



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

ANDERSON JOSÉ LOPES CATÃO

ANÁLISE CONFORMACIONAL DE AMINO DISSACARÍDEOS VIA DINÂMICA MOLECULAR DE CAR-PARRINELLO

Anápolis-GO 2015 ANDERSON JOSÉ LOPES CATÃO

ANÁLISE CONFORMACIONAL DE AMINO DISSACARÍDEOS VIA DINÂMICA MOLECULAR DE CAR-PARRINELLO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto sensu em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares

Área de concentração: Físico-Química Orientador: Dr. Ademir João Camargo. Co-orientadora: Dr. Roberta Signini

Anápolis-GO 2015

ANÁLISE CONFORMACIONAL DE AMINO DISSACARÍDEOS VIA DINÂMICA MOLECULAR DE CAR-PARRINELLO

ANDERSON JOSÉ LOPES CATÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, da Universidade Estadual de Goiás, apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Aprovada em 27/01/2015 por:

Samo

Prof. Dr. Ademir João Camargo (UEG)

Prof. Dr. Solemar Silva Oliveira (UEG)

Prof. Dr. Valter Henrique Carvalho Silva (UEG)

ANÁPOLIS – GO JANEIRO 2015 A todos aqueles que já sentiram, assim como eu, o desabrochar da consciência, o gosto da vontade de poder e, assim, morreram ou morrerão tentando transcendê-los, e em hipótese alguma, renunciá-los. À liberdade de ser livre, ou de tentar ser, dedico este e todos os trabalhos que realizarei. O preço da liberdade é caro, porém, caríssimo, é viver livre. Pois, se os outros trazem correntes e cadeados, nós somos os que trancam e escondem as chaves. Assim, uma batalha eterna, lutamos. Nosso inimigo é sagaz, astuto, inteligente. Ele nos usa contra nós mesmos. Conhece seus pontos fortes e fracos, sua estratégia, seu terreno, sua posição, quando você age, quando não, quando você pensa em agir, quando não. Parece uma batalha perdida. E, para muitos, é. Seu inimigo é você mesmo, o homem e seu estado de estagnação, de acomodação, seu estado animalesco. Pois nenhum outro animal pensa em evoluir, apenas o homem. Porque ei de querer ser igual a outro animal. Serei homem e superá-lo-ei.

Palavras nunca me faltaram, ideias também não. Conhecimento, às vezes. Vontade, nunca!

AGRADECIMENTOS

Respeitosa e virtuosamente agradeço àquilo que me motiva, me move, me constrói, destrói e reconstrói, aquilo que me dá a luz e que me cega, que me renova e me envelhece, aquilo que dá a vida, e a tira, aquilo que nos torna único, e todo. Ao eterno dualismo que todos nós chamamos de vida. À ela, a majestosa e impetuosa consciência humana.
Pelo esforço incalculável, incontável e imensurável de meus pais, Maria Francisca de Faria Lopes Catão e Antônio José Catão, serei eterna e conscientemente grato. Pelo seu real companheirismo e amor jamais os esquecerei.

À família que tenho e que harmoniosamente convivo. Meus irmãos, Alvinan Magno Lopes Catão e Alaine Maria Lopes Catão, companheiros de jornada e exemplos de superação. Espero que a confiança e sinceridade continue nos abraçando.

À minha amada imortal, Anna Paula Lins Teixeira, por tudo. Pelo passado inesquecível, presente maravilhoso e futuro inimaginável. A vida a seu lado será sempre uma doce aventura.

Agradeço enormemente ao Professor Dr. Ademir João Camargo por todos os ensinamentos, pela agradável convivência e acima de tudo pela liberdade de pensamento a mim concedida. A centelha de seus ensinamentos será transmitida.

Agradeço a Profesora Dr. Roberta Signini pela co-orientação, pelas sábias instruções e idéias e acima de tudo pela sua amizade. Espero que esta seja proveitosa e duradoura.

- Agradeço a banca examinadora, Professor Dr. Solemar Silva Oliveira e Professor Dr. Valter Henrique Carvalho Silva, por aceitarem compartilhar deste momento.
 - Agradeço a secretaria e amiga Ediléia Mávia Rezende Silva por todo seu apoio e ajuda durante todo o percurso deste trabalho.

À todos os amigos e pessoas que de uma forma ou de outra deixaram a sua contribuição durante minha jornada. Pelo aprendizado mútuo, lhes sou grato.

Agradeço as instituições de fomento, CAPES e FAPEG, pelo incentivo e investimento financeiro fornecido para este trabalho fosse realizado.

"Não é a altura que terroriza; o que aterroriza é o declive! O declive, donde o olhar se precipita para o fundo e a mão se estende para o cume." (Friedrich Nietzsche – Da circunspecção humana)

RESUMO

Os blocos construtores de oligossacarídeos são mais diversos na natureza do que proteínas e ácidos nucléicos. Esses blocos chamados de carboidratos, hidratos de carbono ou sacarídeos frequentemente diferem-se, um em relação ao outro, apenas em sua esteroquímica e no padrão de ligações entre os resíduos que pode ser muito heterogêneo. A capacidade de informação em carboidratos é muito maior do que em proteínas, particularmente devido às estruturas ramificadas. Supõe-se que carboidratos contêm códigos escondidos para reconhecimento biológico. Consequentemente, a determinação da estrutura desses sacarídeos consiste em um difícil, porém importante, problema. Experimentalmente essa determinação é feita, principalmente, através de duas técnicas: difratometria de raios-X e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Quanto mais flexível a molécula é, mais difícil é induzir a cristalização. Se um carboidrato é flexível, ele deve não apresentar apenas uma forma tridimensional característica. Assim, a conformação de carboidratos consiste em ambos os componentes espacial e temporal. O resultado são inúmeros modelos estruturais, muitas vezes, divergentes de uma mesma substância. Assim, novas ferramentas precisam ser desenvolvidas. Uma dessas é a modelagem molecular que, apoiada no avanço tecnológico, tem se destacado como metodologia de estudo. O sucesso da aplicação de um modelo teórico está relacionado fortemente com o grau em que as propriedades interatômicas de uma determinada molécula podem ser aproximadas pela descrição matemática. A dinâmica molecular de Car-Parrinello, uma dinâmica semi-quântica, é um método robusto que permite realizar cálculos quânticos em um tempo relativamente pequeno, e por isso, foi escolhida. Foram feitas simulações de quatro tipos diferentes de amino dissacarídeos a temperatura ambiente (300K) utilizando o funcional PBE e pseudopotencial ultrasoft de Vanderbilt. Os cálculos foram realizados em fase gasosa (molécula isolada). Foram determinados parâmetros geométricos e eletrônicos, tais como, comprimento e ângulo de ligação, ângulo diedral e ligações de hidrogênio. Os dissacarídeos apresentaram comportamentos diferentes, principalmente, em relação aos principais ângulos diedrais e as ligações de hidrogênio intramoleculares formadas. Esses parâmetros são importantes para entender o comportamento destes dissacarídeos, bem como, o de seus respectivos polissacarídeos.

Palavras-chave: Amino Dissacarídeo, Dinâmica Molecular, Análise Conformacional

ABSTRACT

The building blocks of oligosaccharides are more diverse in nature than proteins and nucleic acids. These blocks called carbohydrates, hydrates of carbon or saccharides, often differ with respect to each other only in their stereochemistry and the pattern of linkages between the residues which can be very heterogeneous. The information capacity of carbohydrates is much greater than proteins, particularly due the branched structures. It has been assumed that carbohydrates contain hidden codes for biological recognition. Consequently, determination of the structure of these saccharides is a difficult but important problem. Experimentally this determination is made mainly by two techniques: X-ray diffraction and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). The more flexible the molecule is, the harder it is to induce crystallization. If a carbohydrate is flexible, it must not only show a three-dimensional characteristic shape. Thus, the conformation of carbohydrates consists in both spatial and temporal components. The result is numerous structural models that often diverge even for a same substance. Thus, new tools need to be developed. One of these is the molecular modeling that supported by the technological advancement has stood out as a methodology. The successful application of a theoretical model is strongly related to the degree which the interatomic properties of a given molecule can be approximated by the mathematical description. The molecular dynamics of Car-Parrinello, a quantum-classical dynamics, is a robust method to perform quantum calculations in a relatively short time, and so it was chosen. Four different types of amino disaccharide were simulated at room temperature (300K) using the functional PBE and Vanderbilt ultra-soft pseudopotential. The calculations were carried out in the gas phase (isolated molecule). It was determined geometric and electronic parameters such as bond length and bond angles, dihedral angle and hydrogen bonds. Disaccharides showed different behavior, especially in relation to the main dihedral angles that characterize saccharide's conformation and by forming intramolecular hydrogen bonds. These parameters are important to understand the behavior of disaccharides, as well as the respective polysaccharides.

