	0,179
23	CH	0,126	0,132	0,095	0,106
24	CH	0,059	0,054	0,058	0,042
25	O	0,038	0,029	0,028	0,032
26	H	0,021	0,020	0,020	0,016
27	CH	0,039	0,052	0,045	0,048
28	CH	0,105	0,125	0,153	0,090
29	CH	0,076	0,076	0,078	0,029
30	CH	0,137	0,165	0,072	0,195
31	CH ₃	0,016	0,023	0,014	0,026
32	CH	0,055	0,051	0,057	0,039
33	CH	0,057	0,072	0,065	0,044
34	CH	0,096	0,106	0,100	0,183
35	N	0,186	0,197	0,223	0,296
36	H	0,058	0,067	0,070	0,071
37	H	0,057	0,059	0,050	0,077
38	CH ₂	0,107	0,047	0,041	0,062
39	CH ₂	0,049	0,083	0,066	0,080
40	CH ₂	0,088	0,111	0,076	0,094
41	N	0,223	0,221	0,160	0,230
42	H	0,042	0,062	0,063	0,059
43	H	0,083	0,047	0,071	0,085
44	CH ₂	0,073	0,106	0,066	0,076
45	CH ₂	0,043	0,021	0,075	0,073

46	CH ₂	0,044	0,045	0,043	0,051
47	CH ₂	0,076	0,056	0,041	0,064
48	N	0,178	0,183	0,166	0,183
49	H	0,050	0,053	0,050	0,048
50	H	0,058	0,056	0,044	0,043
51	H	0,040	0,054	0,044	0,058

4.1.2 – Comparação Entre Cargas de Mulliken e ChelpG

No objetivo de exemplificar e quantificar a diferença produzida no cálculo das cargas pelo uso do ChelpG e Mulliken, a tabela VI traz os valores para essas duas metodologias. A comparação é feita com a estrutura obtida no tempo de 1180 ps de simulação, empregada na obtenção do quinto conjunto de cargas. Esta estrutura é representada pela figura 22. Observa-se que para alguns grupos, temos uma grande variação nos resultados. Conforme já discutido, nas simulações de dinâmica molecular, optou-se pelo uso das cargas do potencial eletrostático por conduzir a resultados mais confiáveis.

Tabela VI. Cargas do potencial eletrostático ChelpG e Mulliken obtidas para a estrutura representada pela figura .

No.	Átomo	Carga ChelpG	Carga Mulliken
1	O	-0,766	-0,920
2	S	1,453	2,199
3	O	-0,753	-0,867
4	O	-0,748	-0,878
5	O	-0,558	-0,586
6	C	0,533	0,296
7	C	0,274	0,263
8	C	-0,141	-0,151
9	C	-0,130	-0,144
10	C	-0,211	-0,117
11	C	0,099	-0,183
12	C	0,201	0,303
13	C	-0,126	-0,061
14	C	-0,260	0,734
15	C	0,053	-0,018
16	C	-0,148	0,156
17	C	0,320	0,005

18	C	0,631	-0,233
19	C	-0,182	0,009
20	C	-0,228	-0,257
21	C	0,018	0,121
22	C	0,068	-0,224
23	C	-0,508	-0,064
24	C	0,628	0,276
25	O	-0,753	-0,625
26	H	0,402	0,400
27	C	-0,371	-0,298
28	C	0,694	-0,037
29	C	-0,446	0,093
30	C	0,344	0,212
31	C	-0,187	-0,123
32	C	-0,002	0,067
33	C	-0,145	-0,033
34	C	0,419	-0,100
35	N	-0,254	-0,388
36	H	0,217	0,419
37	H	0,318	0,419
38	C	0,246	0,156
39	C	0,154	0,152
40	C	-0,036	0,358
41	N	0,098	-0,388
42	H	0,291	0,439
43	H	0,279	0,433
44	C	0,038	0,107
45	C	0,176	0,057
46	C	0,067	0,096
47	C	0,246	0,160
48	N	-0,322	-0,479
49	H	0,314	0,420
50	H	0,354	0,421
51	H	0,336	0,409

4.2 CÁLCULO *AB INITIO* DAS CARGAS COM A MOLÉCULA SOLVATADA

O efeito do solvente sobre as cargas foi testado com o uso de uma estrutura solvatada em água com modelo IPCM⁽⁴⁵⁾ (*Isodensity Polarizable Continuum Model*), utilizando a mesma base (HF 6-31++(d,p)) e potencial eletrostático ChelpG.

A estrutura de referência usada foi a obtida no tempo de 1180 ps da simulação para a obtenção do 5º conjunto de cargas (fig. 22 - escolha aleatória). Os valores de carga ficam oscilando e não convergiram mesmo após 22 ciclos de cálculo. Assim, na tabela VII estão representados os valores de cargas no vácuo (que também são os valores das cargas após o 1º ciclo do cálculo no Gaussian com solvatação), e a média dos 10 últimos ciclos de cálculos do Gaussian para esta mesma estrutura.

Tabela VII – Cargas com efeito da solvatação.

No.	Átomo	Carga no vácuo	Média dos 10 últimos ciclos	Desvio Padrão da média
1	O	-0,766	-0,740	0,010
2	S	1,453	1,504	0,008
3	O	-0,753	-0,763	0,004
4	O	-0,748	-0,821	0,002
5	O	-0,558	-0,596	0,010
6	C	0,533	0,522	0,106
7	C	0,274	0,412	0,070
8	C	-0,141	-0,185	0,013
9	C	-0,130	-0,254	0,028
10	C	-0,211	-0,211	0,065
11	C	0,099	0,267	0,031
12	C	0,201	0,109	0,018
13	C	-0,126	-0,159	0,015
14	C	-0,260	-0,183	0,090
15	C	0,053	0,077	0,087
16	C	-0,148	-0,158	0,072
17	C	0,320	0,301	0,007
18	C	0,631	0,633	0,076
19	C	-0,182	-0,194	0,014
20	C	-0,228	-0,265	0,011
21	C	0,018	-0,013	0,023
22	C	0,068	0,204	0,080
23	C	-0,508	-0,558	0,021
24	C	0,628	0,726	0,003

25	O	-0,753	-0,822	0,002
26	H	0,402	0,417	0,001
27	C	-0,371	-0,418	0,013
28	C	0,694	0,694	0,003
29	C	-0,446	-0,452	0,003
30	C	0,344	0,256	0,050
31	C	-0,187	-0,216	0,002
32	C	-0,002	0,044	0,006
33	C	-0,145	-0,066	0,009
34	C	0,419	0,446	0,018
35	N	-0,254	-0,270	0,018
36	H	0,217	0,179	0,007
37	H	0,318	0,302	0,004
38	C	0,246	0,098	0,025
39	C	0,154	0,368	0,031
40	C	-0,036	-0,049	0,001
41	N	0,098	0,130	0,006
42	H	0,291	0,226	0,009
43	H	0,279	0,347	0,013
44	C	0,038	0,018	0,003
45	C	0,176	0,156	0,005
46	C	0,067	0,067	0,002
47	C	0,246	0,229	0,003
48	N	-0,322	-0,307	0,007
49	H	0,314	0,303	0,002
50	H	0,354	0,342	0,002
51	H	0,336	0,324	0,002

Como os valores não divergem muito, observamos que a presença do solvente, quando representada pelo modelo de solvatação contínuo, não altera de forma significativa a distribuição das cargas pontuais sobre os átomos da molécula.

4.3 Ligações de Hidrogênio

É verificada quando temos átomo de hidrogênio ligado covalentemente a um átomo definido como Doador (D) com outro átomo não ligado, definido como Aceptor (A), ambos eletronegativos. A partir das trajetórias das simulações por Dinâmica Molecular, foi efetuada uma análise da formação de ligações de hidrogênio entre alguns grupos de átomos da

Esqualamina com as moléculas de solvente. Utilizaram-se as ferramentas de análise disponíveis no pacote Gromacs.

Os critérios geométricos utilizados para a determinação das ligações de hidrogênio, conforme indicado na figura 25, são⁽⁵⁰⁾:

$$r \leq r_{LH} = 0,35 \text{ nm}$$

$$\alpha \leq \alpha = 30^\circ$$

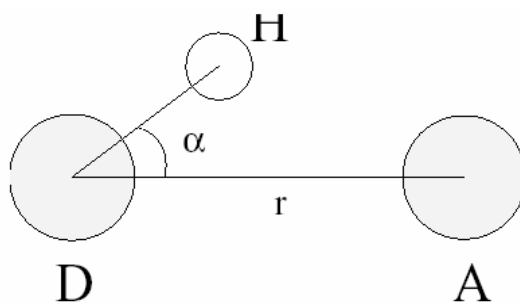


Fig. 25. Critério geométrico para Ligação de Hidrogênio

O valor $r \leq r_{LH} = 0,35 \text{ nm}$ corresponde ao primeiro mínimo obtido na RDF do modelo SPC para a água, conforme figura abaixo (figura 26).

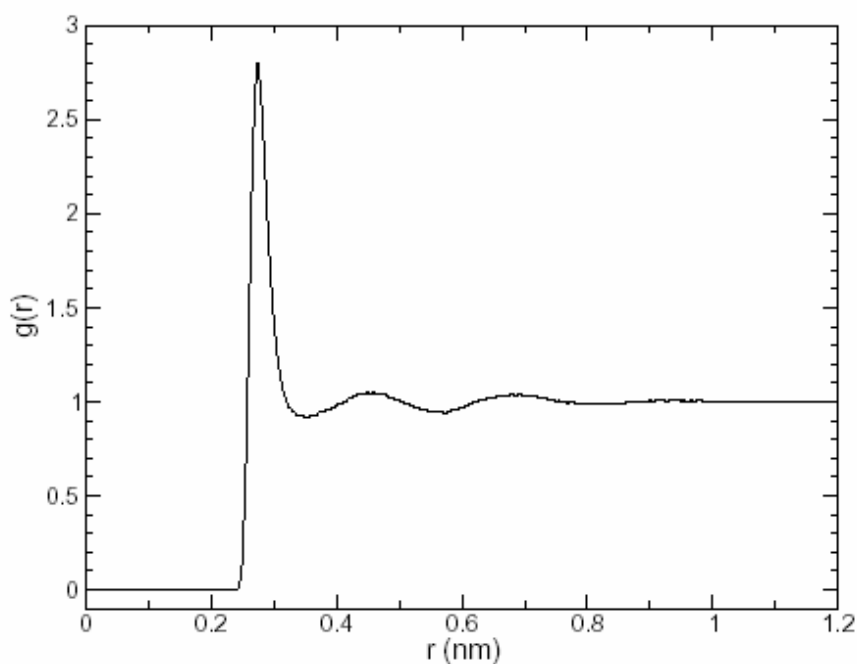


Fig. 26. Função de distribuição radial [g(r)] para o par oxigênio-oxigênio do modelo de água SPC

Foi realizada uma análise das distâncias, ângulos e número de ligações de hidrogênio da molécula com a água. Esses dados permitem uma análise mais quantitativa das ligações de hidrogênio, além de reforçar os dados fornecidos pelas RDF. Abaixo, nas figuras 27 e 28, estão representados os gráficos das distâncias e ângulos das ligações de hidrogênio para as moléculas de solvente do sistema.

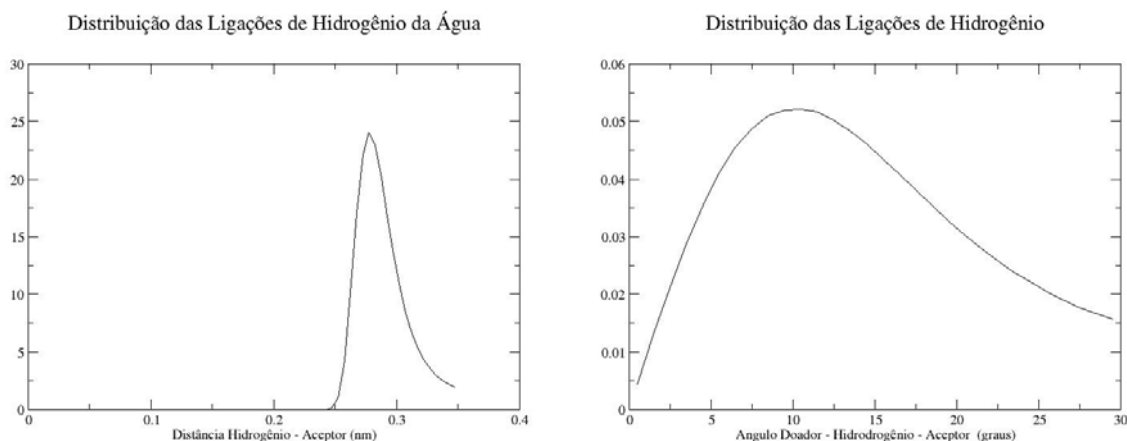


Fig. 27 e 28: Gráficos da distribuição das distâncias [hidrogênio – doador] e distribuição dos ângulos [doador - hidrogênio – aceptor] para as ligações de hidrogênio das moléculas de solvente do sistema.

Estes gráficos das ligações de hidrogênio, envolvendo apenas as moléculas de solvente estão plotados como parâmetro de comparação. Temos, abaixo (figuras 29 a 34), essa análise para alguns grupos da molécula. No caso dos oxigênios equivalentes do grupo sulfato temos:

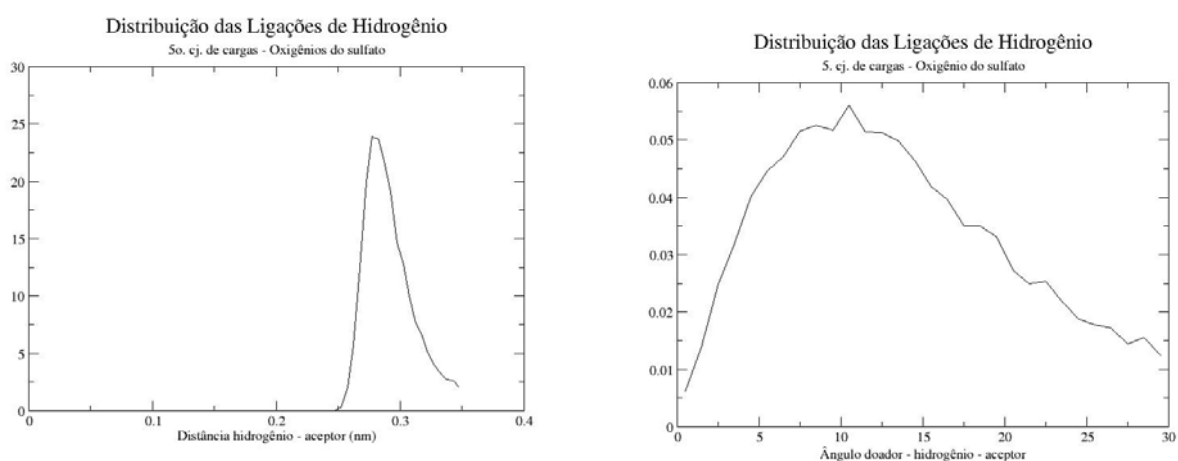


Fig. 29 e 30. Distância e ângulos das ligações de hidrogênio entre os oxigênios do sulfato e a água.

Para os hidrogênios da hidroxila e a água, temos:

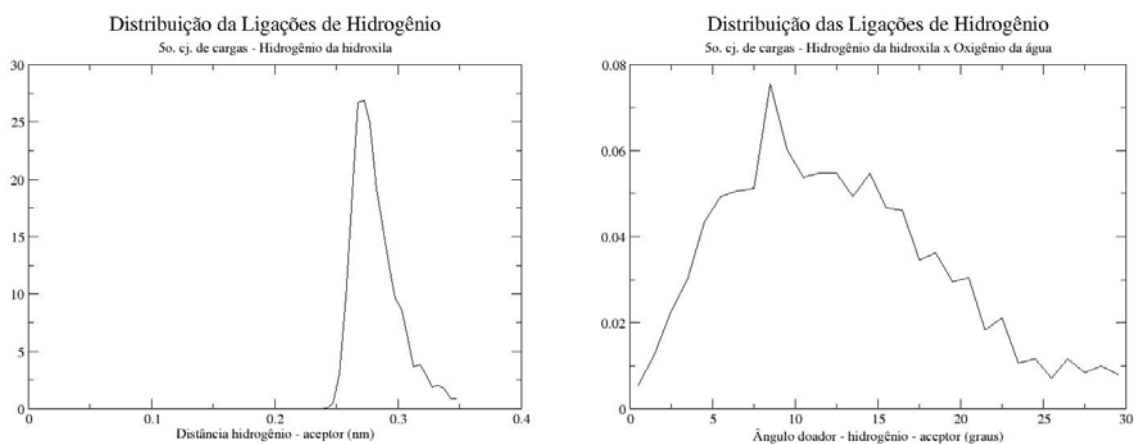


Fig.31 e 32. Distância e ângulos das ligações de hidrogênio entre os hidrogênios da hidroxila e a água.

Para o oxigênio O5, temos:

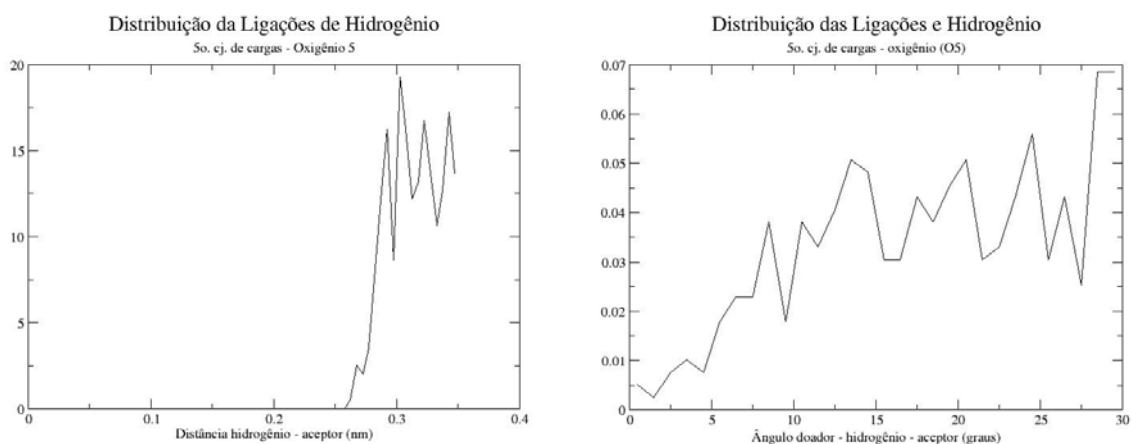


Fig. 33 e 34. Distância e ângulos das ligações de hidrogênio entre os Oxigênios (O5) e a água.

Esses gráficos por si só não fornecem muita informação, mas podemos observar que quanto maior a sua semelhança com os gráficos da água, mais efetivas as ligações de hidrogênio. A análise mais importante é a do número médio de ligações de hidrogênios da Esqualamina com o solvente para cada conjunto de cargas. Esses resultados serão mostrados mais adiante.

