

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE MATEMÁTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATEMÁTICA APLICADA

**Modelagem Matemática para
Permeação de Íons em Canais
Dependentes de Voltagem**

por

Esequia Sauter

Dissertação submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de
Mestre em Matemática Aplicada

Prof. Dr. Mark Thompson
Orientador

Prof. Dr. Leonardo Guidi
Co-orientador

Porto Alegre, Junho de 2008.

CIP - CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

Sauter, Esequia

Modelagem Matemática para Permeação de Íons em Canais Dependentes de Voltagem / Esequia Sauter.—Porto Alegre: PPGMAp da UFRGS, 2008.

57 p.: il.

Dissertação (mestrado) —Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Matemática Aplicada, Porto Alegre, 2008.

Orientador: Thompson, Mark; Co-orientador: Guidi, Leonardo

Dissertação: Matemática Aplicada
Canais iônicos, Campo elétrico, Permeação dos íons

Modelagem Matemática para Permeação de Íons em Canais Dependentes de Voltagem

por

Esequia Sauter

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Matemática Aplicada do Instituto de Matemática da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de

Mestre em Matemática Aplicada

Linha de Pesquisa: Física-matemática

Orientador: Prof. Dr. Mark Thompson

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Guidi

Banca examinadora:

Professor Dr. Mário Noboru Tamashiro
UNICAMP

Professor Dr. Alexandre Tavares Baraviera
PPGMAT - UFRGS

Professora Dra. Carolina Cardoso Mânica
PPGMAP - UFRGS

Dissertação apresentada e aprovada em
02/06/2008.

Maria Cristina Varriale
Coordenador

Agradeço a Deus.

À minha esposa, Jaqueline pelo apoio, carinho e compreensão em todos os momentos.

Ao meu pai, Ervino por estar sempre comigo, apoiando, incentivando e orientando todas as minhas decisões.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ao professor e meu orientador Mark Thompson, por apresentar o assunto dessa dissertação e pelo constante apoio no desenvolvimento do trabalho.

Ao professor Leonardo Fernandes Guidi, pela co-orientação e pela incansável dedicação no desenvolvimento da dissertação.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Aos professores do PPGMAP, por auxiliarem na minha formação profissional, e por estarem sempre dispostos a sanar as minhas dúvidas.

Aos funcionários do PPGMAP.

A todos os meus amigos.

Sumário

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Conceitos Físicos e Biológicos Básicos	1
1.2 Apresentação e Objetivo do Trabalho	3
2 ELETROSTÁTICA DO CONTÍNUO NOS CANAIS IÔNICOS	5
2.1 Modelo Contínuo Para Permeação em Canais Iônicos	5
2.2 Equação Recursiva para a Distribuição Superficial de Cargas na Membrana	10
2.3 Limitações do Modelo	13
3 DINÂMICA BROWNIANA	15
3.1 Característica de Dinâmica Browniana	15
3.2 Solução da Equação de Langevin	17
3.3 Validade do Modelo	21
4 DINÂMICA MOLECULAR	23
4.1 Campo de Força	24
4.2 Métodos de Integração Numérica	30
4.3 Acoplamentos para um Banho Externo	35
4.3.1 Termostato de Berendsen	35
4.3.2 Termostato de Nosé-Hoover	38
4.3.3 Barostato de Berendsen	39
4.4 Algoritmos de Restrição	40
4.5 Limitações do Modelo	46

5	UMA PROPOSTA ALTERNATIVA PARA MODELAGEM DO PROBLEMA	47
5.1	Apresentação da Proposta de Modelagem	48
5.2	Tratamento das Fronteiras	50
5.2.1	Fronteiras entre o Sistema e o Meio Externo	50
5.2.2	Fronteiras entre as Regiões Abordadas com Dinâmicas Molecular e Browniana	51
5.3	Algoritmo Computacional	53
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

RESUMO

Nos problemas de permeação de íons em canais iônicos dependentes da voltagem, é importante saber informações sobre a condutância em várias circunstâncias. Para isso, esse trabalho se dedica a algumas formas de modelar o problema, dependendo das hipóteses impostas, como por exemplo, usando uma formulação contínua, ou a teoria da dinâmica browniana, ou ainda a teoria da dinâmica molecular. Mas um modelo contínuo nem sempre tem a precisão desejada e mesmo usando dinâmica browniana pode não ser satisfatória. Dinâmica molecular é uma aproximação melhor, mas computacionalmente cara. Assim, uma proposta é dividir o canal em partes e, dependendo da relevância de cada parte na condutância, tratando cada parte com uma das abordagens acima citadas, mesclando a eficiência computacional com a precisão dos métodos. Esse trabalho trata cada modelo, bem como uma proposta de modelo mesclado, cuidando ser capaz de simular durante tempo suficiente para se observar a abertura/fechamento do canal.

ABSTRACT

When studying voltage dependent ionic channels, it is important to know its conductance. The aim of this work is to treat in detail several ways of modelling the conductance of these channels. There are at least three different ways of approaching this problem: using a continuum formulation, Brownian dynamics and molecular dynamics. The continuum formulation may not be as accurate as desired, and in some cases, even the Brownian dynamics may be unsatisfactory. The best approximation is given by the molecular dynamics but it leads to unaffordable computational cost. Our proposal is to split up the channel into three parts, in each part one of these formulations is used depending on its importance on the conductance, combining computational efficiency with accuracy. This work treats each model, as well as a proposal of a merged model, aiming at being able to simulate for enough time to observe the channel opening/closing.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Conceitos Físicos e Biológicos Básicos

Nas menores unidades vivas de organismos pluricelulares, as células, a membrana celular é a interface que separa o meio externo do citoplasma. A membrana celular possui entre 60 e 100 ângstrons (Å) de espessura e é composta basicamente por fosfolipídios agrupados na forma de uma bicamada. Nessa configuração, as cadeias lipídicas de caráter apolar mantêm-se próximas entre si, enquanto que os domínios polares mantêm contato com as soluções aquosas do meio externo e citoplasma. Os demais constituintes, glicolipídios, glicoproteínas, colesterol e proteínas, possuem as funções de auxiliar a adesão celular, no caso das glicoproteínas e glicolipídeos, alterar a rigidez e fluidez da membrana, no caso do colesterol e produção de substâncias para atividades enzimáticas ou hormonais e promover a troca de substâncias entre o meio interno e externo, no caso das proteínas ([12]).

Entre as proteínas que atravessam a membrana estão os canais iônicos e, dentre esses, existem os seletivos regulados por voltagem. Os canais iônicos dependentes da voltagem são proteínas altamente específicas, que formam uma passagem na membrana, capaz de controlar o fluxo iônico. São encontrados nas membranas de todas as células e suas funções básicas são:

1. Controlar a diferença de potencial através da membrana, bem como a diferença de concentração, mantendo a célula em repouso;
2. Moldar sinais elétricos, que são variações na diferença de potencial que viajam através das células nervosas, transmitindo comandos entre partes do organismo;
3. Contribuem para regulamento do volume celular.

Em conjunto, mecanismos ativos e os canais iônicos, que são passivos, mantêm um equilíbrio entre a diferença de potencial e a diferença de concentração na célula quando ela está em repouso. Os íons tendem a se mover na direção do gradiente de concentração e no sentido do campo elétrico. Uma difusão passiva acontece, onde os íons atravessam constantemente pelos canais. O estado de repouso pode ser quebrado no caso de células nervosas, criando um potencial de ação, que se deve a variação da taxa com que os íons atravessam os canais. O reestabelecimento do repouso também é devido aos canais iônicos. Pelo fato das moléculas de água serem polares, são orientadas por íons, e a passagem controlada dessas moléculas, que eventualmente podem atravessar os canais junto com os íons ou por outros canais com essa função, regulam o volume da célula.

A concentração de sódio extracelular é aproximadamente dez vezes mais alta que a intracelular, e a concentração de potássio intracelular é aproximadamente trinta vezes mais alta que a extracelular. A concentração de ambos supera a concentração de cálcio tanto dentro da célula como no seu exterior. Essa diferença de concentração e a controlada variação no potencial faz com que o sinal elétrico viaje rapidamente nos nervos. Os canais discriminam a espécie de íons que os atravessam, sendo impermeáveis a outros íons. Cada canal tem um mecanismo de seletividade, alguns não muito entendidos ainda. Por exemplo, em canais de cálcio a seletividade é baseada em diferenças de cargas. Em grande parte dos canais iônicos, como canais de sódio e potássio, os íons atravessam em fila única, pois os canais são estreitos. Eles devem superar barreiras de energia, comumente quatro barreiras num canal iônico, sendo que em cada posição das quatro barreiras pode-se ter um íon ou uma molécula de água. Cada vez que a barreira de energia é superada toda a fila se move, entrando um novo elemento no poro. Maiores detalhes sobre esse esquema podem ser vistos no trabalho de Luzhkov e Åqvist [22].

A travessia dos íons está condicionada à geometria do canal, pois ele pode assumir certas formas que bloqueiam a passagem. Essa mudança na geometria do canal determina se ele está fechado, ou seja, impermeável a todos os íons ou aberto

e permeável a alguma espécie de íons. Portanto os canais iônicos também funcionam com uma espécie de portão (na literatura inglesa "gate"), permitindo ou não a passagem de íons. Esse portão pode se abrir ou fechar dependendo principalmente da diferença de potencial da membrana, temperatura, propriedades de ligação da proteína com íons, etc. Em canais dependentes da voltagem, a mudança aberto-fechado varia com a diferença de potencial. Na maioria dos trabalhos, considera que o canal está aberto em um pequeno intervalo de tempo e procura-se obter alguma informação sobre a sua condutância.

Nos últimos anos, poderosas ferramentas como cristalografia por raio-x, microscopia eletrônica e ressonância magnética nuclear têm sido desenvolvidas para caracterizar a estrutura tridimensional das proteínas no nível atômico. No entanto, uma das principais dificuldades é a obtenção de cristais de proteína com a pureza e as dimensões necessárias à análise cristalográfica. A proteína não é totalmente rígida, e seus movimentos não podem ser capturados pelas técnicas atualmente usadas. Mas mesmo assim esses trabalhos têm sido fundamentais na obtenção de modelos mais precisos para canais, pois um modelo tem que usar a informação estrutural disponível, sendo capaz de fazer previsões que podem ser testadas experimentalmente. Esse requisito pode ser padrão, mas raramente satisfeito.

1.2 Apresentação e Objetivo do Trabalho

Neste trabalho, serão focados modelos de permeação de íons em canais iônicos. Considerando continuidade nos meios envolvidos (água e proteína), obtém-se uma primeira proposta para permeação. Esse modelo será tratado no capítulo 2. No capítulo 3 outro modelo com o uso da dinâmica browniana será considerado. Nesse caso, a água continua sendo um meio dielétrico contínuo e os íons com suas forças tratados separadamente. O modelo de permeação com o uso das ferramentas da dinâmica molecular será apresentado no capítulo 4, que considera todos os átomos do sistema com suas devidas forças. Esse último é o mais preciso, mas em compen-

sação é muito caro computacionalmente, podendo ser algumas vezes inviável. Assim será proposto no capítulo 5 um modelo que combina a eficiência computacional com a precisão dos métodos dos capítulos anteriores. Para isso será combinado no modelo a eletrostática do contínuo na região da membrana com a dinâmica browniana na região externa e citoplasma juntamente com a dinâmica molecular na proteína e região interna do canal. O objetivo é construir uma ferramenta que permita descrever o fenômeno de abertura e fechamento de um canal iônico, sendo computacionalmente executável num período de tempo suficientemente grande para obter alguns resultados macroscópicos. A base desse modelo é a proteína KcSA, que é um canal de potássio dependente da voltagem de uma bactéria. Os modelos se aplicam a outros tipos de proteínas, mas essa em especial, é bem mais estudada, sendo conhecida sua estrutura tridimensional, que é útil em dinâmica molecular, onde a posição de todos os átomos é fundamental nas simulações.

2 ELETROSTÁTICA DO CONTÍNUO NOS CANAIS IÔNICOS

A abordagem proposta consiste em considerar a membrana como um dielétrico uniforme de geometria bem determinada. Isto permite relacionar a distribuição de cargas do sistema à diferença de potencial na membrana que, por sua vez é responsável pela abertura/fechamento do canal.

2.1 Modelo Contínuo Para Permeação em Canais Iônicos

Entre os trabalhos pioneiros na descrição das forças que agem sobre íons na vizinhança de um canal, destaca-se a abordagem proposta por Levitt [20]. Nesse modelo, a membrana, a solução e a proteína são tratados como meios homogêneos com geometrias definidas. Os íons são representados por uma distribuição de cargas puntiformes concentradas em suas respectivas posições. Assim, dados N íons de cargas $q_1, q_2, \dots, q_i, \dots, q_N$, dispostos nos pontos indicados pelos respectivos vetores \vec{r}_i , a densidade de carga em um ponto \vec{r} é dada por

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N q_i \delta^3(\vec{r} - \vec{r}_i), \quad (2.1)$$

onde δ^3 é a distribuição delta de Dirac.

As equações de Maxwell para um problema eletrostático em meio homogêneo são dadas por:

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho, \quad (2.2)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = 0, \quad (2.3)$$

onde \mathbf{D} é o vetor deslocamento elétrico, ρ é a densidade de carga livre, ou seja, não relacionada a um meio material macroscópico, que no caso é a distribuição dos íons e cargas na proteína e \mathbf{E} é o campo elétrico. Na abordagem proposta, a densidade de carga livre é devida à distribuição de íons no meio extracelular e citoplasma, além

da distribuição de cargas na proteína que também será considerada concentrada em pontos.

O meio extracelular, o citoplasma e a membrana são tratados como meios dielétricos uniformes cuja resposta a um campo elétrico externo consiste unicamente na presença de uma polarização do meio, representada pelo campo vetorial \mathbf{P} , o qual está associado a uma distribuição de carga $\sigma_{pol}(\vec{r})$

$$\nabla \cdot \mathbf{P} = -\sigma_{pol}(\vec{r}). \quad (2.4)$$

Dessa forma, a relação entre \mathbf{D} e \mathbf{E} nesses materiais é dada por

$$\mathbf{D} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P}, \quad (2.5)$$

onde ϵ_0 é a permissividade do vácuo.

Será considerado também que a resposta do meio (polarização) é linear e isotrópica, ou seja, em cada região dielétrica uniforme, a polarização é dada por

$$\mathbf{P} = \epsilon_0 \chi_\epsilon \mathbf{E}, \quad (2.6)$$

onde χ_ϵ é a susceptibilidade do meio. A partir de (2.5) e (2.6) podemos notar que os vetores deslocamento e campo elétrico estão relacionados por uma expressão da forma

$$\mathbf{D} = \epsilon \mathbf{E}, \quad (2.7)$$

onde $\epsilon = \epsilon_0(1 + \chi_\epsilon)$ é denominada constante dielétrica do meio. Essas hipóteses sobre o comportamento elétrico dos materiais permitem reescrever as equações (2.2) e (2.3) na forma

$$\nabla \cdot (\epsilon(\vec{r}) \mathbf{E}(\vec{r})) = \rho(\vec{r}), \quad (2.8)$$

$$\nabla \times \mathbf{E}(\vec{r}) = \vec{0}, \quad (2.9)$$

onde $\epsilon(\vec{r})$ depende do ponto \vec{r} em questão, mas será considerada a seguinte situação

$$\epsilon(\vec{r}) = \begin{cases} \epsilon_m, & \text{se } \vec{r} \text{ é um ponto interno da membrana} \\ \epsilon_h, & \text{se } \vec{r} \text{ é um ponto interno do meio externo ou citoplasma} \end{cases} \quad (2.10)$$

Típicamente usa-se $\epsilon_h = 80\epsilon_0$ e $\epsilon_m = 2\epsilon_0$, mas não se sabe se esse valores são ideais para estudos de canais iônicos, como explica [20].