Keywords: Amino disaccharide, Molecular Dynamics, Conformational Analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da quitobiose com a numeração usual para os átomos
de um dissacarídeo e os ângulos diedrais de interesse. Os hidrogênios das hidroxilas e dos
grupamentos amino forma omitidos por questão de clareza
Figura 2 – Representação da estrutura planar do polímero (a) Quitina, (b) Quitosana20
Figura 3 – Representação da estrutura planar da molécula glucosamina (a) e da molécula N-
acetil-glucosamina (b)
Figura 4 - Representação da estrutura planar da molécula quitobiose (a) e da molécula de
acetil-quitobiose (b)
Figura 5 – Preparação de quitobiose e acetil-quitobiose a partir da quitina
Figura 6 – Representação da estrutura planar da molécula (GulN) ₂ (a) e da molécula de
(GulNAc) ₂ (b)
Figura 7 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D155
Figura 8 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D256
Figura 9 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D357
Figura 10 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D457
Figura 11 - Relação entre os comprimentos (a) e os ângulos (b) de ligação calculados
utilizando o funcional PBE (abscissas) e BLYP (ordenadas)60
Figura 12 – Representação esquemática dos principais ângulos diedrais de um dissacarídeo
(quitobiose)61
Figura 13 – Gráficos da Energia de Corte em função da Energia Total usando o
pseudopotencial de Vanderbiilt (a) e o de Goedecker (b)
Figura 14 – Gráficos da Energia em função do tempo de simulação para as moléculas D1 (a),
D3 (b), D2 (c) e D4 (d)63
Figura 15 – Representação da estrutura e numeração da molécula D265
Figura 16 – Relação entre os comprimentos (a) e os ângulos (b) de ligação teóricos
(abscissas) e experimentais (ordenadas)
Figura 17 - Representação esquemática dos principais ângulos diedrais de um dissacarídeo
(quitobiose)70
Figura 18 – Diagrama de Ramachandran72

Figura 19 – Mapa de distribuição dos ângulos diedros Ψ e Φ para a molécula de acetil-
quitobiose (a) e para a molécula de quitobiose (b)
Figura 20 – <i>Snapshot</i> da dinâmica do dissacarídeo D1 destacando uma ligação de hidrogênio
Figura 21 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação do dissacarídeo D1
(abscissas) e do dissacarídeo D3 (ordenaadas)
Figura 22 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais das
moléculas de D1 e da molécula de D3
Figura 23 – Sobreposição dos mapas de distribuição dos ângulos diedros Ψ e Φ para as
moléculas D1 e D3
Figura 24 – Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D3 destacando duas ligações de
hidrogênio do tipo moderada81
Figura 25 – Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D1 destacando duas ligações de
hidrogênio do tipo moderada82
Figura 26 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação das moléculas de D2
e D4
Figura 27 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais D2 e
da molécula de D4
Figura 28 – Sobreposição dos mapas de distribuição de Ψ e Φ para as moléculas D2 e D488
Figura 29 – Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D4 destacando duas ligações de
hidrogênio (O6—HO3'—O3' e O4—HO6—O6)
Figura 30 – Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D4 destacando quatro ligações de
hidrogênio do tipo moderada
Figura 31 - Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D2 destacando as três ligações de
hidrogênio do tipo moderada90
Figura 32 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação das moléculas D3 e
D492
Figura 33 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais D3 e
da molécula de D494
Figura 34 – Sobreposição dos mapas de distribuição dos ângulos diedros Ψ e Φ para as
moléculas D3 e D495
Figura 35 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação da molécula D1 e
D297

Figura 36 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais o	da
nolécula D1 e da molécula D29) 9
Figura 37 – Sobreposição dos mapas de distribuição dos ângulos diedros Ψ e Φ para s	as
noléculas D1 e D210)0
Figura 1 A – Representação da estrutura molecular dos dissacarídeos D1 (a), D3 (b), D2 (c)
D4 (d)11	15
Figura 2 A – Representação da estrutura da molécula D2 e numeração dos átomos o	de
idrogênio11	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros das Simulações59
Tabela 2 – Valores dos ângulos diedrais calculados por dois funcionais61
Tabela 3 – Valores médios de oito ângulos diedrais para a molécula de acetil-quitobiose.
Comparação entre resultado teórico e experimental70
Tabela 4 – Valores médios de oito ângulos diedrais para a molécula de quitobiose.
Comparação entre resultado teórico e experimental71
Tabela 5 – Ligação de Hidrogênio Intramolecular. Comparação entre resultado teórico e
experimental para a molécula de acetil-quitobiose75
Tabela 6 – Ligação de Hidrogênio Intramolecular. Comparação entre resultado teórico e
experimental para o dissacarídeo quitobiose
Tabela 7 – Valores médios de ângulos diedrais para as moléculas de D1 e D380
Tabela 8 – Análise das ligações de hidrogênio intramolecular das moléculas de D1 e D383
Tabela 9 – Valores médios de ângulos diedrais entre os átomos da molécula de D2 e D487
Tabela 10 – Análise das Ligações de Hidrogênio intramolecular dos dissacarídeos D2 e D4.
Tabela 11 – Ângulos diedrais entre os átomos das moléculas D3 e D493
Tabela 12 – Análise das Ligações de Hidrogênio intramolecular das moléculas D3 e D496
Tabela 13 – Valores de ângulos diedrais das moléculas D1 e D2
Tabela 14 - Análise das Ligações de Hidrogênio intramolecular do dissacarídeo D1 e do
dissacarídeo D2
Tabela 1 B - Valores de comprimentos de ligação para a molécula de acetil-quitobiose.
Comparação entre resultado teórico e experimental117
Tabela 2 B – Valores de ângulos de ligação para a molécula de acetil-quitobiose.
Comparação entre resultado teórico e experimental119
Tabela 3 B – Valores de comprimento de ligação das moléculas D1 e D3.123
Tabela 4 B – Valores de ângulos de ligação para as moléculas D1 e D3124
Tabela 5 B – Valores de comprimento de ligação da molécula D2 e da molécula D4127
Tabela 6 B – Ângulos de Ligação entre os átomos das moléculas D2 e D4. 129
Tabela 7 B – Comprimento de Ligação entre os átomos das moléculas de D3 e D4132
Tabela 8 B – Ângulos de Ligação entre os átomos das moléculas de D3 e D4 134

Tabela 9 B – Valores de comprimento de ligação das moléculas de D1 e D2.	138
Tabela 10 B – Valores de ângulos de ligação da molécula de D1 e da molécula de D2	140

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

- RMN Ressonância Magnética Nuclear
- ABO Aproximação de Born-Oppenheimer
- DMC Dinâmica Molecular Clássica
- DFT do inglês, Density Functional Theory (Teoria do Funcional da Densidade)
- HK Hohenberg-Kohn
- LDA do inglês, Local Density Aproximation (Aproximação da Densidade Local)
- CPMD do inglês, *Car-Parrinello Molecular Dynamic* (Dinâmica Molecular de Car-Parrinello)
- EMD do inglês, Ehrenfest Molecula Dynamic (Dinâmica Molecular de Ehrenfest)
- DMQ Dinâmica Molecular Quântica
- BOMB do inglês, *Born-Oppenheimer Molecular Dynamic* (Dinâmica Molecular de Born-Oppenheimer)
- GGA do ingles, *Generalized Gradient Approximation* (Aproximação do gradiente generalizado)
- PBE Perdew, Burke e Ernzerhof
- BLYP Becke, Lee, Yang e Parr
- GlcNAc 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose
- GlcN 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose
- $(GlcNAc)_2 2$ -acetamida- β -D-glucose- $(1 \rightarrow 4)$ -2-acetamida- β -D-glucose
- $(GlcN)_2 \beta$ -D-glucosamina- $(1 \rightarrow 4)$ - β -D-glucosamina
- $(GulNAc)_2 2$ -acetamida- α -D-gulose- $(1 \rightarrow 4)$ -2-acetamida- β -D-gulose
- $(GulN)_2 \alpha$ -D-gulosamina- $(1 \rightarrow 4)$ - β -D-gulosamina

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS1	7
1.1 INTRODUÇÃO1	7
1.2. QUITINA E QUITOSANA1	9
1.2.1. Quitina1	9
1.2.2 Quitosana2	:2
1.3. MONOSSACARÍDEOS (MONÔMEROS)2	4
1.4 DISSACARÍDEO (DÍMERO)2	.8
1.5 DINÂMICA MOLECULAR DE SACARÍDEOS3	3
CAPÍTULO 2 – REFERÊNCIAL TEÓRICO	5
2.1 INTRODUÇÃO: QUÍMICA QUÂNTICA COMPUTACIONAL	5
2.2 EQUAÇÃO DE SCHRÖDINGER PARA MUITOS CORPOS	6
2.3 EQUAÇÕES DA TRAJETÓRIA3	9
2.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE4	3
2.5 AS EQUAÇÕES DE KOHN-SHAM4	-5
2.6 DINÂMICA MOLECULAR4	8
2.6.1 Dinâmica Molecular de Car-Parrinello5	51
CAPÍTULO 3 - PROCEDIMENTO COMPUTACIONAL	5
3.1 ESCOLHA DO FUNCIONAL DE TROCA E CORRELAÇÃO6	i 0
3.2 ESCOLHA DO PSEUDOPOTENCIAL6	j 1
3.3 ESCOLHA DA ENERGIA CINÉTICA DE CORTE DE ONDAS PLANAS6	62
3.4 ESCOLHA DA MASSA FICTÍCIA - CONTROLE DA ADIABATICIDADE6	i3
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO6	5
4.1 COMPARAÇÃO ENTRE PARÂMETROS TEÓRICOS E EXPERIMENTAIS6	6
4.2 COMPARAÇÕES ENTRE OS PARÂMETROS GEOMÉTRICOS DOS	
DISSACARÍDEOS7	6
4.2.1 D-GlcpN-(1→4)-β-D-GlcpN (D1) e α-D-GulN-(1→4)-β-D-GulN (D3)7	7
4.2.2 D-GlcpNAc-(1→4)-β-D-GlcpNAc (D2) e α-D-GulNAc-(1→4)-β-D-GulNAC (D4))
	4
4.2.3 α-D-GulN-(1→4)-β-D-GulN (D3) e α-D-GulNAc-(1→4)-β-D-GulNAc (D4)9	1
4.2.4 D-GlcpN-(1→4)-β-D-GlcpN (D1) e D-GlcpNAc-(1→4)-β-D-GlcpNAc (D2)9	6

CAPÌTULO 5 - CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	103
REFERÊNCIAS	105
APÊNDICE A – Representação dos Dissacarídeos	115
APÊNDICE B - Tabelas	117

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

Carboidratos são as moléculas biológicas mais abundantes. Eles desempenham papéis, estrutural e de armazenamento de energia, muito importantes em plantas e animais, e são bases para diversas indústrias. Polissacarídeos (carboidratos de cadeias longas) são conhecidos pela sua tendência em se associar. Essa associação, normalmente, provém da grande quantidade de grupos hidroxílicos e/ou aminos presente nestas macromoléculas e que facilmente forma ligações de hidrogênio. Tais potenciais ligações de hidrogênio não podem ser negligenciadas quando se analisa as interações em associações com carboidratos vizinhos ou com moléculas de água ao seu redor (DUMITRIU, 2005).