4.4 FUNÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO RADIAL

A função de distribuição radial, RDF (*radial distribution function*), ou função de correlação de par $g_{AB}(r)$, expressa a probabilidade de encontrar uma partícula i a uma distância r da partícula j . Essa função pode ser escrita como:

$$g_{AB}(r) = \frac{\langle \rho_B(r) \rangle}{\langle \rho_B \rangle_{local}} = \frac{1}{\langle \rho_B \rangle_{local}} \cdot \frac{1}{N_A} \sum_{i \in A} \sum_{j \in B} \frac{\delta(r_{ij} - r)}{4\pi r^2} \quad (4.3)$$

Com $\langle \rho_B(r) \rangle$ representando a densidade da espécie B que se encontra a uma distância r ao redor da partícula A e $\langle \rho_B \rangle_{local}$ representando a densidade média da espécie B sobre todas esferas ao redor da partícula A com raio r_{max} , conforme figura 35 abaixo:

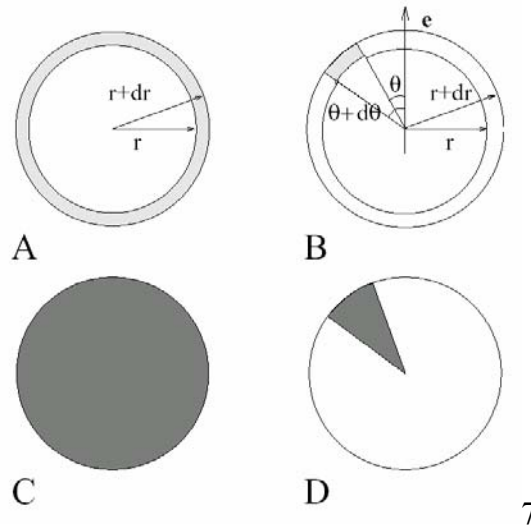


Fig. 35. Definição da fatias em $g(r)$: A: $g_{AB}(r)$ B: $g_{AB}(r, \theta)$. As fatias estão representadas em cinza. C: Normalização $\langle \rho_B \rangle_{local}$ D: Normalização $\langle \rho_B \rangle_{local, \theta}$. Os volumes normalizados estão representados em cinza.

Uma RDF computa, para cada distância r , as partículas contidas em uma casca esférica de espessura dr . Quando há uma regularidade na distribuição da partículas, as RDF indicam pelos seus mínimos e máximos as distâncias de menor e maior probabilidade de encontrar as partículas. Essas informações são importantes para o entendimento da estruturação do sistema.

Para cada conjunto de cargas obtidas, efetuou-se as RDF dos grupos mais relevantes da molécula. Os dados obtidos são fornecidos nas figuras abaixo. As diferentes cores das linhas representam os diferentes conjuntos de cargas.

Pela análise geral das RDF, podemos observar uma significativa melhora na estruturação do sistema quando comparamos as simulações efetuadas com o conjunto de cargas originais e as simulações com as cargas ajustadas pelos métodos quânticos. O uso de uma base melhor também conduz a resultados melhores.

A Figura 36 mostra a RDF envolvendo os três oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios da molécula de água.

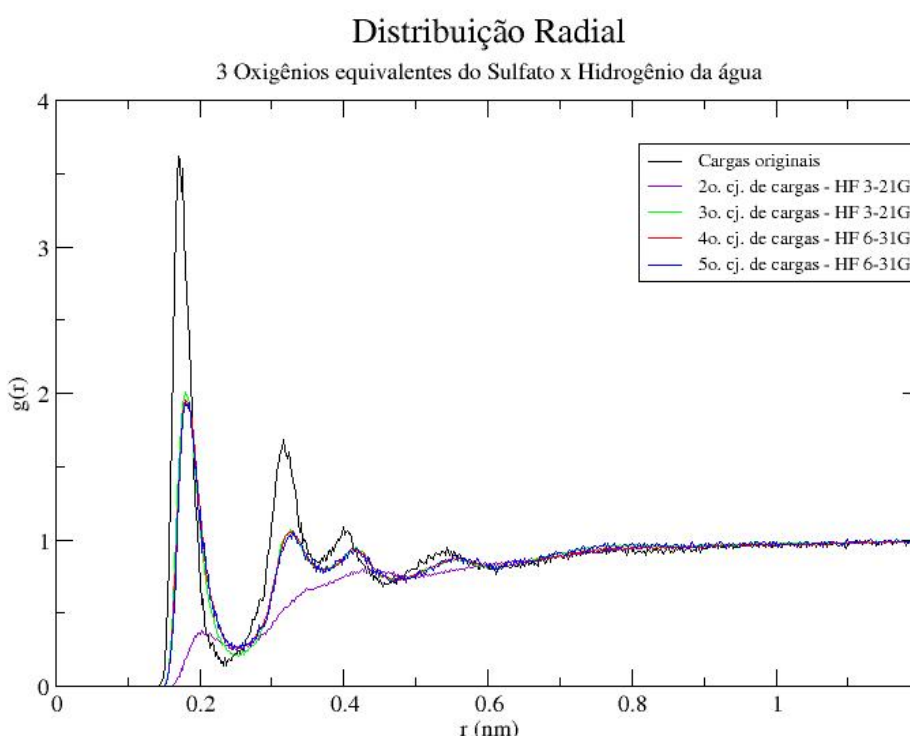


Fig.36. RDF dos três oxigênios equivalentes do sulfato (O1, O3 e O4) com os hidrogênios das moléculas de água.

Como as cargas originais propostas pelo Prodrgr estavam superestimadas para os oxigênios do sulfato (-1,124), podemos observar picos muito maiores para esse conjunto de cargas. A presença desses picos está relacionada com as ligações de hidrogênio dos três oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água. Também é possível concluir que as cargas do segundo conjunto estavam subestimadas (-0,503), desfavorecendo essas ligações de hidrogênio. Os gráficos dos três últimos conjuntos de cargas estão praticamente sobrepostos.

As figuras 37 a 41 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo os oxigênios equivalentes ligados ao sulfato com as moléculas de solvente.

Cargas originais (1º. Conjunto de cargas)

Ligações de Hidrogênio - Oxig. sulfato x água

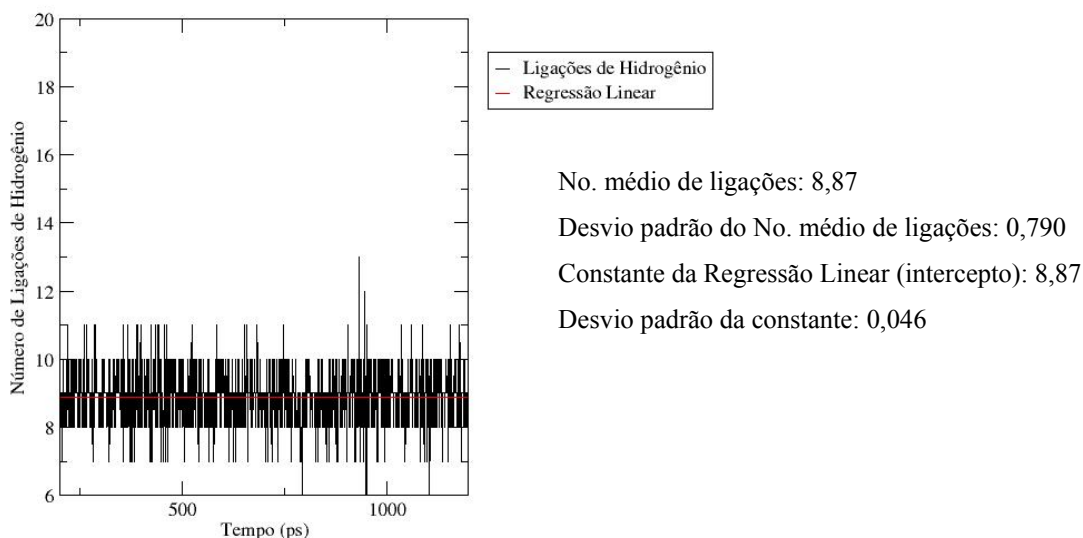


Fig. 37. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com as cargas originais (primeiro conjunto de cargas) dos oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - Oxig. sulfato x água

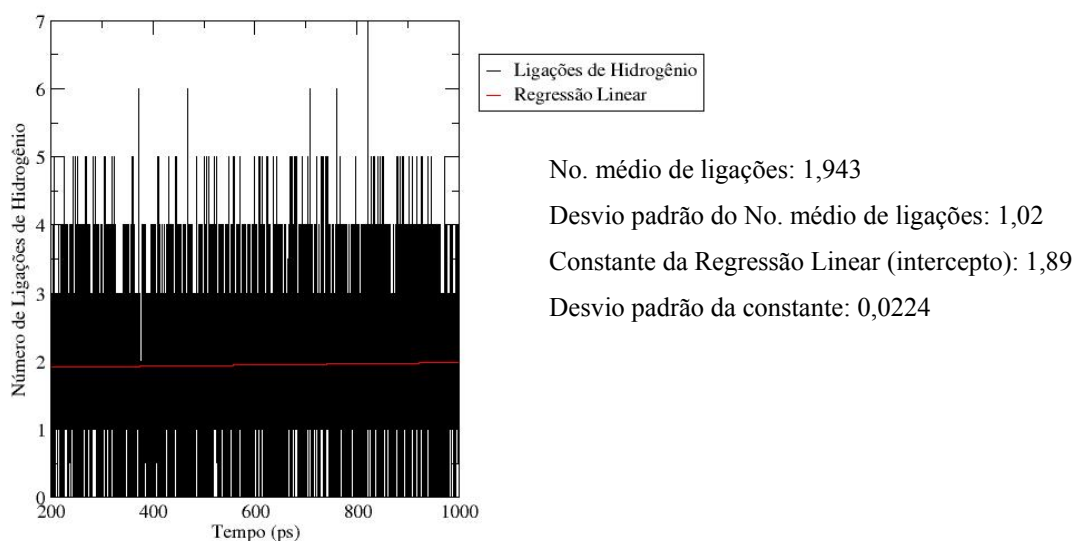


Fig. 38. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o segundo conjunto de cargas dos oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - O₂ sulfato x água

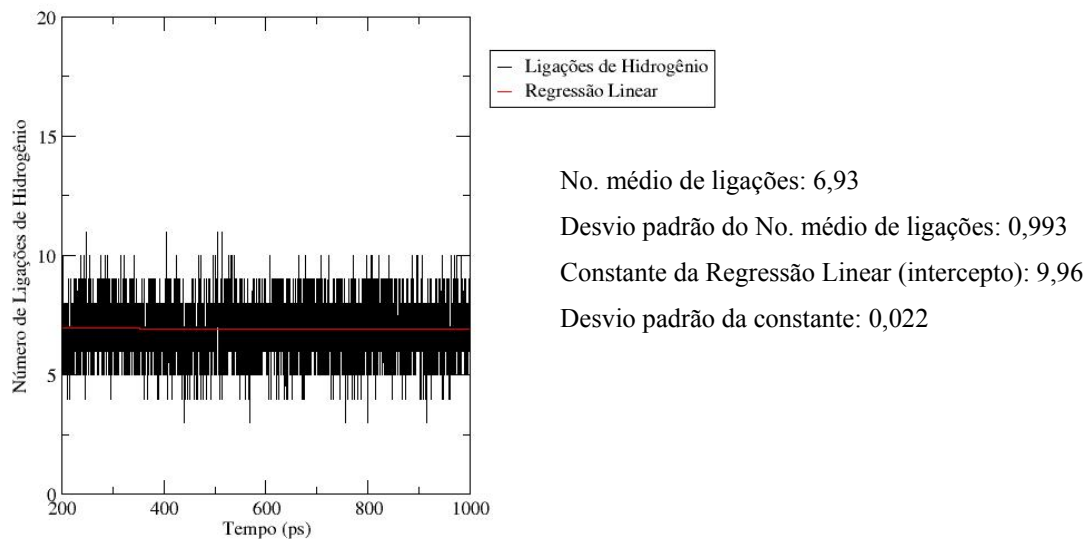


Fig. 39. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o terceiro conjunto de cargas dos oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - O sulfato x água

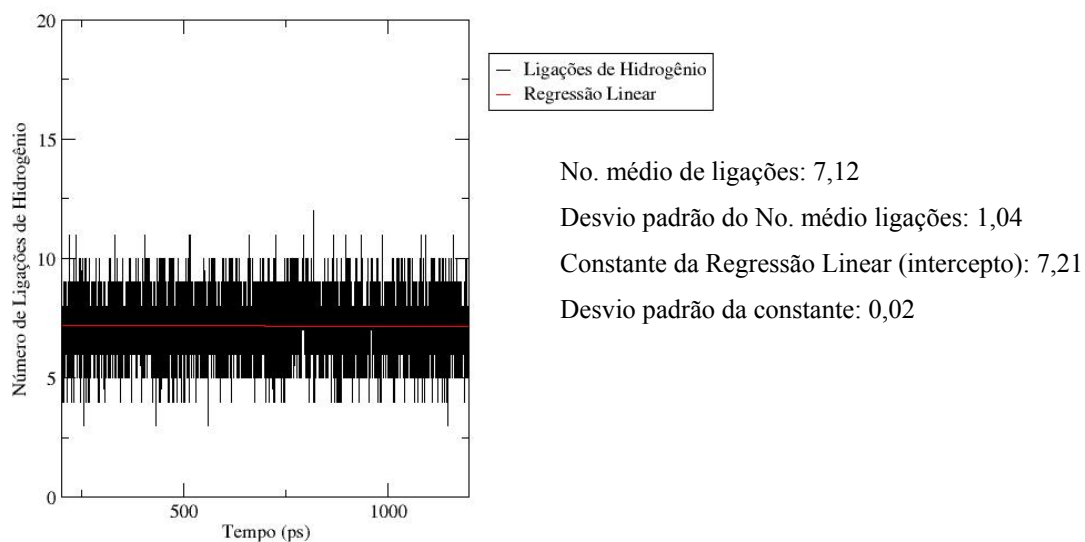


Fig. 40. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quarto conjunto de cargas dos oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - Oxig. Sulfato x água

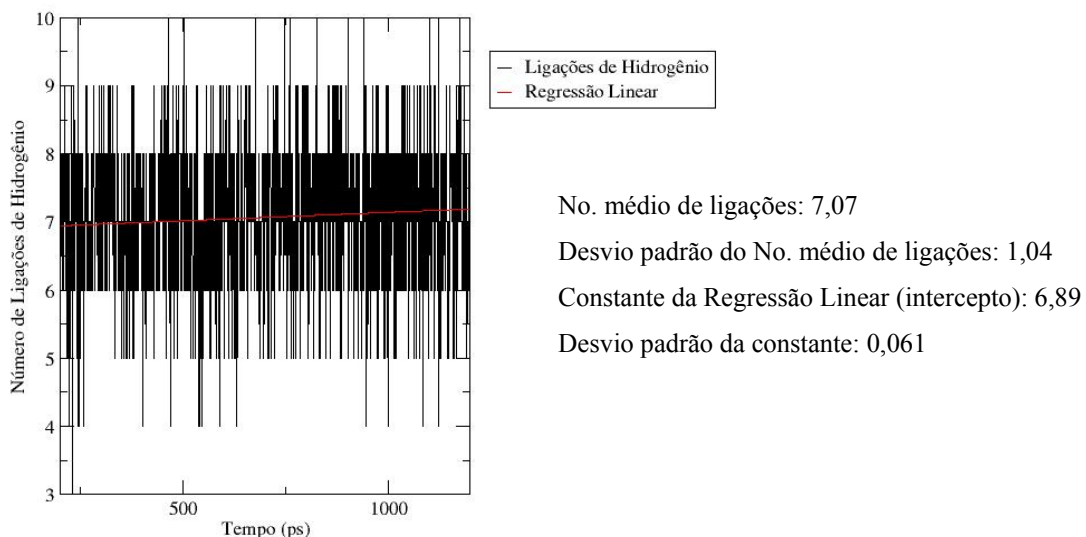


Fig. 41. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quinto conjunto de cargas dos oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios das moléculas de água.

Conforme já discutido nos gráficos das distribuições radiais, para o primeiro conjunto de cargas temos uma quantidade muito elevada de ligações de hidrogênio. Já o segundo conjunto de cargas apresenta um número muito pequeno dessas ligações e desvio padrão muito elevado. Novamente os três últimos conjuntos de cargas apresentam resultados próximos.

A Figura 42 mostra a RDF envolvendo os três oxigênios equivalentes do sulfato com os hidrogênios da molécula de água.

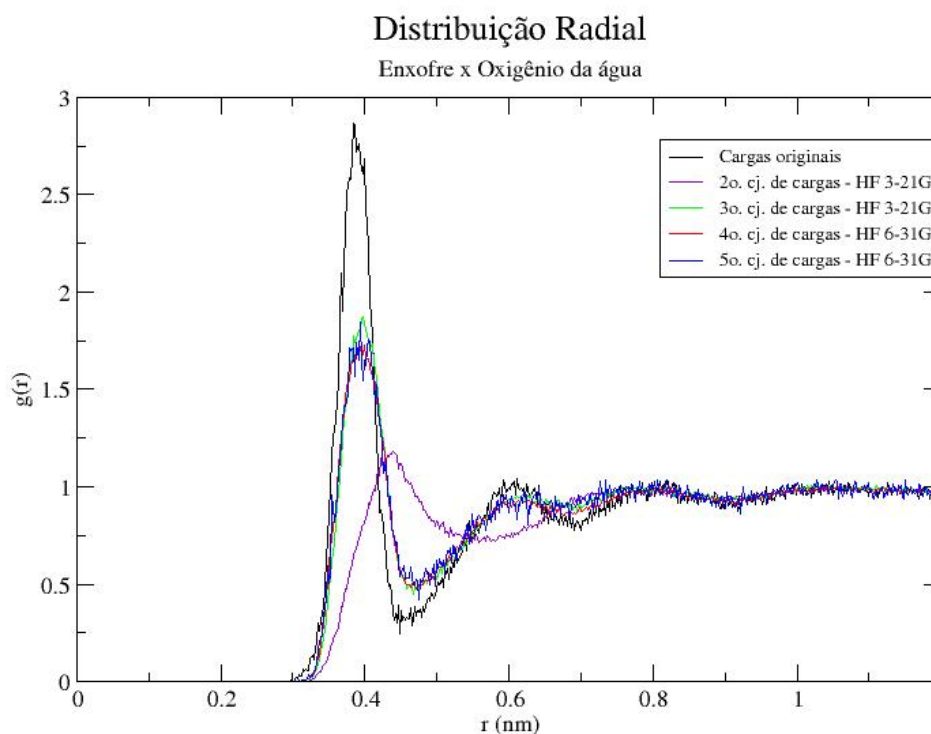


Fig. 42 - RDF do enxofre do sulfato (S2) com os oxigênios das moléculas de água.

Novamente, temos os picos das cargas originais bastante intensos, em vista que as cargas do enxofre (e também do oxigênio) estão superestimadas (2,327). Cabe ressaltar que não temos como verificar a estruturação do solvente em torno da molécula apenas pela presença do enxofre. Esse gráfico e o anterior mostram a contribuição do enxofre e, especialmente, dos oxigênios do sulfato. Aqui também podemos visualizar que as curvas correspondentes aos três últimos conjuntos de cargas estão praticamente sobrepostas.

A Figura 43 mostra a RDF envolvendo o oxigênio da hidroxila com os hidrogênios da molécula de água.