De (2.3) observa-se que o campo elétrico é um campo vetorial irrotacional, ou seja, é possível relacioná-lo ao gradiente de uma função escalar, nesse caso, o potencial eletrostático φ :

$$\mathbf{E} = -\nabla\varphi. \quad (2.11)$$

De acordo com (2.8), (2.9) e (2.11), nota-se que o potencial eletrostático satisfaz a equação de Poisson

$$\nabla \cdot (\epsilon(\vec{r})\nabla\varphi(\vec{r})) = \rho(\vec{r}). \quad (2.12)$$

Portanto, em um meio dielétrico homogêneo, o campo elétrico de uma carga concentrada em um ponto é igual ao campo que a mesma produz no vácuo multiplicado por $\frac{1}{\epsilon}$.

Agora será analisado o comportamento dos campos na fronteira entre dois dielétricos homogêneo: membrana/meio extracelular ou membrana/citoplasma. Considera-se um caminho infinitesimal γ que delimita uma região Γ com centro em algum ponto da interface, como mostra a figura 2.1.

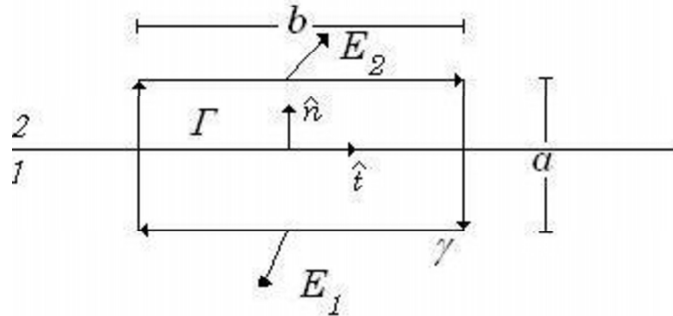


Figura 2.1: *Caminho infinitesimal em torno da interface entre membrana/meio externo ou membrana/citoplasma.*

De acordo com o teorema de Stokes

$$\int_{\Gamma} (\nabla \times \mathbf{E}) \cdot d\vec{S} = \int_{\gamma} \mathbf{E} \cdot d\vec{l}. \quad (2.13)$$

De (2.9) e (2.13) obtém-se

$$\int_{\gamma} \mathbf{E} \cdot d\vec{l} = 0 \Rightarrow \frac{a}{2} \mathbf{E}_2 \cdot \hat{\mathbf{n}} + b \mathbf{E}_2 \cdot \hat{\mathbf{t}} - \frac{a}{2} \mathbf{E}_2 \cdot \hat{\mathbf{n}} + \frac{a}{2} \mathbf{E}_1 \cdot \hat{\mathbf{n}} - b \mathbf{E}_1 \cdot \hat{\mathbf{t}} - \frac{a}{2} \mathbf{E}_1 \cdot \hat{\mathbf{n}} = 0,$$

onde $\hat{\mathbf{n}}$ é o vetor normal unitário e $\hat{\mathbf{t}}$ é o vetor tangencial unitário e os índices 1 e 2 indicam os limites em cada um dos lados da fronteira entre os dois dielétricos.

Assim

$$(\mathbf{E}_2 - \mathbf{E}_1) \cdot \hat{\mathbf{t}} = 0 \quad (2.14)$$

em qualquer ponto da fronteira.

Outra condição de contorno é obtida considerando (2.8) e o teorema da divergência. Antes é importante observar que sobre a interface não há cargas livres. Portanto, ao considerar um cilindro Ω que atravessa a membrana, pode-se torná-lo tão fino quanto necessário para garantir que $\rho \equiv 0$ em Ω , como mostra a figura 2.1.

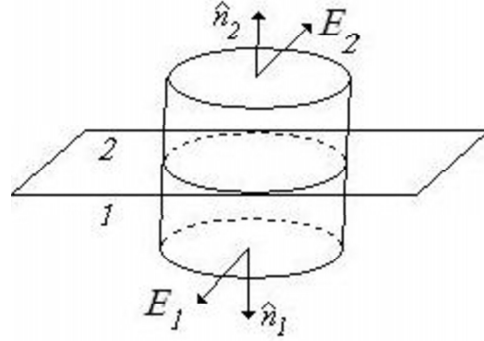


Figura 2.2: *Volume infinitesimal Ω que atravessa a fronteira entre membrana/meio extracelular ou membrana/citoplasma*

O teorema da divergência de Gauss diz o seguinte

$$\int_{\Omega} \nabla \cdot (\epsilon(\vec{r}) \mathbf{E}(\vec{r})) d^3 r = \int_{\partial\Omega} \epsilon(\vec{r}) \mathbf{E}(\vec{r}) \cdot \hat{\mathbf{n}}(\vec{r}) d^2 r. \quad (2.15)$$

Substituindo (2.8) com $\rho = 0$ em (2.15), obtém-se

$$\int_{\partial\Omega} \epsilon(\vec{r}) \mathbf{E}(\vec{r}) \cdot \hat{\mathbf{n}}(\vec{r}) d^2 r = 0. \quad (2.16)$$

Nas faces planas paralelas do cilindro o campo é constante e os vetores normais também não variam ($\hat{\mathbf{n}}_1 = \hat{\mathbf{n}}_2 = \hat{\mathbf{n}}$). A contribuição da face lateral do cilindro à

integral (2.16) é nula. Assim,

$$A(\epsilon_2 \mathbf{E}_2 \cdot \hat{\mathbf{n}} - \epsilon_1 \mathbf{E}_1 \cdot \hat{\mathbf{n}}) = 0, \quad (2.17)$$

onde A é a área da base do cilindro. Portanto

$$(\epsilon_2 \mathbf{E}_2 - \epsilon_1 \mathbf{E}_1)(\vec{r}) \cdot \hat{\mathbf{n}}(\vec{r}) = 0 \quad (2.18)$$

para todo \vec{r} na interface membrana/meio extracelular ou membrana/citoplasma. Agora segue a análise da indução de cargas (polarização) pelo campo elétrico dos íons/proteína.

Dentro da membrana e nos pontos na solução do citoplasma e meio extracelular ¹, a densidade de cargas polarizadas é nula, pois de acordo com (2.4) e (2.6)

$$\sigma_{pol} = -\epsilon_0 \chi_\epsilon \nabla \cdot \mathbf{E} = -\chi_\epsilon \nabla \cdot \mathbf{D} \quad (2.19)$$

Como as cargas livres estão concentrada nas posições dos íons, em qualquer outro ponto $\nabla \cdot \mathbf{D} = 0$, e portanto $\sigma_{pol} = 0$. Porém na interface entre os dois meios ϵ é descontínua. Recorrendo outra vez ao teorema da divergência

$$A(\mathbf{P}_2 \cdot \hat{\mathbf{n}} - \mathbf{P}_1 \cdot \hat{\mathbf{n}}) = -A\sigma_{pol}. \quad (2.20)$$

Novamente a partir de (2.6)

$$(\epsilon_0 \chi_{\epsilon_2} \mathbf{E}_2 - \epsilon_0 \chi_{\epsilon_1} \mathbf{E}_1) \cdot \hat{\mathbf{n}} = -\sigma_{pol} \quad (2.21)$$

e como $\epsilon_i = \epsilon_0(1 + \chi_{\epsilon_i})$, $i = 1, 2$, então

$$\chi_{\epsilon_2} = \frac{\epsilon_2}{\epsilon_0} - 1, \quad \chi_{\epsilon_1} = \frac{\epsilon_1}{\epsilon_0} - 1.$$

Substituindo em (2.21)

$$(\epsilon_2 \mathbf{E}_2 - \epsilon_1 \mathbf{E}_1) \cdot \hat{\mathbf{n}} + \epsilon_0(\mathbf{E}_2 - \mathbf{E}_1) \cdot \hat{\mathbf{n}} = -\sigma_{pol}. \quad (2.22)$$

A partir da condição de contorno (2.18), o primeiro termo à esquerda é nulo e temos finalmente que

$$(\mathbf{E}_2 - \mathbf{E}_1) \cdot \hat{\mathbf{n}} = -\frac{\sigma_{pol}}{\epsilon_0}. \quad (2.23)$$

¹Nas regiões em que ϵ é constante.

Dada uma região infinitesimal em torno de um ponto r' da membrana, decompõe-se os campos \mathbf{E}_1 e \mathbf{E}_2 como a soma de um campo \mathbf{E}_{ex} gerado por todas as cargas com exceção das cargas polarizadas nessa região:

$$\mathbf{E}_1(\vec{r}') = \mathbf{E}_{ex}(\vec{r}') + \frac{\sigma_{pol}(\vec{r}')}{2\epsilon_0} \hat{n}(\vec{r}'), \quad \mathbf{E}_2(\vec{r}') = \mathbf{E}_{ex}(\vec{r}') - \frac{\sigma_{pol}(\vec{r}')}{2\epsilon_0} \hat{n}(\vec{r}'). \quad (2.24)$$

Substituindo (2.24) em (2.18) obtém-se

$$\left[\epsilon_2 \mathbf{E}_{ex}(\vec{r}') + \frac{\epsilon_2}{2\epsilon_0} \sigma_{pol}(\vec{r}') \hat{n}(\vec{r}') - \epsilon_1 \mathbf{E}_{ex}(\vec{r}') + \frac{\epsilon_1}{2\epsilon_0} \sigma_{pol}(\vec{r}') \hat{n}(\vec{r}') \right] \cdot \hat{n}(\vec{r}') = 0.$$

Portanto,

$$\sigma_{pol}(\vec{r}') = 2\epsilon_0 \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + \epsilon_1} \mathbf{E}_{ex}(\vec{r}') \cdot \hat{n}(\vec{r}'). \quad (2.25)$$

O cálculo do campo \mathbf{E}_{ex} é detalhado na próxima seção.

2.2 Equação Recursiva para a Distribuição Superficial de Cargas na Membrana

De acordo com as equações de Maxwell, o potencial eletrostático no ponto r satisfaz a equação de Poisson (2.12), com as seguintes condições de contorno:

$$\varphi_1 = \varphi_2, \quad \epsilon_1 \nabla \varphi_1 \cdot \hat{n} = \epsilon_2 \nabla \varphi_2 \cdot \hat{n}. \quad (2.26)$$

Assim é necessário resolver a equação de Poisson em uma geometria específica na forma de um canal, como mostra a figura 2.2. A equação de Poisson (2.12) é separável em vários sistemas de coordenadas, portanto se a geometria do canal possui uma descrição aproximada que seja simples em algum desses sistemas, é possível obter a solução analítica. Mas as geometrias de canais reais têm a forma aproximada de uma ampulheta ou catenária, onde a equação de Poisson não é separável, praticamente impossibilitando sua solução analítica. A geometria que mais se aproxima de um canal real onde a equação de Poisson pode ser resolvida analiticamente é o toro. Existem muitas vantagens em resolver a equação de Poisson em coordenadas toroidais, como por exemplo, em simulações em dinâmica browniana

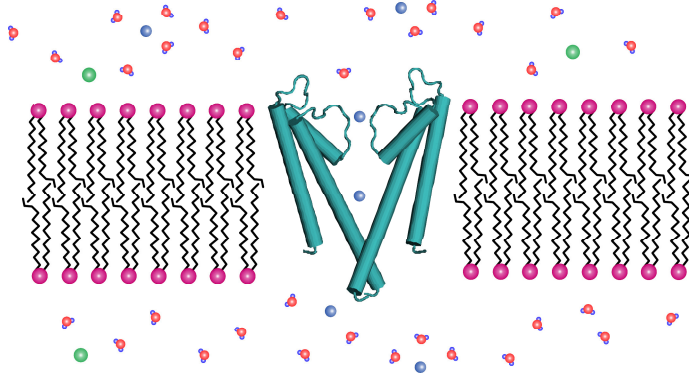


Figura 2.3: *Uma típica fronteira representando a membrana e a proteína.*

onde o potencial deve ser calculado muitas vezes. A existência de uma solução analítica permite uma economia de tempo de computação, mas essa geometria ainda está longe de aproximar um canal real com precisão. Portanto, necessitamos de alguma técnica numérica. Para uma geometria geral, sem impor qualquer simetria tanto na forma do canal, quanto na posição dos íons, resolve-se a equação (2.12) aplicando o método desenvolvido por Levitt [20], que será apresentado a seguir.

Podemos escrever a equação (2.26) em termos do campo elétrico \mathbf{E}

$$\varphi_1 = \varphi_2 \quad \epsilon_1 \mathbf{E} \cdot \hat{\mathbf{n}} = \epsilon_2 \mathbf{E} \cdot \hat{\mathbf{n}}. \quad (2.27)$$

Como foi tratado na seção anterior, a descontinuidade do campo elétrico na fronteira do canal pode ser descrita pela densidade de carga σ_{pol} induzida na superfície. Assim, divide-se toda a geometria em setores $\Sigma_{r_1}, \Sigma_{r_2}, \dots, \Sigma_{r_K}$, onde $r_k \in \Sigma_{r_k}$ é um ponto da interface representante do setor Σ_{r_k} . Assim, supondo que os setores são suficientemente pequenos, para cada setor Σ_{r_k} indexado por \vec{r}_k vale a equação para as cargas induzidas (2.25), que pode ser convenientemente reescrita como

$$\sigma_{pol}(\vec{r}_k) = \alpha \mathbf{E}_{ex}(\vec{r}_k) \cdot \hat{\mathbf{n}}(\vec{r}_k) \quad (2.28)$$

onde

$$\alpha = 2\epsilon_0 \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + \epsilon_1} \quad (2.29)$$

é a polarizabilidade elétrica.

A solução da equação de Poisson (2.12) para uma distribuição de cargas ρ é dada por:

$$\varphi(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi} \left[\int_{\Omega} \frac{\rho(\vec{r}')}{\epsilon(\vec{r}')|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3\vec{r}' + \int_{\mathcal{U}} \frac{\sigma_{pol}(\vec{r}')}{\epsilon_0|\vec{r} - \vec{r}'|} d^2\vec{r}' \right], \quad (2.30)$$

onde Ω é todo o espaço (membrana, proteína, citoplasma e região externa) e $\partial\Omega$ representa a superfície entre membrana/citoplasma ou membrana/meio externo.