Existem dois métodos muito utilizados para a caracterização de carboidratos. São eles, a difratometria de raios-X e a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Ambos os métodos apresentam alguns entraves, o que leva a resultados diversos e a uma não concordância da literatura. A determinação das estruturas de carboidratos pelo método de cristalografia de raios-X está sujeita a diversas dificuldades, as quais estão associadas, em suma, a elevada flexibilidade de oligossacarídeos gerando assim uma série de modelos conformacionais que representam propriedades conformacionais médias dessas moléculas. Assim, a cristalografia de raios-X não gera bons resultados quando o sistema estudado é altamente flexível, como são os oligossacarídeos, e a RMN apenas provê médias temporais de dados conformacionais (WORMALD, et al., 2002; DUUS, GOTFREDSEN e BOCK, 2000).

Uma boa aproximação para determinar a conformação de oligossacarídeos é reduzir a análise para caracterizar a ligações glicosídicas entre as unidades de monossacarídeos. Na prática, isto envolve a determinação de alguns ângulos torsionais para cada ligação glicosídica. Porém, tal determinação apresenta alguns problemas. O primeiro é caracterizar a conformação de uma ligação glicosídica, uma vez que tal ligação não é rígida e sim flexível. Isto pode incluir grandes vibrações de uma conformação de ligação simples e bem definida e/ou transições entre dois ou mais conformações distintas. O grau de flexibilidade difere de ligação para ligação (WORMALD, et al., 2002).

A variação conformacional de um sacarídeo depende, principalmente da conformação assumida pela suas ligações glicosídicas, tal que pequenas variações dos ângulos torsionais podem produzir grandes efeitos nas propriedades geométricas (STRINO, 2010). Dissacarídeos são as moléculas mais simples, com grau de liberdade de rotação, capazes de determinar a conformação e flexibilidade de oligo e polissacarídeos mais complexos (PEREIRA et al., 2006).

Tais fatos tem difundido o uso de modelagem molecular para determinar as conformações destas ligações. No entanto, cálculos teóricos estão limitados em exatidão pelo nível de teoria usado. Neste sentido, a técnica de dinâmica molecular tem se tornado uma ótima ferramenta para se estudar propriedades de moléculas biológicas em solução, onde geralmente, tais propriedades são inacessíveis à experimentação (VLACHAKIS et al., 2014).

Diversos sacarídeos tem sidos estudados. Eles variam de tamanho e assim de complexidade. Entre eles estão monossacarídeos como a glicose, ribofuranose, fucose, manose, dissacarídeos como a xilobiose, celobiose, lactose, trealose e até macromoléculas como o polímero celulose, a quitina e a quitosana. No presente trabalho, tem-se como objetivo predizer a configuração dimensional de quatro dissacarídeos em fase gasosa. Dentre eles estão a quitobiose, o dissacarídeo da quitosana, e a acetil-quitobiose, o dissacarídeo da quitina. Comparações foram feitas entre os resultados calculados teoricamente e dados obtidos experimentalmente.

No estudo de dissacarídeos quatro ângulos diedrais merecem destaque. A nomenclatura usada para tais ângulos diedrais é $\Phi = O_5-C_1-O_1-C_4$, $\Psi = C_1-O_1-C_4$, $\Theta = O_6-C_6-C_5-C_4$, e $\omega' = O_6-C_6-C_5-C_4$. O ângulo Φ é determinado pelo efeito exo-anômerico, um efeito estereoeletrônico que envolve os pares isolados (não ligantes) do oxigênio da ligação glicosídica. O ângulo Ψ é determinado por interações estéricas e pela ligação de hidrogênio entre os resíduos e com as moléculas do solvente. A análise deste ângulo (diedro psi) é importante pois tal ângulo está ligado diretamente com a forma global do polissacarídeo, e essa forma é associada as distintas atividades que o polissacarídeos estão envolvidos. O ângulo ω está relacionado com os diferentes rotâmeros baseados em interações estéricas. A Figura 1 apresenta um dissacarídeo, conhecido como quitobiose (dissacarídeo do biopolímero quitosana), com a numeração, segundo a IUPAC (1996), dos átomos dos anéis glicosídicos, bem como os principais ângulos diedrais pontuados.

Figura 1 – Representação esquemática da quitobiose com a numeração usual para os átomos de um dissacarídeo e os ângulos diedrais de interesse. Os hidrogênios das hidroxilas e dos grupamentos amino forma omitidos por questão de clareza.



Este trabalho está organizado em cinco capítulos. O capítulo 1 apresenta uma visão geral e alguns esclarecimentos sobre os dissacarídeos estudados bem como o estado da arte de moléculas desse porte. No capítulo 2 aborda-se os fundamentos da química computacional, bem como o formalismo físico-matemático da Dinâmica Molecular de Car-Parrinello. No capítulo 3, descreve-se as etapas do procedimento computacional utilizado para a realização das simulações. No capítulo 4, apresenta-se os resultados obtidos através da simulação no vácuo dos quatro dissacarídeos e também a discussão dos mesmos. No capítulo 6, apresenta-se as conclusões e as perspectivas para trabalhos futuros. E, por fim, nos Apêndices, apresentam-se uma Figura (Apêndice A) e Tabelas (Apêndice B) que visam o melhor entendimento e compreensão dos resultados apresentados.

1.2. QUITINA E QUITOSANA

1.2.1. Quitina

Quitina está entre os mais abundantes biopolímeros da Terra. Trata-se do composto orgânico mais abundante em conteúdo de nitrogênio encontrado naturalmente. Quitina (Figura 2a) é um polissacarídeo linear de 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose unidas por ligações

 $\beta(1\rightarrow 4)$, sendo teoricamente definida como o polímero de N-acetilglucosamina (MUZZARELLI, 1977). Sua ocorrência é verificada principalmente nos exoesqueletos de insetos, nas conchas de crustáceos e nas paredes celulares das células fúngicas. O termo quitina é derivado da palavra grega *chitón*, que significa carapaça ou caixa de revestimento. De fato a sua função é de revestimento e proteção de invertebrados (JOLLÈS e MUZZARELLI, 1999).

Ela é comercialmente derivada de restos de produtos destinados a alimentação, tais como cascas de caranguejo e camarão. O produto alvo da quitina é a sua forma N-desacetilada, chamada quitosana (Figura 2b), que pode ser usada como matéria-prima para indústrias alimentícias e farmacêuticas. Além disso, oligômeros de quitosana tem recebido forte interesse na utilização da quitina por causa que este tem sido reportado como possuidor de atividades fisiológicas, tais como atividade antitumoral, antibacteriana, antifúngica, efeitos intensificadores da imunidade, efeito hipocolesterolêmico, dentre outros (SHAHIDI, ARACHCHI e JEON, 1999; JEON, SHAHIDI e KIM, 2000; XIA, LIU, ZHANG e CHEN, 2011).



Figura 2 – Representação da estrutura planar do polímero (a) Quitina, (b) Quitosana.

Atualmente existe um número considerável de pesquisas sobre a eficiência dos oligômeros de quitosana e quitina. Estas pesquisas tem resultado em grandes avanços na glicotecnologia (CHIELLINI E., CHIELLINI F., CINELLI P, 2003).

Quitina e quitosana são similar a celulose, com respaldo de suas estruturas químicas, tendo um grupo acetamido ou amino tomado o lugar de um grupo hidróxido na posição do carbono 2 do anel glicosídico. A diferença entre quitina e quitosana está no teor de acetilas do polímero. O grau de desacetilação (DD) é um dos mais importantes parâmetros estruturais para caracterização de quitina e quitosana (DUMITRIU, 1996).

São conhecidas três estruturas cristalina da quitina (α , β e γ). α -quitina possui a forma ortorrômbica mais cristalina, onde as cadeias são antiparalelas, e pode ser obtida a partir de carapaça de caranguejo, lagostas e camarão. β -quitina tem uma forma cristalina monoclínica, onde as cadeias são paralelas, e pode ser obtida a partir de certas espécies de lulas. γ -quitina é uma mistura de α e β -quitina. α -quitina é mais resistente a modificações químicas devido as ligações de hidrogênio formadas entre as cadeias poliméricas, e condições de reação extremadas são exigidas para quebra-la, enquanto β -quitina é menos estável, e pode sofrer modificações em condições suaves de reação. Durante a dissolução ou extensivo encharcamento, β -quitina converte-se em α -quitina. Já o inverso não é observável (CHIELLINI, E., CHIELLINI, F., CINELLI, P., 2003).

Sawada et al. (2014), em estudos cristalográficos, confirmaram que moléculas de solvente (água e etilenodinamina) interagem com os grupos laterais da quitina modificando sua conformação e alterando o sistema de ligações de hidrogênio, sendo de efeito comum aos dois solventes a quebra da ligação de hidrogênio intramolecular O3–O5 e a mudança de conformação da hidroxila do C6. Wada et al. (2011) conciliando experimentos cristalográficos com dinâmica molecular clássica obtiveram resultados semelhantes para o polímero celulose.

Yu, Xu e Lau (2014) investigaram o efeito da acidez na interface quitina-proteína através de uma série de simulações de dinâmica molecular medindo a força de adesão entre a quitina e um peptídeo sobre condições ácidas e alcalinas. Os autores verificaram que os estados de protonação dos grupos terminais tem um papel importante na interface quitina-proteína. Resultados parecidos já haviam sido obtidos por Jin, Feng e Xu (2013), acrescentando que a presença de água na interface reduz a força interfacial ao enfraquecer a rede de ligações de hidrogênio.