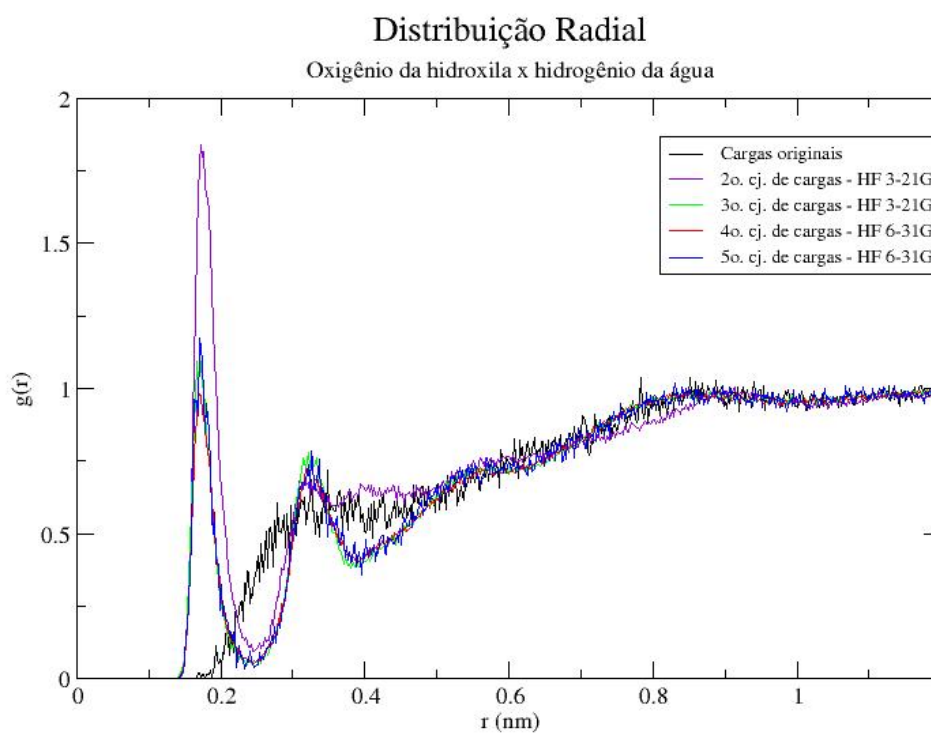


Fig. 43. RDF do oxigênio da hidroxila (O25) com hidrogênios das moléculas de água.

As figuras 44 a 48 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo oxigênio da hidroxila com as moléculas de solvente.

Cargas originais (1º. Conjunto de cargas)

Ligações de Hidrogênio - Oxig. hidroxila x água

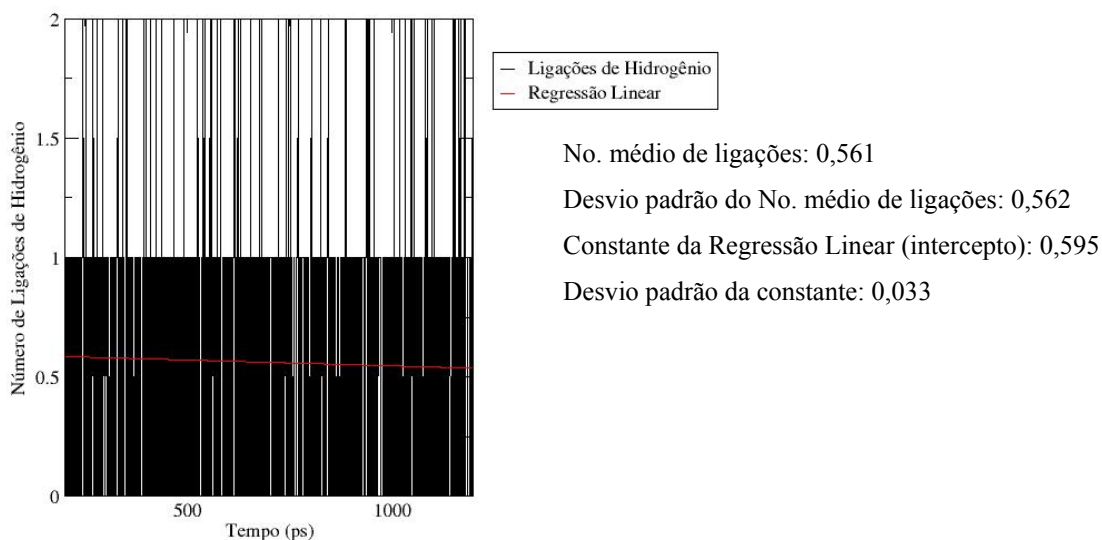


Fig. 44. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com as cargas originais do oxigênio da hidroxila com os hidrogênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - Oxig. hidroxila x água

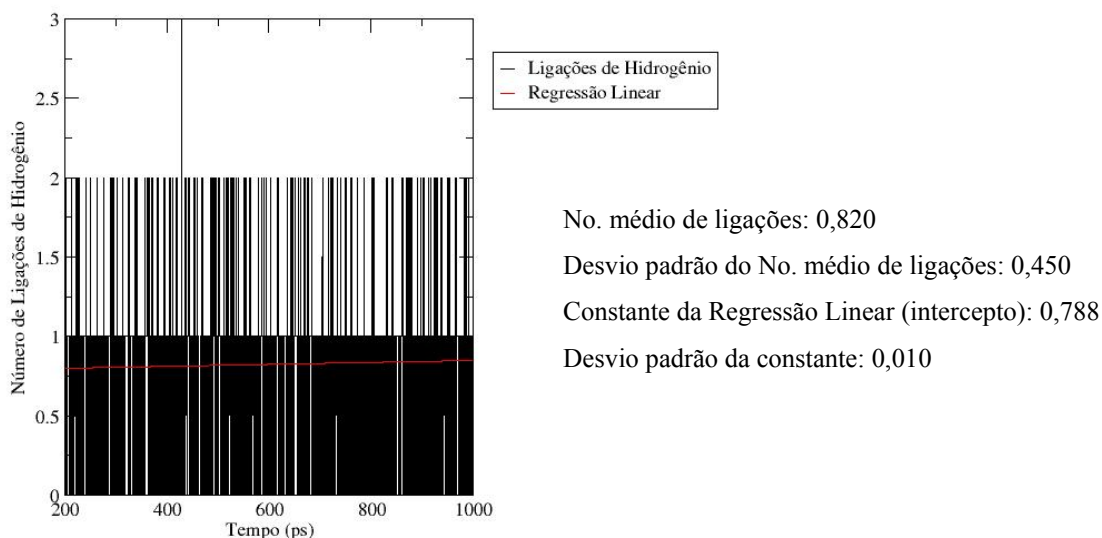


Fig. 45. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o segundo conjunto de cargas do oxigênio da hidroxila com os hidrogênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - Oxig. hidroxila x água

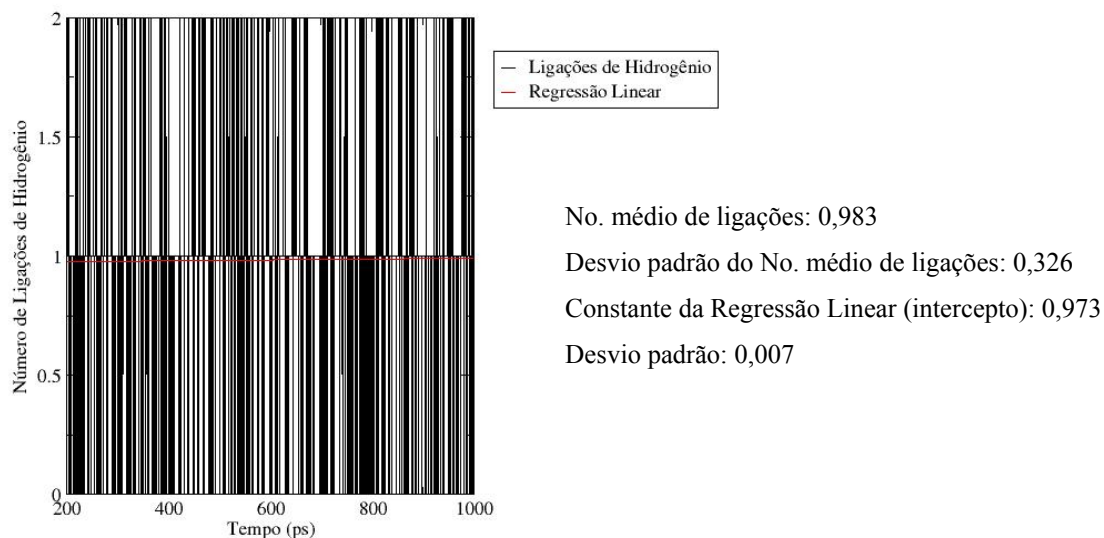


Fig. 46. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o terceiro conjunto de cargas do oxigênio da hidroxila com os hidrogênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio O da Hidroxila x Água



Fig. 47. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quarto conjunto de cargas do oxigênio da hidroxila com os hidrogênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - O hidroxila x água

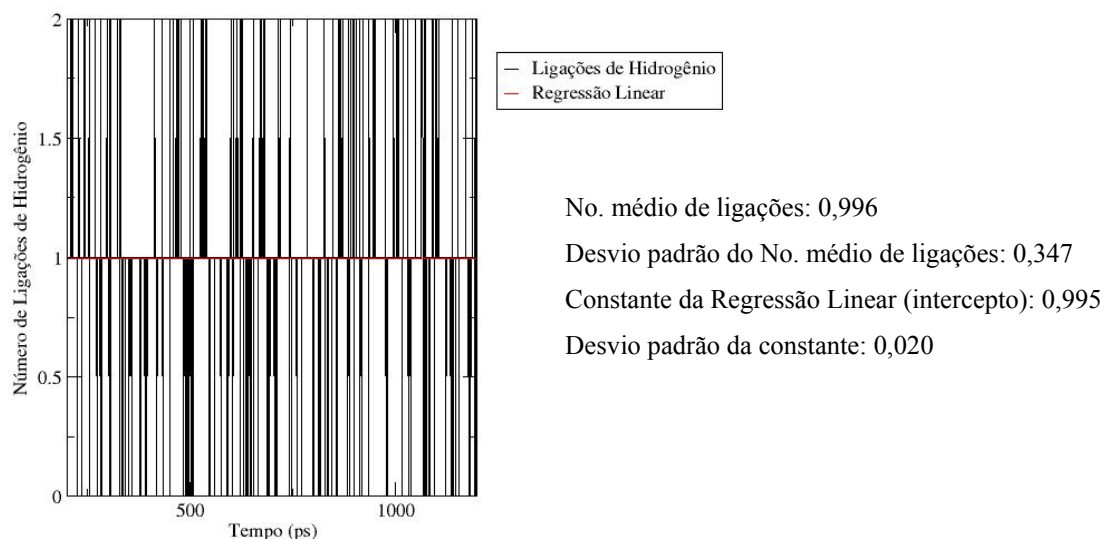


Fig. 48. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quinto conjunto de cargas do oxigênio da hidroxila com os hidrogênios das moléculas de água.

Podemos perceber que com as cargas originais, as ligações de hidrogênio com o átomo em questão e as moléculas de água não são muito efetivas. Os três últimos conjuntos de cargas produzem resultados bastante próximos. Com a melhora da base, temos ligações de hidrogênio mais efetivas.

A Figura 49 mostra a RDF envolvendo o hidrogênio da hidroxila com os oxigênios da molécula de água.

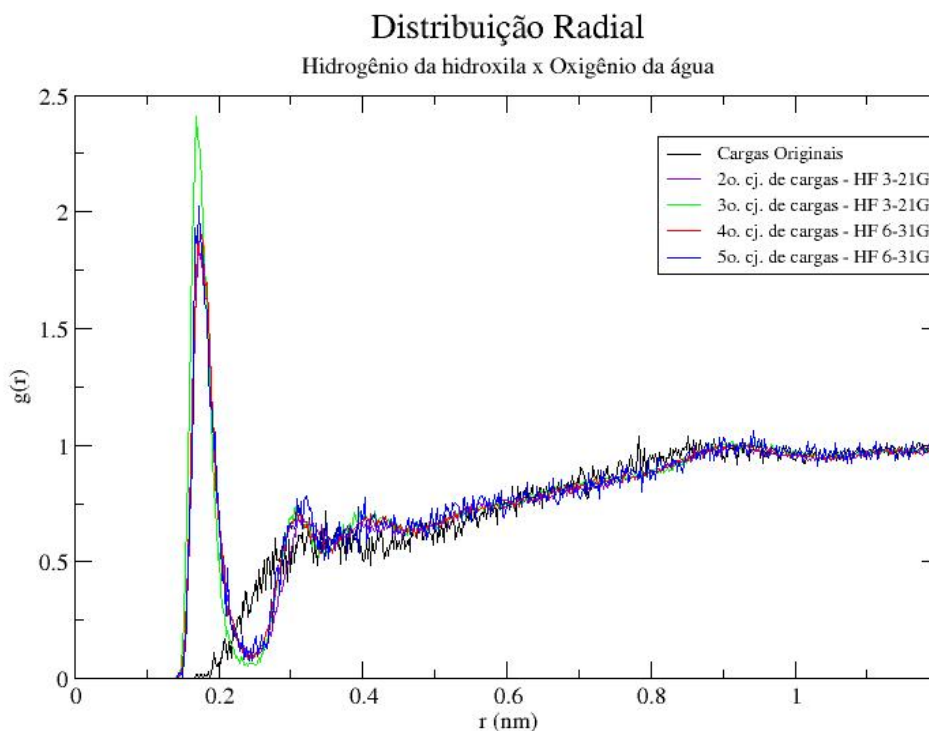


Fig 49. RDF do hidrogênio da hidroxila (H26) com os oxigênios das moléculas de água.

As RDF do oxigênio e hidrogênio da hidroxila devem ser analisadas em conjunto, tendo em vista que os dois átomos contribuem na estruturação do solvente em torno da hidroxila.

Podemos perceber claramente que com as cargas originais, praticamente não ocorriam as ligações de hidrogênio com os átomos da hidroxila e as moléculas de água. Novamente, as curvas dos três últimos conjuntos são relativamente próximas.

As figuras 50 a 54 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo o hidrogênio da hidroxila com as moléculas de solvente.

Cargas Originais (Primeiro conjunto de cargas)

Ligações de Hidrogênio - H hidroxila x água



Fig. 50. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o primeiro conjunto de cargas (cargas originais) do H da hidroxila com os oxigênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

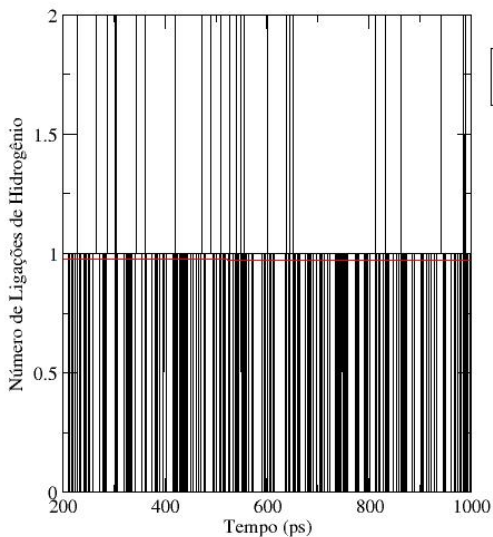
Ligações de Hidrogênio - H hidroxila x água



Fig. 51. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o segundo conjunto de cargas do H da hidroxila com os oxigênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - H hidroxila x água



No. médio de ligações: 0,974

Desvio padrão do No. médio de ligações: 0,171

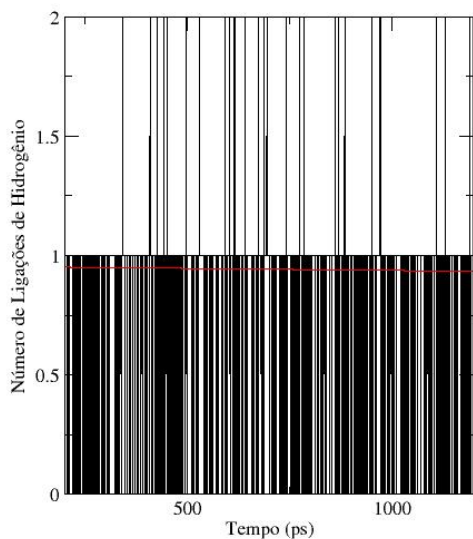
Constante da Regressão Linear (intercepto): 0,979

Desvio padrão da constante: 0,004

Fig. 52. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o terceiro conjunto de cargas do H da hidroxila com os oxigênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio H hidroxila x água



No. médio de ligações: 0,943

Desvio padrão do No. médio de ligações: 0,240

Constante da Regressão Linear (intercepto): 0,956

Desvio padrão da constante: 0,004

Fig. 53. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quarto conjunto de cargas do H da hidroxila com os oxigênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - H hidroxila x água

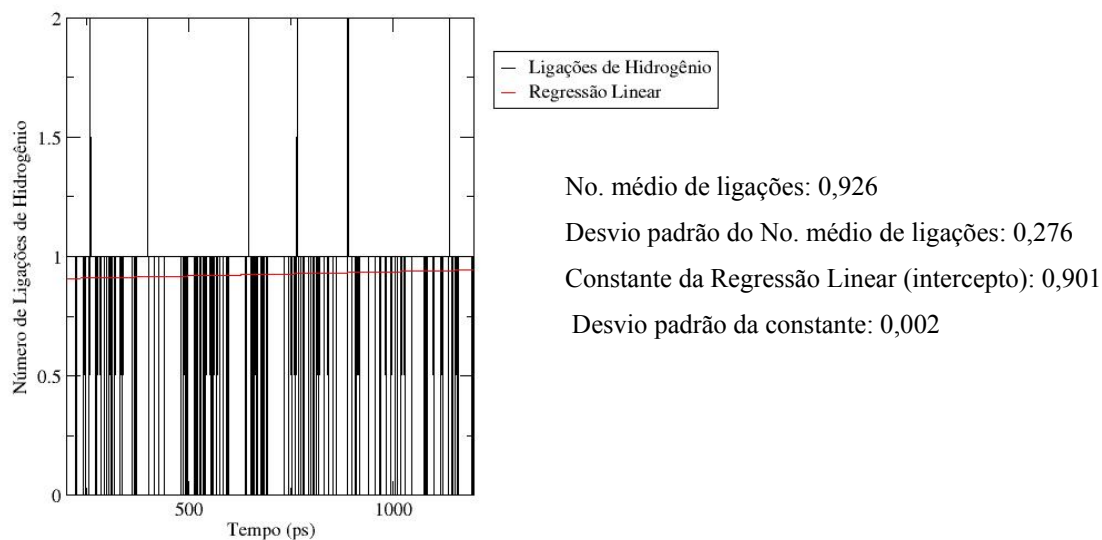


Fig. 54 Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quinto conjunto de cargas do H da hidroxila com os oxigênios das moléculas de água.

Esses resultados reforçam as informações obtidas com as RDF. Podemos perceber que com as cargas originais praticamente não ocorriam as ligações de hidrogênio com o átomo em questão e as moléculas de água. Os três últimos conjuntos de cargas produzem resultados bastante próximos.