Devido à linearidade da equação de Poisson, o princípio da superposição é válido, portanto é suficiente determinar uma expressão para uma distribuição concentrada no ponto $\vec{r}' \in \Omega$ com carga total q . Além disso, na aproximação utilizada, a distribuição $\sigma_{pol}(\vec{r}_k)$ é constante em cada segmento infinitesimal, ou seja, a quantidade de carga no setor Σ_{r_k} é

$$q_{r_k} = \sigma_{pol}(\vec{r}_k) s_{r_k}, \quad (2.31)$$

onde s_{r_k} é a área do setor representado por \vec{r}_k . Dessa forma, como propôs *Hoyles et. al.* [14], o potencial φ_{ex} devido a todas as cargas, com exceção daquelas do setor Σ_{r_j} , é dado por

$$\varphi_{ex}(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi} \left[\frac{q}{\epsilon(\vec{r}')|\vec{r} - \vec{r}'|} + \sum_{k, k \neq j} \frac{q_{r_k}}{\epsilon_0|\vec{r} - \vec{r}_k|} \right]. \quad (2.32)$$

O campo elétrico é obtido da equação (2.32) por

$$\mathbf{E}_{ex} = -\nabla\varphi_{ex}. \quad (2.33)$$

(2.32), (2.33) e (2.25) constituem um esquema iterativo, já que a expressão (2.32) não pode ser resolvida diretamente, devido a falta de informação sobre $\sigma_{pol}(\vec{r}_k)$ (ou q_{r_k}). Mas utilizando como aproximação inicial $\sigma_{pol}(\vec{r}_k) = 0$ (ou $q_{r_k} = 0$) na expressão (2.32), obtém-se um potencial externo nos pontos do domínio. Calcula-se o campo elétrico externo nos pontos \vec{r}_k com a equação (2.33) e a nova distribuição de carga concentrada no ponto r_k é encontrada com a equação (2.25), como mostram [21] e [18]. O potencial externo é atualizado com a expressão (2.32), repetindo

o processo até que os resultados obedeçam o critério de convergência proposto por *Hoyles et al* [14], que testa a seguinte quantidade:

$$\delta_k = \left| \frac{q_{r_k}^n - q_{r_k}^{n-1}}{q_{max}^n} \right|, \quad (2.34)$$

onde n representa as iterações do método de Levitt para as cargas dadas por (2.31), k percorre os setores da superfície e q_{max}^n é a maior carga na n -ésima iteração. O cálculo termina quando δ_k for suficientemente pequeno para todo k . O método de Levitt descrito acima tem a seguinte particularidade: as cargas induzidas em curtas distâncias permitem convergência rápida do método e as cargas induzidas em grandes distâncias tendem a ser mais sensíveis a outras cargas do sistema, fazendo a convergência ficar lenta. Como a região de interesse é em torno do poro, que possui convergência rápida, então o método para teste de convergência (2.34) não precisa ser muito refinado para cargas induzidas em longas distâncias e mesmo assim fornecendo resultados satisfatórios.

A equação de Poisson é linear, portanto a solução pode ser decomposta como a soma de diersas contribuições. Na prática cria-se uma grade de pontos no domínio indexada por i , obtendo a solução da equação de Poisson via método de Levitt para uma carga apenas posicionada no i -ésimo ponto da grade. Repete-se o processo para todos os pontos e armazena-se os valores de $\sigma(r_i)$ em tabelas. O potencial elétrico no ponto r_i é dado pela expressão (2.32). Cada vez que uma carga for posicionada fora da grade, uma aproximação é obtida utilizando métodos de interpolação. Caso sejam várias cargas, o método da superposição se aplica.

2.3 Limitações do Modelo

Tratar todo o fenômeno com um contínuo nem sempre é uma boa aproximação. A maioria dos canais biológicos são estreitos, ou seja, têm raios menores ou iguais a 5\AA , e os íons atravessam o canal em fila única. Portanto não é razoável esperar que nessa região seja possível tratar o fluxo de íons como o fluxo de um fluido. Além disso, numa abordagem contínua as forças intermoleculares são negligenciadas,

tendo em vista que as moléculas de água sofrem constantes choques com os íons. Assim é necessário um tratamento mais preciso do fenômeno, usando da dinâmica browniana, que trata os íons como partículas, ou da dinâmica molecular, que modela todos os átomos do sistema, que será apresentado nos próximos capítulos. Contudo é importante enfatizar que modelos contínuos são válidos em soluções eletrolíticas com grande quantidade de moléculas envolvidas. Assim, tratar apenas a membrana como um meio contínuo, sendo proteínas, íons e água modelados com outra abordagem, pode ser razoável. Uma discussão maior sobre essa abordagem será feita no capítulo 5.

3 DINÂMICA BROWNIANA

O movimento browniano é um processo que descreve a dinâmica de partículas em um dado meio ([8]). No caso específico de canais iônicos, os íons que estão próximos do canal são considerados partículas movimentando-se na água, que é um meio homogêneo. Simulações com dinâmica browniana (DB) em canais iônicos têm o objetivo de prever a condutância do canal ([4]).

3.1 Característica de Dinâmica Browniana

Na dinâmica browniana, as interações entre íons e meio é devido aos impactos randômicos com as moléculas de água que geralmente produzem dois tipos de forças: a primeira é uma força randômica na partícula que mantém seus incessantes movimentos; a segunda é a força friccional, que em média é proporcional a velocidade. A força eletrostática é considerada nessa aproximação independente das duas primeiras.

Considerando um sistema com N íons, o movimento do i -ésimo íon, com massa m_i e carga q_i é governado pela equação de Langevin ([3], [5] e [6])

$$m_i \frac{d\vec{v}_i}{dt} = -m_i \gamma_i \vec{v}_i + \vec{R}_i(t) + \vec{F}_i, \quad (3.1)$$

onde $\gamma_i > 0$ e $\vec{v}_i \in \mathbb{R}^3$ são o seu coeficiente de fricção e sua velocidade, respectivamente. Os três termos no lado direito da equação (3.1) correspondem, da esquerda para direita, à força de fricção, à força aleatória e à força sistemática total que age nos íons, sendo que a última contém a força eletrostática. Maiores detalhes sobre a equação de Langevin podem ser encontrados em [7] e [25].

As forças randômicas e de fricção têm a mesma origem e são relacionadas pelo teorema da dissipação-flutuação ([17]). De acordo com o teorema, existe um balanço entre a variação da energia total devida à força aleatória e o seu decréscimo devido à força de fricção que preserva a estabilidade do sistema. A flutuação

de energia em torno do equilíbrio está relacionada à temperatura do meio. Essa relação é descrita pela expressão

$$m_i \gamma_i = \frac{1}{2k_B T} \int_{-\infty}^{\infty} \langle \vec{R}_i(0) \vec{R}_i(t) \rangle dt, \quad (3.2)$$

onde k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, $(\cdot)_\alpha$ é a α -ésima componente do vetor e $\langle \cdot \rangle$ denota a média sobre um ensemble de equilíbrio

$$\langle f(t) \rangle = \frac{1}{M} \int_0^M f(t+t') dt', \quad (3.3)$$

para M uma constante escolhida tal que $M \gg \frac{1}{\gamma_i}$. A força estocástica \vec{R}_i é uma variável aleatória gaussiana de média zero, com distribuição estacionária e markoviana, não tendo correlação com velocidades anteriores nem com forças sistemáticas, que em símbolos significa

$$\langle (R_i(0))_\alpha (R_j(t))_\beta \rangle = 2m_i \gamma_i k_B T \delta_{ij} \delta_{\alpha\beta} \delta(t), \quad (3.4)$$

$$W(\vec{R}_i) = \frac{1}{\sqrt{2\pi \langle |\vec{R}_i|^2 \rangle}} \exp \left[\frac{-|\vec{R}_i|^2}{2 \langle |\vec{R}_i|^2 \rangle} \right], \quad \alpha = 1, 2, 3 \quad (3.5)$$

$$\langle \vec{R}_i \rangle = \vec{0} \in \mathbb{R}^3, \quad (3.6)$$

$$\langle (\vec{v}_i(0))_\alpha (\vec{R}_j(t))_\beta \rangle = 0 \quad , \quad t \geq 0, \quad \forall \alpha, \beta \in \{1, 2, 3\} \quad (3.7)$$

$$\langle (\vec{F}_i(0))_\alpha (\vec{R}_j(t))_\beta \rangle = 0 \quad , \quad t \geq 0, \quad \forall \alpha, \beta \in \{1, 2, 3\} \quad (3.8)$$

onde $W(R_i)$ é a distribuição de probabilidades da força estocástica, que é igual nas componentes $\alpha = 1, 2$ e 3 .

O último termo da equação (3.1) é a força sistemática que, no caso dos íons em solução, é a força elétrica total agindo no íon, ou seja, a força sistemática sentida pelo i -ésimo íon é dada por

$$(F_i)_\alpha = q_i (E_i)_\alpha, \quad (3.9)$$

onde \vec{E}_i é o vetor campo elétrico na posição ocupada pelo i -ésimo íon. O campo elétrico \vec{E}_i pode ser decomposto entre as contribuições devido a: (i) interação com os demais íons em solução; (ii) cargas fixas distribuídas na proteína; (iii) cargas de

polarização induzidas na interface entre a membrana e o meio externo/citoplasma. Na forma descrita pelo capítulo anterior, a contribuição desse último item é calculada pela solução da equação de Poisson (2.12).

3.2 Solução da Equação de Langevin

O método de integração numérica para a solução da equação de Langevin (3.1) apresentado a seguir foi formulado por van Gunsteren e Berendsen [30] e [31]. O desenvolvimento da solução será feito para uma única componente, assim todas as funções utilizadas são escalares. Não se perde a generalidade, pois as equações das outras componentes são análogas. A equação (3.1) para uma das componentes da velocidade de um íon é da forma

$$\frac{dv}{dt} + \gamma v = \frac{R(t) + F(t)}{m}. \quad (3.10)$$

A partir da identidade

$$\frac{dv}{dt} + \gamma v = e^{-\gamma t} \frac{d}{dt} v e^{\gamma t}, \quad (3.11)$$

podemos integrar a equação (3.10) do tempo inicial t_n até t , obtendo a seguinte expressão

$$v(t)e^{\gamma t} - v(t_n)e^{\gamma t_n} = \frac{1}{m} \int_{t_n}^t [R(t') + F(t')] e^{\gamma t'} dt'. \quad (3.12)$$

Visto que as propriedades estocásticas de $R(t)$ são conhecidas, a integral sobre as forças aleatórias pode ser obtida diretamente. Para a força elétrica fazemos uma expansão em série de Taylor em torno de t_n até termos de segunda ordem

$$F(t) = F(t_n) + \dot{F}(t_n)(t - t_n) + O[(t - t_n)^2], \quad (3.13)$$

onde $\dot{F}(t_n)$ denota a derivada de $F(t)$ no ponto $t = t_n$. Substituindo a equação (3.13) em (3.12), negligenciando termos de segunda ordem e fazendo a integração

em t , obtém-se a seguinte expressão para a velocidade

$$\begin{aligned}
v(t) &= v(t_n)e^{-\gamma(t-t_n)} + \frac{F(t_n)}{m\gamma}(1 - e^{-\gamma(t-t_n)}) + \\
&+ \frac{\dot{F}(t_n)}{m\gamma^2}[\gamma(t-t_n) - 1 + e^{-\gamma(t-t_n)}] + \\
&+ \frac{e^{-\gamma t}}{m} \int_{t_n}^t R(t')e^{\gamma t'} dt'. \tag{3.14}
\end{aligned}$$

Uma vez conhecida a velocidade $v(t)$, a posição no tempo $t_n + \Delta t$ é obtida pelo teorema fundamental do cálculo

$$x(t_n + \Delta t) = x(t_n) + \int_{t_n}^{t_n + \Delta t} v(t) dt. \tag{3.15}$$

Substituindo (3.14) em (3.15) e fazendo a integração, a expressão para a posição torna-se

$$\begin{aligned}
x(t_n + \Delta t) &= x(t_n) + \frac{v(t_n)}{\gamma}(1 - e^{-\tau}) + \frac{F(t_n)}{m\gamma^2}(\tau - 1 + e^{-\tau}) + \\
&+ \frac{\dot{F}(t_n)}{m\gamma^3}\left(1 - \tau + \frac{\tau^2}{2} - e^{-\tau}\right) + \int_{t_n}^{t_n + \Delta t} \left(\frac{e^{-\gamma t}}{m} \int_{t_n}^t R(t')e^{\gamma t'} dt'\right) dt, \tag{3.16}
\end{aligned}$$

onde $\tau = \gamma\Delta t$ é adimensional¹. A dinâmica possui um regime difusivo quando $\tau \gg 1$ e um regime balístico quando $\tau \ll 1$. A integral na equação (3.16) é calculada fazendo-se integração por partes

$$\begin{aligned}
\int_{t_n}^{t_n + \Delta t} \left(\frac{e^{-\gamma t}}{m} \int_{t_n}^t R(t')e^{\gamma t'} dt'\right) dt &= \\
&= \frac{1}{m\gamma} \int_{t_n}^{t_n + \Delta t} (1 - e^{t-t_n-\Delta t})R(t) dt \equiv X_n(\Delta t), \tag{3.17}
\end{aligned}$$

onde $X_n(\Delta t)$ é uma nova variável aleatória que, de acordo com (3.4)-(3.8), possui as mesmas propriedades estocásticas de $R(t)$. É conveniente utilizar a notação $x_{n+k} = x(t_n + k\Delta t)$, $v_{n+k} = v(t_n + k\Delta t)$ e assim a equação para a posição tem a forma

$$x_{n+1} = x_n + \frac{v_n}{\gamma}(1 - e^{-\tau}) + \frac{F(t_n)}{m\gamma^2}(\tau - 1 + e^{-\tau}) + \tag{3.18}$$

$$+ \frac{\dot{F}(t_n)}{m\gamma^3}\left(1 - \tau + \frac{\tau^2}{2} - e^{-\tau}\right) + X_n(\Delta t). \tag{3.19}$$

¹De acordo com a expressão (3.1), γ^{-1} possui unidade de tempo.

Na equação (3.15) pode-se trocar Δt por $-\Delta t$ e assim obter um expressão para $x(t_{n-1})$ em termos de $v(t_n)$. Assim, somando o termo $e^{-\tau}x(t_{n-1})$ em ambos os lados da equação (3.18), obtém-se uma expressão para a posição que não depende da velocidade, o que é mais conveniente

$$\begin{aligned} x_{n+1} &= x_n(1 + e^{-\tau}) - x_{n-1}e^{-\tau} + \\ &+ \frac{F(t_n)}{m\gamma^2}\tau(1 - e^{-\tau}) + \frac{\dot{F}(t_n)}{m\gamma^3} \left(\frac{\tau^2}{2}(1 + e^{-\tau}) - \tau(1 - e^{-\tau}) \right) + \\ &+ X_n(\Delta t) + X_n(-\Delta t)e^{-\tau}. \end{aligned} \quad (3.20)$$

Analogamente, somando x_{n-1} em (3.18) obtém-se uma expressão para a velocidade,

$$\begin{aligned} v_n &= \frac{\gamma}{2sh\tau} [x_{n+1} - x_{n-1} + 2 \left(\frac{F(t_n)}{m\gamma^2} - \frac{\dot{F}(t_n)}{m\gamma^3} \right) \\ &\times (\sinh\tau - \tau) - X_n(\Delta t) + X_n(-\Delta t)]. \end{aligned} \quad (3.21)$$

As expressões para a posição (3.20) e para a velocidade (3.21) constituem as relações de recorrência principais do algoritmo de DB usado nas simulações. Esse equivale ao algoritmo de Verlet [31] para dinâmica molecular na situação em que $\gamma = 0$ e $R_i = 0$.

A função F é devida às forças elétricas ($F = qE$), como já mencionado. Dada uma distribuição de cargas no sistema, a equação de Poisson (2.12) dá o potencial em cada ponto do domínio. A distribuição de cargas varia com o tempo, mas supõe-se que não existe variação dentro de cada passo. Então a equação (2.12) deve ser resolvida a cada passo de tempo.