1.2.2 Quitosana

Quitosana (Figura 2b) é um poliaminossacarídeo catiônico (pKa=6,5), produto da desacetilação da quitina. Apesar de ser encontrada naturalmente em alguns fungos, a maior parte da quitosana que se utiliza é derivada do tratamento básico da quitina. Quitosana é, teoricamente, definida como o polímero de N-glucosamina (ROBERTS, 1992). Quitosana, tanto quanto a quitina, tem recebido muita atenção devido aos suas potenciais aplicações na indústria, agricultura e medicina. É possível encontrar algumas similaridades entre as características estereoquímicas da quitosana (e, naturalmente, da quitina) e celulose, pois ambas envolvem a mesma configuração de ligação glicosídica.

O polímero quitosana é também cristalino e exibe um polimorfismo dependendo de seu estado físico (possui várias estruturas para a forma anidra, forma hidratada e para a forma de sal). Tal resultado é confirmado por análises de difração de raio-X. Assim o grau de cristalinidade da quitosana é uma função do grau de desacetilação. A cristalinidade é máxima para a quitina e para quitosana totalmente desacetilação. Por causa de sua estável estrutura cristalina, quitosana é normalmente insolúvel em solvente orgânicos e em soluções com pH acima de 7. Entretanto, ela dissolve-se prontamente na maioria de ácidos orgânicos, tais como, ácidos fórmico, acético e cítrico, tendo seus grupamentos amínicos sendo protonados e as moléculas tornam-se totalmente solúveis abaixo de pH 5. Quitosana é solúvel para uma extensão limitada de ácido inorgânicos (exceto fosfórico e sulfírico). A dependência da solubilidade da quitosana com o pH do meio é um artifício bastante útil. Quitina é insolúvel em água e é difícil isolá-la sem degradação. É solúvel em ácidos inorgânicos concentrados. (KURITA, 2001)

Estudos de raio-x de quitosana propõem uma conformação da cadeia similar à cadeia da celulose: uma conformação em hélice dupla com a distancia entre fibras repetidas de 10,25-10,43 Å (DWELTZ, 1960; YUI et al., 1994a).

Em solução, as moléculas de quitosana podem agir como policátions em pH ácido e suas propriedades (em solução) podem ser descritas em termos de sua viscosidade e força iônica (ROBERTS, 1992).

Em vista do interesse econômico, a quitosana tem a vantagem de ser um derivado do segundo biopolímero mais abundante na natureza, a quitina que perde apenas para a celulose

em termos de quantidade. A biocompatibilidade, biodegradabilidade e o perfil atóxico fazem da quitosana um dos biomateriais mais interessantes para aplicações industriais e tecnológicas (JAYAKUMAR, PRABAHARAN E MUZZARELLI, 2011).

Quitosana e quitina são apenas nomes genéricos, encontrados na literatura e em meios comerciais, dados aos polissacarídeos de cadeias lineares formados por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose (GlcNAc) e 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose (GlcN) unidas por ligações glicosídeas do tipo $\beta(1\rightarrow 4)$. O polímero quitina é o polissacarídeo linear constituído por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose unidas por ligações $\beta(1\rightarrow 4)$, mas sua ocorrência está sempre associada a resíduos de D-glucosamina (ANTONINO, 2007). Sua constituição é ainda incerta pois não se sabe se esse resíduos ocorrem naturalmente ou são frutos dos processos de obtenção e purificação da mesma (ROBERTS, 1992).

A diferença entre os dois copolímeros está na proporção de grupamentos amino, sendo estes presentes em maior número na estrutura da quitosana, enquanto que na estrutura química da quitina os grupamentos amino são substituídos por grupamentos acetamida. A proporção entre as duas unidades é definida como grau de acetilação (GA), mais especificamente a proporção entre as unidades contendo o grupamento acetamida (GlcNAc) em relação as unidades contendo o grupamento amino (GlcN) (GUINESI, ESTEVES e CAVALHEIRO, 2007).

Não existe na literatura científica a relação precisa, ou seja, o grau de acetilação, que defina propriamente quitina e quitosana. Diversos autores utilizam variadas definições. Alguns utilizam o termo quitina para identificar 40% de unidades desacetiladas e quitosana para identificar 60% das unidades desacetiladas (GOY, ASSIS e CAMPANA-FILHO, 2004). Outros consideram, como quitosana, o copolímero que possua um grau médio de acetilação menor do que 30% (SIGNINI, 2002).

Para quitina isolada o grau de acetilação é próximo a 90%, o teor de nitrogênio é tipicamente 7% e a relação N/C (nitrogênio/carbono) é de 0,146. A média da massa molecular da quitina está na ordem de MDa (megadaltons). Já a quitosana tem um grau de acetilação inferior a 40% e teor de nitrogênio superior a 7% (JOLLÈS E MUZZARELLI, 1999).

Apesar de ambos os polímeros serem insolúveis em água existe uma diferença clara e prática relacionada a solubilidade dos mesmos. Enquanto que quitina é insolúvel em meio

ácido, quitosana é solúvel. Essa tênue diferença produz uma forma, simples e prática, de diferenciação dos dois biopolímeros (SIGNINI, 2002).

O interesse em entender as propriedades do polímero quitosana a um nível molecular tem aumentado nos últimos anos, principalmente visto as aplicações deste polímero na indústria farmacêutica, sobretudo como carreador de fármacos. Rungnim et al. (2013) investigaram o efeito do tamanho da cadeia polimérica (30 e 60 unidades monoméricas) no melhoramento da solubilidade de nanotubos de carbono via dinâmica molecular clássica. O fármaco estudado foi a gemcitabina, um droga anticancerígena. Os autores sugerem o modelo com 60 monômeros como um bom candidato para um eficiente sistema carreador de fármacos.

Diversos estudos tem abordado técnicas experimentias, como a ressonância magnética nuclear, em conjunto com técnicas teóricas, como a simulação computacional, com o intuito de abrirem novas perspectivas para a análise de conformações de oligossacarídeos e de interações a nível atômico (ZHANG, YAMAGUCHI e KATO, 2013; ZHANG et al., 2012; YAMAMOTO et al., 2012). Madhuprakash et al. (2014) utilizaram o método de dinâmica clássica para dar suporte aos resultados experimentais e para estimar as energias livres de solvatação, para que assim pudessem alcançar melhores *insights* sobre os efeitos de mutação em relação as atividades hidrolíticas e de transglicosilação (polimerização).

Nos estudos de oligossacarídeos, uma extensa amostragem conformacional é requerida para acessar múltiplos confômeros. Dentro das diversas técnicas computacionais desenvolvidas para superar este problema está a simulação usando o método de troca de réplicas (HANSMANN e OKAMOTO, 1993). Neste método emprega um conjunto de simulações replicadas em diferentes temperaturas para superar as barreiras energéticas evitando assim a prisão em um mínimo local de energia (SUGITA e OKAMOTO, 1999).

1.3. MONOSSACARÍDEOS (MONÔMEROS)

Monossacarídeos são constituídos por cadeias de carbono, em média, de 3 a 9 átomos, com grupos internos CHOH, um grupo CH₂OH e um grupo aldeído (--CH—O) ou um grupo cetona (--C=O) como grupos terminais.

Glucosamina (Figura 3a), 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose, é um amino monossacarídeo, componente essencial de mucopolissacarídeo (glicosaminoglicanos) e do polímero quitina. Glicosaminoglicanos são grandes complexos de cadeias de carboidratos negativamente carregados, que são incorporados nas secreções das mucosas, tecido conjuntivo, pele, tendões, ligamentos e cartilagem. Glucosamina e seu derivado acetilado Nacetil-glucosamina (Figura 3b), 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose são sintetizados pelo corpo a partir da glicose. Assim, a glucosamina é um produto natural fisiologicamente vital ao corpo humano. De fato, GlcN e GlcNAc são sintetizados em todos os organismos, incluindo bactéria, leveduras, fungos filamentosos, plantas e animais. Por causa de sua alta concentração em tecidos articulares, existe a hipótese que suplemento de glucosamina promoveria alívio sintomático para osteoporose que desenvolveu-se a mais de 30 anos. Dessa forma a N-acetil-glucosamina, tanto quanto a glucosamina, são frequentemente prescritos para paciente com artrites em um esforço de reconstrução da cartilagem deteriorada (ANDERSON, NICOLOSI e BORZELLECA, 2005).

Figura 3 – Representação da estrutura planar da molécula glucosamina (a) e da molécula Nacetil-glucosamina (b).



Três formas de glucosamina são comumente disponíveis comercialmente: hidrocloreto de glucosamina, sulfato de glucosamina e N-acetil-glucosamina. Este compostos de glucosamina são geralmente extraidos da quitina (biopolímero presente no exoesqueleto de animais marinhos invertebrados). A glucosamina derivada da quitina presente na parede celular de vários fungos apresenta-se quimicamente idêntica àquela encontrada em invertebrados marinhos (INSTITUTE OF MEDICINE AND NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2004).

A molécula de glucosamina (GlcN) é bastante semelhante à molécula de glicose, podendo ser, então, entendida com um composto derivado de uma substituição do grupo

26

hidroxila de uma molécula de glicose por um grupo amino. A molécula de N-acetil-Dglucosamina possui um anel glicopiranosídico com um grupo acetamida no C2 equatorial.

Atualmente, GlcN é produzida principalmente por hidrólise ácida da quitina extraída da carapaças de caranguejo e camarão. Ácido clorídrico, geralmente à alta temperatura, quebra o polímero e desacetila GlcNAc para a forma GlcN. Essa reação é reversível, de modo que, pode se obter GlcNAc pela acetilação química de GlcN usando anidrido acético. Entretanto, este procedimento, tem muitos problemas, tais como, o alto custo, baixo rendimento (abaixo de 65%) e desperdício de reagentes (JAMIALAHMADI et al., 2011). A produção de GlcN usando este método de extração tem se tornado limitado, tanto pela variedade do abastecimento da matéria-prima quanto pelo aumento da demanda por GlcN. Além do mais, GlcN provindo de frutos do mar não deve ser adequado para pessoas com alergias à frutos do mar (DENG et al., 2006).