A Figura 55 mostra a RDF envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 35 com os oxigênios da molécula de água

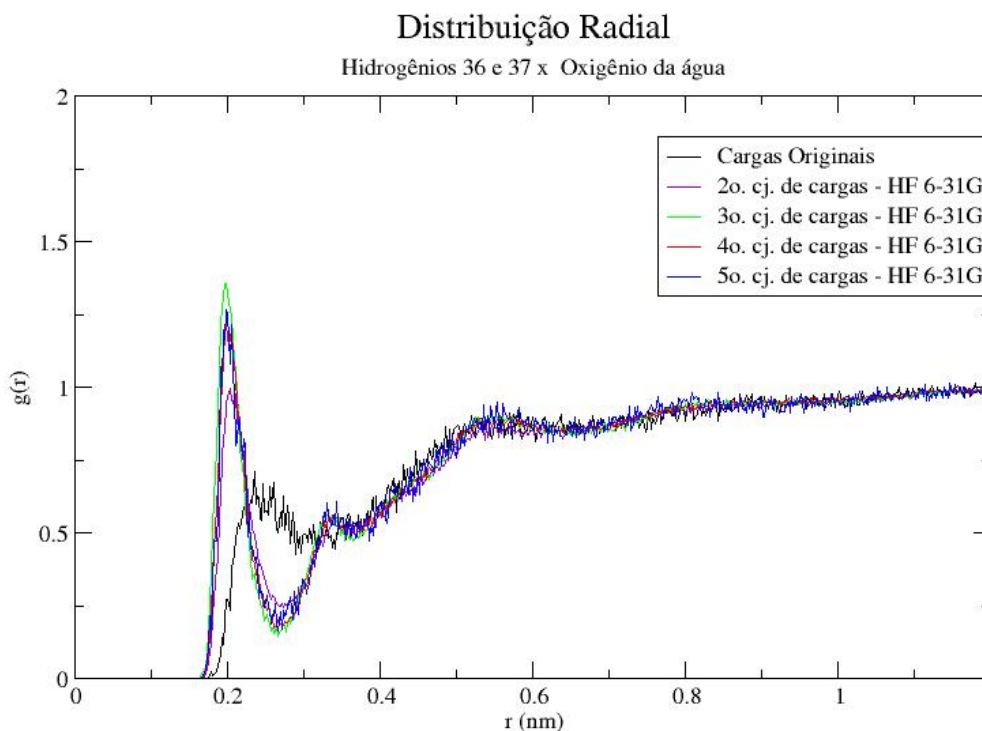


Fig. 55. RDF dos hidrogênios H36 e H37 com os oxigênios das moléculas de água

Podemos observar que com as cargas originais não temos a formação de ligações de hidrogênio efetivas, em virtude dos hidrogênios apresentarem valores negativos para cargas (-0,024).

As figuras 56 a 60 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 35.

Cargas originais (1º. Conjunto de cargas)

Ligações de Hidrogênio - NH₂(35) x água

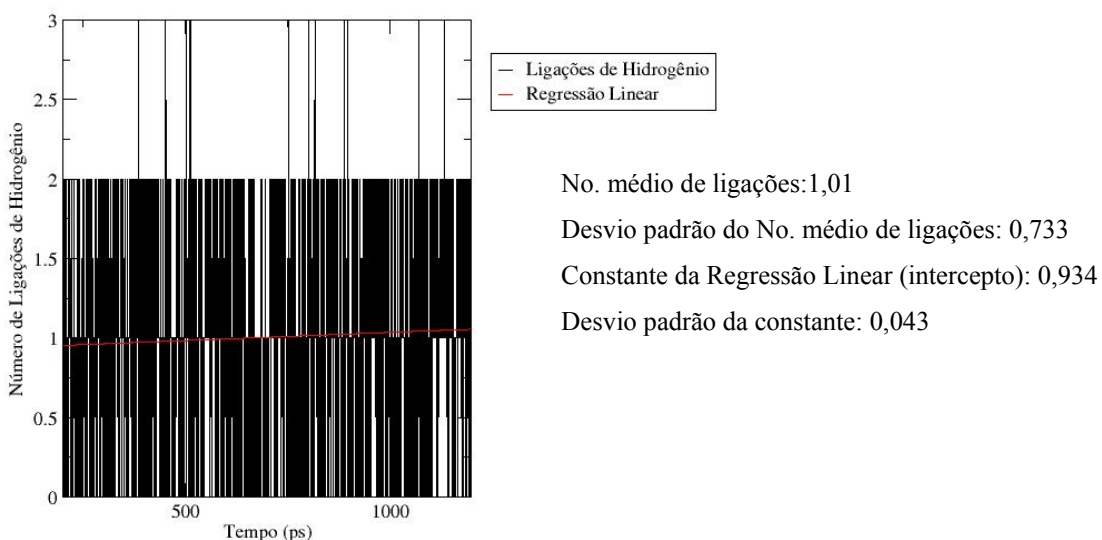


Fig. 56. Gráfico das Ligações de Hidrogênio das cargas originais (primeiro conjunto de cargas), envolvendo os hidrogênios ligados ao Nitrogênio 35 com os oxigênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

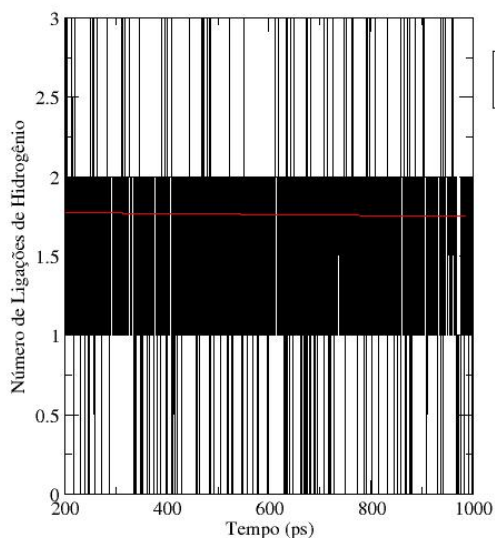
Ligações de Hidrogênio - NH₂(35) x água



Fig. 57. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do segundo conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao Nitrogênio 35 com os oxigênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₂(35) x água

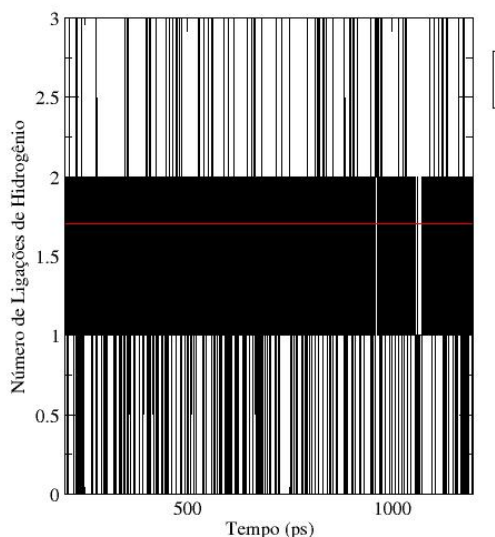


No. médio de ligações: 1,76
Desvio padrão do No. médio de ligações: 0,463
Constante da Regressão Linear (intercepto): 1,78
Desvio padrão da constante: 0,102

Fig. 58. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do terceiro conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao Nitrogênio 35 com os oxigênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₂(35) x água



No. médio de ligações: 1,700
Desvio padrão do No. médio de ligações: 0,520
Constante da Regressão Linear (intercepto) 1,70
Desvio padrão da constante: 0,010

Fig. 59. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quarto conjunto de cargas dos hidrogênios ligados ao Nitrogênio 35 com os oxigênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₂(35) x água

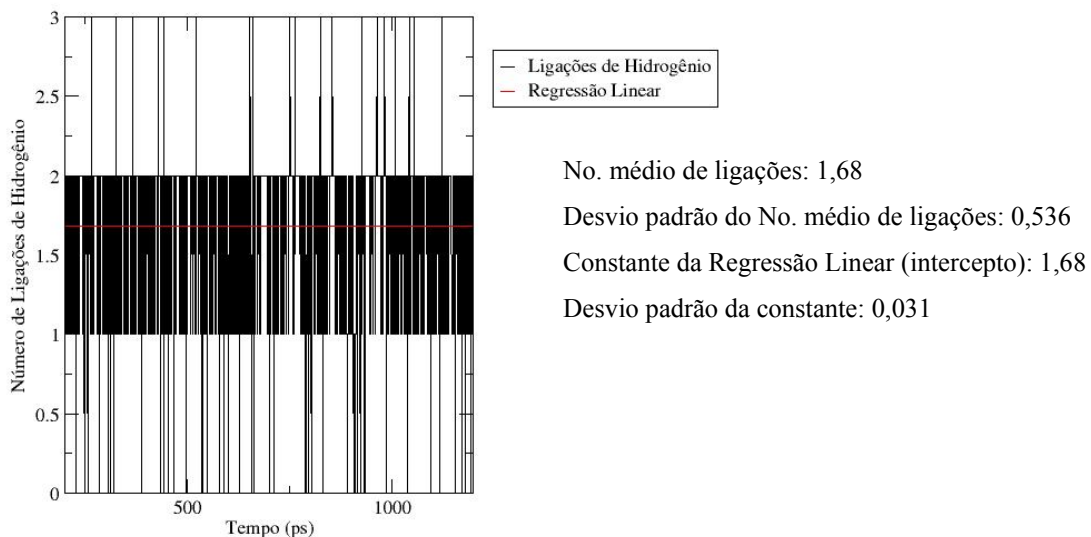


Fig. 60. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do quinto conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao Nitrogênio 35 com os oxigênios das moléculas de água.

Podemos observar que, com o uso de uma base mais sofisticada, temos ligações de hidrogênio mais efetivas. Além disso, o desvio padrão tende a valores bem menores nos três últimos conjuntos de cargas.

A Figura 61 mostra a RDF envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 com os oxigênios da molécula de água.

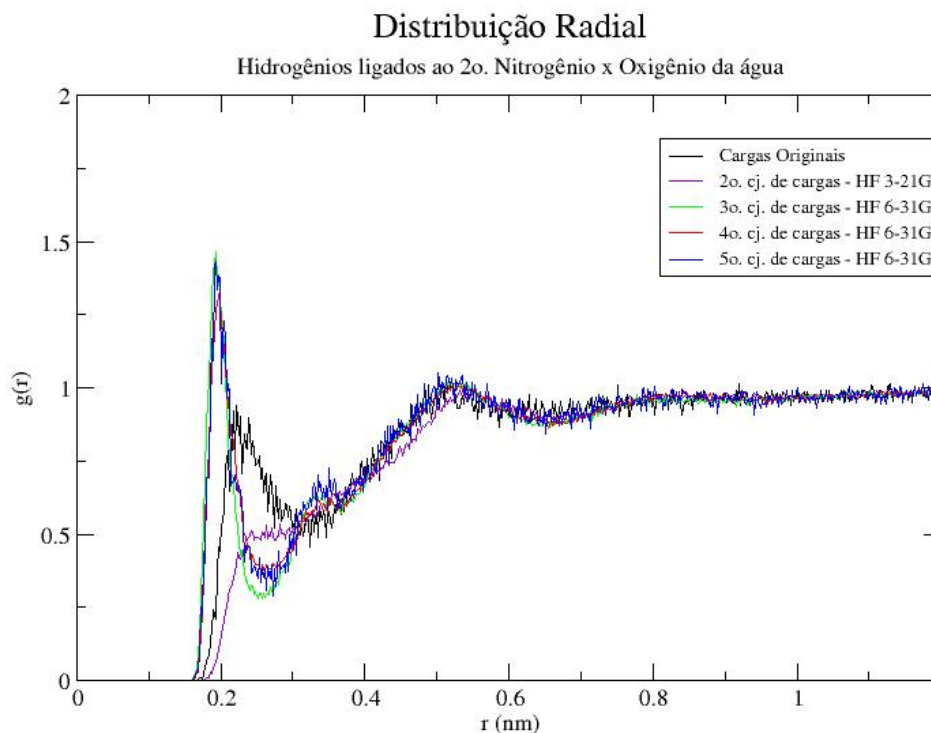


Fig. 61. RDF dos hidrogênios H42 e H43 com os oxigênios das moléculas de água

Nas cargas originais, novamente os hidrogênios apresentam valores negativos (-0,019). No segundo conjunto, os hidrogênios estão com valores de cargas muito pequenos (0,088), com isso não temos a formação de ligações de hidrogênio efetivas. As curvas dos três últimos conjuntos de cargas são praticamente equivalentes.

As figuras 62 a 66 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41.

Cargas originais (1º. Conjunto de cargas)

Ligações de Hidrogênio - NH₂(41) x água

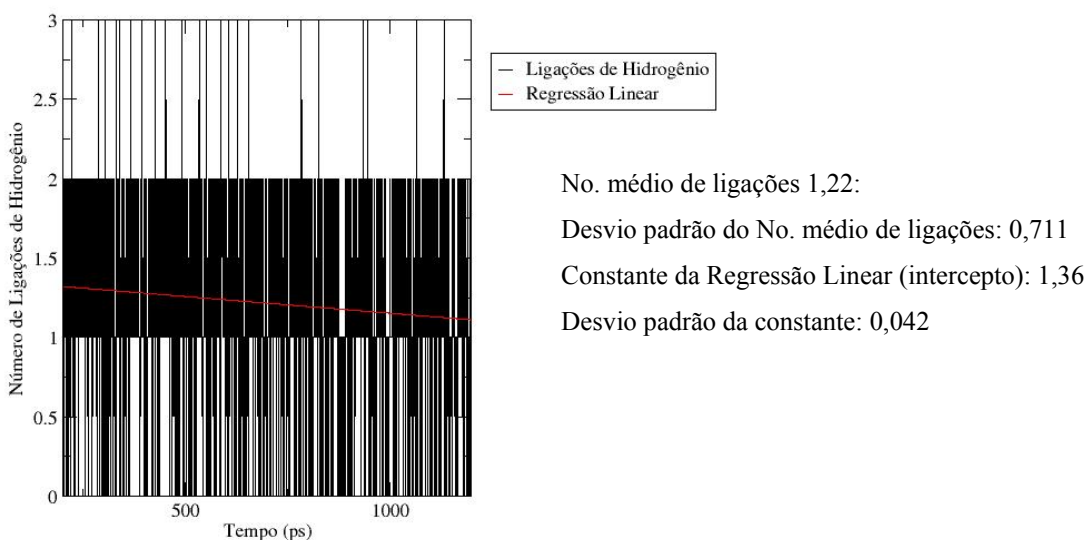


Fig.62. Gráfico das Ligações de Hidrogênio das cargas originais (primeiro conjunto de cargas), envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 com os oxigênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH(41) x água

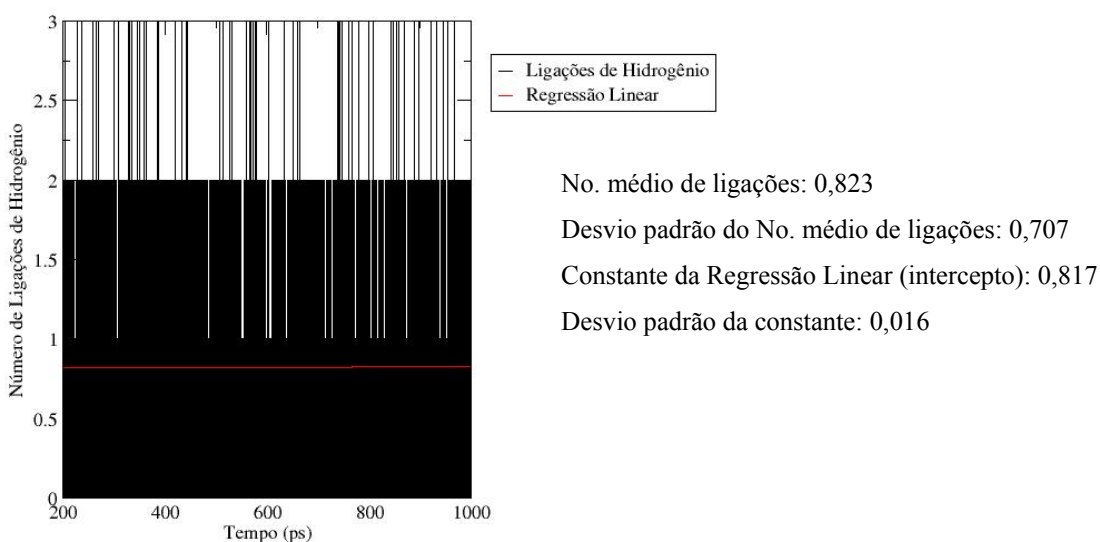


Fig. 63. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do segundo conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 com os oxigênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₂(41) x água

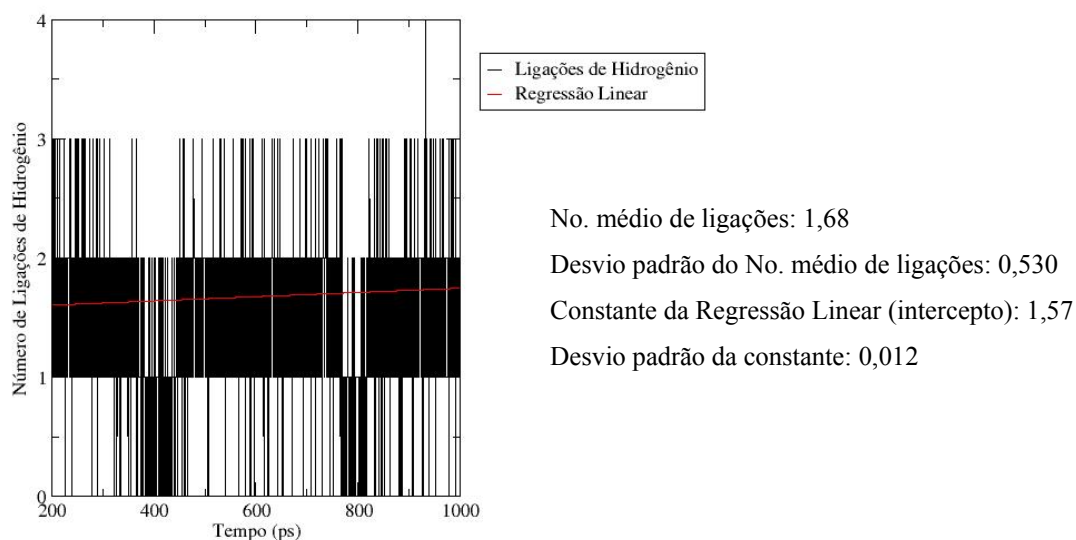


Fig. 64. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o terceiro conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 com os oxigênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₂(41) x água