Para calcular a variável randômica X_n definida em (3.17), deve-se levar em conta que $X_n(-\Delta t)$ e $X_{n-1}(\Delta t)$ são duas variáveis aleatórias relacionadas, visto que ambas envolvem $R(t)$ e são definidas sobre o mesmo intervalo (t_{n-1}, t_n)

$$X_{n-1}(\Delta t) = \frac{1}{m\gamma} \int_{t_{n-1}}^{t_{n-1}+\Delta t} (1 - e^{-\gamma(t_{n-1}+\Delta t-t)})R(t)dt, \quad (3.22)$$

$$X_n(-\Delta t) = \frac{1}{m\gamma} \int_{t_{n-1}}^{t_{n-1}+\Delta t} (e^{-\gamma(t_{n-1}-t)} - 1)R(t)dt. \quad (3.23)$$

Portanto elas obedecem uma distribuição gaussiana bivariada

$$W(X_{n-1}(\Delta t), X_n(-\Delta t)) = \frac{1}{\sqrt{4\pi^2\sigma_1^2\sigma_2^2(1-r^2)}} \exp \left\{ -[\sigma_2^2 X_{n-1}^2(\Delta t) - 2\sigma_1\sigma_2 r X_{n-1}(\Delta t)X_n(-\Delta t) + \sigma_1^2 X_n^2(-\Delta t)] / (2\sigma_1^2\sigma_2^2(1-r^2)) \right\}, \quad (3.24)$$

onde os parâmetros σ_1 , σ_2 e r desta distribuição podem ser determinados calculando as quantidades $\langle X_{n-1}^2(\Delta t) \rangle$, $\langle X_n^2(-\Delta t) \rangle$ e $\langle X_{n-1}(\Delta t)X_n(-\Delta t) \rangle$, usando (3.22), (3.23) e a propriedade (3.4), como pode ser visto em [30] e [31].

$$\langle R(t)R(t') \rangle = 2m\gamma k_B T \delta(t-t'), \quad (3.25)$$

onde obtém-se

$$\sigma_1^2 = \langle X_{n-1}^2(\Delta t) \rangle = \frac{k_B T}{m\gamma^2} C(\tau), \quad (3.26)$$

$$\sigma_2^2 = \langle X_n^2(-\Delta t) \rangle = -\frac{k_B T}{m\gamma^2} C(-\tau), \quad (3.27)$$

e

$$r\sigma_1\sigma_2 = \langle X_{n-1}(\Delta t)X_n(-\Delta t) \rangle = \frac{k_B T}{m\gamma^2} G(\tau), \quad (3.28)$$

onde

$$C(\tau) = 2\tau - 3 + 4e^{-\tau} - e^{-2\tau}, \quad (3.29)$$

e

$$G(\tau) = e^\tau - 2\tau - e^{-\tau}. \quad (3.30)$$

A distribuição de $X_{n-1}(\Delta t)$, desconsiderando $X_n(-\Delta t)$ é a distribuição gaussiana

$$W(X_{n-1}(\Delta t)) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_1^2}} \exp \left[\frac{-X_{n-1}^2(\Delta t)}{2\sigma_1^2} \right] \quad (3.31)$$

e a distribuição condicional para $X_n(-\Delta t)$, dado um valor de $X_{n-1}(\Delta t)$ é

$$W(X_n(-\Delta t)|X_{n-1}(\Delta t)) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_2^2(1-r^2)}} \exp \left\{ \frac{-[X_n(-\Delta t) - r\sigma_2\sigma_1^{-1}X_{n-1}(\Delta t)]^2}{2\sigma_2^2(1-r^2)} \right\}. \quad (3.32)$$

Finalmente, o esquema computacional do algoritmo DB tem a seguinte ordem:

1. Assume que $x(t_n)$, $x(t_{n-1})$, $X_{n-1}(\Delta t)$ e $F(t_{n-1})$ são conhecidos;

2. Calcula $F(t_n)$ a partir do potencial, que vem da equação de Poisson;
3. Calcula a derivada das forças sistemáticas da seguinte forma

$$\dot{F}(t_n) = \frac{F(t_n) - F(t_{n-1})}{\Delta t}. \quad (3.33)$$

4. Tira uma amostra Y proveniente de uma distribuição gaussiana com média zero e variância (3.27), e calcula

$$X_n(-\Delta t) = \frac{X_{n-1}(\Delta t)G(\tau)}{C(\tau)} + Y, \quad (3.34)$$

onde $X_{n-1}(\Delta t)$ é uma amostra de uma distribuição gaussiana com média zero e variância (3.26), podendo assim calcular a posição $x(t_{n+1})$ usando (3.20);

5. Calcula a velocidade $v(t_n)$ através de (3.21)

No primeiro passo de tempo da DB, os valores de $x(t_{-1})$, $X_{-1}(\Delta t)$ e $F(t_{-1})$ não são conhecidos. Neste caso, toma-se $X_0(\Delta t)$ uma amostra de uma distribuição gaussiana com média zero e variância (3.26) e a posição é encontrada a partir de (3.18):

$$\begin{aligned} x_1 &= x_0 + \frac{v(t_0)}{\gamma}(1 - e^{-\tau}) + \\ &+ \frac{F(t_0)}{m\gamma^2}(\tau - (1 - e^{-\tau})) + X_0(\Delta t). \end{aligned} \quad (3.35)$$

3.3 Validade do Modelo

O modelo realmente é superior ao modelo contínuo, como visto em [10]. Mas mesmo assim existem algumas limitações de qualidade, pois forças intermoleculares são aproximadas de forma grosseira, tendo em vista que o cálculo individual de cada força para todos os átomos do sistema seria um grande passo na qualidade dos resultados, ou seja, modelar o sistema via dinâmica molecular, que será apresentado no próximo capítulo. Mas existe um enorme gasto computacional da dinâmica molecular, e mesmo assim, obtém-se resultados para um curto espaço de

tempo no qual não é possível observar propriedades macroscópicas. Portanto o modelo proposto no capítulo 5 pode ser uma alternativa para esse problema, o qual visa combinar eficiência computacional com qualidade numérica.

Também deve ser levado em conta que podem existir correlações entre R e a força sistemática F , que é desprezado no presente tratamento de acordo com (3.8).

4 DINÂMICA MOLECULAR

O comportamento microscópico de átomos e moléculas é descrito pela mecânica quântica. Porém, sabe-se que o fenômeno do transporte de íons por canais iônicos de potássio não envolve reações químicas, e devido à escala de energia envolvida no fenômeno, é possível obter uma descrição aproximada através do formalismo da mecânica clássica. Na dinâmica molecular clássica o movimento dos átomos é governado pelas equações de Hamilton. Assim, em um sistema com N átomos, o movimento do i -ésimo é dado por

$$\frac{dp_i}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial r_i}, \quad (4.1)$$

$$\frac{dr_i}{dt} = \frac{\partial H}{\partial p_i}, \quad (4.2)$$

onde p_i é o momento, r_i a posição e H é a função hamiltoniana:

$$H(p_1, \dots, p_{3N}, r_1, \dots, r_{3N}) = \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i^2}{2m_i} + U(\{r_i\}_{i=1}^{3N}), \quad (4.3)$$

sendo os dois termos do lado direito de (4.3) a energia cinética e potencial, respectivamente. O termo $U(\{r_i\}_{i=1}^{3N})$ pode envolver desde a interação de um átomo com um campo externo até potenciais de muitos corpos. Como veremos adiante, do ponto de vista computacional, as interações de longo alcance entre dois corpos são as mais custosas. Assim, se houverem n átomos livres será necessário realizar $O(n^2)$ operações. Por outro lado, a contribuição devida a átomos ligados quimicamente pode envolver potenciais de dois ou mais corpos, porém o seu caráter é sempre local.

Portanto, a partir de (4.1) e (4.2), obtém-se a descrição do movimento da i -ésima partícula:

$$m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} = F_i, \quad i = 1, \dots, 3N, \quad (4.4)$$

onde $\frac{d^2 r_i}{dt^2}$ é a aceleração e F_i

$$F_i = -\frac{\partial U}{\partial r_i} \quad (4.5)$$

é a força resultante sofrida pelo i -ésimo átomo.

As equações (4.4) são resolvidas simultaneamente usando integração numérica, com passo de tempo na ordem de picossegundos. Mas para resolver o problema é necessário fornecer condições iniciais para posição e velocidade dos íons, ou seja, é necessário conhecer a estrutura tridimensional da proteína do canal de potássio. Até 1998, o desconhecimento das estruturas tridimensionais detalhadas para esses canais impediram a sua simulação por métodos da dinâmica molecular clássica. Mas a partir de 1998, Roderick Mackinnon e colaboradores ([23]) desenvolveram um método para cristalização das proteínas dos canais iônicos de potássio que permite o conhecimento de sua estrutura tridimensional a partir da refração por raio-X. Desde então têm sido regularmente publicadas as estruturas tridimensionais de canais iônicos. Em uma pesquisa recente no sítio www.pdb.org, sobre canais iônicos de potássio, revela a existência de 168 estruturas catalogadas, que foram obtida de diferentes organismos, variando alguns diferentes tipos de proteína.

4.1 Campo de Força

A energia potencial U é obtida a partir de várias contribuições, tais como o potencial de Lennard-Jones obtido a partir de dois corpos, potencial de Coulomb entre dois corpos eletricamente carregados e os potenciais relacionados às ligações químicas que agem em dois ou mais corpos. Átomos que estão quimicamente ligados possuem interações que mantêm os ângulos formados entre as ligações e distâncias entre os átomos dentro de determinados intervalos. Essas interações dão origem a forças que determinam a estrutura espacial das moléculas, bem como sua rigidez. Por outro lado, no caso em que os átomos não estão quimicamente ligados, a força entre eles resulta da contribuição eletrostática e das forças de van der Waals ou forças intermoleculares. A contribuição eletrostática é calculada através dos potenciais de Coulomb e a contribuição de van der Waals é aproximada pelo potencial

de Lennard-Jones. Inicialmente serão tratadas interações entre átomos não ligados, começando pelo potencial de Coulomb.

Para interações entre átomos ou moléculas que estão carregadas, o potencial de Coulomb U_C é empregado

$$U_C = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_1 q_2}{\epsilon_r r}, \quad (4.6)$$

onde q_1 e q_2 são as cargas das partículas em questão, r é a distância entre elas, ϵ_r a constante dielétrica relativa do meio e ϵ_0 a constante dielétrica do vácuo.

O potencial de Lennard-Jones representa uma aproximação isotrópica para o potencial que gera as forças intermoleculares. Uma das contribuições para esse potencial é a força de van der Waals, que geralmente se apresenta em três maneiras. A primeira delas são as interações de *Keesom* entre moléculas dipolares. O potencial para esse tipo de interação é dado por

$$w(r) = -\frac{u_1^2 u_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k_B T r^6}, \quad (4.7)$$

onde u_1 e u_2 são os momentos de dipolos elétricos de cada molécula, r a distância entre elas, T a temperatura absoluta, ϵ_0 a constante dielétrica do vácuo e k_B constante de Boltzmann. A segunda, são as interações de *Debye* entre moléculas dipolar - não dipolar. O potencial para esse tipo de interação é dado por

$$w(r) = -\frac{u^2 \alpha}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}, \quad (4.8)$$

onde u é o momento de dipolo elétrico e α a polarizabilidade elétrica da molécula. A terceira e mais importante contribuição para as forças de van der Walls é a força de London ou força de dispersão de London. Essa força está sempre presente, ao contrário das outras, que podem aparecer ou não dependendo das propriedades das partículas. Ela tem um importante papel em fenômenos como adesão, tensão na superfície, adsorção física, propriedades dos gases e líquidos e transparência, a rigidez dos sólidos, a floculação de partículas em líquidos e a estrutura de macromoléculas condensadas tais como proteínas e polímeros ([15]). Suas principais características são:

1. Forças de longo alcance, podendo influenciar átomos a uma distância maior que 10nm, que é grande comparada com o espaçamento entre átomos (aproximadamente 2nm);
2. Essas forças podem ser atrativas ou repulsivas e, em geral, as forças de dispersão entre duas moléculas ou partículas grandes não seguem um simples lei de potência, como (4.7) e (4.8). Mas no caso de interações entre moléculas menores, como a água, essa força pode ser aproximada por uma forma proporcional a sexta potência inversa da distância..
3. Forças de Dispersão não somente mantém moléculas juntas, como também tendem a alinhá-las ou orientá-las, embora esse efeito de orientação seja usualmente fraco;
4. A interação de dispersão de dois corpos é afetada pela presença de outros corpos na vizinhança. Isto é conhecido como a não aditividade de uma interação.

O potencial nesse caso é dado pela expressão de London, que para dois átomos ou moléculas idênticas é

$$w(r) = -\frac{3}{4} \frac{\alpha_0^2 h \nu}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6} \quad (4.9)$$

e para átomos ou moléculas diferentes

$$w(r) = -\frac{3}{2} \frac{\alpha_{01}\alpha_{02}}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6} \frac{h\nu_1\nu_2}{\nu_1 + \nu_2}, \quad (4.10)$$

onde h é a constante de Planck, ν , ν_1 e ν_2 são freqüências de absorção eletrônica (ionização) de cada átomo e α_0 , α_{01} e α_{02} são as polarizabilidades elétricas das moléculas ([15]).

A forma completa do potencial intermolecular é obtida somando as contribuições atrativas e repulsivas. A contribuição repulsiva possui origem quântica, na forma do princípio da exclusão de Pauli para os elétrons presentes nas camadas externas dos átomos. Não há uma forma exata para essa contribuição, mas em geral utiliza-se um termo na forma r^{-n} , com $n \geq 9$, ou seja, em pequenas distâncias as

forças repulsivas são mais intensas que as atrativas impedindo que os átomos fiquem muito próximos e em distâncias maiores as atrativas são mais intensas. Historicamente e por simplicidade é comum utilizar $n = 12$, pois é o quadrado do termo atrativo ([15], [28] e [9]). Assim todas essas contribuições são unificadas no potencial de Lennard-Jones U_{LJ} que é dado por

$$U_{LJ} = 4\epsilon[(\zeta/r)^{12} - (\zeta/r)^6], \quad (4.11)$$

onde ϵ é o valor do potencial em seu mínimo ($r_{min} = 2^{1/6}\zeta$), ζ é a posição onde ele se anula e r a distância entre os átomos. Essa expressão é amplamente usada devido à sua simplicidade e ao fato de que seu perfil é qualitativamente correto ([26]).

As expressões para interação entre átomos ligados não são desenvolvidas a partir de primeiros princípios. Todas as expressões são fenomenológicas e as constantes são tabeladas na literatura. Inicialmente é considerado o potencial harmônico de dois corpos U devido ao deslocamento radial r em relação à posição de equilíbrio r_0 entre eles

$$U(r) = \frac{1}{2}K_r(r - r_0)^2, \quad (4.12)$$

onde a constante K_r está associada ao par de átomos. Pode-se notar que tal potencial é derivado da lei de Hooke para deformação de molas.

O potencial de três corpos envolve três átomos e duas ligações e consiste também em um potencial harmônico onde o argumento do mesmo é o ângulo entre as ligações:

$$U(\theta) = \frac{1}{2}K_\theta(\theta - \theta^0)^2, \quad (4.13)$$

onde a constante K_θ está associada aos átomos em questão e

$$\theta = \arccos \left[\frac{(\vec{r}_{ij} \cdot \vec{r}_{kj})}{|\vec{r}_{ij}| |\vec{r}_{kj}|} \right], \quad (4.14)$$

onde $\vec{r}_{ij} = \vec{r}_j - \vec{r}_i$, como visto na figura 4.1. As forças em cada um dos três átomos (i, j e k) nesse caso são

$$\vec{F}_i = -\nabla U(\theta) \quad , \quad \vec{F}_j = -\vec{F}_i - \vec{F}_k \quad e \quad \vec{F}_k = -\nabla U(\theta). \quad (4.15)$$

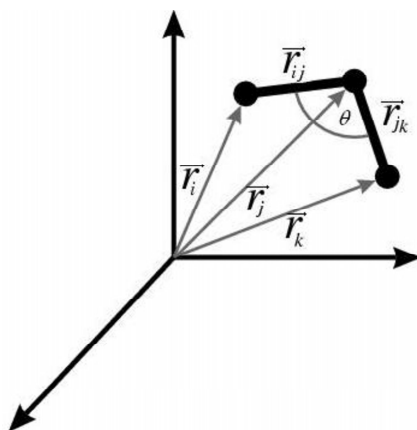


Figura 4.1: *Potencial de três corpos, que está associado ao ângulo θ formado por eles.*

Quando quatro átomos estão quimicamente ligados entre si, existem potenciais associados as formas diedrais. Os potenciais estão associados a ângulos formados pelos planos, que são determinados pelos átomos três a três. Dependendo da convenção, deve-se ter o cuidado de incluir potenciais de Lennard-Jones para os átomos que não estão diretamente ligados quimicamente entre si, mesmo pertencendo a uma mesma molécula, exceto moléculas com dois átomos apenas cujo potencial normalmente é todo ajustado na constante K . Diversas aproximações para potenciais relacionados a diferentes estruturas tridimensionais das moléculas podem ser calculadas ([28] e [29]).