GlcN e GlcNAc podem, assim, ser obtidos por hidrólise enzimática de quitina, e as enzimas mais comumente usadas são as endochitinases, exochitinases, chitobiase e β -N-acetylhexosaminidases. No entanto, essas enzimas normalmente não podem hidrolizar eficientemente a α -quitina (SASHIWA et al., 2002; DUO-CHUAN, 2006).

Nas últimas décadas, muitos modelos teórico-experimental tem sido propostos para obter modelos moleculares de oligossacarídeos, polissacarídeos e porções de glicanos em proteínas (KAMIYA, SATOH e KATO, 2014; CASTILHO-ALMEIDA, ALMEIDA, e SANTOS, 2013). O maior objetivo destes estudos tem sido acessar pela dinâmica molecular as conformações e a flexibilidade dos carboidratos no vácuo ou em seus meios biológicos. Entretanto, muitas dificuldades tem aparecidos quando se realiza simulações de dinâmica molecular: trajetórias, por exemplo, exibem uma alta flexibilidade do anel piranosídico ou são inadequadas para reproduzir corretamente os espectros vibracionais dos componentes mais simples. Estes problemas poderiam surgir porque os parâmetros não são específicos para este tipo de molécula ou porque são determinados de forma errada (DAUCHEZ, DERREUMAUX e VERGOTEN, 1993; MEIER, THIEL, e GUNSTEREN, 2012).

Estudos envolvendo Car-Parrinello tem ganhado grande destaque na glicobiologia. Han et al. (2013) utilizando dinâmica molecular de Car-Parrinello revelaram detalhes da primeira camada de solvatação da molécula de N-propionil-D-glucosamina, um derivado da N-acetilglucosamina. Foram utilizados três tipos de solventes, sendo eles: água, metanol e dimetilsufóxido. Os resultados revelam influências da interação de ligação de hidrogênio soluto-solvente, bem como a glicose e os grupos etil nas propriedades vibracionais da amida-I da molécula estudada. Desta maneira, o modo amida-I na glucosamida exibe sensitividades estrutural e ao solvente, podendo ser usadas para caracterizar o arranjo tridimensional de resíduos de açucares e suas estruturas dinâmicas em glicopeptídeos.

Suzuki (2007) analisou a interação entre grupos hidrofílicos de um açúcar simples e as moléculas de água interfacial, ou seja, como individuais grupos hidroxílicos estão localmente hidratados. O estudo sugeriu que estes grupos formam grosseiramente duas ligações de hidrogênio e que tais locais de hidratação dos grupos hidroxílicos são sensivelmente afetado pelas aparentemente pequenas variações na estrutura eletrônica local e na polaridade da ligação dos grupos.

A hidratação da molécula de glicose foi estudado por Stubbs e Marx (2005) alterandose o número de moléculas de água para avaliar o efeito o tamanho do sistema. Os autores encontraram que aumentar o tamanho do sistema produz um pequeno efeito na função de distribuição radial de pares dos átomos de oxigênio da glicose e dos átomos de oxigênios das moléculas de água. Assim, os autores sugerem que 57 moléculas de água seriam suficientes para estudar o comportamento de moléculas de água na primeira camada de solvatação usando dinâmica molecular de Car-Parrinello.

Suzuki e Sota (2005) analisaram a estrutura de hidratação na superfície da molécula de β -Ribofuranose focando na rede de ligações de hidrogênio circular que envolve os oxigênios da ribofurose. O estudo indica que estas ligações não podem ser completamente explicadas apenas pelo ponto de vista geométrico.

Reações de açucares também tem sido intensamente investigadas. Qian (2011) elucidou o mecanismo de catálise ácida da conversão da β-D-glicose em 5-hidroxi-metilfurfural, um intermediário importante para a conversão da biomassa em biocombustível. O estudo foi feito utilizando o método de Car-Parrinello acoplado com metadinâmica. A barreira de reação estimada foi em torno de 30-35 kcal/mol, concordando com os dados experimentais. Qian e Wei (2012) analisaram, segundo o mesmo método supracitado, o mecanismo da isomerização da glicose em frutose (iniciada pela protonação do grupamento C2—OH). Mushrif, Varghesea e Vlachos (2014) também estudaram a isomerização da glicose catalisada por um centro metálico, átomo de cromo III, e envolve diretamente a participação de águas na primeira esfera de solvatação mediante a transferência protônica.

Van Bueren et al. (2012) realizaram cálculos de dinâmica molecular de Car-Parrinello para investigar as possíveis conformações do carboidrato monomérico α-L-fucose isolado e relacionaram tais resultados com as conformações desta molécula quando no sítio de enzimas do tipo α -L-Fucosidases, chegando a concluir que o mapa de energia livre das conformações foi inteiramente consistente com as conformações dos complexos enzima-ligante observado em estudos de cristalografia de raio-X.

Biarnés et al. (2007) analisaram o mapa de energia potencial da β -D-glicose e suas implicações para a preativação de enzimas do tipo glicosil-hidrolases (glicosidases). As propriedades eletrônicas e a estabilidade relativa de determinados confômeros da β -glicose permitem a ocorrência de conformações distorcidas nas estruturas de raios-X dos complexos enzima-substrato (Biarnés et al. 2007).

Ardèvol et al. (2012), em um estudo semelhante, analisaram as conformações da molécula de β -D-manose, um epímero da glicose. Analogamente, Iglesias-Fernández et al. (2014) realizaram a análise conformacional do carboidrato β -xilose. Ambos os estudos são importantes para a compreensão do mecanismo de quebra da ligação glicosídica por enzimas, visto que tal mecanismo envolve distorções no anel do substrado quando este se liga a enzima formando o complexo enzima-substrato (Complexo de Michaelis). Um estudo detalhado sobre enzimas celulósicas e quitinolíticas a um nível molecular foi dado por Beckham et al. (2014).

1.4 DISSACARÍDEO (DÍMERO)

Os produtos hidrolíticos da quitina e da quitosana tem ganhado interesse especial na agricultura e na indústria de alimentos. Quitooligossacarídeos tem sido propostos como agentes antimicrobianos, promotores de crescimento de plantas, indutores de resistência nas plantas, potenciadores de respostas imunes agentes contra tumores malignos. Os monômeros são usados como suplemento alimentar e no tratamento da osteoporose.

A molécula de quitobiose (Figura 4a) é um dímero de glucosamina, ou seja, ela é um dissacarídeo composto por duas moléculas de glucosamina unidas através de uma ligação glicosídica $\beta(1\rightarrow 4)$.

A molécula de N-acetil-quitobiose (Figura 4b) é o produto principal da reação enzimática da quitina com a pepsina bovina. Esse produto é resistente à hidrólise, e então à

decomposição em glucosamida, no mesmo meio em que foi produzido (ILANKOVAN, HEIN, NG, TRUNG e STEVENS, 2006). Este dissacarídeo é o indutor mais potente de algumas proteínas envolvidas no catabolismo da quitina em fungos e bactérias (BASSLER et al., 1991). É sabido também que tanto a N-acetil-glucosamina (monômero) quanto a quitobiose (dímero) são inibidores competitivos da lisozima (enzima digestiva) em temperatura baixa e normal (BERTHOU et al., 1979).

Nishimura e Kuzuhara (1990) reportaram que a partir da molécula de diacetilquitobiose é possível sintetizar um importante hormônio glicoproteico luteinizante, hormônio biológico que tem a função de ativar a fase sexual secundária.

Figura 4 – Representação da estrutura planar da molécula quitobiose (a) e da molécula de acetil-quitobiose (b)



(b)

Esse dímero pode ser obtido através de enzimas que hidrolizem a quitina (quitinases) ou quimicamente por emprego de ácidos fortes (hidrólise ácida) (YOON, J. H., 2005). De acordo com o tamanho molecular, polissacarídeos e oligossacarídeos são conhecidos por atuar provocando repostas biológicas em plantas e estimular a ativação de células exterminadoras (linfócitos) (DUO-CHUAN, 2006). O tamanho também influencia na farmocinética destes oligômeros. Em um estudo *in vivo*, Chen et al. (2005) encontraram que, dentre vários

quitooligossacarídeos, apenas quitobiose e quitotriose podem ser absorvidas apreciavelmente a partir do trato gastrointestinal.

A atividade hidrolítica que degrada a quitina e a quitosana em N,N-acetilquitobiose $(GlcNAc)_2$ e N,N-quitobiose $(GlcN)_2$ estão presumivelmente situadas no periplasma e são necessárias para produzir substratos adequados para o transporte através da membrana interna, como por exemplo os componentes do sistema de transporte fosfotransferase. Em seguida, a degradação enzimática toma lugar no citosol e resulta em frutose-6-P, NH₃ e acetato (KEYHANI e ROSEMAN, 1999)

Existem dois tipos de quitinases, as endoquitinases e as exoquitinases. As endoquitinases são aquelas que hidrolisam aleatoriamente o polímero quitina, produzindo assim compostos (multímeros) com diferentes massas moleculares e solúveis em água, como as as quitotetraoses, quitotrioses e diacetilquitobiose. As exoquitinases são enzimas que catalisam a hidrólise da quitina em diacetilquitobiose (quitobiosidases) ou em monômeros de GlcNAc (quitobiases) (KEYHANI e ROSEMAN, 1999; GOKUL et al., 2000; DUO-CHUAN, 2006).

Essas enzimas são encontradas em diversos organismos, incluindo protozoários (em menor extensão), bactérias, fungos, plantas, invertebrados (principalmente nematoides, insetos e crustáceos) e todas as classes de vertebrados (MARTÍNEZ, FALOMIR e GOZALBO, 2009). Digestão da quitina no trato digestivo (vertebrados), necessidade de degradação parcial da cutícula (insetos e crustáceos), defesa (plantas), autólise (autodigestão em fungos) são algumas das funções que as chitinases desempenham nos organismos (RAST et. al., 2003).