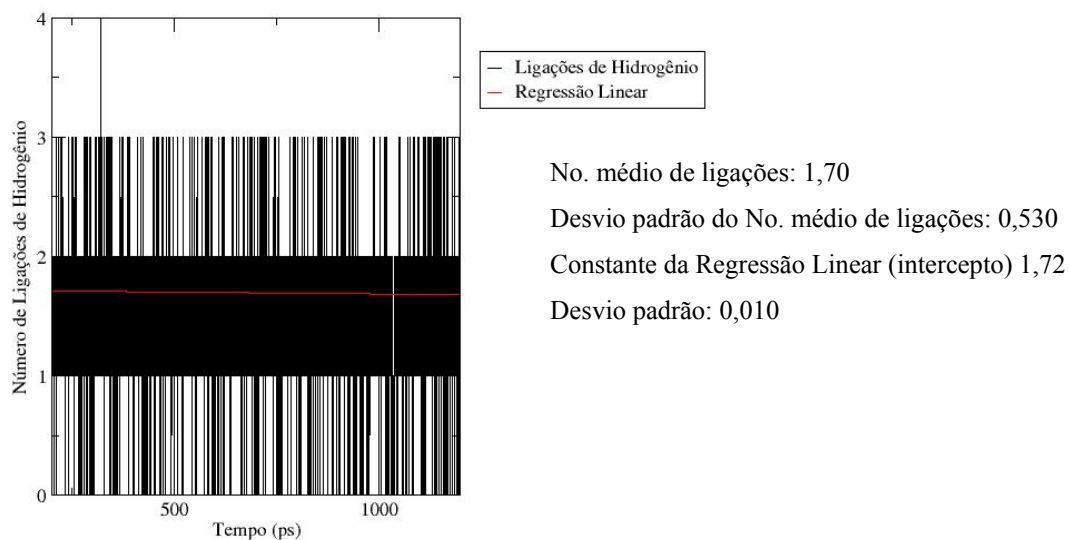


Fig. 65 Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quarto conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 com os oxigênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₂(41) x água

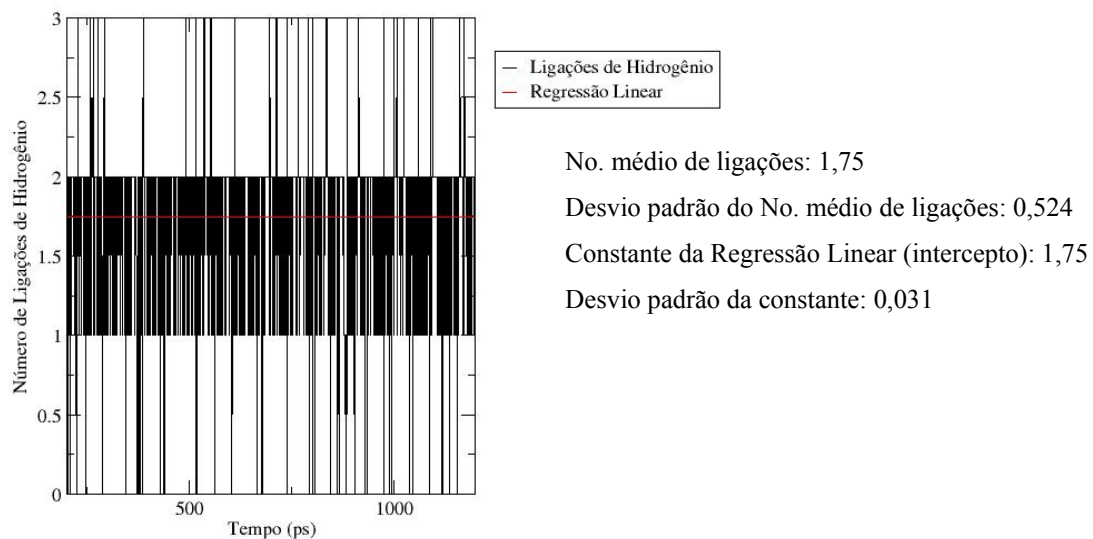


Fig. 66. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do quinto conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 41 com os oxigênios das moléculas de água.

Para esses hidrogênios também podemos observar que, com a melhora da base, temos ligações de hidrogênio mais efetivas. Além disso, o desvio padrão tende a valores menores nos três últimos conjuntos de cargas.

A Figura 67 mostra a RDF envolvendo os hidrogênios terminais ligados ao nitrogênio 48 com os oxigênios da molécula de água.

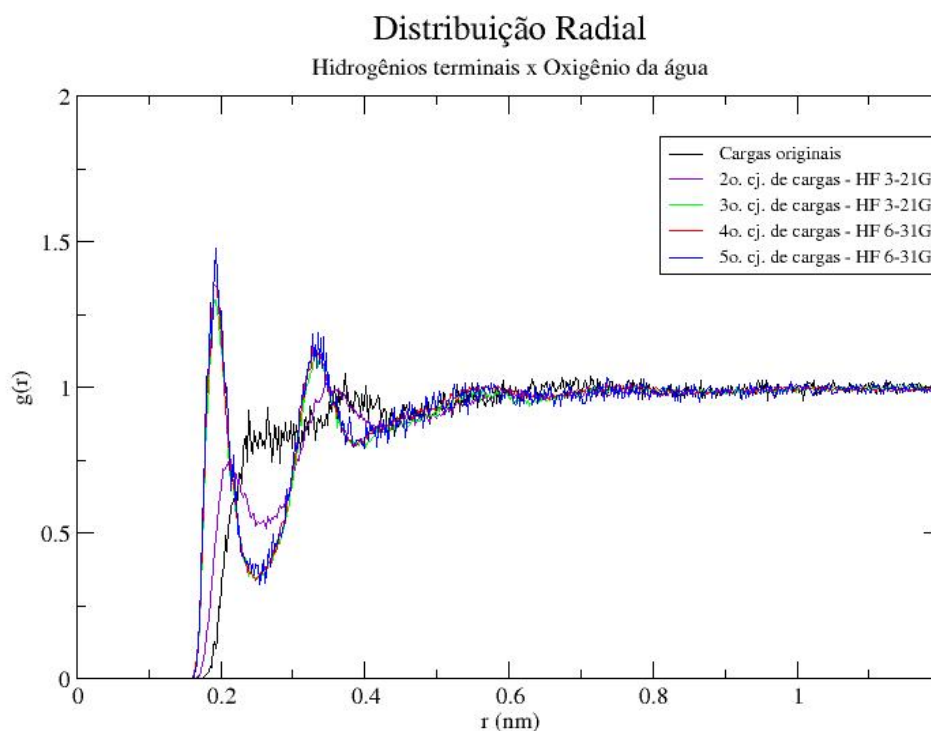


Fig. 67. RDF dos hidrogênios H49, H50 e H51 com os oxigênios da água.

As cargas originais apresentam novamente valores negativos para os hidrogênios (-0,019) e o segundo conjunto com valores relativamente pequenos para os hidrogênios (0,237).

As figuras 68 a 72 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48.

Cargas originais (1º. Conjunto de cargas)

Ligações de Hidrogênio - NH₃(48) x água

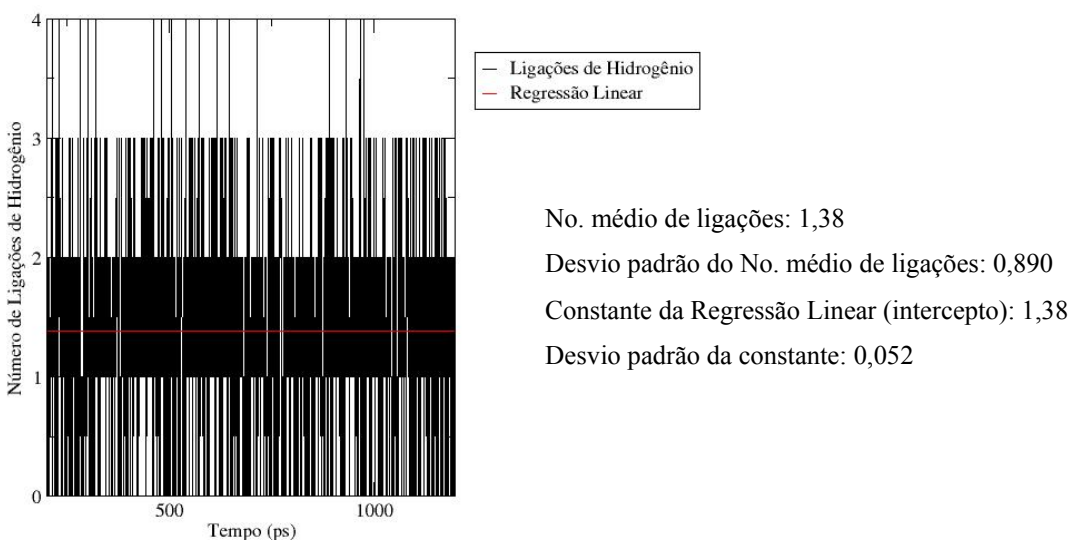


Fig. 68. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do conjunto de cargas originais (primeiro conjunto de cargas), envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48 com os oxigênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₃(48) x água

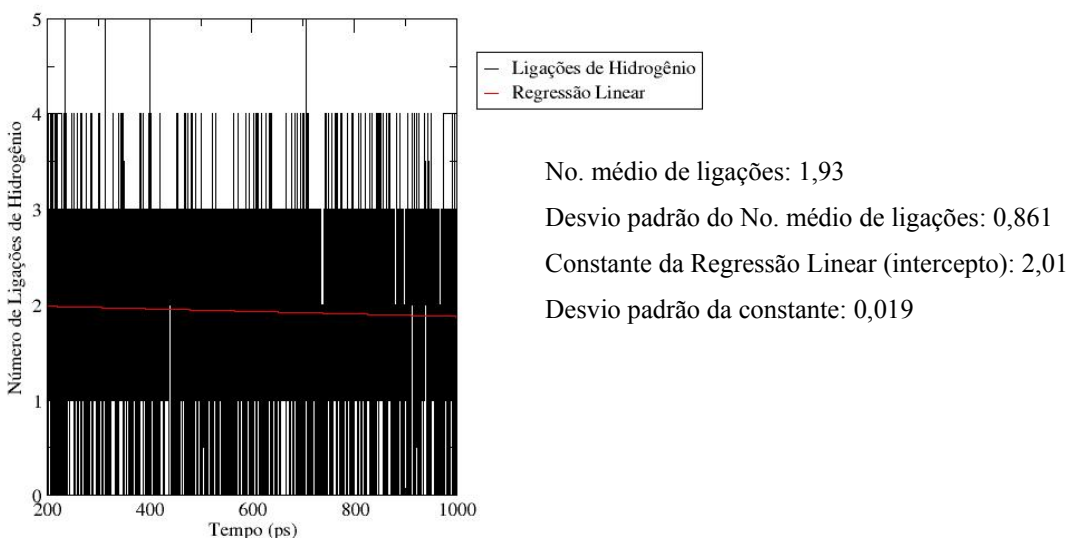


Fig. 69. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do segundo conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48 com os oxigênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₃(48) x água

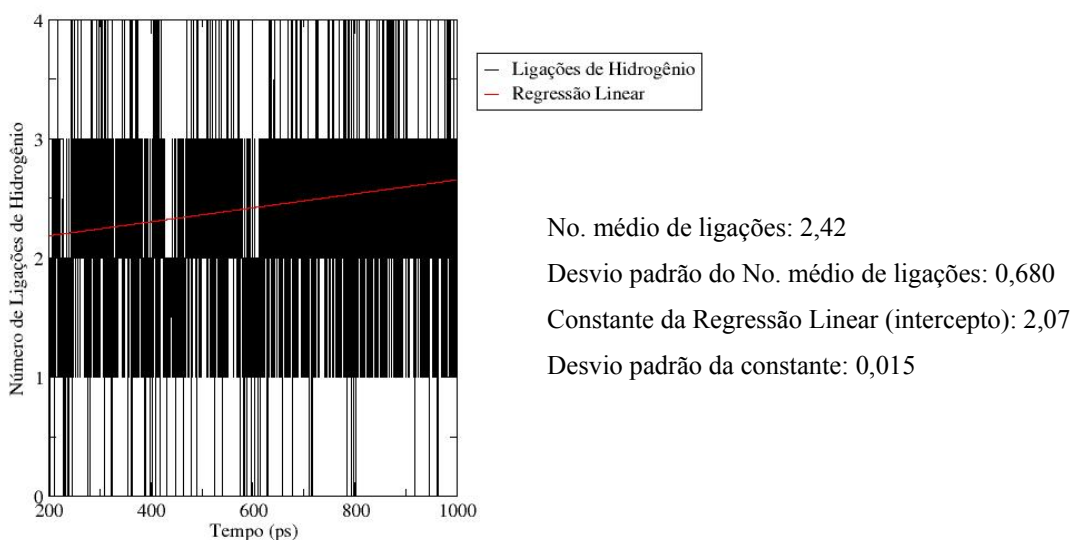


Fig. 70. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do terceiro conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48 com os oxigênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₃(48) x água

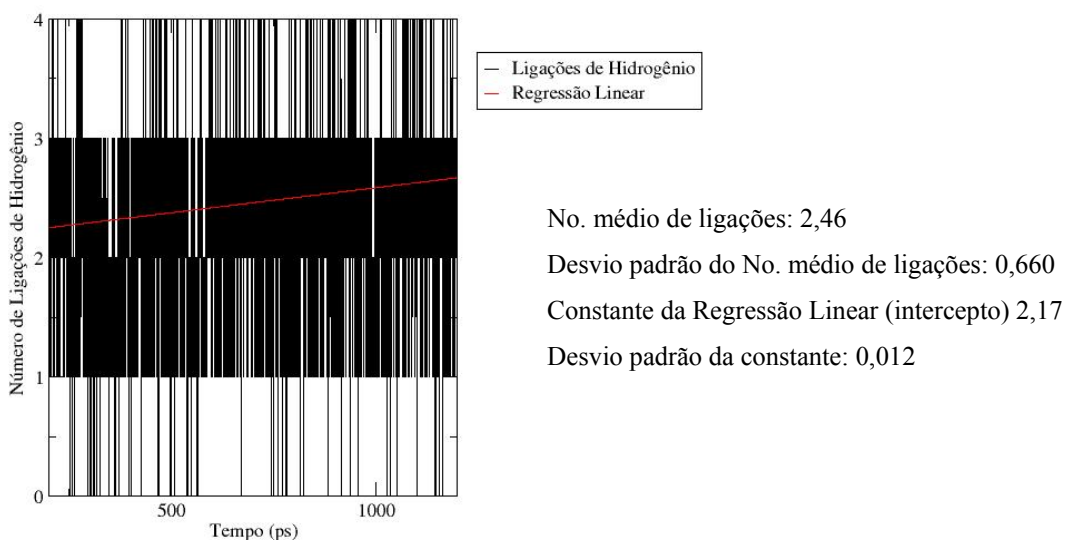


Fig. 71. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com o quarto conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48 com os oxigênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - NH₃(48) x água

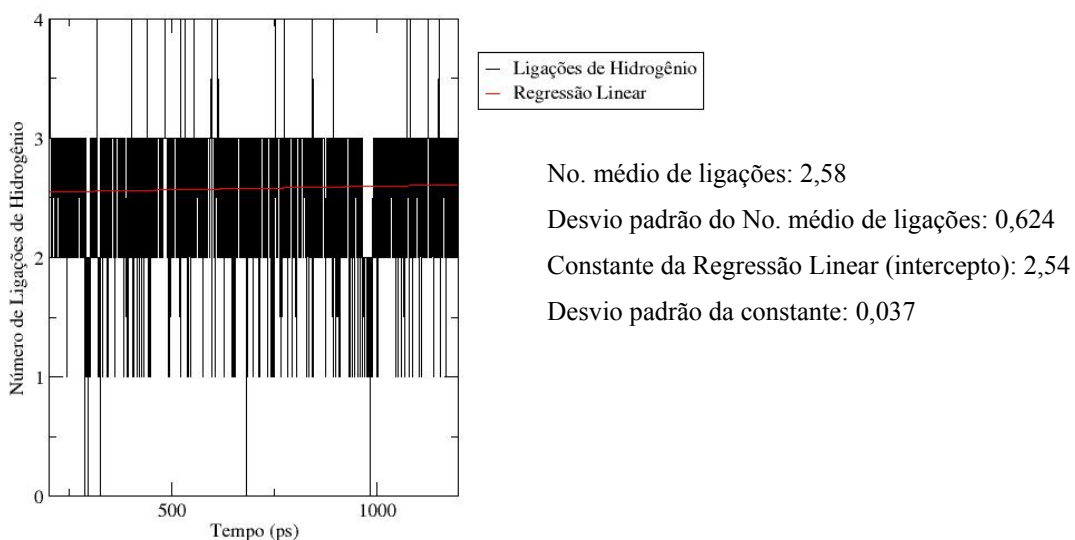


Fig. 72. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do quinto conjunto de cargas, envolvendo os hidrogênios ligados ao nitrogênio 48 com os oxigênios das moléculas de água.

A análise dos gráficos revela novamente que, com a melhora da base, temos ligações de hidrogênio mais efetivas e desvios-padrões tendendo a valores bem menores nos três últimos conjuntos de cargas.

A Figura 73 mostra a RDF envolvendo o oxigênio que liga o sulfato à cadeia carbônica (O5), com os hidrogênios da molécula de água.

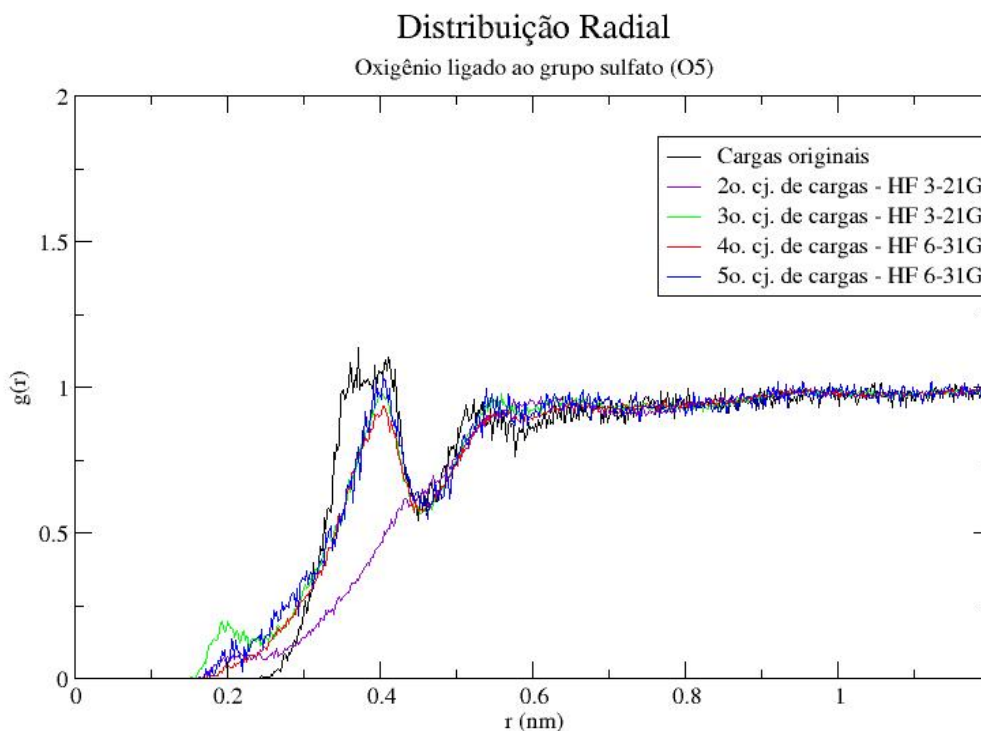


Fig. 73. RDF do oxigênio ligado ao sulfato (O5) com os hidrogênios da água.