Uma preocupação para o cálculo dos potenciais é o custo computacional, como já mencionado anteriormente. Como as interações de longo alcance são as mais custosas, existe a necessidade de uma simplificação nos cálculos. No caso das interações calculadas via Lennard-Jones, o truncamento dos potenciais pode ser inserido a partir de uma certa distância suficientemente grande, ou seja, introduzindo um raio de corte. Isso pode ser feito de duas formas, sendo uma descontínua, que simplesmente não calcula os potenciais para distâncias maiores que o raio de corte, ou suave, que introduz uma função suavizadora para zerar o potencial. Para as interações de Coulomb o corte é justificado fisicamente, pois a distribuição das moléculas de água em torno de um íon causam o efeito conhecido como blindagem de

Debye ([16]) (na literatura inglesa "Debye screening"), no qual o potencial eletrostático do íon somado aos das moléculas de água ao seu redor cai exponencialmente rápido:

$$U_C = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_1 q_2}{\epsilon_r r} e^{-\frac{r}{D}}, \quad (4.16)$$

onde D é a distância de Debye,

$$D = \frac{1}{e} \sqrt{\frac{\epsilon\epsilon_0 k_B T}{2N_A I}}, \quad (4.17)$$

onde k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura da solução, e é a carga elétrica do elétron, N_A é o número de Avogadro e I é a força iônica, definida como

$$I = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^N m_j q_j^2, \quad (4.18)$$

onde m_j é a molalidade da j -ésima espécie de íon e q_j a sua carga medida como múltiplo inteiro da carga do elétron. Portanto é usual utilizar uma distância de corte a partir da qual o íon não mais interage eletrostaticamente com outras cargas.

Vários bancos de dados com informações sobre o campo de força agindo sobre diversas combinações de átomos podem ser aplicados para simular dinâmica molecular. Entre eles podemos citar OPLS (Optimized Potential for Liquid Simulations), desenvolvido nas Universidades de Purdue e Yale, GROMOS (GRONingen MOlecular Simulation program library), desenvolvido na Universidade de Groningen e CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) desenvolvido em Harvard. Os dados fornecidos pelos bancos de dados têm o cuidado de diferenciar ligações em diversas situações, por exemplo, uma ligação entre carbono e oxigênio presentes na proteína não tem as mesmas constantes de força para uma ligação entre os mesmos átomos ligados em um lipídio. Por causa das diferentes constantes para átomos em diferentes combinações, existe uma infinidade de informações sobre os campos de força embutidos em GROMOS, OPLS, CHARMM e etc.

4.2 Métodos de Integração Numérica

A função H do sistema (4.1)-(4.2) é definida em termos das contribuições de energia cinética e potencial. Assim, é fisicamente mais consistente que os métodos de integração numérica para o problema que levem em conta a conservação de energia total. Alguns métodos conhecidos, como Runge-Kutta, não possuem essa propriedade, e mesmo tendo erro de truncamento de alta ordem não conseguem manter a energia total próxima da iniciada no sistema. A comparação entre métodos simpléticos e métodos de Runge-Kutta encontra-se no trabalho de Candy & Rozmus ([2]). Uma abordagem para obter métodos que mantêm a energia total conservada durante a simulação, chamados de métodos simpléticos, será brevemente discutida a seguir.

As equações de Hamilton são reescritas em uma forma mais resumida através do colchete de Poisson. Dadas duas funções $F(r_1, \dots, r_{3N}, p_1, \dots, p_{3N})$ e $G(r_1, \dots, r_{3N}, p_1, \dots, p_{3N})$, define-se

$$\{F, G\} = \sum_{i=1}^{3N} \left(\frac{\partial F}{\partial r_i} \frac{\partial G}{\partial p_i} - \frac{\partial F}{\partial p_i} \frac{\partial G}{\partial r_i} \right).$$

Introduzindo uma variável $\vec{z} \in \mathbb{R}^{6N}$, $\vec{z} = (r_1, \dots, r_{3N}, p_1, \dots, p_{3N})$, as equações de Hamilton (4.1)-(4.2) são dadas na nova variável como

$$\dot{\vec{z}} = \{\vec{z}, H(\vec{z})\}, \quad (4.19)$$

onde $H(\vec{z}) = T(\vec{z}) + U(\vec{z})$, quando $T(\vec{z}) = \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i^2}{2m_i}$ e $U(\vec{z}) = U(\{r_i\}_{i=1}^{3N})$ são as energias cinética e potencial, respectivamente. Ou seja,

$$\begin{aligned} (\dot{r}_1, \dots, \dot{r}_{3N}, \dot{p}_1, \dots, \dot{p}_{3N}) &= \sum_{i=1}^{3N} \left(\frac{\partial \vec{z}}{\partial r_i} \frac{\partial H}{\partial p_i} - \frac{\partial \vec{z}}{\partial p_i} \frac{\partial H}{\partial r_i} \right) \\ &= \sum_{i=1}^{3N} \left(\vec{\delta}_i \frac{p_i}{m_i} - \vec{\delta}_{3N+i} \frac{\partial U}{\partial r_i} \right) \\ &= \left(\frac{p_1}{m_1}, \dots, \frac{p_{3N}}{m_{3N}}, -\frac{\partial U}{\partial r_1}, \dots, -\frac{\partial U}{\partial r_{3N}} \right), \end{aligned} \quad (4.20)$$

onde $\vec{\delta}_k \in \mathbb{R}^{6N}$ é um vetor com a unidade posicionada na k -ésima coordenada e zero nas demais, $\vec{\delta}_k = (0, 0, \dots, 1, \dots, 0, 0)$, $\vec{\delta}_k \cdot \vec{z} = r_k$, $\vec{\delta}_{3N+k} \cdot \vec{z} = p_k$.

Definindo um operador diferencial D_H , $D_{H\cdot} = \{\cdot, H\}$, (4.19) é reescrita como

$$\dot{z} = D_H z, \quad (4.21)$$

sendo a sua solução formal

$$z(\tau) = [e^{\tau D_H}]z(0). \quad (4.22)$$

Devido a linearidade dos colchetes de Poisson, o operador diferencial D_H pode ser separado na soma de dois operadores,

$$D_H = D_{T+U} = D_T + D_U \quad (4.23)$$

levando (4.22) a

$$z(\tau) = [e^{\tau(D_T+D_U)}]z(0), \quad (4.24)$$

não obstante que $e^{\tau D_T}$ e $e^{\tau D_U}$ não são comutáveis, ou seja, $e^{\tau D_T} e^{\tau D_U} \neq e^{\tau D_U} e^{\tau D_T}$.

Observa-se que $e^{\tau D_T} = e^{\tau \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i}{m_i} \frac{\partial}{\partial r_i}}$ é um semi-grupo de translações de dimensão finita [33], ou seja, vale a propriedade

$$e^{a \frac{\partial}{\partial x}} f(x) = \left(1 + a \frac{\partial}{\partial x} + \frac{a^2}{2} \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \dots \right) f(x) = f(x + a).$$

Assim, o mapeamento $z_1(\tau) = e^{\tau \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i}{m_i} \frac{\partial}{\partial r_i}} z(0)$ se reduz a

$$\begin{aligned} r_i(\tau) &= r_i(0) + \frac{p_i}{m_i} \tau, \\ p_i(\tau) &= p_i(0), \quad i = 1, \dots, 3N. \end{aligned} \quad (4.25)$$

Analogamente, $z_2(\tau) = e^{\tau \sum_{i=1}^{3N} -\frac{\partial U}{\partial r_i} \frac{\partial}{\partial p_i}} z(0)$ equivale a

$$\begin{aligned} r_i(\tau) &= r_i(0), \\ p_i(\tau) &= p_i(0) - \frac{\partial U}{\partial r_i} \tau, \quad i = 1, \dots, 3N. \end{aligned} \quad (4.26)$$

A motivação do método é reescrever o operador $e^{\tau(D_T+D_U)}$ em termos de produtos dos operadores $e^{\tau D_T}$ e $e^{\tau D_U}$, em particular, determinar as constantes c_1, c_2, \dots, c_k e d_1, d_2, \dots, d_k tais que

$$e^{\tau(D_T+D_U)} = \prod_{j=1}^k e^{c_j \tau D_T} e^{d_j \tau D_U} + O(\tau^{n+1}), \quad (4.27)$$

para algum n . Como as evoluções através de $e^{\tau D_T}$ e $e^{\tau D_U}$ são simpléticas, a ação do operador $\prod_{j=1}^k e^{\tau c_j D_T} e^{\tau d_j D_U}$ é equivalente à de uma hamiltoniana perturbada, com a vantagem de que a diferença de energia entre o sistema original e o perturbado ser mantida. Os coeficientes são calculados realizando a expansão dos dois lados de (4.27) até a ordem desejada, no caso tratado, até ordem $O(\tau^3)$:

$$\begin{aligned} & 1 + \tau(D_T + D_U) + \frac{\tau^2}{2}(D_T + D_U)(D_T + D_U) + O(\tau^3) = \\ & = \left(1 + \tau c_1 D_T + \frac{\tau^2}{2} c_1^2 D_T^2 + O(\tau^3)\right) \left(1 + \tau d_1 D_U + \frac{\tau^2}{2} d_1^2 D_U^2 + O(\tau^3)\right) \times \\ & \times \left(1 + \tau c_2 D_T + \frac{\tau^2}{2} c_2^2 D_T^2 + O(\tau^3)\right) \left(1 + \tau d_2 D_U + \frac{\tau^2}{2} d_2^2 D_U^2 + O(\tau^3)\right) \end{aligned}$$

ou seja,

$$\begin{aligned} & 1 + \tau(D_T + D_U) + \frac{\tau^2}{2}(D_T^2 + D_U^2 + D_U D_T + D_T D_U) + O(\tau^3) = \\ & = 1 + \tau[(c_1 + c_2)D_T + (d_1 + d_2)D_U] + \frac{\tau^2}{2}[(c_1^2 + 2c_1 c_2 + c_2^2)D_T^2 + (d_1^2 + \\ & + 2d_1 d_2 + d_2^2)D_U^2 + 2(c_1 d_1 + c_1 d_2 + c_2 d_2)D_T D_U + 2c_2 d_1 D_U D_T] + O(\tau^3). \end{aligned}$$

Igualando os coeficientes de cada lado, obtém-se o seguinte sistema algébrico:

$$\begin{aligned} c_1 + c_2 &= 1 \\ d_1 + d_2 &= 1 \\ 2(c_1 d_1 + c_1 d_2 + c_2 d_2) &= 1 \\ 2c_2 d_1 &= 1 \end{aligned} \tag{4.28}$$

sendo sua solução

$$c_1 = 1 - \frac{1}{2(1-d_2)}, \quad c_2 = \frac{1}{2(1-d_2)}, \quad d_1 = 1 - d_2. \tag{4.29}$$

Existem duas escolhas naturais que reduzem o número de operações:

$$c_1 = c_2 = \frac{1}{2}, \quad d_1 = 1, \quad d_2 = 0, \tag{4.30}$$

e

$$d_1 = d_2 = \frac{1}{2}, \quad c_1 = 0, \quad c_2 = 1 \tag{4.31}$$

A solução (4.30) resulta na igualdade $e^{\tau(D_T+D_U)} = e^{\frac{\tau}{2}D_T}e^{\tau D_U}e^{\frac{\tau}{2}D_T} + O(\tau^3)$, que a partir de (4.25) e (4.26) leva a seguinte seqüência de operações:

$$\begin{aligned}
& (r_i(t), p_i(t)) \\
& \quad \downarrow e^{\frac{\tau}{2}D_T} \\
& \quad (r_i(t) + \frac{p_i(t)\tau}{m_i}, p_i(t)) \\
& \quad \quad \downarrow e^{\tau D_U} \\
& \quad (r_i(t) + \frac{p_i(t)\tau}{m_i}, p_i(t) + \tau F(r_i(t + \tau/2))) \\
& \quad \quad \downarrow e^{\frac{\tau}{2}D_T} \\
& (r_i(t) + \frac{(p_i(t) + p_i(t + \tau))\tau}{m_i}, p_i(t) + \tau F(r_i(t + \tau/2))) = (r_i(t + \tau), p_i(t + \tau))
\end{aligned}$$

Portanto, considerando um passo de tempo $\tau = \Delta t$, obtém-se o algoritmo de Verlet da velocidade,

$$v_i(t + \Delta t/2) = v_i(t) + \frac{\Delta t}{2}a_i(t), \quad (4.32)$$

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + \Delta t v_i(t + \Delta t/2), \quad (4.33)$$

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t + \Delta t/2) + \frac{\Delta t}{2}a_i(t + \Delta t), \quad (4.34)$$

onde $a_i(t) = \frac{F(r_i(t))}{m_i}$. Similarmente, da solução (4.31) deriva-se o algoritmo de Verlet da posição,

$$r_i(t + \Delta t/2) = r_i(t) + \frac{\Delta t}{2}v_i(t), \quad (4.35)$$

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) + \Delta t a_i(t + \Delta t/2), \quad (4.36)$$

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t + \Delta t/2) + \frac{\Delta t}{2}v_i(t + \Delta t). \quad (4.37)$$

Um método de integração simplético alternativo é o algoritmo leap-frog, que é obtido dos algoritmos Verlet da posição e da velocidade. No algoritmo de Verlet da velocidade, a posição é calculada apenas conhecendo-se a velocidade meio passo de tempo antes. Já no algoritmo de Verlet da posição a velocidade é calculada sabendo-se a posição meio passo de tempo antes. Ou seja, se a posição e a

velocidade forem colocadas intercaladas, sendo sempre na distância de meio passo de tempo, essas duas expressões são suficientes para atualizar a posição e a velocidade,

$$v_i(t + \frac{\Delta t}{2}) = v_i(t - \Delta t/2) + a_i(t)\Delta t, \quad (4.38)$$

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i(t + \Delta t/2)\Delta t, \quad (4.39)$$

que opera segundo a ilustração da figura 4.2.

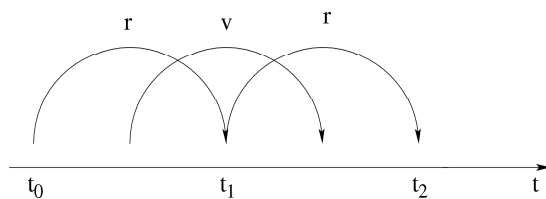


Figura 4.2: O Método de Integração leap-frog. O Algoritmo tem esse nome porque a posição r e a velocidade v são calculadas em instantes diferentes a cada passo de tempo, como se fosse um pulo, uma por cima da outra.

Métodos de integração simpléticos de várias ordens são derivados em [32]. Mas os métodos de maior interesse para o propósito de dinâmica molecular são aqueles que reduzem o número de operações, visando eficiência computacional, com uma ordem no erro de truncamento aceitável, que usualmente é $O(\tau^3)$, como os métodos de Verlet e leap-frog. Não se ganha muito em aumentar a ordem de truncamento do método de integração, já que aproximações mais grosseiras foram feitas no campo de força.