Quitooligossacarídeos surgem como uma proposta para contornar o problema da insolubilidade da quitina e quitosana, tendo em vista a suas aplicações (bioatividade). Assim, vários processos tem surgido visando a redução da massa molecular destes polímeros (despolimerização) sem alterar a suas estruturas químicas. (MOURYA, INAMDAR E CHOUDHARI, 2011). Alguns desses quitooligossacarídeos como, por exemplo, quitobiose, glucosamina e N-acetilglucosamina já são produzidos comercialmente por empresas como a Sigma Chemical Co. (E.U.A.) e a RC Bio-Chemical (Coréia do Sul).

Quitooligossacarídeos são co-oligômeros lineares unidos através de uma ligação $b(1\rightarrow 4)$ de unidades de 2-acetamido-2-desoxi-B-D-glucopiranose (GlcNAc) e 2-amino-2-

desoxi-B-D-glucopiranose em várias proporções. Os COS também são chamados de oligômeros de quitosana ou oligômeros de quitina (JEON, SHAHIDI e KIM, 2000).

A Figura 5 representa um fluxograma da produção de quitobiose, acetil-quitobiose, glucosamina e acetil-glucosamina a partir da fonte natural mais comum de quitina, carapaças de crustáceos (camarão, caranguejo, lagosta, etc.) (JEON, SHAHIDI e KIM, 2000; SHAHIDI, ARACHCHI e JEON, 1999).



Figura 5 – Preparação de quitobiose e acetil-quitobiose a partir da quitina.

A diferença entre a quitobiose (Figura 4a) e a acetil-quitobiose (Figura 4b) é o grupamento ligado ao carbono 2 de cada anel. Na quitobiose apresenta-se o grupamento amino, enquanto que, na acetil-quitobiose o grupamento é a acetamida. A quitobiose é o dissacarídeo da quitosana e a acetil-quitobiose é o dissacarídeo da quitina. A diferença entre a molécula de (GulN)₂ e a molécula de (GulNAc)₂ é a mesma diferença entre a quitobiose e a acetil-quitobiose, o grupamento do carbono 2 de cada anel. A diferença entre a quitobiose e a (GulN)₂ (Figura 6a) e, consequentemente, entre a acetil-quitobiose e a (GulNAc)₂ (Fugura 6b) consite na posição dos grupamentos em relação ao plano formado pelo anel glicopiranosídico. A quitobiose tem todos os ligantes em posição equatorial, enquanto que, a (GulNAc)₂ tem os ligante do carbono 3 e carbono 4 na posição axial. O mesmo acontece para a acetil-quitobiose e a (GulNAc)₂.





Enquanto a quitobiose e a acetil-quitobiose são derivados da glicose, as moléculas de $(GulN)_2$ e $GulNAc)_2$ são derivadas da gulose, que é um epímero (açucares que diferem na orientação dos grupamentos de um átomo de carbono específico) da galactose, que por sua vez é um epímero da glicose. A galactose é um epímero da glicose em relação ao carbono 4 e a gulose é um epímero da galactose em relação ao carbono 3, assim a gulose diferencia-se da glicose nas orientações dos grupamentos dos carbono 3 e 4 (NELSON, e COX, 2002).

1.5 DINÂMICA MOLECULAR DE SACARÍDEOS

Diversos carboidratos tem sido estudados via dinâmica molecular. Pincu e Geber (2012) utilizando resultados de dinâmica molecular examinaram a relação entre estrutura conformacional e hidratação de dois isômeros, cis e trans, da celobiose, o dissacarídeo da celulose. Diferentes propriedades eletrônicas foram encontradas à medida que o tamanho cluster aumentava. Assim a organização das moléculas de água na superfície do açúcar é, significantemente, diferente para os dois isômeros. Além, disso os autores encontraram que os rotâmeros observados no açúcar isolado a 300 K são inibidos pela camada de solvatação incompleta. Também diferentes reatividades foram encontradas por Pincu, Brauer e Geber (2013) para os dois isômeros em um sistema açúcar-próton.

Heyden et al. (2008) estudaram a lactose (glicose + galactose) e a trealose (dímero da α -glicose). Neste estudo, os autores mostram que a mudança induzida no soluto está diretamente relacionada com o número de ligações de hidrogênio formadas entre as moléculas de água e o sacarídeo. Quando um soluto está em um ambiente aquoso, seus grupos funcionais interagem com os requerimentos estruturais do solvente água, e sua presença pode impor um padrão de estrutura alternado nas moléculas adjacentes do solvente. A organização de moléculas de água ao redor de um soluto particular envolve, geralmente, ambas as correlações posicional e orientacional com a arquitetura química do soluto, e assim varia, em detalhes, de um molécula para outra. Naturalmente, essas interações com o solvente perturbam a distribuição eletrônica do soluto favorecendo algumas estruturas e conformações ao invés de outras (THOMPSON, 1998).

Pereira et al. (2006) simularam oito diferentes dissacarídeos da glicose usando dinâmica molecular clássica com solvente explícito. Ligações de hidrogênio interresíduos foram encontradas em todos os dissacarídeos, quase sempre envolvendo um hidrogênio doador do anel reduzido.

Qian et al. (2010) investigaram os efeitos da temperatura e da densidade de água na degradação de açúcares utilizando CPMD. Para os autores, a temperatura e a densidade de água podem afetar fortemente o mecanismo do processo e tais efeitos podem estar associados à força de ligações de hidrogênio e a afinidade por próton da água.

Dong et al. (2009) também observaram que a água e sua estrutura tem um papel importante em processos de protonação devido a forte afinidade do solvente por prótons. Segundo os autores, quanto mais moléculas de água se associam com o próton, mais deslocalizado o próton fica e mais alta é a barreira energética para a protonação da molécula de xilose, uma das etapas limitantes da reação de condensação da xilose no seu dissacarídeo (xilobiose). Resultados semelhantes foram apresentados por Liu et al. (2010) no estudo da condensação da glicose em celobiose.

CAPÍTULO 2 – REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 INTRODUÇÃO: QUÍMICA QUÂNTICA COMPUTACIONAL

Alder e Wainwright (1957) abriram o campo da ciência computacional ao calcular o diagrama de fases de um sistema de esferas duras, e em particular as regiões sólidas e líquidas. Nas décadas posteriores o crescimento desta ciência foi exponencial juntamente com o avanço tecnológico, principalmente na área da informação. Em 2013, pesquisadores desta área foram laureados com o prémio Nobel de Química (KARPLUS, LEVITT e WARSHEL, 2013).

Nestas últimas décadas, os trabalhos envolvendo a chamada ciência computacional se expandiram enormemente, e as técnicas computacionais evoluíram rapidamente de forma que os resultados obtidos estão cada vez mais condizentes com os resultados experimentais, chegando, em alguns casos, a realizar boas predições a respeito de dados que não são facilmente mensuráveis (RINO e STUDART, 2001). A aplicação de conhecimentos químicos, matemáticos e computacionais a problemas químicos é o que se chama de química computacional (RAMACHANDRAN, DEEPA e NAMBOORI, 2008).

Dessa forma, a simulação computacional é uma ótima alternativa para se conciliar a teoria com a prática, superando obstáculos onde a parte experimental é ainda imatura (ALLEN, 2004). Nesse sentido, a simulação tem o intuito de detalhar princípios científicos não tão bem estabelecidos, elucidar mecanismos de reação, bem como desmistificar outros, agregar melhorias ao processamento e desempenho de materiais estruturais e prever o comportamento de uma ampla gama de sistemas biológicos (RINO e STUDART, 2001), como por exemplo proteínas (SILVIA, 2003).

Em química computacional uma técnica bastante promissora é a dinâmica molecular, que estuda o comportamento de um sistema de partículas (moléculas) em função do tempo. Dentre dos vários tipos de dinâmica molecular, a dinâmica de Car-Parrinello tem se mostrado bastante promissora por realizar simulações em dinâmica *ab initio* e calcular as propriedades eletrônicas do estado fundamental de sistemas grandes e desordenados, a nível de cálculo de estrutura eletrônica (MARX e HUTTER, 2009).

2.2 EQUAÇÃO DE SCHRÖDINGER PARA MUITOS CORPOS

O mundo material da experiência diária, que abrange a química quântica e a física da matéria condensada, é construído por elétrons e certa quantidade (ás vezes milhares) de núcleos. A interação básica é a eletrostática ou coulômbica (FIOLHAIS, NOGUEIRA e MARQUES, 2003). Uma completa, porém não relativística, descrição de um sistema de N átomos de posições $R = R_i$ (i = 1, 2, 3, ... N) com n elétrons com posição $n = n_i$ (i = 1, 2, 3, ... N) é dada pela equação de Schrödinger dependente do tempo:

$$\mathcal{H}\Phi(\mathbf{R},\mathbf{r},t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Phi(\mathbf{R},\mathbf{r},t), \qquad (2.1)$$

com o operador Hamiltoniano (\mathcal{H}):

$$\mathcal{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{I=1}^{N} \frac{\nabla_I^2}{M_I} - \frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{i=1}^{n} \nabla_i^2 - \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0} \sum_{I=1}^{N} \sum_{i=1}^{n} \frac{Z_I}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} + \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0} \sum_{I=1}^{N-1} \sum_{J>I}^{N} \frac{Z_I Z_J}{|\mathbf{R}_I - \mathbf{R}_J|},$$
(2.2)

ou

$$\mathcal{H}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}) = \mathcal{T}(\boldsymbol{R}) + \mathcal{T}(\boldsymbol{r}) + \mathcal{V}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}) + \mathcal{V}(\boldsymbol{r}) + \mathcal{V}(\boldsymbol{R}), \qquad (2.3)$$

sendo o primeiro termo $(\mathcal{T}(\mathbf{R}))$ a soma da energia cinética dos núcleos, o segundo $(\mathcal{T}(\mathbf{r}))$ a soma das energias cinéticas dos elétrons, o terceiro $(\mathcal{V}(\mathbf{r}, \mathbf{R}))$ a contribuição das interações atrativas elétrons-núcleos, o quarto termo $(\mathcal{V}(\mathbf{r}))$ a contribuição das repulsões intereletrônicas e o quinto $(\mathcal{V}(\mathbf{R}))$ a contribuição das repulsões internucleares.