Esse oxigênio encontra-se com grande impedimento espacial, tendo em vista o grande volume dos grupos a ele ligados. O primeiro pico reduzido, logo antes de 0,25 nm, corresponde às eventuais ligações de hidrogênio desse oxigênio com a água. O pico maior, entre 0,35 e 0,4 nm, deve aparecer em virtude do enxofre e, especialmente, dos demais oxigênios vizinhos, que contribuem de forma mais significativa com a estruturação do solvente nessa região.

As figuras 74 a 78 mostram o número médio de ligações de hidrogênio, regressão linear e desvios padrões em cada conjunto de cargas, envolvendo o oxigênio que liga o sulfato à cadeia carbônica (O5), com os hidrogênios da molécula de água.

Cargas originais (1º. Conjunto de cargas)

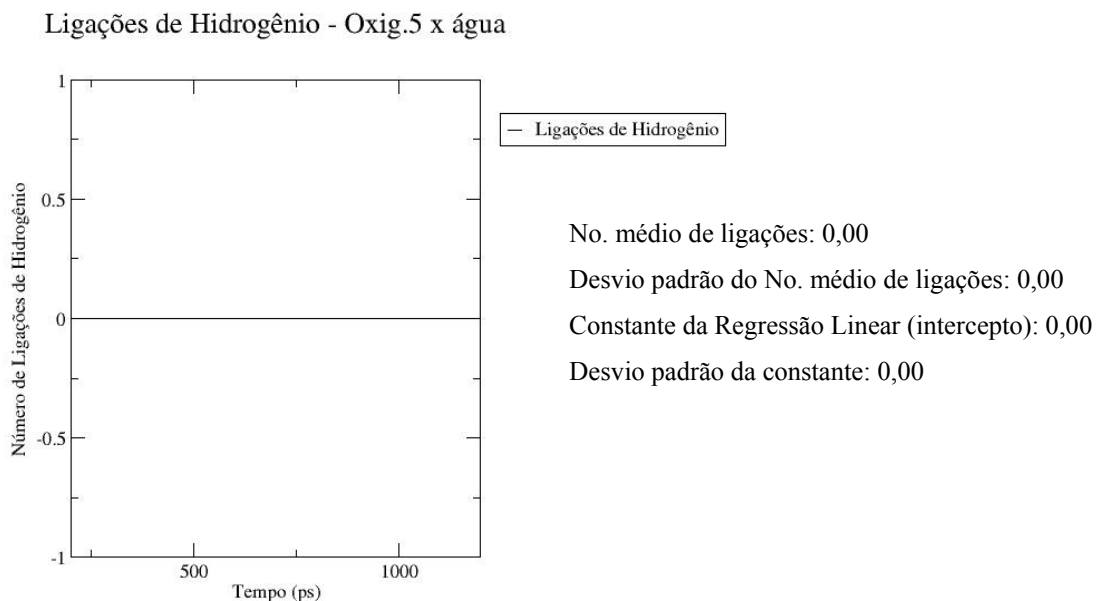


Fig. 74. Gráfico das Ligações de Hidrogênio com as cargas originais (primeiro conjunto de cargas) cargas do oxigênio ligado ao sulfato (O5) com os hidrogênios das moléculas de água.

Segundo conjunto de cargas

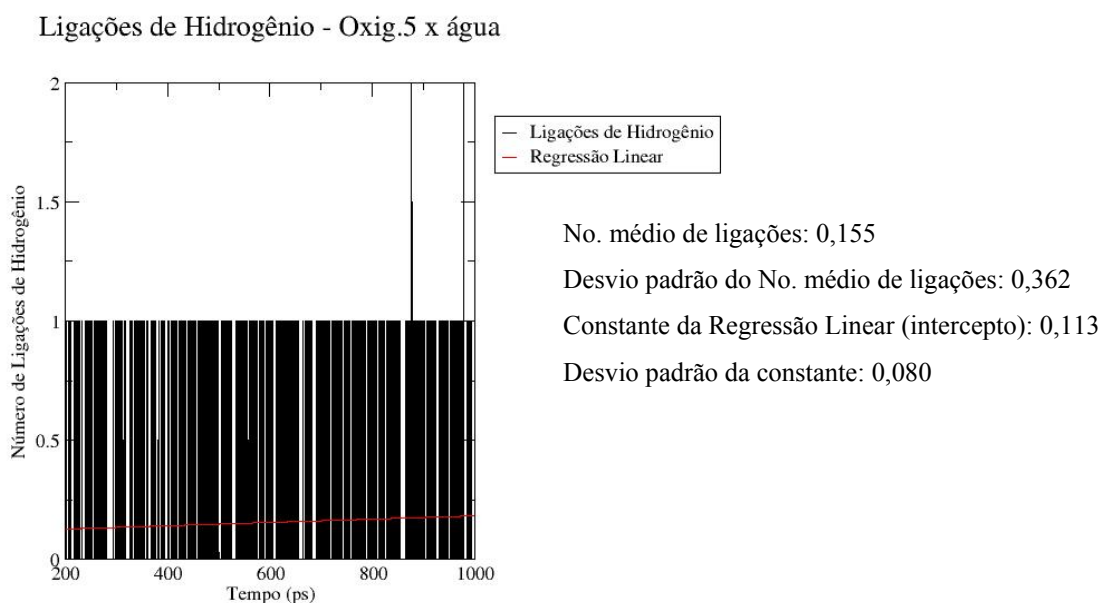


Fig. 75. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do segundo conjunto de cargas, envolvendo oxigênio ligado ao sulfato (O5) com os hidrogênios das moléculas de água.

Terceiro conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - Oxig.(5) x água

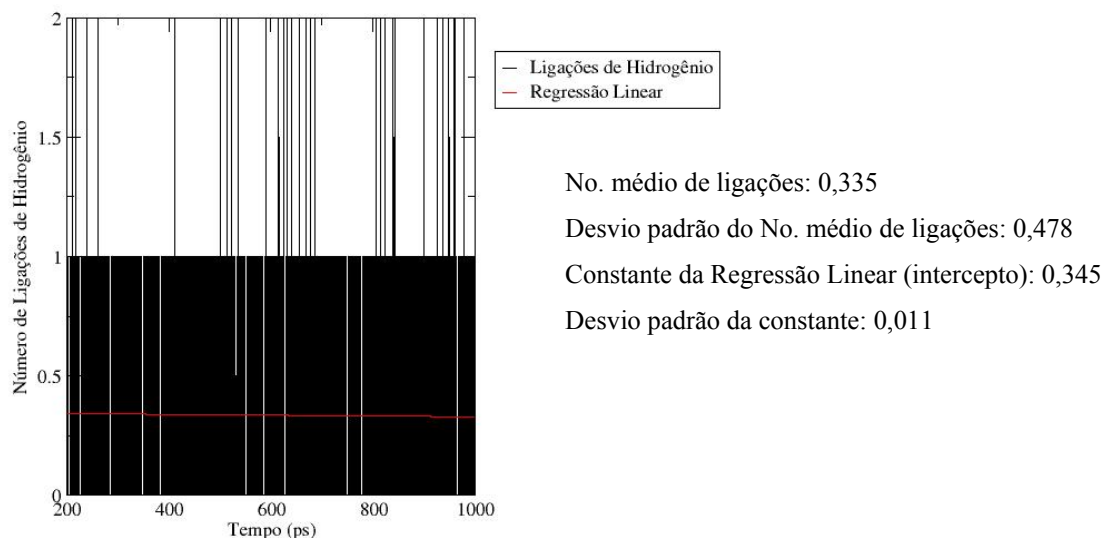


Fig. 76. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do terceiro conjunto de cargas do oxigênio ligado ao sulfato (O5) com os hidrogênios das moléculas de água.

Quarto conjunto de cargas

Ligações de Hidrogênio - O_5 x água

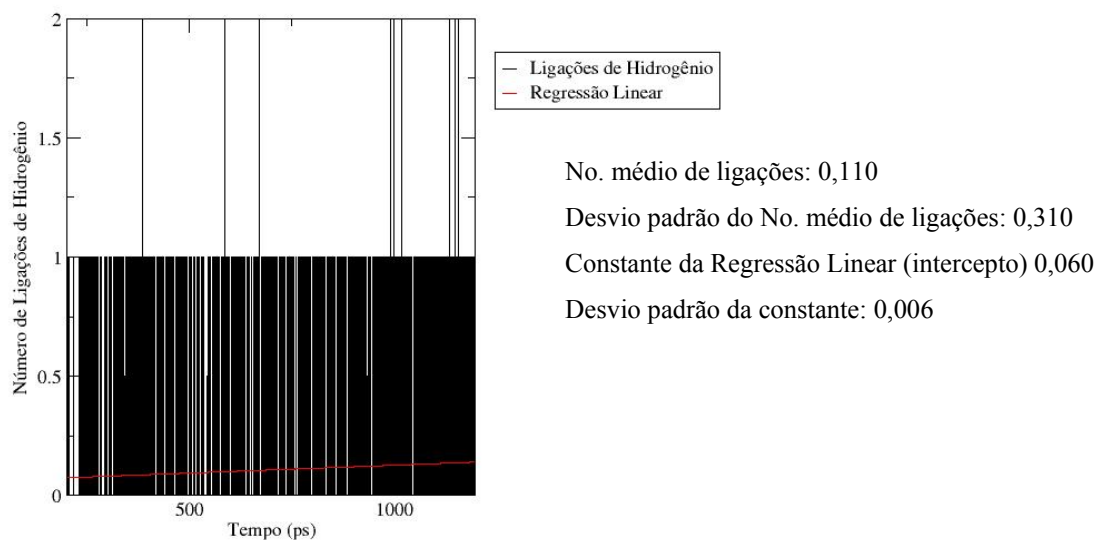


Fig. 77. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do quarto conjunto de cargas envolvendo o oxigênio ligado ao carbono e enxofre (O5) com os hidrogênios das moléculas de água.

Quinto conjunto de cargas

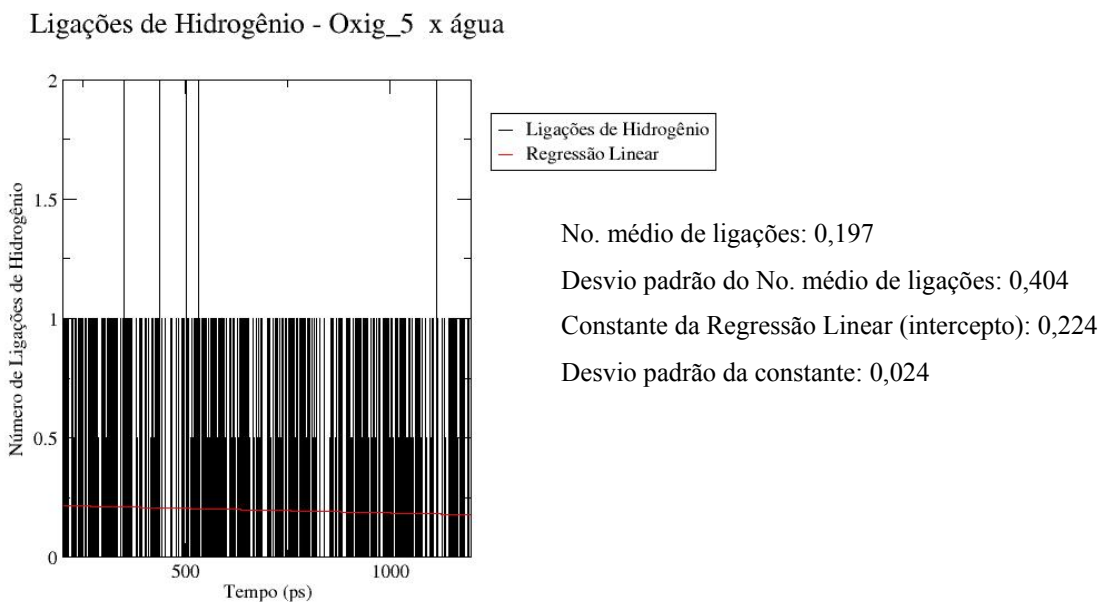


Fig. 78. Gráfico das Ligações de Hidrogênio do quinto conjunto de cargas, envolvendo o oxigênio ligado ao sulfato (O5) com os hidrogênios das moléculas de água.

Para o primeiro conjunto de cargas não existe a formação de ligações de hidrogênio. Para os demais conjuntos essas ligações não são muito efetivas, tendo em vista o grande impedimento espacial que esse átomo possui por estar ligado a grupos volumosos.

4.5 DESVIO QUADRÁTICO MÉDIO (*RMSD*)

A Raiz quadrada do desvio médio, ou desvios quadráticos médios (*RMSD*, do inglês *root mean square deviation*), compara uma estrutura de referência com as estruturas que a molécula assume em função do tempo.

$$RMSD_{(t_1,t_2)} = \left[\frac{1}{M} \sum_{i=1}^N m_i \|r_i(t_1) - r_i(t_2)\|^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (4.4)$$

Na qual $M = \sum_{i=1}^N m_i$ e $r_i(t)$ é a posição do átomo i no tempo t , e m_i é a massa do átomo i .

Verificou-se que, ao utilizar a estrutura na forma de anel em uma simulação em meio aquoso, a molécula adquire a forma aberta. Tal análise foi efetuada com o programa de visualização de trajetórias, *Ngmx*, do pacote *Gromacs*.

A estrutura inicial utilizada está representada na figura 79.

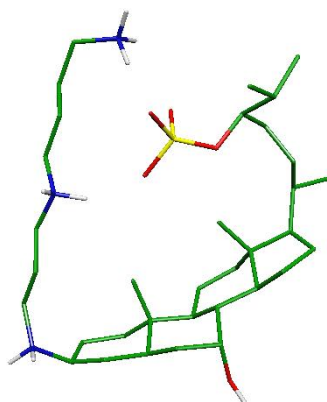


Fig. 79. Estrutura inicial da simulação para verificar a abertura do anel utilizando as cargas finais (5°. Conjunto de cargas).

Ao término de uma simulação de 500ps, a estrutura que a molécula assume está representada nas figuras 80 e 81.

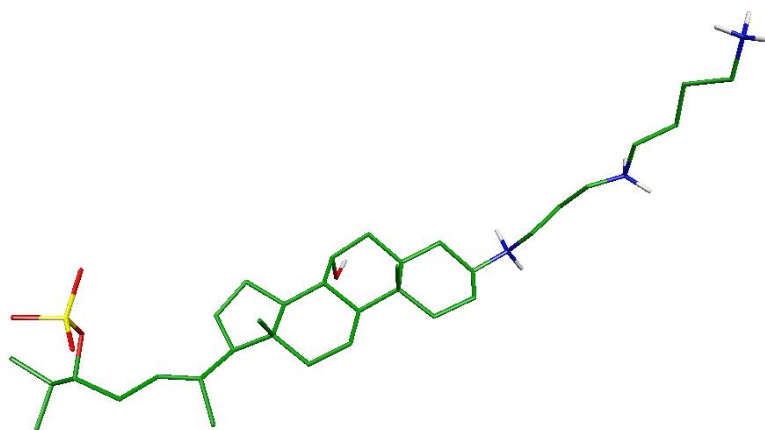


Fig. 80. Estrutura final após os 500 ps de simulação a partir da estrutura aberta.

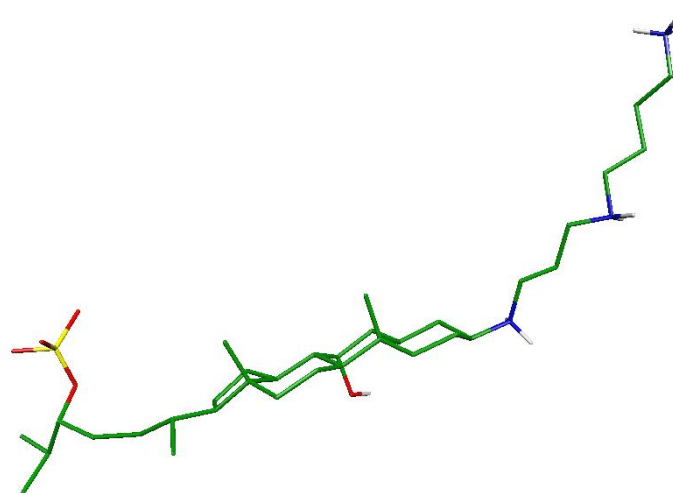


Fig. 81. Vista lateral da estrutura após 500 ps de simulação para verificar a abertura do anel.

Ao se fazer uma análise do RMSD da trajetória, usando como estrutura de referência a forma de anel representada na figura 79, foi obtida o gráfico da figura 82:

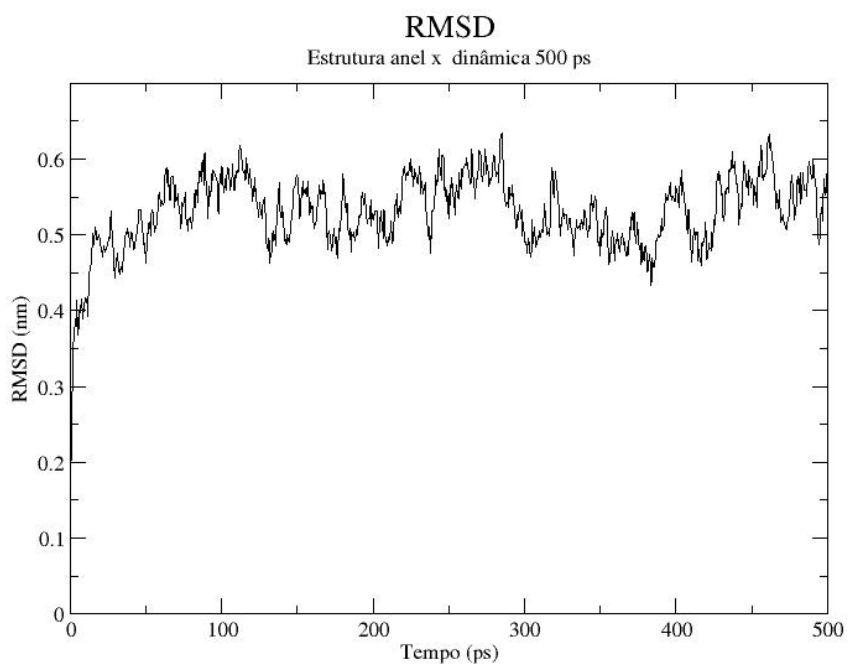


Fig. 82. RMSD que utiliza a estrutura fechada como referência (fig. 79) x trajetória.