Os métodos numéricos necessitam das condições iniciais para iniciar a simulação. Se a operação começa em $t = t_0$, a posição r_i de cada átomo deve ser conhecida no tempo $t = t_0$ e sua velocidade no tempo $t = t_0$ para algoritmos de Verlet ou no tempo $t = t_0 + \Delta t/2$ para algoritmo de leap-frog. Caso as velocidades não estejam disponíveis, elas podem ser obtidas de uma distribuição maxwelliana em uma dada temperatura absoluta T ,

$$\mathcal{P} = \sqrt{\frac{m_i}{2\pi k_B T}} e^{-\frac{m_i v_i^2}{2k_B T}} \quad i = 1, 2, \dots, 3N, \quad (4.40)$$

onde k_B é a constante de Boltzmann.

4.3 Acoplamentos para um Banho Externo

As equações de dinâmica molecular clássica que abordamos permitem a princípio descrever o comportamento microscópico de sistemas conservativos, ou seja, a dinâmica de N corpos dada pelas equações de Hamilton preservam a hamiltoniana (energia) do sistema. Porém, ao se levar em consideração o caráter dos sistemas biológicos seria mais natural que a dinâmica preservasse variáveis macroscópicas como a temperatura ou a pressão do sistema.

A temperatura para sistemas macroscópicos é definida pelo teorema da equi-partição de energia (válido para ensembles da mecânica estatística ou sistemas ergódicos). Cada termo quadrático presente na hamiltoniana contribui com uma fração $\frac{1}{2}k_B T$ para a energia total. Assim, os termos na forma $\frac{\vec{p}_i^2}{2m}$ contribuem com uma fração $\frac{3}{2}k_B T$ para a energia cinética. Portanto, se houverem N partículas, a energia cinética total é igual a $\frac{3N}{2}k_B T$, sendo que o fator 3 aparece devido à dimensionalidade física do sistema, pois cada partícula contribui nas direções x , y e z .

A pressão, por sua vez, é definida a partir do teorema virial, que define um tensor entre as partículas:

$$\tau_{\alpha\beta} = \frac{1}{V} \sum_{k=1}^N \left(-m_k (\vec{v}_k)_\alpha (\vec{v}_k)_\beta + \frac{1}{2} \sum_{l=1}^N (\vec{r}_l - \vec{r}_k)_\alpha (\vec{F}_{kl})_\beta \right), \quad (4.41)$$

onde V é o volume, $(\vec{F}_{kl})_\alpha$ é a α -ésima componente da força entre as k -ésima e a l -ésima partícula, $(\vec{v}_k)_\alpha$ é a α -ésima componente da velocidade da k -ésima partícula.

4.3.1 Termostato de Berendsen

O algoritmo conhecido como termostato de Berendsen é uma das possíveis implementações do acoplamento do sistema a um banho térmico, que consiste em um reservatório de energia de dimensões muito superiores a do sistema, estendido de modo que as trocas de energia não alteram a sua temperatura. O acoplamento com esse banho externo é realizado através da inclusão de um coeficiente γ_i e uma

função $H_i(t)$ nas equações do movimento, cujo papel consiste em promover troca de energia cinética entre o sistema e o reservatório (banho):

$$m_i \dot{v}_i = F_i(t) - m_i \gamma_i v_i(t) + H_i(t). \quad (4.42)$$

A variação da energia cinética E_c é

$$\frac{dE_c}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \left[\left\{ \sum_{i=1}^{3N} \frac{1}{2} m_i v_i^2(t + \Delta t) - \sum_{i=1}^{3N} \frac{1}{2} m_i v_i^2(t) \right\} / \Delta t \right] \quad (4.43)$$

quando N é o número de partículas. De acordo com a nova equação do movimento (4.42), a variação de velocidade é

$$\Delta v_i = v_i(t + \Delta t) - v_i(t) = \frac{1}{m_i} \int_t^{t+\Delta t} [F_i(t') - m_i \gamma_i v_i(t') + H_i(t')] dt', \quad (4.44)$$

de onde vem

$$v_i^2(t + \Delta t) - v_i^2(t) = \frac{1}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} [F_i(t') - m_i \gamma_i v_i(t') + H_i(t')] [F_i(t'') - m_i \gamma_i v_i(t'') - m_i \gamma_i v_i(t'') + H_i(t'')] dt' dt'' + 2v_i(t + \Delta t)v_i(t) - 2v_i^2(t). \quad (4.45)$$

Reorganizando os termos obtém-se

$$\begin{aligned} v_i^2(t + \Delta t) - v_i^2(t) = & \frac{1}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} [F_i(t') - m_i \gamma_i v_i(t')] [F_i(t'') - m_i \gamma_i v_i(t'')] dt' dt'' + \\ & + \frac{1}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} [F_i(t') - m_i \gamma_i v_i(t')] H_i(t'') dt' dt'' + \\ & + \frac{1}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} [F_i(t'') - m_i \gamma_i v_i(t'')] H_i(t') dt' dt'' + \\ & + \frac{1}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} H_i(t') H_i(t'') dt' dt'' + 2v_i(t) \{v_i(t) + \\ & + \frac{1}{m_i} \int_t^{t+\Delta t} [-m_i \gamma_i v_i(t') + H_i(t') + F_i(t')] dt'\} - 2v_i^2(t). \quad (4.46) \end{aligned}$$

Resolvendo a primeira integral pela regra dos trapézios, obtém-se termos da ordem $O(\Delta t^2)$, ou seja,

$$\begin{aligned} v_i^2(t + \Delta t) - v_i^2(t) = & \frac{[F_i(t) - m_i \gamma_i v_i(t)] \Delta t}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} H_i(t'') dt'' + \\ & + \frac{[F_i(t) - m_i \gamma_i v_i(t)] \Delta t}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} H_i(t') dt' + \\ & + \frac{1}{m_i^2} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} H_i(t') H_i(t'') dt' dt'' - 2\Delta t \gamma_i v_i^2(t) + \\ & + \frac{v_i(t)}{m_i} \int_t^{t+\Delta t} H_i(t') dt' + \frac{v_i F_i(t') \Delta t}{m_i} + O(\Delta t^2). \quad (4.47) \end{aligned}$$

A função $H_i(t)$ é um termo estocástico, enquanto γ_i é um termo de fricção. A seguinte relação entre eles é considerada:

$$\langle H_i(t)H_j(t+\tau) \rangle = 2m_i\gamma_i k_B T_0 \delta(\tau)\delta_{ij}. \quad (4.48)$$

Em termos das médias no tempo, o procedimento de Berendsen [1] equivale a atribuir à variável aleatória os seguintes limites que são análogos às médias no ensemble dados na expressão (4.48),

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{1}{\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} H_i(\tau) d\tau = 0 \quad (4.49)$$

e

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{1}{\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} \int_t^{t+\Delta t} H_i(t')H_i(t'') dt' dt'' = 2m_i\gamma_i k_B T_0, \quad (4.50)$$

que leva à expressão (4.43), usando (4.47), (4.49) e (4.50) em

$$\frac{dE_c}{dt} = \sum_{i=1}^{3N} v_i F_i + 2\gamma_i \left(\frac{3N}{2} k_B T_0 - E_c \right), \quad (4.51)$$

onde o primeiro termo é a contribuição da energia potencial e o segundo vem do banho externo. Do teorema da equi-partição de energia, reescreve-se (4.51) em termos da temperatura do banho,

$$\frac{dT}{dt} = \frac{T_0 - T}{\tau}, \quad (4.52)$$

onde τ é uma constante temporal, $\tau = (2\gamma)^{-1}$.

A equação do movimento acoplada com a temperatura tem a seguinte forma:

$$m_i \dot{v}_i = F_i + m_i \gamma_i \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) v_i, \quad (4.53)$$

pois a derivada da energia cinética tem que equivaler à equação (4.51) quando se substitui em (4.53),

$$\frac{dE_c}{dt} = \sum_{i=1}^{3N} m_i v_i \dot{v}_i = \sum_{i=1}^{3N} v_i F_i + 3N \gamma_i k_B (T_0 - T). \quad (4.54)$$

Portanto, a equação do movimento modificada (4.53) equivale a multiplicar as velocidades em (4.42) por um fator λ ,

$$\lambda = \left[1 + \frac{\Delta t}{\tau_T} \left\{ \frac{T_0}{T(t - \frac{\Delta t}{2})} - 1 \right\} \right]^{1/2} \quad (4.55)$$

com

$$\tau_T = \frac{N_{gl} k_B T}{2C_V}, \quad (4.56)$$

onde C_V é a de capacidade calorífica do sistema e N_{gl} é o número de graus de liberdade. Observa-se que λ está próximo de 1, tornando consistente a substituição da velocidade v obtida pela integração numérica por λv para corrigir a temperatura.

4.3.2 Termostato de Nosé-Hoover

O algoritmo proposto por Nosé e modificado por Hoover ([13]) é propor uma função hamiltoniana para (4.1) e (4.2), incluindo uma variável adicional s , seu momento conjugado p_s e um parâmetro Q , que inclui um potencial adicional,

$$H(p_1, \dots, p_{3N}, r_1, \dots, r_{3N}) = \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i^2}{2m_i s^2} + U(\{r_i\}_{i=1}^{3N}) + (N_{gl} + 1)k_B T \ln s + \frac{p_s^2}{2Q}, \quad (4.57)$$

onde o sistema com N_{gl} graus de liberdade é acoplado com o banho externo (descrito pelas variáveis s e p_s). Portanto as equações do movimento para o hamiltoniano de Nosé são:

$$\dot{r} = \frac{p}{m s^2}, \quad (4.58)$$

$$\dot{p} = F(r), \quad (4.59)$$

$$\dot{s} = \frac{p_s}{Q}, \quad (4.60)$$

$$\dot{p}_s = \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i^2}{m s^3} - \frac{(N_{gl} + 1)k_B T}{s}. \quad (4.61)$$

Para simplificar, redefinimos a escala de tempo fazendo $dt = s dt_{\text{nov}}:$ obtendo

$$\dot{r} = \frac{p}{m s}, \quad (4.62)$$

$$\dot{p} = s F(r), \quad (4.63)$$

$$\dot{s} = \frac{s p_s}{Q}, \quad (4.64)$$

$$\dot{p}_s = \sum_{i=1}^{3N} \frac{p_i^2}{m s^2} - (N_{gl} + 1)k_B T. \quad (4.65)$$

Para eliminar a variável s , procede-se da seguinte forma:

$$\ddot{r} = \frac{\dot{p}}{ms} - \frac{p}{ms} \frac{\dot{s}}{s} = \frac{F(r)}{m} - \xi \dot{r} \quad (4.66)$$

onde o coeficiente de fricção termodinâmico $\xi = \frac{ps}{Q}$ é governado pela equação:

$$\frac{d\xi}{dt} = \frac{\dot{p}_s}{Q} = \frac{\sum mr^2 - (N_{gl} + 1)k_B T}{Q}, \quad (4.67)$$

onde Q é uma constante usualmente chamada de parâmetro de massa do reservatório.

4.3.3 Barostato de Berendsen

Entre os algoritmos para acoplar a pressão, o algoritmo de Berendsen controla a relaxação da pressão em relação a uma determinada pressão constante P_0 :

$$\frac{dP}{dt} = \frac{P_0 - P}{\tau_p}, \quad (4.68)$$

onde τ_p é uma constante. A pressão é dada por

$$P = \frac{2}{3V}(E_c - \Xi), \quad (4.69)$$

quando Ξ é a virial interna para o potencial de pares aditivos,

$$\Xi = -\frac{1}{2} \sum \vec{r}_{ij} \cdot \vec{F}_{ij} \quad (4.70)$$

onde $\vec{r}_{ij} = \vec{r}_i - \vec{r}_j$ e \vec{F}_{ij} é a força em uma partícula i devido a uma partícula j . Como a pressão está associada à posição dos átomos e o volume ocupado por eles, um termo extra à equação do movimento $\dot{r} = v$ é adicionado,

$$\dot{r} = v + \alpha r, \quad (4.71)$$

e o volume varia da seguinte forma:

$$\dot{V} = 3\alpha V. \quad (4.72)$$

A variação da pressão é relacionada com a compressibilidade isotérmica β ,

$$\frac{dP}{dt} = -\frac{1}{\beta V} \frac{dV}{dt} = -\frac{3\alpha}{\beta} \quad (4.73)$$

que juntamente com (4.68) determina o valor de α ,

$$\alpha = -\frac{\beta}{3\tau_P}(P_0 - P). \quad (4.74)$$

Portanto, a equação modificada para o movimento é

$$\dot{r} = v - \frac{\beta}{3\tau_P}(P_0 - P)r. \quad (4.75)$$

Isto representa um reescalamento das posições. O valor de r é redefinido por μr ,

$$\mu = 1 - \frac{\beta\Delta t}{3\tau_P}(P_0 - P). \quad (4.76)$$

A expressão (4.76) é aplicada em um sistema isotrópico. No caso de um sistema anisotrópico, a pressão é dada por um tensor como (4.41) e a matriz μ é

$$\mu_{i,j} = \delta_{i,j} - \frac{\Delta t}{3\tau_P}\beta_{i,j}[P_{0,i,j} - P_{i,j}(t)]. \quad (4.77)$$

4.4 Algoritmos de Restrição

O potencial harmônico, utilizado na aproximação da interação entre átomos ligados quimicamente, possui uma constante de mola com valor muito superior ao de termos semelhantes presentes nas interações associadas a ângulos nos potenciais de três ou mais corpos (isso reflete a forte interação entre átomos ligados). Esses altos valores para a constante de mola se manifestam na forma de oscilações de alta frequência. Para evitar instabilidades numéricas associadas a essas oscilações é necessário, ao menos, diminuir significativamente o passo de integração. Uma outra alternativa é a remoção dessas oscilações obtidas através de vínculos que mantêm fixas as distâncias entre átomos quimicamente ligados. A introdução de vínculos tem um custo adicional, mas devido ao fato que o passo de tempo pode ser até quatro vezes maior ([11]), as simulações tornam-se computacionalmente mais eficientes.

Para o propósito presente, é mais conveniente escrever as equações do movimento em um sistema matricial

$$\frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} = \mathbf{M}^{-1}\mathbf{F}, \quad (4.78)$$

onde \mathbf{M} é uma matriz diagonal $3N \times 3N$ contendo as massas e \mathbf{F} o vetor campo de força de dimensão $3N$. O sistema com K restrições dependentes do tempo é representado por K equações algébricas, que devem ser acopladas a (4.78),

$$g_k(\mathbf{r}) = 0, \quad k = 1, 2, \dots, K. \quad (4.79)$$

O problema de resolver um sistema de equações diferenciais ordinárias-algébricas foi estudado inicialmente por Lagrange. Desde então, vários algoritmos foram criados para estabelecer vínculos em sistemas de dinâmica molecular, como algoritmos SHAKE ([27]), SETTLE([24]) e LINCS (Linear Constraint Solver, [11]). O algoritmo SHAKE é mais geral, sendo um método iterativo que se aplica a sistemas com moléculas arbitrariamente grandes e o algoritmo SETTLE é um método analítico mais adequado a sistemas com moléculas menores. Já o algoritmo LINCS, restringe apenas posições e sua limitação é o custo adicional de inverter uma matriz da ordem do número de restrições, que é feita com a expansão em série de potências de rápida convergência. Esse algoritmo será discutido a seguir.