Aqui, $M_I \in Z_I$ denotam a massa e o número atômico do núcleo I; $m_e \in e$ são a massa eletrônica e a carga elementar, e ε_0 é a permissividade no vácuo. Os operadores nabla $\nabla_I \in \nabla_i$ atuam nas coordenadas nucleares I e eletrônicas i, respectivamente. A equação de Schrödinger dependente do tempo, como mostra a Equação (2.1) só é passível de ser resolvida analiticamente para sistemas simples. Para sistemas de muitos corpos, esta Equação é inviável de ser resolvida, pois o custo computacional é muito alto e o tempo de cálculo é da ordem da idade do universo (BOLOTIN, 2014). Porém, se o Hamiltoniano do sistema for temporalmente simétrico, ou seja, se não houver dependência explícita do Hamiltoniano em
relação ao tempo, então é possível escrever a função de onda como produto de duas funções, uma dependente das posições espaciais e outra dependente do tempo. Assim, é necessário algumas aproximações para tornar tal equação solúvel (DOLTSINIS e MARX, 2002).

Para um núcleo fixo define-se um Hamiltoniano parcial eletrônico da seguinte maneira:

$$\mathcal{H}_{el}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}) = \mathcal{T}(\boldsymbol{r}) + \mathcal{V}(\boldsymbol{R}) + \mathcal{V}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}) + \mathcal{V}(\boldsymbol{r}). \tag{2.4}$$

Assim, o Hamiltoniano total seria:

$$\mathcal{H}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}) = \mathcal{T}(\boldsymbol{R}) + \mathcal{H}_{el}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}). \tag{2.5}$$

Supondo que a solução exata da correspondente equação de Schrödinger eletrônica independente do tempo seja conhecida para núcleos fixos.

$$\mathcal{H}_{el}(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R})\Psi_k(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}) = E_k\Psi_k(\boldsymbol{r},\boldsymbol{R}). \tag{2.6}$$

Além disso, o espectro de \mathcal{H}_{el} é assumido como sendo discreto e as autofunções como sendo ortogonalizáveis. Assim a função de onda Φ pode ser expandida em termos das autofunções de \mathcal{H}_{el} , desde que este forme um conjunto completo de bases

$$\Phi(\mathbf{R},\mathbf{r},t) = \sum_{l} \Psi_{l}(\mathbf{r}_{i},\mathbf{R}_{I}) \chi_{l}(\mathbf{R}_{I},t). \qquad (2.7)$$

A função de onda χ_l pode ser vista como um coeficiente de expansão dependente do tempo. Este é um *ansatz* para a função de onda total proposto por Born (1951), no qual separa sistematicamente os leves elétrons do pesado núcleo.

Inserindo este *ansatz* na equação de Schrödinger dependente do tempo seguido pela multiplicação pela esquerda por $\Psi_k^*(\mathbf{r}, \mathbf{R})$ e integrando sobre as coordenadas eletrônicas leva a um conjunto de equações diferenciais acopladas

$$\left[\mathcal{T}(\boldsymbol{R}) + E_k(\boldsymbol{R})\right] \chi_k + \sum_l C_{kl} \chi_l = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \chi_k.$$
(2.8)

sendo o operador de acoplamento C_{kl} é o operador de acoplamento adiabático e é definido como:

$$\mathcal{C}_{kl} \equiv \langle \Psi_k | \mathcal{T}(\boldsymbol{R}) | \Psi_l \rangle - \sum_{I} \frac{\hbar^2}{M_I} \langle \Psi_k | \nabla_I | \Psi_l \rangle \nabla_I.$$
(2.9)

Os termos da diagonal C_{kk} representam a correção (adiabática) para os autovalores E_k da equação de Schrödinger eletrônica. A famosa aproximação adiabática é obtida tomando em consideração somente os termos da diagonal da matriz C_{kl} , ou seja, $C_{kl} \equiv \langle \Psi_k | \mathcal{T}(\mathbf{R}) | \Psi_l \rangle$, o segundo termo da Equação (2.9) é zero quando a função de onda eletrônica é real, o que resulta no completo desacoplamento do conjunto exato da Equação diferencial (2.8).

$$\left[\mathcal{T}(\mathbf{R}) + E_k(\mathbf{R}) + \mathcal{C}_{kk}\right] \chi_k = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \chi_k.$$
(2.10)

Essa aproximação implica que o movimento nuclear procede sem mudança no estado quântico do subsistema eletrônico durante a evolução temporal e, correspondentemente, a função de onda é reduzida a um termo simples:

$$\Phi(\mathbf{R}, \mathbf{r}, t) = \Psi_k(\mathbf{r}_i, \mathbf{R}_I) \chi_k(\mathbf{R}_I, t), \qquad (2.11)$$

sendo o produto direto de uma função eletrônica e uma função nuclear.

A última simplificação consiste em negligenciar também os termos de acoplamento da diagonal (C_{kk}):

$$\left[\mathcal{T}(\boldsymbol{R}) + E_k(\boldsymbol{R})\right] \chi_k = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \chi_k, \qquad (2.12)$$

esta simplificação é o que se chama de Aproximação de Born-Oppenheimer (ABO), que é como um caso particular da aproximação adiabática para a equação de Schrödinger dependente do tempo. Assim, tanto a Aproximação Adiabática quanto a ABO são derivadas de um caso especial baseado em um funcional *ansatz* particular da função de onda total (MARX e HUTTER, 2009).

A ABO é uma técnica usada em química quântica e física da matéria condensada de modo a desacoplar os movimentos do núcleo e dos elétrons. Ela se baseia no fato de que a velocidade dos elétrons é muitas vezes superior à dos núcleos. Assim o movimento dos elétrons pode ser desacoplado do movimento dos núcleos (RAMACHANDRAN, DEEPA e NAMBOORI, 2008).

Existe um grande número de situações físicas onde a ABO pode ser seguramente aplicada. Por outro lado, existem muitos fenômenos químicos importantes, tais como, reações de transferência de carga e reações de fotoisomerização, as quais ocorrem devido a inseparabilidade dos movimentos eletrônico e nuclear (inclusão de efeitos adiabáticos) (DOLTSINIS e MARX, 2002).

2.3 EQUAÇÕES DA TRAJETÓRIA

A solução da Equação (2.12) corresponde a uma descrição completa da dinâmica nuclear (quântica) com a ABO. Porém, para um sistema com muitos graus de liberdade, esse tipo de tratamento dos núcleos torna-se computacionalmente caro. Deste modo, uma outra aproximação é aceitável. Separando o módulo e a fase da função de onda nuclear no k-ésimo estado eletrônico

$$\chi_k(\boldsymbol{R}_I, t) = A_k(\boldsymbol{R}, t) e^{\frac{i}{\hbar} S_k(\boldsymbol{R}, t)}, \qquad (2.13)$$

onde A_k é o fator de amplitude e S_k a fase, sendo ambos considerados como números reais. Subistituindo a Equação (2.13) na Equação (2.12) e separando a parte imaginária da parte real, a equação para os núcelos se torna, para todos os termos reais

$$\frac{\partial S_k}{\partial t} = \hbar^2 \sum_I \frac{1}{2M_I} \frac{\nabla_I^2 A_k}{A_k} - \sum_I \frac{1}{2M_I} (\nabla_I S_k)^2 - E_k, \qquad (2.14)$$

e para todos os termos imaginários

$$\frac{\partial A_k}{\partial t} = -\sum_I \frac{1}{2M_I} (\nabla_I A_k) (\nabla_I S_k) - \sum_I \frac{1}{2M_I} (\nabla_I^2 S_k).$$
(2.15)

Multiplicando a Equação (2.15) por $2A_k$ pela esquerda, pode-se reescrevê-la:

$$\frac{\partial A_k}{\partial t} 2A_k = -\sum_I \frac{1}{2M_I} (\nabla_I A_k) (\nabla_I S_k) - \sum_I \frac{1}{2M_I} (\nabla_I^2 S_k), \qquad (2.16)$$

assim:

$$\frac{\partial A_k^2}{\partial t} + \sum_I \frac{1}{M_I} \nabla_I (A_k^2 \nabla_I S_k) = 0.$$
(2.17)

A Equação (2.17) é facilmente identificada como uma equação de continuidade, do tipo

$$\frac{\partial P}{\partial t} + \sum_{I} \nabla_{\alpha} \boldsymbol{\mathcal{J}}_{k,\alpha} = 0, \qquad (2.18)$$

onde $P = A_k^2$ e $\mathcal{J}_{k,\alpha} = A_k^2 (\nabla_I S_k) / M_I$ são a densidade de probabilidade da função nuclear e a densidade corrente associada ao k-ésimo estado eletrônico, respectivamente (DOLTSINIS e MARX, 2002).