Ampliando os primeiros 20 ps da simulação, obtemos a figura 83:

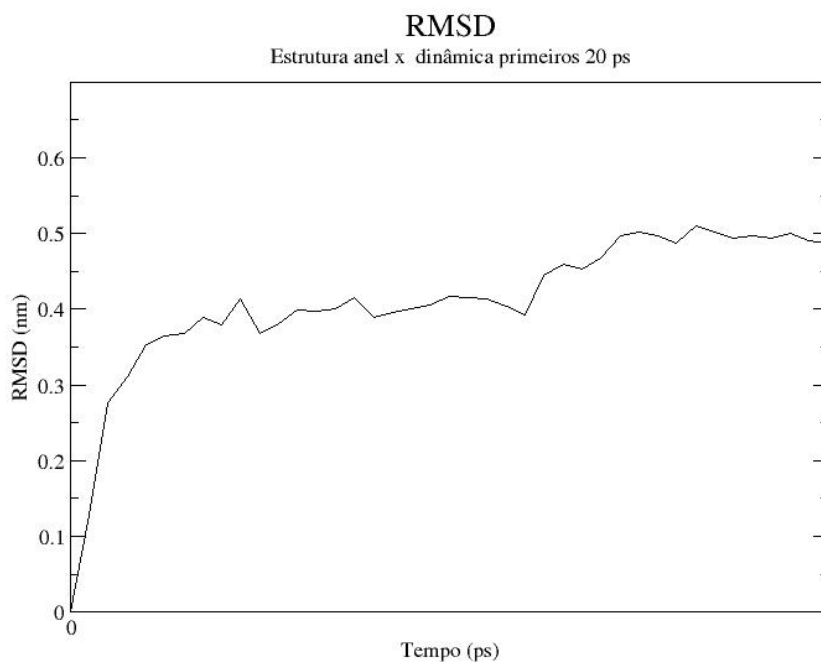


Fig. 83. Ampliação dos primeiros 20 ps, utilizando a estrutura inicial em forma de anel comparada com a trajetória da simulação por MD.

Pela análise gráfica, pode-se verificar que no tempo zero o desvio da estrutura de referência é zero, pois a estrutura inicial é justamente a referência.

Em outra análise do *RMSD*, a referência usada foi a estrutura final, (tempo de 500 ps). Isso é representado na figura 84:

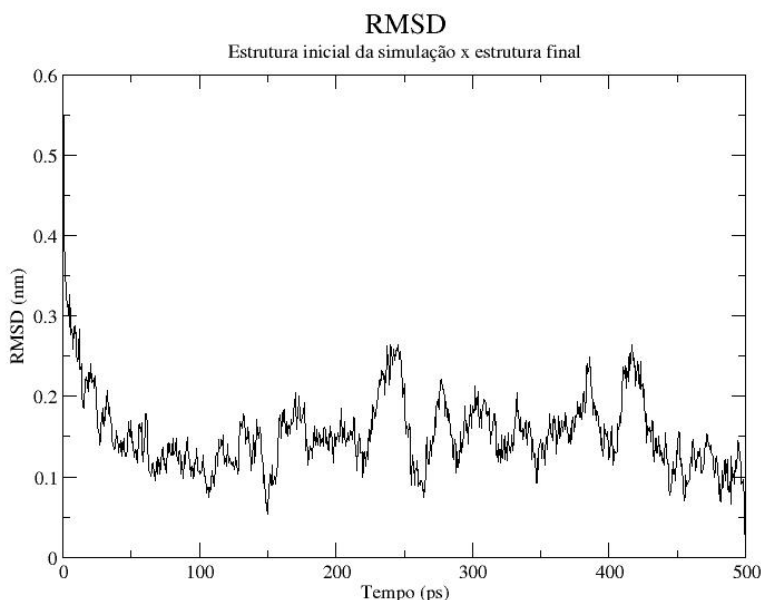


Fig. 84. RMSD que compara a trajetória x estrutura final da simulação (referência).

As figuras 85 e 86 representam a ampliação dos 20 primeiros e últimos picossegundos da figura 84:

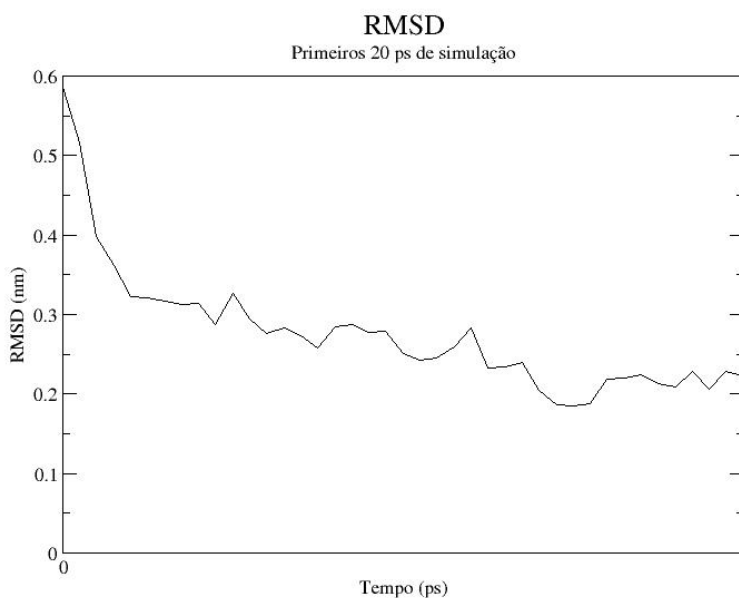


Fig. 85. Ampliação dos 20 ps iniciais do RMSD da trajetória comparada com a estrutura final (aberta).

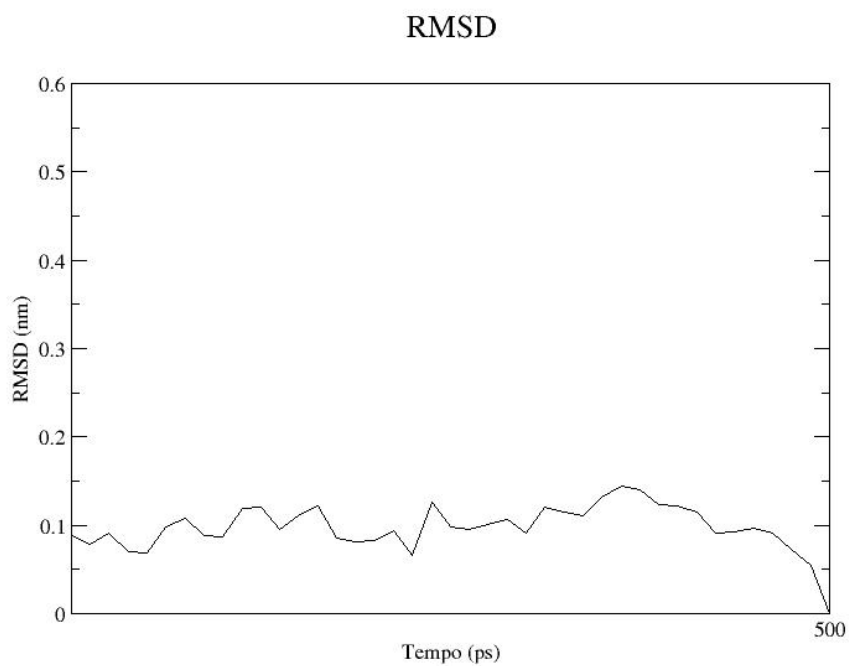


Fig. 86. Ampliação dos últimos 20 ps do RMSD, comparando a trajetória com a estrutura final (aberta).

Nos primeiros 20 ps temos, uma mudança rápida na estrutura em relação à referência, que corresponde à passagem da forma de anel para à forma aberta. Nos últimos instantes da simulação, temos o RMSD convergindo a zero, pois a estrutura dos 500 ps foi utilizada como referência.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

No vácuo, a molécula adquire forma anular. O mesmo não ocorre em meio aquoso, pois a água (solvente) altera essa conformação para uma estrutura relativamente linear. A metodologia aplicada é bastante custosa, pois exige várias simulações por Dinâmica Molecular e cálculo de cargas de inúmeras estruturas. Porém, observa-se uma certa convergência nas cargas, especialmente sobre os grupos polares. Esse fato, apoiado pelos dados das funções de Distribuição Radial e ligações de hidrogênio, indica que a metodologia conduz a resultados válidos e aplicáveis para obtenção de cargas atômicas.

Fica claro que quando se opta por utilizar o ajuste das cargas pelo potencial eletrostático, faz-se necessário o uso de várias estruturas para obtenção dessas cargas através de uma média. O uso de uma única conformação pode levar a valores que divergem muito dos adequados.

Neste trabalho foram feitos vários ciclos de simulação por DM e cálculo de cargas. Porém, os resultados do quarto, quinto e sexto conjuntos são muito próximos. A pequena divergência dever estar mais relacionada com as estruturas utilizadas no cálculo das médias que propriamente com uma melhora promovida ao se repetir os ciclos de simulação. Após uma simulação com um conjunto de cargas relativamente ajustado, o ideal é obter as cargas definitivas pelo uso do maior número possível de estruturas independentes entre si.

Em um trabalho posterior, pretende-se simular um sistema solvatado, constituído por membrana fosfolipídica/aminoesteróide, com íons em concentração fisiológica. A partir da Dinâmica Molecular, serão elaborados estudos de propriedades como parâmetro de ordem da membrana, área de superfície por lipídio, distância entre lipídios, perfis de densidade dentro da bicamada lipídica e funções de distribuição para distâncias interatômicas. Com esses dados, pode-se caracterizar o efeito em nível molecular do aminoesteróide, adicionado a uma bicamada lipídica no meio aquoso. Analisando esses efeitos (como possíveis modificações estruturais no sistema), talvez seja possível elucidar mecanismos responsáveis pela atividade biológica de alguns aminoesteróides. Além disso, pode-se propor e avaliar modificações estruturais e funcionais na molécula da Esqualamina, buscando efeitos terapêuticos mais efetivos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindahl, E.; Hess, B.; van der Spoel, David; Gromacs 3.0. A Package for Molecular Simulation and Trajectory Analysis. *J. Mol., Mod.* 2001, 7, pp. 306.
2. Berendsen, H. J. C.; van der Spoel, David; van Drunen, R.; Gromacs. A Message-passing Parallel Molecular Dynamics Implementation. *Comp. Phys. Comm.*, 1995, 91, pp. 43.
3. Gaussian 98, Revision A.9, Frisch M.J. et al; Guaussin, Inc., 1998, Pittsburgh PA.
4. Schüettelkopf, A. W.; van Aalten, D. M. F.; PRODRG: a Tool for High-Throughput Crystallography of Protein-Ligand Complexes. *Acta Cryst.*, 2004, D60, pp. 1355.
5. Molekel 4.0, Flükiger, P. et al.; Swiss National Supercomputing Centre CSCS, 2000, Manno, Switzerland.
6. Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K.; VMD – Visual Molecular Dynamics. *J. Molec. Graphics*, 1996, 14.1, pp. 33.
7. Moore, K. S. *et al.*; Squalamine: An Aminosterol Antibiotic From the Shark. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1993, 90, pp. 1354.
8. Rao, M. N. *et al.*; Aminosterols From the Dogfish Shark *Squalus acanthias*. *J. Nat. Prod.*, 2000, 63, pp. 631.
9. Khabnadideh, S. *et al.*; Squalamine Analogues as Potential Anti-Trypanosomal and Anti-Leishmanial Compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2000, 10, pp. 1237.
10. Zhou, X. D.; Cai F.; Z. W. S.; New highly Stereoselective Constuction of the Sidecain of Squalamine Through Improved Sharpless Catalytic Asymmetric Dihydroxylation. *Tetrahedron Letters*, 2001, 42, pp. 2537.

11. Zhou, X-D.; Cai, F.; Zhou, W.S.; A Stereoselective Synthesis of Squalamine. *Tetrahedron* 2002, 58, pp. 10293.
12. Chen, W. H *et al*; A Bioconjugate Approach toward Squalamine Mimics: Inshight into the Mechanism of Biological Action. *Bioconjugate Chem.*, 2006, 17, pp. 1582.
13. Yun, S. S.; Li, W.; Identification of Squalamine in the Plasma Membrane of White Bloods Cells in the Sea Lampey, *Pretomyzon Marinus*. *Journal of Lipid Research.*, 2007, 48, pp. 2579.
14. Selinsky, B. S. *et al*; Squalamine is not a Proton Ionophore. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000, 1464, pp. 135.
15. Akhter, S. *et al*; Squalamine, a Novel Cationic Steroid, Specifically Inhibits the Brush-Border Na⁺/H⁺ Exchanger Isoform NHE3. *American Physiological Society*, 1999, 99, 0362, 6143, pp c136.
16. Alper, S. L. *et al*; Differential Inhibition of AE1 and AE2 Anion Exchangers by Oxonol Dyes and By Novel Polyaminosterol Analogs of the Shark Antibiotic Squalamine. *Biochem. Cell Biol.*, 1998, 76, pp 799.
17. Chen, Q.; Identification of the intracellular Target for Squalamine as Calmodulin - Presentation of Squalamine Studies at April 2000 American Association for Cancer Reserch, 2000, San Francisco.
18. Teicher, B. A. (Ed.); *Angionenic Agents in Carner Therapy*. *Câncer Drug Discovery and Development*, Humana Press.
19. Giaccone G.; Schilsky, R.; Sondel P. (Ed); *Cancer Chemotherapy and biological Response Modifiers*, Annual 19, Elsevier, 2001.
20. Herbst, R. S. *et al*; A Phase I/IIA Trial of Continuous Five-Day infusion of Squalamine Lactate (MSI-1256F) Plus Carboplatin and Paclitaxel in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*, 2003, 9, pp. 4108.

21. Rao, M. N. *et al*; Practical Approaches to Remote Asymmetric Induction in Steroidal Side-Chains Utilizing Oxazaborolidine Reagents. *J. Org. Chem.*, 1997, 62, pp. 4541.
22. Jones, S. R. *et al*; Efficient Route to 7 α -(Benzoyloxy)-3-dioxolane Cholestan -24R-ol a Key Intermediate in the synthesis of Squalamine. *J. Org. Chem.*, 1998, 63, pp. 3786.
23. Zhang, D.H. *et al*; A Concise and Stereoselective Synthesis of Squalamine. *Organic Letters*, 2003, 5, 18, pp. 3257.
24. Okumura K. *et al*; Formal Synthesis of Squalamine from Desmosterol. *Chem. Pharm. Bull*, 2003, 51, 10, pp. 1177.
25. Choucair, B. *et al*; Synthesis of spermidinylcholestanol and spermidinylcholesterol, Squalamine Analogues. *Tetrahedron*, 2004, 60, pp. 11477.
26. Jensen, Frank; *Introduction to Computational Chemistry*; John Wiley & Sons Ltd; 1999, West Sussex, England.
27. Allen, M. P.; Tildesley, D.J.; *Computer Simulation of Liquids*; Oxford University Press; 1987, New York.
28. Darden, T., York. D.; Pedersen, L.; Particle Mesh Ewald: An N-log(N) Method for Ewald Sums in Large Systems. *J. Chem. Phys.*, 1993, 98, pp. 10089.
29. Essmann, *et al*; A Smooth Particle Mesh Ewald Potential. *J. Chem. Phys.*, 1995, 103, pp. 8577.
30. Van Gunsteren, W. F. *et al*; The Gromos Biomolecular Simulations Program Package. *J. Phys. Chem.*, 1999, 103, pp. 3596.
31. Oostenbrink, Chris *et al*; Validation of the 53A6 Gromos force field. *Eur. Biophys. J.*, 2005, 34, pp. 273.
32. van Gunsteren, W. F.; Berendsen, J. C.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1990, 29, 992.

33. Berendsen, H. J. C. *et al*; Molecular Dynamics With Coupling to an External Bath. *J. Chem. Phys.*, 1994, 81, 8, pp. 3684.
34. Szabo, A.; Ostlund, Neil S.; Modern Quantum Chemistry – Introduction to Advanced Electronic Structure Theory. Dover Publications, Inc., 1996, New York.
35. Levine I. N.; Quantum Chemistry, 4th Ed. Prentice-Hall International, Inc., 1991, USA.
36. Petersson, G. A.; Tensfeldt, T. G.; Montgomery J. A. Jr.; A Complete Basis Set Model Chemistry. III. The Complete Basis Set-quadratic Configuration Interaction Family of Methods. *J. Chem. Phys.*, 1991, 94, 9, pp. 6091.
37. Ochterski, J. W.; Petersson, G. A.; Montgomery J. A. Jr.; A Complete Basis Set Model Chemistry. V. Extensions to Six or More Heavy Atoms. *J. Chem. Phys.*, 1996, 104, 7, pp. 2598.
38. Ochterski, J. W.; Petersson, G. A.; Montgomery J. A. Jr. A complete basis set model chemistry. VI. Use of density functional geometries and frequencies. *J. Chem. Phys.*, 1999, 110, 6, pp. 2822.
39. Pople, J. A.; Nobel Lecture: Quantum chemical models. *Reviews of Modern Physics*, 1999, 71, 5, pp. 1267
40. Santos, D. J. V.; Estudos Teóricos da Química de Interfaces. Dissertação (Doutorado em Química Teórica). 2003, Faculdade de Ciências. Depto. De Química. Universidade do Porto.
41. Breneman, C. M.; and Wilberg, K. B.; Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The Need for High Sampling Density in Formamide Conformational Analysis *J. Comp. Chem.*, 1990, 11, 3, pp. 361
42. <http://www.cup.uni-muenchen.de/oc/zipse/compchem/>
43. Martin, F.; Zipse, H.; Charge Distribution in the Water Molecule – A Comparison of Methods. *J. Comp. Chem.*, 2005, 26, 97, pp. 105.
44. Tomasi, J.; Persico, M.; Molecular Interactions in Solution: an Overview of Methods Based on Continuous Distributions of the Solvent. *Chemical Reviews*, 1994, 94, 7, pp 2027.

45. Foresman, T. A. *et al*; Isodensity Polarizable Continuum Model. *J. Phys. Chem.*, 1996, 100, pp. 16098.
46. Solomons, T. W. Graham; Fryhle, C. B., *Química Orgânica*. LTC, Rio de Janeiro, 2006, Vol. 2, 8^a. Ed.
47. Dewar, M., J. S. *et al*; AM1, A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 107, pp. 3902.
48. Berendsen, H. J. C. *et al*; Interaction Models for Water In Relation to Protein Hydration. *Intermolecular Forces*, B. Pullman ed., 1981, pp. 331.
49. Spiegel, Murray R.; Schiller, John; Srinivasan R.; *Probabilidade e Estatística*, 2a. Edição Bookman, 2004, SP, Brasil.
50. Van der Spoel, D. *et at*; Gromacs User Manual version 3.3, www.gromacs.org.
51. <http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/programs/prodrg/>
52. Woods, R. J. *et al*; Derivation of Net Atomic Charges from Molecular Electrostatic Potentials *J. Comp. Chem.*, 1990, 11, 3, pp. 297.
53. Thornton, J. B.; Marion, S. T.; *Classical Dynamics of Particles and Systems*; Thomson Brooks, 1995, Pacific Grove.
54. Frenkel, D.; Smit, B.; *Understanding Molecular Simulation*. Academic Press, 1996, NY.
55. MacQuarrie, D. A.; *Statistical Mechanics*; 1^a Ed., Oxford University Press, 1998. NY.