A imposição de vínculos no sistema é feita de acordo com o princípio da mínima ação. Nesta aproximação, adiciona-se o termo nulo obtido de (4.79) ao potencial \mathbf{U} ,

$$-\mathbf{M} \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = \nabla (U(\mathbf{r}) - \lambda \cdot \mathbf{g}), \quad (4.80)$$

onde $\lambda = (\lambda_1, \dots, \lambda_K)$ é o vetor contendo os multiplicadores de Lagrange. Denotamos a matriz gradiente $K \times 3N$ que aparece do lado direito de (4.80) por \mathbf{B} ,

$$B_{ki} = \frac{\partial g_k}{\partial r_i}. \quad (4.81)$$

Assim, substituindo (4.81) em (4.80),

$$-\mathbf{M} \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} + \mathbf{B}^T \lambda + \mathbf{F} = \mathbf{0}, \quad (4.82)$$

onde $\mathbf{0}$ é a matriz nula. Para evidenciar λ em (4.82), multiplica-se o lado esquerdo por $\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}$, obtendo

$$-\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{M} \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} + \mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T \lambda + \mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F} = \mathbf{0}. \quad (4.83)$$

Tendo em vista que as equações de restrições (4.79) são nulas, então suas derivadas de primeira e segunda ordem também o serão, e assim usando a regra da cadeia

$$\frac{d\mathbf{g}}{dt} = \mathbf{B} \frac{d\mathbf{r}}{dt} = \mathbf{0}, \quad (4.84)$$

$$\frac{d^2\mathbf{g}}{dt^2} = \mathbf{B} \frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} + \frac{d\mathbf{B}}{dt} \frac{d\mathbf{r}}{dt} = \mathbf{0}. \quad (4.85)$$

De (4.85) em (4.83) obtém-se

$$\frac{d\mathbf{B}}{dt} \frac{d\mathbf{r}}{dt} + \mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T\lambda + \mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F} = \mathbf{0}. \quad (4.86)$$

Assim, as forças devido a restrição são

$$\mathbf{B}^T\lambda = -\mathbf{B}^T(\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T)^{-1}\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F} - \mathbf{B}^T(\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T)^{-1}\frac{d\mathbf{B}}{dt}\frac{d\mathbf{r}}{dt}. \quad (4.87)$$

Substituindo na equação (4.82) obtém-se a equação para o movimento restringida,

$$\frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} = (\mathbf{I} - \mathbf{T}\mathbf{B})\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F} - \mathbf{T}\frac{d\mathbf{B}}{dt}\frac{d\mathbf{r}}{dt}, \quad (4.88)$$

onde $\mathbf{T} = \mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T)^{-1}$. Aqui $\mathbf{I} - \mathbf{T}\mathbf{B}$ é uma matriz projeção que zera as coordenadas restringidas, $\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F}$ é um vetor de K posições das derivadas segundas do comprimento das ligações na direção das ligações, \mathbf{T} é uma matriz $3N \times K$ que transforma o movimento de coordenadas restringidas para coordenadas cartesianas sem variar a equação do movimento para coordenadas sem vínculos e o último termo representa uma força centrípeta causada pela rotação das ligações.

A equação (4.88) é integrada numericamente através do método(simplético) de leap-frog,

$$\begin{aligned} \frac{\mathbf{v}(t + \Delta t/2) - \mathbf{v}(t - \Delta t/2)}{\Delta t} &= [\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)]\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F}(t) - \\ &\quad - \mathbf{T}(t)\frac{\mathbf{B}(t) - \mathbf{B}(t - \Delta t)}{\Delta t}\mathbf{v}(t - \Delta t/2), \end{aligned} \quad (4.89)$$

$$\frac{\mathbf{r}(t + \Delta t) - \mathbf{r}(t)}{\Delta t} = \mathbf{v}(t + \Delta t/2). \quad (4.90)$$

Uma linearização do problema foi feita na discretização do último termo na equação (4.89). Se o termo $\mathbf{B}(t - \Delta t)\mathbf{v}(t - \Delta t/2)$ for zero na equação (4.89), então

$$\mathbf{v}(t + \Delta t/2) = [\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)][\mathbf{v}(t - \Delta t/2) + \Delta t\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F}(t)]. \quad (4.91)$$

Iterando uma vez (4.91), obtém-se $\mathbf{B}(t)\mathbf{v}(t + \Delta t/2) = \mathbf{0}$, pois $\mathbf{B}(t)\mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t) = \mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}(t)\mathbf{B}^T(t)[\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}(t)\mathbf{B}^T(t)]^{-1}\mathbf{B}(t) = \mathbf{B}(t)$ e então $\mathbf{B}(t)[\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)] = \mathbf{0}$. Segue que se $\mathbf{B}(0)\mathbf{v}(1/2) = \mathbf{0}$, então $\mathbf{B}(t)\mathbf{v}(t + \Delta t/2) = \mathbf{0} \forall t \in \{0, \Delta t, 2\Delta t, \dots\}$, sendo válida a equação (4.91). Portanto é conveniente ajustar as velocidades iniciais $\mathbf{v}(1/2)$ para satisfazer $\mathbf{B}(0)\mathbf{v}(1/2) = \mathbf{0}$ e obter a expressão mais simples (4.91).

A generalidade do problema não pode ser mantida devido a instabilidades numéricas. Portanto é necessário particularizar as restrições, sendo o mais natural fixar distâncias entre átomos,

$$g_k(\mathbf{r}) = |r_{k1} - r_{k2}| - d_k = \mathbf{0}, \quad k = 1, 2, \dots, K, \quad (4.92)$$

onde d_k é a distância fixa escolhida entre os átomos nas posições r_{k1} e r_{k2} . Para eficiência e estabilidade do algoritmo, um termo é adicionado em (4.91),

$$\begin{aligned} \mathbf{v}(t + \Delta t/2) = & [\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)][\mathbf{v}(t - \Delta t/2) + \Delta t\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F}(t)] - \\ & - \frac{1}{\Delta t}\mathbf{T}(t)[\mathbf{B}(t)\mathbf{r}(t) - \mathbf{d}]. \end{aligned} \quad (4.93)$$

Observa-se que em uma ligação k , os átomos nas posições \mathbf{r}_{k1} e \mathbf{r}_{k2} estão envolvidos sendo suas coordenadas $\mathbf{r}_{k1} = (r_{k1x}, r_{k1y}, r_{k1z})$ e $\mathbf{r}_{k2} = (r_{k2x}, r_{k2y}, r_{k2z})$. Então a cada restrição g_k a matriz \mathbf{B} tem seis termos na k -ésima linha,

$$\begin{aligned} \frac{\partial g_k}{\partial r_{k1x}} &= \frac{r_{k1x} - r_{k2x}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\ \frac{\partial g_k}{\partial r_{k2x}} &= -\frac{r_{k1x} - r_{k2x}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\ \frac{\partial g_k}{\partial r_{k1y}} &= \frac{r_{k1y} - r_{k2y}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\ \frac{\partial g_k}{\partial r_{k2y}} &= -\frac{r_{k1y} - r_{k2y}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\ \frac{\partial g_k}{\partial r_{k1z}} &= \frac{r_{k1z} - r_{k2z}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\ \frac{\partial g_k}{\partial r_{k2z}} &= -\frac{r_{k1z} - r_{k2z}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \end{aligned} \quad (4.94)$$

Segue que quando se multiplica \mathbf{B} por \mathbf{r} , o seguinte termo aparece na k -ésima posição:

$$\begin{aligned}
(\mathbf{B}\mathbf{r})_k &= r_{k1x} \frac{r_{k1x} - r_{k2x}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} - r_{k2x} \frac{r_{k1x} - r_{k2x}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} + r_{k1y} \frac{r_{k1y} - r_{k2y}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} - \\
&- r_{k2y} \frac{r_{k1y} - r_{k2y}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} + r_{k1z} \frac{r_{k1z} - r_{k2z}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} - r_{k2z} \frac{r_{k1z} - r_{k2z}}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\
&= \frac{(r_{k1x} - r_{k2x})^2}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} + \frac{(r_{k1y} - r_{k2y})^2}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} + \frac{(r_{k1z} - r_{k2z})^2}{|\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|} \\
&= |\mathbf{r}_{k1} - \mathbf{r}_{k2}|.
\end{aligned}$$

Portanto o termo adicionado em (4.93) é teoricamente nulo, pois das condições (4.92), $(\mathbf{B}\mathbf{r})_k - d_k = 0$. Apesar disso, nas simulações ele nunca é zero, mas mesmo assim é indispensável para a estabilidade numérica sendo que ainda ajuda no controle de acúmulos de erros. Substituindo (4.93) em (4.90) resulta na nova equação para posição,

$$\begin{aligned}
\mathbf{r}(t + \Delta t) &= [\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)][\mathbf{r}(t) + \Delta t\mathbf{v}(t - \Delta t/2) + \\
&+ (\Delta t)^2\mathbf{M}(t)^{-1}\mathbf{F}(t)] + \mathbf{T}(t)\mathbf{d}.
\end{aligned} \tag{4.95}$$

O algoritmo (4.90)-(4.95) é resolvido como no caso do algoritmo de leap-frog sem restrições.

Durante o desenvolvimento supõe-se Δt suficientemente pequeno para que em um passo de tempo não haja rotações da ligação. Mas isso não acontece na prática, pois o passo de tempo Δt não satisfaz necessariamente essa condição, assim um novo problema surge, pois o método mantém as restrições de distâncias considerando a projeção na antiga direção antes da integração e qualquer rotação das ligações acarreta um crescimento nos comprimentos das mesmas por um fator $l = \frac{1}{\cos\theta}$, onde θ é o ângulo de rotação. Para fazer a correção numa ligação restringida k , define-se

$$p_k = \sqrt{2d_k^2 - l_k^2}. \tag{4.96}$$

A correta posição dos átomos é

$$\mathbf{r}^*(t + \Delta t) = [\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)]\mathbf{r}(t + \Delta t) + \mathbf{T}(t)\mathbf{p}. \tag{4.97}$$

Na prática o algoritmo é aplicado por partes. Primeiro se calcula as posições e velocidades sem nenhuma restrição e armazena-se nos vetores $\mathbf{r}^{nr}(t + \Delta t)$ e $\mathbf{v}^{nr}(t + \Delta t/2)$, respectivamente. Observa-se que

$$\begin{aligned}\mathbf{r}^{nr}(t + \Delta t) &= \mathbf{r}^{nr}(t) + \Delta t \mathbf{v}^{nr}(t + \Delta t/2) = \\ &= \mathbf{r}^{nr}(t) + \Delta t \mathbf{v}^{nr}(t - \Delta t/2) + \\ &\quad + \Delta t \mathbf{v}^{nr}(t + \Delta t/2) - \Delta t \mathbf{v}^{nr}(t - \Delta t/2) = \\ &= \mathbf{r}^{nr}(t) + \Delta t \mathbf{v}^{nr}(t - \Delta t/2) + (\Delta t)^2 \mathbf{M}^{-1} \mathbf{F}(t),\end{aligned}$$

levando (4.95) a

$$\begin{aligned}\mathbf{r}(t + \Delta t) &= [\mathbf{I} - \mathbf{T}(t)\mathbf{B}(t)]\mathbf{r}^{nr}(t + \Delta t) + \mathbf{T}(t)\mathbf{d} \\ &= \mathbf{r}^{nr}(t + \Delta t) - \mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t)[\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t)]^{-1} \times \\ &\quad \times [\mathbf{B}(t)\mathbf{r}^{nr}(t + \Delta t) - \mathbf{d}].\end{aligned}\tag{4.98}$$

A matriz $\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t)$ deve ser invertida a cada passo de tempo. Para isso, um truque de expansão em série é usado, que será discutido agora. Observa-se que

$$\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t) = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^{3N} \left(\frac{\partial g_1}{\partial r_i}\right)^2 \frac{1}{m_i} & \cdots & \sum_{i=1}^{3N} \frac{\partial g_1}{\partial r_i} \frac{\partial g_K}{\partial r_i} \frac{1}{m_i} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \sum_{i=1}^{3N} \frac{\partial g_K}{\partial r_i} \frac{\partial g_1}{\partial r_i} \frac{1}{m_i} & \cdots & \sum_{i=1}^{3N} \left(\frac{\partial g_K}{\partial r_i}\right)^2 \frac{1}{m_i} \end{bmatrix}.\tag{4.99}$$

Considerando (4.94), conclui-se que a diagonal da matriz (4.99) possui termos da forma $\frac{1}{m_{k1}} + \frac{1}{m_{k2}}$. Para inverter facilmente, definimos uma matriz diagonal \mathbf{S} ,

$$\mathbf{S} = \text{Diag} \left(\sqrt{\frac{1}{m_{11}} + \frac{1}{m_{12}}}, \dots, \sqrt{\frac{1}{m_{K1}} + \frac{1}{m_{K2}}} \right),\tag{4.100}$$

que é usada para tornar os elementos da diagonal de $\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t)$ unitários,

$$\begin{aligned}\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t) &= \mathbf{S}\mathbf{S}^{-1}[\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t)]^{-1}\mathbf{S}^{-1}\mathbf{S} \\ &= \mathbf{S}[\mathbf{S}\mathbf{B}(t)\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(t)\mathbf{S}]^{-1}\mathbf{S} \\ &= \mathbf{S}[\mathbf{I} - \mathbf{A}(t)]^{-1}\mathbf{S}\end{aligned}\tag{4.101}$$

onde $\mathbf{A}(t)$ é uma matriz esparsa com zeros na diagonal. Portanto um simples truque pode ser usado para calcular a inversa:

$$[\mathbf{I} - \mathbf{A}(t)]^{-1} = \mathbf{I} + \mathbf{A}(t) + \mathbf{A}^2(t) + \mathbf{A}^3(t) + \dots \quad (4.102)$$

A expansão (4.102) é válida apenas para auto valores de $\mathbf{A}(t)$ menores que a unidade. Isso é sempre satisfeito para restrições de distância entre átomos, visto que a conectividade é baixa. A precisão do método depende de quantas matrizes serão calculadas para aproximar a expansão (4.102).

4.5 Limitações do Modelo

Mesmo sendo uma teoria muito atraente, pois modela todos os átomos do sistema, existem limitações que impedem a dinâmica molecular de se tornar o modelo para os estudos de permeação. Uma é devido ao grande esforço computacional, pois a dinâmica molecular faz simulações da permeação na ordem de nanosegundos usando os computadores atuais, enquanto muitos microsegundos são necessários para determinar a condutância de um canal. Mesmo que a velocidade de processamento dos computadores continuem crescendo nas taxas atuais, décadas serão necessárias para alcançar esse nível de performance. Uma outra limitação do modelo são as aproximações grosseiras para os potenciais, onde são considerados os potenciais de Coulomb e Lennard-Jones, sendo as outras forças não aditivas desconsideradas para diminuir o tempo de computação. Isso pode ser razoável em um ambiente que contenha uma grande quantidade de moléculas, mas durante a permeação, as moléculas movem-se para dentro de um canal, em fila única, o que implica em características de polarização muito diferentes. Portanto, é necessário computar forças de campo polarizáveis para obter valores mais precisos para a energia livre dos íons [19]. Tendo em vista as deficiências da DM, será proposta uma abordagem para tratar o fenômeno de permeação que combina DM, DB e eletrostática do contínuo, que segue no próximo capítulo.

5 UMA PROPOSTA ALTERNATIVA PARA MODELAGEM DO PROBLEMA

Em problemas de modelagem matemática para permeação de íons em canais iônicos, os átomos que estão mais distantes do canal têm pouca influência no fenômeno, enquanto que átomos mais próximos a ele têm uma maior contribuição. Portanto, uma idéia para abordar o problema é fazer aproximações mais grosseiras longe do canal e mais refinadas dentro do canal e nas suas proximidades. A importância dessa idéia é a redução do custo computacional sem perder significativamente a precisão nas simulações. Aqui será feita uma proposta para abordar o problema, mas não se tem resultados sobre a sua eficiência.