7. Anexos

7.1 Anexo 1 - Esqualamina.itp

```
[ moleculetype ]
; Name nrexcl
ESQ      3

[ atoms ]
;  nr      type  resnr resid  atom  cgnr  charge  mass
   1      OM    1   ESQ   OBQ    1   -0.772  15.9994
   2     SDMSO  1   ESQ   SBN    1    1.520  32.0600
   3      OM    1   ESQ   OBO    1   -0.772  15.9994
   4      OM    1   ESQ   OBP    1   -0.772  15.9994
   5      OA    1   ESQ   OBM    1   -0.567  15.9994
   6     CH1    1   ESQ   CBI    1    0.515  13.0190
   7     CH1    1   ESQ   CBJ    1    0.289  13.0190
   8     CH3    1   ESQ   CBK    2   -0.145  15.0350
   9     CH3    1   ESQ   CBL    2   -0.138  15.0350
  10     CH2    1   ESQ   CBH    2   -0.128  14.0270
  11     CH2    1   ESQ   CBF    2   -0.120  14.0270
  12     CH1    1   ESQ   CBE    2    0.425  13.0190
  13     CH3    1   ESQ   CBG    2   -0.146  15.0350
  14     CH1    1   ESQ   CBC    2   -0.237  13.0190
  15     CH1    1   ESQ   CBB    3   -0.018  14.0270
  16     CH1    1   ESQ   CBA    3   -0.127  14.0270
  17     CH1    1   ESQ   CAK    4    0.330  13.0190
  18     CH1    1   ESQ   CAL    4    0.528  12.0110
  19     CH3    1   ESQ   CBD    4   -0.167  15.0350
  20     CH1    1   ESQ   CAM    4   -0.196  14.0270
  21     CH1    1   ESQ   CAN    5   -0.006  14.0270
  22     CH1    1   ESQ   CAJ    6    0.000  13.0190
  23     CH1    1   ESQ   CAI    6   -0.334  13.0190
  24     CH1    1   ESQ   CAH    6    0.517  13.0190
  25     OA    1   ESQ   OAQ    6   -0.765  15.9994
  26     H      1   ESQ   HAQ    6    0.417  1.0080
  27     CH1    1   ESQ   CAG    6   -0.289  14.0270
  28     CH1    1   ESQ   CAC    6    0.456  13.0190
  29     CH1    1   ESQ   CAB    7   -0.334  14.0270
  30     CH1    1   ESQ   CAD    8    0.461  12.0110
  31     CH3    1   ESQ   CAO    8   -0.198  15.0350
  32     CH1    1   ESQ   CAE    8   -0.043  14.0270
  33     CH1    1   ESQ   CAF    8   -0.074  14.0270
  34     CH1    1   ESQ   CAA    8    0.400  13.0190
  35     NL     1   ESQ   NAP    8   -0.448  14.0067
  36     H      1   ESQ   HAP    8    0.342  1.0080
  37     H      1   ESQ   HCF    8    0.342  1.0080
  38     CH2    1   ESQ   CAR    8    0.286  14.0270
  39     CH2    1   ESQ   CAS    9    0.065  14.0270
  40     CH2    1   ESQ   CAT    9    0.117  14.0270
  41     NL     1   ESQ   NAU    9    0.021  14.0067
  42     H      1   ESQ   HAU    9    0.267  1.0080
  43     H      1   ESQ   HCG    9    0.267  1.0080
  44     CH2    1   ESQ   CAV    9    0.160  14.0270
  45     CH2    1   ESQ   CAW   10    0.037  14.0270
  46     CH2    1   ESQ   CAX   10    0.112  14.0270
  47     CH2    1   ESQ   CAY   10    0.257  14.0270
  48     NL     1   ESQ   NAZ   10   -0.448  14.0067
```

49	H	1	ESQ	HCD	10	0.371	1.0080
50	H	1	ESQ	HCE	10	0.371	1.0080
51	H	1	ESQ	HAZ	10	0.371	1.0080

[bonds]

; ai	aj	fu	c0,	c1,	...		
1	2	2	0.153	8040000.0		OBQ	SBN
2	3	2	0.153	8040000.0		SBN	OBO
2	4	2	0.153	8040000.0		SBN	OBP
2	5	2	0.144	6100000.0		SBN	OBM
5	6	2	0.143	8180000.0		OBM	CBI
6	7	2	0.153	7150000.0		CBI	CBJ
6	10	2	0.153	7150000.0		CBI	CBH
7	8	2	0.153	7150000.0		CBJ	CBK
7	9	2	0.153	7150000.0		CBJ	CBL
10	11	2	0.153	7150000.0		CBH	CBF
11	12	2	0.153	7150000.0		CBF	CBE
12	13	2	0.153	7150000.0		CBE	CBG
12	14	2	0.152	5430000.0		CBE	CBC
14	15	2	0.152	5430000.0		CBC	CBB
14	18	2	0.152	5430000.0		CBC	CAL
15	16	2	0.152	5430000.0		CBB	CBA
16	17	2	0.152	5430000.0		CBA	CAK
17	18	2	0.152	5430000.0		CAK	CAL
17	23	2	0.152	5430000.0		CAK	CAI
18	19	2	0.152	5430000.0		CAL	CBD
18	20	2	0.152	5430000.0		CAL	CAM
20	21	2	0.152	5430000.0		CAM	CAN
21	22	2	0.152	5430000.0		CAN	CAJ
22	23	2	0.152	5430000.0		CAJ	CAI
22	30	2	0.152	5430000.0		CAJ	CAD
23	24	2	0.152	5430000.0		CAI	CAH
24	25	2	0.144	6100000.0		CAH	OAQ
24	27	2	0.152	5430000.0		CAH	CAG
25	26	2	0.100	15700000.0		OAQ	HAQ
27	28	2	0.152	5430000.0		CAG	CAC
28	29	2	0.152	5430000.0		CAC	CAB
28	30	2	0.152	5430000.0		CAC	CAD
29	34	2	0.152	5430000.0		CAB	CAA
30	31	2	0.152	5430000.0		CAD	CAO
30	32	2	0.152	5430000.0		CAD	CAE
32	33	2	0.152	5430000.0		CAE	CAF
33	34	2	0.152	5430000.0		CAF	CAA
34	35	2	0.147	8710000.0		CAA	NAP
35	36	2	0.100	18700000.0		NAP	HAP
35	37	2	0.100	18700000.0		NAP	HCF
35	38	2	0.147	8710000.0		NAP	CAR
38	39	2	0.153	7150000.0		CAR	CAS
39	40	2	0.153	7150000.0		CAS	CAT
40	41	2	0.147	8710000.0		CAT	NAU
41	42	2	0.100	18700000.0		NAU	HAU
41	43	2	0.100	18700000.0		NAU	HCG
41	44	2	0.147	8710000.0		NAU	CAV
44	45	2	0.153	7150000.0		CAV	CAW
45	46	2	0.153	7150000.0		CAW	CAX
46	47	2	0.153	7150000.0		CAX	CAY
47	48	2	0.147	8710000.0		CAY	NAZ
48	49	2	0.100	18700000.0		NAZ	HCD
48	50	2	0.100	18700000.0		NAZ	HCE
48	51	2	0.100	18700000.0		NAZ	HAZ

```

[ pairs ]
; ai  aj  fu      c0, c1, ...
  1   6   1
  2   7   1
  2  10   1
  3   6   1
  4   6   1
  5   8   1
  5   9   1
  5  11   1
  6  12   1
  7  11   1
  8  10   1
  9  10   1
10  13   1
10  14   1
11  15   1
11  18   1
12  16   1
12  17   1
12  19   1
12  20   1
13  15   1
13  18   1
14  21   1
14  23   1
15  19   1
15  20   1
15  23   1
16  19   1
16  20   1
16  22   1
16  24   1
17  21   1
17  25   1
17  27   1
17  30   1
18  22   1
18  24   1
19  21   1
19  23   1
20  23   1
20  30   1
21  24   1
21  28   1
21  31   1
21  32   1
22  25   1
22  27   1
22  29   1
22  33   1
23  26   1
23  28   1
23  31   1
23  32   1
24  29   1
24  30   1
25  28   1
26  27   1
27  31   1
27  32   1
; O B Q   C B I
; S B N   C B J
; S B N   C B H
; O B O   C B I
; O B P   C B I
; O B M   C B K
; O B M   C B L
; O B M   C B F
; C B I   C B E
; C B J   C B F
; C B K   C B H
; C B L   C B H
; C B H   C B G
; C B H   C B C
; C B F   C B B
; C B F   C A L
; C B E   C B A
; C B E   C A K
; C B E   C B D
; C B E   C A M
; C B G   C B B
; C B G   C A L
; C B C   C A N
; C B C   C A I
; C B B   C B D
; C B B   C A M
; C B B   C A I
; C B A   C B D
; C B A   C A M
; C B A   C A J
; C B A   C A H
; C A K   C A N
; C A K   O A Q
; C A K   C A G
; C A K   C A D
; C A L   C A J
; C A L   C A H
; C B D   C A N
; C B D   C A I
; C A M   C A I
; C A M   C A D
; C A N   C A H
; C A N   C A C
; C A N   C A O
; C A N   C A E
; C A J   O A Q
; C A J   C A G
; C A J   C A B
; C A J   C A F
; C A I   H A Q
; C A I   C A C
; C A I   C A O
; C A I   C A E
; C A H   C A B
; C A H   C A D
; O A Q   C A C
; H A Q   C A G
; C A G   C A O
; C A G   C A E

```


14	18	19	2	109.5	520.0	CBC	CAL	CBD
14	18	20	2	109.5	520.0	CBC	CAL	CAM
17	18	19	2	109.5	520.0	CAK	CAL	CBD
17	18	20	2	109.5	520.0	CAK	CAL	CAM
19	18	20	2	109.5	520.0	CBD	CAL	CAM
18	20	21	2	109.5	520.0	CAL	CAM	CAN
20	21	22	2	109.5	520.0	CAM	CAN	CAJ
21	22	23	2	109.5	520.0	CAN	CAJ	CAI
21	22	30	2	109.5	520.0	CAN	CAJ	CAD
23	22	30	2	109.5	520.0	CAI	CAJ	CAD
17	23	22	2	109.5	520.0	CAK	CAI	CAJ
17	23	24	2	109.5	520.0	CAK	CAI	CAH
22	23	24	2	109.5	520.0	CAJ	CAI	CAH
23	24	25	2	109.5	520.0	CAI	CAH	OAQ
23	24	27	2	109.5	520.0	CAI	CAH	CAG
25	24	27	2	109.5	520.0	OAQ	CAH	CAG
24	25	26	2	109.5	450.0	CAH	OAQ	HAQ
24	27	28	2	109.5	520.0	CAH	CAG	CAC
27	28	29	2	109.5	520.0	CAG	CAC	CAB
27	28	30	2	109.5	520.0	CAG	CAC	CAD
29	28	30	2	109.5	520.0	CAB	CAC	CAD
28	29	34	2	109.5	520.0	CAC	CAB	CAA
22	30	28	2	109.5	520.0	CAJ	CAD	CAC
22	30	31	2	109.5	520.0	CAJ	CAD	CAO
22	30	32	2	109.5	520.0	CAJ	CAD	CAE
28	30	31	2	109.5	520.0	CAC	CAD	CAO
28	30	32	2	109.5	520.0	CAC	CAD	CAE
31	30	32	2	109.5	520.0	CAO	CAD	CAE
30	32	33	2	109.5	520.0	CAD	CAE	CAF
32	33	34	2	109.5	520.0	CAE	CAF	CAA
29	34	33	2	109.5	520.0	CAB	CAA	CAF
29	34	35	2	111.0	530.0	CAB	CAA	NAP
33	34	35	2	111.0	530.0	CAF	CAA	NAP
34	35	36	2	109.5	425.0	CAA	NAP	HAP
34	35	37	2	109.5	425.0	CAA	NAP	HCF
34	35	38	2	109.5	425.0	CAA	NAP	CAR
36	35	37	2	109.5	380.0	HAP	NAP	HCF
36	35	38	2	109.5	425.0	HAP	NAP	CAR
37	35	38	2	109.5	425.0	HCF	NAP	CAR
35	38	39	2	111.0	530.0	NAP	CAR	CAS
38	39	40	2	109.5	520.0	CAR	CAS	CAT
39	40	41	2	111.0	530.0	CAS	CAT	NAU
40	41	42	2	109.5	425.0	CAT	NAU	HAU
40	41	43	2	109.5	425.0	CAT	NAU	HCG
40	41	44	2	109.5	425.0	CAT	NAU	CAV
42	41	43	2	109.5	380.0	HAU	NAU	HCG
42	41	44	2	109.5	425.0	HAU	NAU	CAV
43	41	44	2	109.5	425.0	HCG	NAU	CAV
41	44	45	2	111.0	530.0	NAU	CAV	CAW
44	45	46	2	109.5	520.0	CAV	CAW	CAX
45	46	47	2	109.5	520.0	CAW	CAX	CAY
46	47	48	2	111.0	530.0	CAX	CAY	NAZ
47	48	49	2	109.5	425.0	CAY	NAZ	HCD
47	48	50	2	109.5	425.0	CAY	NAZ	HCE
47	48	51	2	109.5	425.0	CAY	NAZ	HAZ
49	48	50	2	109.5	380.0	HCD	NAZ	HCE
49	48	51	2	109.5	380.0	HCD	NAZ	HAZ
50	48	51	2	109.5	380.0	HCE	NAZ	HAZ

[dihedrals]
; ai aj ak al fu c0, c1, m, ...

2	1	4	3	2	35.3	334.8	; imp	SBN	OBQ	OBP	OBO
6	5	10	7	2	35.3	334.8	; imp	CBI	OBM	CBH	CBJ
7	6	9	8	2	35.3	334.8	; imp	CBJ	CBI	CBL	CBK
12	11	14	13	2	35.3	334.8	; imp	CBE	CBF	CBC	CBG
14	12	18	15	2	35.3	334.8	; imp	CBC	CBE	CAL	CBB
17	16	18	23	2	35.3	334.8	; imp	CAK	CBA	CAL	CAI
18	14	19	17	2	35.3	334.8	; imp	CAL	CBC	CBD	CAK
22	21	30	23	2	35.3	334.8	; imp	CAJ	CAN	CAD	CAI
23	24	22	17	2	35.3	334.8	; imp	CAI	CAH	CAJ	CAK
24	23	25	27	2	35.3	334.8	; imp	CAH	CAI	OAQ	CAG
28	27	30	29	2	35.3	334.8	; imp	CAC	CAG	CAD	CAB
30	22	31	28	2	35.3	334.8	; imp	CAD	CAJ	CAO	CAC
34	35	29	33	2	35.3	334.8	; imp	CAA	NAP	CAB	CAF
35	34	36	37	2	35.3	334.8	; imp	NAP	CAA	HAP	HCF
41	40	42	43	2	35.3	334.8	; imp	NAU	CAT	HAU	HCG
48	47	49	50	2	35.3	334.8	; imp	NAZ	CAY	HCD	HCE
1	2	5	6	1	0.0	1.3	3 ; dih	OBQ	SBN	OBM	CBI
10	6	5	2	1	0.0	1.3	3 ; dih	CBH	CBI	OBM	SBN
9	7	6	5	1	0.0	5.9	3 ; dih	CBL	CBJ	CBI	OBM
11	10	6	5	1	0.0	5.9	3 ; dih	CBF	CBH	CBI	OBM
12	11	10	6	1	0.0	5.9	3 ; dih	CBE	CBF	CBH	CBI
14	12	11	10	1	0.0	5.9	3 ; dih	CBC	CBE	CBF	CBH
18	14	12	11	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAL	CBC	CBE	CBF
16	15	14	12	1	0.0	5.9	3 ; dih	CBA	CBB	CBC	CBE
20	18	14	12	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAM	CAL	CBC	CBE
17	16	15	14	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAK	CBA	CBB	CBC
23	17	16	15	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAI	CAK	CBA	CBB
20	18	17	16	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAM	CAL	CAK	CBA
24	23	17	16	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAH	CAI	CAK	CBA
21	20	18	14	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAN	CAM	CAL	CBC
22	21	20	18	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAJ	CAN	CAM	CAL
30	22	21	20	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAD	CAJ	CAN	CAM
24	23	22	21	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAH	CAI	CAJ	CAN
32	30	22	21	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAE	CAD	CAJ	CAN
27	24	23	17	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAG	CAH	CAI	CAK
23	24	25	26	1	0.0	1.3	3 ; dih	CAI	CAH	OAQ	HAQ
28	27	24	23	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAC	CAG	CAH	CAI
30	28	27	24	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAD	CAC	CAG	CAH
34	29	28	27	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAA	CAB	CAC	CAG
32	30	28	27	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAE	CAD	CAC	CAG
35	34	29	28	1	0.0	5.9	3 ; dih	NAP	CAA	CAB	CAC
33	32	30	22	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAF	CAE	CAD	CAJ
34	33	32	30	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAA	CAF	CAE	CAD
35	34	33	32	1	0.0	5.9	3 ; dih	NAP	CAA	CAF	CAE
29	34	35	38	1	0.0	3.8	3 ; dih	CAB	CAA	NAP	CAR
39	38	35	34	1	0.0	3.8	3 ; dih	CAS	CAR	NAP	CAA
40	39	38	35	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAT	CAS	CAR	NAP
41	40	39	38	1	0.0	5.9	3 ; dih	NAU	CAT	CAS	CAR
39	40	41	44	1	0.0	3.8	3 ; dih	CAS	CAT	NAU	CAV
45	44	41	40	1	0.0	3.8	3 ; dih	CAW	CAV	NAU	CAT
46	45	44	41	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAX	CAW	CAV	NAU
47	46	45	44	1	0.0	5.9	3 ; dih	CAY	CAX	CAW	CAV
48	47	46	45	1	0.0	5.9	3 ; dih	NAZ	CAY	CAX	CAW
46	47	48	51	1	0.0	3.8	3 ; dih	CAX	CAY	NAZ	HAZ

7.2 ANEXO II - ARQUIVO DE PARÂMETROS DAS SIMULAÇÕES GROMACS.

```
title                = MD simulation of Squalamine
;Preprocessor
cpp                  = /lib/cpp
;Directories to include in the topology format
include              = -I../top
;Run control: A leap-frog algorithm for integrating Newton's equations.
integrator           = md
;Total simulation time: 1200 ps
;time step in picoseconds
dt                   = 0.001
;number of steps
nsteps               = 1200000
;frequency to write coordinates to output trajectory file
nstxout              = 500
;frequency to write velocities to output trajectory file
nstvout              = 500
;frequency to write energies to log file
nstlog               = 500
;frequency to write energies to energy file
nstenergy            = 500
;frequency to write coordinates to xtc trajectory
nstxtcout            = 500
;group(s) to write to xtc trajectory
xtc_grps             = System
;group(s) to write to energy file
energygrps           = System
;Frequency to update the neighbor list (and the long-range forces,
;when using twin-range cut-off's).
nstlist              = 10
;Make a grid in the box and only check atoms in neighboring grid cells
;when constructing a new neighbor list every nstlist steps.
ns_type              = grid
;cut-off distance for the short-range neighbor list
rlist                 = 1.2
;treatment of electrostatic interactions
coulombtype           = PME
rcoulomb              = 1.2
;treatment of van der waals interactions
rvdw                  = 1.2
;Temperature coupling
tcoupl                = berendsen
tc-grps               = System
tau_t                 = 0.1
ref_t                 = 310
;Pressure coupling
Pcoupl                = isotropic
tau_p                 = 1.0
compressibility        = 4.5e-5
ref_p                 = 1.0
;Velocity generation
gen_vel               = no
gen_temp              = 310
gen_seed              = 173529
```