A precisão dos métodos para modelar o fenômeno apresentados anteriormente tem a ordem crescente: contínuo, dinâmica browniana e dinâmica molecular. Por outro lado, o custo computacional tem a mesma ordem de crescimento. Portanto, esses três métodos serão utilizados em diferentes partes da membrana, segundo a influência de cada parte na permeação de íons. Com esse objetivo, serão retomadas as principais idéias das abordagens anteriormente tratadas:

1. Modelo contínuo: consiste em calcular o potencial em todos os pontos do espaço a partir da solução da equação de Poisson. A membrana e o meio externo a ela são tratados como meios homogêneos, com diferentes constantes dielétricas. Essa é uma aproximação muito grosseira para ser utilizada no cálculo de condutância de canais. Em particular, o fluxo de íons pelo canal é muito distinto do que seria necessário para considerá-lo um meio contínuo. Sabe-se que nesses canais os íons o atravessam individualmente em fila ([22]). Apesar desse modelo não ser confiável para estimar a condutância do canal, é importante ressaltar que ele é extremamente útil para estimar forças nos modelos mais sofisticados.

2. Dinâmica browniana: os íons são tratados como partículas em um dado meio homogêneo. As forças de choque entre as moléculas do meio e os íons são aproximadas por forças estocásticas e de fricção. A interação eletrostática entre íons é obtida pela solução da equação de Poisson, como descrita acima. Essa abordagem permite uma simulação na ordem de microsegundos e é capaz de fazer uma estimativa para a condutância do canal.
3. Dinâmica molecular: todos os átomos do sistema têm seus movimentos calculados pela mecânica clássica. Usualmente, a simulação é realizada em um domínio paralelepipedal que contém a bicamada lipídica e regiões para o meio externo e citoplasma com espessura superior a dela. Portanto o sistema envolve um grande número de átomos e em vista das capacidades computacionais atuais, o tempo de computação necessário para se obter médias da condutância é impraticável. Apesar disso, essa abordagem é importante para obter o comportamento microscópico do canal (entendido como uma proteína) e suas interações com os fosfolípidos da membrana, as moléculas de água e os íons que constituem o meio extracelular e o citoplasma.

5.1 Apresentação da Proposta de Modelagem

A região em torno do canal será dividida em três partes, de acordo com o grau de importância de sua influência nas simulações. A primeira parte é a membrana, que será tratada como um meio contínuo (como no capítulo 2). Os íons e as cargas polarizadas por eles nas fronteiras da membrana darão uma estimativa do potencial que é um dado de entrada para a força eletrostática nas outras partes do problema. A região mais delicada é a interna do canal, bem como a proteína e átomos próximos a ela, onde realmente deseja-se observar a permeação. Essa região, compreendida dentro de um bloco paralelepipedal pequeno que contenha a proteína, o canal, os íons e as moléculas de água que estão dentro do canal ou nas

proximidades, será tratada via dinâmica molecular (como no capítulo 4). A última parte compreende o citoplasma e a região externa, onde a trajetória dos íons será aproximada via dinâmica browniana (como no capítulo 3). A divisão do sistema está apresentada na figura 5.1.

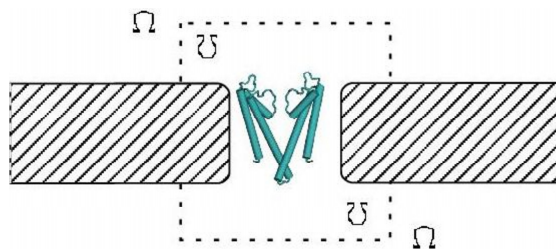


Figura 5.1: Seção transversal apresentando a divisão do canal em partes modeladas por dinâmica molecular (\mathcal{U}) e dinâmica Browniana (Ω)

Na parte simulada com dinâmica molecular, que é a mais custosa computacionalmente, o número de átomos é pequeno se comparado com todos os átomos do sistema. Essa região inclui apenas os íons e as moléculas de água próximas do canal e parte da proteína que é responsável pela abertura e fechamento dele, sendo os demais átomos da proteína fixados de acordo a sua geometria tridimensional.

Uma possibilidade é que o passo de tempo da simulação em dinâmica molecular (Δt_{DM}) seja inferior ao da dinâmica browniana (Δt_{DB}). Assim, define-se um fator n , tal que $\Delta t_{DB} = n\Delta t_{DM}$. Portanto, n passos da dinâmica molecular correspondem à mesma evolução de um passo da dinâmica browniana.

Nesse tipo de simulação, é comum haver gargalos em partes do problema, ou seja, a dinâmica browniana pode ser mais rápida em um passo de tempo, tendo que esperar a dinâmica molecular ou vice-versa. Nessa situação, supondo que a dinâmica molecular seja mais rápida, pode-se incluir mais átomos, como alguns lipídios da membrana, até que os gargalos sejam minimizados.

O que ainda não foi tratada é a questão das fronteiras entre a região simulada e o meio externo, bem como a fronteira determinada entre as regiões de

dinâmica molecular e dinâmica browniana. Essa questão será discutida na próxima seção.

5.2 Tratamento das Fronteiras

A fronteira entre a membrana e o soluto apresenta cargas polarizadas devido à diferença entre a constante dielétrica nas duas regiões e está plenamente discutida no capítulo 2. A fronteira entre o sistema e a região externa e as fronteiras entre as regiões modeladas via dinâmica estocástica e dinâmica molecular serão tratadas abaixo.

5.2.1 Fronteiras entre o Sistema e o Meio Externo

A região a ser simulada é um bloco paralelepipedal, composto de seis faces. As quatro faces que atravessam a membrana têm um simples tratamento da fronteira. Cada vez que um íon atravessa a fronteira e sai do domínio ele entra pelo outro lado, como se as faces opostas estivessem conectadas entre si. Ou seja, tem-se uma condição de fronteira periódica para as faces laterais do bloco que determina o domínio ([6]). As outras duas faces (superior e inferior) devem ser tratadas com mais cuidado, pois as concentrações de cada espécie de íons são diferentes nos lados do canal, mas devem ser mantidas constantes. Assim, a condição de fronteira periódica não funciona nesse caso, já que as concentrações podem variar em cada lado do canal.

As fronteiras superior e inferior devem estar cercadas por um banho de concentração constante. Cada vez que sai um íon do sistema, a concentração de dentro cai e existe um gradiente apontando para dentro do sistema. A entrada dos íons pode ser feita sorteando posições próximas à fronteira com velocidades atribuídas segundo uma distribuição maxwelliana.

Cada vez que um íon atravessa o canal, digamos da parte superior para a parte inferior, então as concentrações inferior e superior mudam. Se o objetivo da simulação é manter as concentrações constantes, então o lado que recebeu um novo íon manda o íon mais remoto para o outro lado.

5.2.2 Fronteiras entre as Regiões Abordadas com Dinâmicas Molecular e Browniana

A região modelada com dinâmica molecular (\mathcal{U}) compreendida dentro do bloco paralelepipedal, como na figura 5.1, e a região modelada via dinâmica browniana (Ω), são separadas por uma fronteira artificial. A dinâmica molecular aplicada na região \mathcal{U} será estendida num bloco $\tilde{\mathcal{U}}$ um pouco maior contendo-a, já que átomos perto da fronteira interagem com seus vizinhos, alguns podendo estar fora da região \mathcal{U} , mas dentro do segundo bloco $\tilde{\mathcal{U}}$.

Quando um íon atravessa a fronteira, ele deve sentir as mudanças no cálculo das forças suavemente. Além disso, deve-se manter a quantidade de moléculas de água fixa dentro da região \mathcal{U} . Eventualmente durante as simulações as moléculas de água atravessam a fronteira das regiões \mathcal{U} para a Ω . As condições de fronteira nesse caso serão impostas no bloco maior $\tilde{\mathcal{U}}$. Nesse caso usa-se uma condição de fronteira periódica para as faces laterais, como descrita na seção anterior. Quando as moléculas de água atravessam a fronteira superior ou inferior do bloco $\tilde{\mathcal{U}}$, devem ser repostas na região o mesmo número de moléculas sorteando posições próximas à fronteira, com velocidades atribuídas segundo uma distribuição maxwelliana. Se as moléculas saírem por cima, devem ser repostas em cima e se saírem por baixo, da mesma forma, devem ser distribuídas embaixo.

Agora, quanto aos íons que atravessam essa fronteira, existem dois casos:

1. Saíndo da região \mathcal{U} : quando um íon da região \mathcal{U} atravessa a fronteira entrando na região Ω , ele simplesmente utiliza as posições e velocidades

do último passo da dinâmica molecular para iniciar a dinâmica browniana. O teste para saída de um íon será feito a cada n passos da dinâmica molecular para coincidir com os passos da dinâmica browniana.

2. Entrando na região \mathcal{U} : quando um íon da região Ω atravessa a fronteira e entrando na região \mathcal{U} , faz-se uma última integração com dinâmica browniana. Em seguida ajusta-se moléculas de água em volta do íon para que o resultado de n integrações em dinâmica molecular ofereça resultados próximos da integração em dinâmica browniana.

5.3 Algoritmo Computacional

O fluxo de informações para implementação é de acordo com a tabela:

1.Inicialização

- 1.1 Entrada das posições e velocidades iniciais.
- 1.2 Entrada dos parâmetros da simulação, como vínculos, campos de força e passo de tempo.
- 1.3 Construção das tabelas com soluções da equação de Poisson (como descrita no capítulo 2).

2.Integração (Laço de evolução temporal).

- 2.1 Eletrostática do contínuo: usando as tabelas inicializadas calcula os potenciais e as forças eletrostáticas.
 - 2.2 Testar se o íon está na região \bar{U} ou Ω .
 - 2.2' Se o íon estiver na região Ω (DB), então:
 - 2.2'.1 Cálculo da variável aleatória das forças estocásticas.
 - 2.2'.2 Integração numérica.
 - 2.2'' Se o íon estiver na região \bar{U} (DM), então:
 - Se ele acabou de passar a fronteira deve fazer o ajuste das moléculas de água.
 - Iniciar laço para n ($\Delta t_{DB} = n\Delta t_{DM}$).
 - 2.2''.1 Calcula forças devido a interação entre todas as moléculas de água, proteína e íons (Lennard-Jones, Coulomb e termos ligados).
 - 2.2''.2 Integração numérica sem restrições ou acoplamentos.
 - 2.2''.3 Atualização das velocidades e posições pelos acoplamentos de temperatura e/ou pressão e/ou restrições.
 - Termina laço para n .
- Termina laço de evolução temporal.

Referências Bibliográficas

- [1] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, and J. R. Haak. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *Journal of Chemical Physics*, 81:3684–3690, 1984.
- [2] J. Candy and W. Rozmus. A Symplectic Integration Algorithm for Separable Hamiltonian Functions. *Journal of Computational Physics*, 92:230–256, 1991.
- [3] S. H. Chung, T. W. Allen, M. Hoyles, and S. Kuyucak. Permeation of Ions Across the Potassium Channel: Brownian Dynamics Studies. *Biophysical Journal*, 77:2517–2533, 1999.
- [4] S. H. Chung, T. W. Allen, and S. Kuyucak. Conducting-State Properties of the KcsA Potassium Channel from Molecular and Brownian Dynamics Simulations. *Biophysical Journal*, 82:628–645, 2002.
- [5] S. H. Chung, T. W. Allen, and S. Kuyucak. Modeling Diverse Range of Potassium Channels with Brownian Dynamics. *Biophysical Journal*, 83:263–277, 2002.
- [6] B. Corry, M. Hoyles, T. W. Allen, M. Walker, S. Kuyucak, and S. H. Chung. Reservoir Boundaries in Brownian Dynamics Simulations of Ion Channels. *Biophysical Journal*, 82:1975–1984, 2002.
- [7] J. M. Deutch and I. Oppenheim. Molecular Theory of Brownian Motion for Several Particles. *The Journal of Chemical Physics*, 54:3547–3555, 1971.
- [8] R. P. Feynman, R. B. Leighton, and M. Sands. *The Feynman Lectures on Physics*. Addison Wesley Longman, California, 1964.
- [9] D. Frenkel and B. Smit. *Understanding Molecular Simulation*. MPG Books Ltd, Bodmin, Cornwall, San Diego - USA & Tokio - Japan, 2002.

- [10] C. L. Hackmann. *Modelos Matemáticos para o Transporte de Íons por Canais em Membranas de Axônios*. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- [11] B. Hess, H. Bekker, H. J. C. Berendsen, and J. G. E. M. Fraaije. LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 18:1463–1472, 1997.
- [12] B. Hille. *Ionic Channels of Excitable Membranes*. Sinauer, Washington, 1991.
- [13] W. G. Hoover. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Review A*, 31:1695–1697, 1985.
- [14] M. Hoyles, S. Kuyucak, and S. Chung. Solutions of Poisson’s equation in channel-like geometries. *Computer Physics Communications*, 115:45–68, 1998.
- [15] J. N. Israelachvili. *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press, Califórnia, 1991.
- [16] S. k. Ma. *Statistical Mechanics*. World Scientific Publishing Co., Pte Ltd., 1985.
- [17] R. Kubo. The fluctuation-dissipation theorem. *Report Progress Physical*, 29:255–284, 1966.
- [18] S. Kuyucak, O. S. Andersen, and S. Chung. Models of permeation in ion channels. *Report Progress Physics*, 64:1427–1472, 2001.
- [19] S. Kuyucak and T. Bastug. Physics of ion channels. *Journal of Biological Physics*, 29:429–446, 2003.
- [20] D. G. Levitt. Electrostatic calculations for an ion channel. *Biophysica Journal*, 22:209–219, 1978.

- [21] D. G. Levitt. Continuum model of voltage-dependent gating. *Biophysical Journal*, 55:489–498, 1989.
- [22] V. B. Luzhkov and J. Åqvist. Ions and blockers in potassium channels: insights from free energy simulations. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1747:109–120, 2005.
- [23] R. MacKinnon, S. L. Cohen, A. Kuo, A. Lee, and B. T. Chait. Structural Conservation in Prokaryotic and Eukaryotic Potassium Channels. *Science* 3, 280:106–109, 1998.
- [24] S. Miyamoto and P. A. Kollman. SETTLE: An Analytical Version of the SHAKE and RATTLE Algorithm for Rigid Water Models. *Journal of Computational Chemistry*, 13:952–962, 1992.
- [25] A. Papoulis. *Probability, Random Variables and Stochastic Processes*. mcgraw-hill kogakusha, Tokyo, 1965.
- [26] D. C. Rapaport. *The Art of Molecular Dynamics Simulation*. The Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, 1995.
- [27] J.P. Ryckaert, J. Ciccotti, and H. J. C. Berendsen. Numerical Integration of the cartesian equation of motion of a system with constraints molecular dynamics of n-alkanes. *Journal of Computational Physics*, 23:327–341, 1977.
- [28] G. Sutmann. Classical Molecular Dynamics. *J. Grotendorst, D. Marx and A. Muramatsu*, 10:211–254, 2002.
- [29] A. R. van Buuren, E. Apol, P. J. Meulenhoff, D. P. Tieleman, A. L. T. M. Sijbers, K. A. Feenstra, R. van Drunen, and H. J. C. Berendsen. *Manual GROMACS-Groningen Machine for Chemical Simulations*. Department of Biophysical Chemistry, University of Groningen, 2006.

- [30] W. F. van Gunsteren and H. J. C. Berendsen. Stochastic dynamics for molecules with constraints; brownian dynamics of n-alkanes. *Molecular Physics*, 44:69–95, 1981.
- [31] W. F. van Gunsteren and H. J. C. Berendsen. Algorithms for brownian dynamics. *Molecular Physics*, 45:637–647, 1982.
- [32] H. Yoshida. Construction of order symplectic integrators. *Physics Letters A*, 150:262–268, 1990.
- [33] K. Yosida. *Functional Analysis*. Springer-Verlag, Berlin, 1980.