A Equação (2.17) é independente de \hbar e garante localmente a conservação da densidade de probabilidade $|\chi_k|^2$ do núcleo na presença de um fluxo. Assim, no limite clássico ($\hbar \rightarrow 0$), a Equação (2.17) não sofre alteração, porém a Equação (2.14) torna-se:

$$\frac{\partial S_k}{\partial t} = -\sum_I \frac{1}{2M_I} (\nabla_I S_k)^2 - E_k.$$
(2.19)

A Equação (2.19) é similar à formulação de Hamilton-Jacob da mecânica clássica em que o hamiltoniano é definido por

$$H_k(\boldsymbol{R}_{\boldsymbol{\alpha}}, \boldsymbol{P}_{\boldsymbol{\alpha}}) = T(\boldsymbol{P}_{\boldsymbol{\alpha}}) + V_k(\boldsymbol{R}_{\boldsymbol{\alpha}}), \qquad (2.20)$$

para um estado k. Analogamente a mecânica clássica tem-se:

$$\underbrace{\frac{\partial S_k}{\partial t}}_{T} + \underbrace{\sum_{I} \frac{1}{2M_I} (\nabla_I S_k)^2}_{T} + \underbrace{E_k}_{V_k} = 0 \implies \frac{\partial S_k}{\partial t} + H_k (\mathbf{R}, (\nabla_I S_k)) = 0. \quad (2.21)$$

Se o sistema for conservativo, então:

$$\frac{\partial E_k^{total}}{\partial t} = 0 \implies E_k^{total} = constante.$$
(2.22)

Consequentemente,

$$\frac{\partial S_k}{\partial t} = -(T + E_k) = -E_k^{total} = cons, \qquad (2.23)$$

obtém-se a conhecida equação de Hamilton-Jacobi da mecânica clássica. Logo,

$$\frac{\partial S_k}{\partial t} + H_k(\mathbf{R}, (\nabla_I S_k)) = 0 \implies const + H_k(\mathbf{R}, (\nabla_I S_k)) = 0, \qquad (2.24)$$

ou

$$H_{k}(\mathbf{R}, (\nabla_{I}S_{k})) = \sum_{I} \frac{1}{2M_{I}} (\nabla_{I}S_{k})^{2} + E_{k} + const, \qquad (2.25)$$

onde

$$P_k \equiv \nabla_I S_k = M_\alpha \frac{\mathcal{J}_{k,\alpha}}{\rho_k}.$$
 (2.26)

Comparando com a formulação clássica de Hamilton-Jacobe

$$\dot{\boldsymbol{P}}_{k} = -\boldsymbol{\nabla}_{l} \boldsymbol{V}_{k}(\{\boldsymbol{R}_{\boldsymbol{\alpha}}\}), \qquad (2.27)$$

tem-se:

$$\frac{d\boldsymbol{P}_{\alpha}}{dt} = -\boldsymbol{\nabla}_{\alpha} \boldsymbol{E}_{k}, \qquad (2.28)$$

ou

$$M_I \ddot{\boldsymbol{R}}_I = \boldsymbol{\nabla}_I V_k^{BO}(\{\boldsymbol{R}_I(t)\}), \qquad (2.29)$$

para cada estado eletrônico k desacoplado. Aqui, trabalha-se com coordenadas (\mathbf{R}_{α}) e momentos conjugados (\mathbf{P}_{α}) generalizados.

A Equação (2.29) mostra que os núcleos movem-se de acordo com a mecânica clássica em um potencial efetivo $V_k^{BO}(\{\mathbf{R}_I(t)\})$ dado pela superfície de Born-Oppenheimer E_k obtida resolvendo adiabaticamente a equação de Schrödinger independente do tempo para um estado k para uma dada configuração nuclear $\mathbf{R}(t)$. A esta dinâmica costuma-se chamar de Dinâmica Molecular de Born-Oppenheimer (BOMD, do inglês *Born-Oppenheimer Molecular Dynamic*), uma vez que as forças que movimentam os núcleos são obtidas adiabaticamente a partir da superfície de Born-Oppenheimer (MARX e HUTTER, 2009).

Essas aproximações, apresentadas anteriormente, são as bases da dinâmica molecular convencional. Assim, inicialmente, um cálculo da trajetória clássica trata simplesmente da integração das equações de Newton. Na prática, no entanto, esta tarefa aparentemente simples é complicada pelo fato de que a equação de Schröndiger não pode ser resolvida exatamente para um sistema de muitos elétrons, o tão conhecido problema eletrônico. Portanto, a superfície de energia potencial deve ser aproximada usando métodos de estrutura eletrônica *ab initio* ou potenciais de interação empíricos (conhecidos como campo de força). Esses últimos são problemáticos, pois parâmetros empíricos obtidos para um sistema específico sobre certas condições experimentais não são geralmente transferível para outros sistemas sobre condições diferentes. Além disso, o uso de pares de potenciais é perigoso, desde que efeitos de muitos corpos não são propriamente levados em consideração. Potenciais de interação de muitos corpos para sistemas com diferentes elementos químicos, por outro lado, não podem ser determinados precisamente. A maior limitação dos potenciais empíricos é a

incapacidade de descrever reações químicas, ou seja, quebra e formação de ligações (DOLTSINIS e MARX, 2002).

Devido ao alto custo computacional associado aos cálculos de estrutura eletrônica *ab initio* de moléculas grandes, a construção da superfície de energia potencial do sistema é normalmente evitada. Assim, uma alternativa mais eficiente, em uma simulação de dinâmica molecular, é a evolução da energia eletrônica e das forças nucleares "*on the fly*" em cada passo ao longo da trajetória. Na implementação de Born-Oppenheimer, os núcleos são propagados pela integração da Equação (2.28), onde a exata energia E_k é trocada pelo autovalor, $\widetilde{E_k}$, do Hamiltoniano eletrônico aproximado, \mathcal{H}_{el} , que é calculado em cada passo da simulação. Para o estado fundamental, k = 0, o uso da Teoria do Funcional Densidade, proposto por Kohn e Sham (1965), tem se tornado muito popular. Esta teoria parte da suposição de que as propriedades dos átomos e moléculas são funções da densidade de carga do sistema. O fato de que as propriedades de um sistema no estado fundamental são funcionais da densidade eletrônica ρ (**r**) foi introduzida por Hohenberg e Kohn (1964) e é a base para modernos métodos do funcional densidade.

Calcular a estrutura eletrônica de uma molécula significa obter as configurações dos orbitais atômicos de cada átomo da molécula. É necessário que se encontre o conjunto de configurações que minimize a energia do sistema, uma vez que ocorre interação entre as diferentes configurações atômicas. Um cálculo deste nível, ou seja, calcular a equação de Schrödinger só é possível para sistemas pequenos. Uma vez que se tenha um sistema grande, o número de integrais a se resolver é tal que o tempo de vida humano e a mais avançada das tecnologias não seriam suficientes. Nomeia-se este tipo de cálculo por cálculo quântico, visto que a mecânica utilizada para tal é a mecânica quântica (CASAGRANDE, 2007).

Tendo em vista superar tal dificuldade e tornar viável o cálculo de estrutura eletrônica de moléculas ou sistemas grandes é necessário que se faça aproximações na teoria quântica. Uma delas é considerar, no momento do cálculo das funções de onda, apenas os elétrons de valência e substituir o núcleo e os elétrons internos (caroço iônico) por um potencial positivo fraco, uma vez que o potencial do núcleo é blindado pelos elétrons internos. Estes, normalmente, não participam da reação, o que justifica a substituição por um potencial fraco, chamado também de pseudopotencial. Essa aproximação reduz a quantidade de funções de onda a ser calculada reduzindo assim o custo computacional e o tempo de cálculo. Os pseudopotenciais mais utilizados são os de Vanderbilt (1990) e Troullier e Martins (1991) (VANDERBILT, 1990; TROULLIER e MARTINS, 1991). Tais pseudopotenciais são

gerados através de cálculos *ab initio*, não sendo, assim, utilizado nenhum parâmetro experimental para a geração, o que os tornam mais eficazes (CASAGRANDE, 2007).

2.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE

Funcional é uma função de outra função. Matematicamente, um funcional é uma regra que associa uma função à um número. Assim, um funcional provê um número através de uma função. Um exemplo simples de um funcional é o número de partículas N. A Equação (2.30) é uma regra para obter o número N, dada uma certa função n(r) (KAPELLE, 2006).

$$N = \int d^3 r n(r) = N[n] \tag{2.30}$$

A teoria do funcional densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*) permite calcular todas as propriedades de um sistema através da densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$, que é uma função de três variáveis: $\rho(\mathbf{r}) = f(x, y, z)$. Como a densidade é uma função da função de onda, ela é chamada de funcional.

A energia total de um elétron no estado fundamental pode ser escrita como um funcional da densidade eletrônica. Esta energia está em um mínimo se a densidade corresponde a exata densidade do estado fundamental. O teorema de Hohenberg-Kohn (HK) é uma prova deste funcional, porém não existem métodos para construí-lo. Uma vez que este funcional está totalmente caracterizado, a química quântica seria capaz de estabelecer as propriedades. Infelizmente, não se sabe a forma exata deste funcional. É necessário usar aproximações considerando partes do funcional que lida com a energia cinética e as energias de troca e correlação de um sistema de elétrons (RAMACHANDRAN, DEEPA e NAMBOORI, 2008).

HK provaram que qualquer observável de um sistema mecânico-quântico estacionário (inclusive energia), pode ser calculado exata e unicamente, em princípio a partir da densidade do estado fundamental (primeiro teorema de HK), ou seja, todo observável pode ser escrito como um funcional da densidade do estado fundamental.

$$\nu \stackrel{\mathcal{C}}{\hookrightarrow} \Psi \stackrel{\mathcal{D}}{\hookrightarrow} \mathcal{N}$$

Sendo ν o conjunto de potenciais externos de uma única partícula, Ψ o conjunto das funções de onda de todos os elétrons e \mathcal{N} o conjunto de todas as densidades do estado fundamental. Uma vez que se possa provar que o caminho C e D são um para um (função injetora), eles podem ser invertidos,

$$\nu \stackrel{c}{\leftarrow} \Psi \stackrel{D}{\leftarrow} \mathcal{N}$$

Isto significa que um completo mapa inverso $(CD)^{-1}$ existe,

$$\rho(\mathbf{x}) \stackrel{(CD)^{-1}}{\hookrightarrow} v(\mathbf{x}).$$

Além disso, o conhecimento da densidade do estado fundamental determina o potencial externo do sistema (sobre uma constante trivial) e assim, como a energia cinética T_e e a interação entrepartículas V_{ee} são especificadas, o Hamiltoniano e a energia total do estado fundamental

$$E[\rho] = T_e[\rho] + V_{ext}[\rho] + V_{ee}[\rho].$$
(2.30)

A densidade de estado fundamental pode ser calculada exatamente, em princípio, usando o método variacional envolvendo apenas a densidade (segundo teorema de HK) (TAVERNELLI,2013).

De acordo com o teorema de Hohenberg-Kohn, a energia total do estado fundamental de um sistema de um elétron pode ser escrito como um funcional da densidade eletrônica, e esta energia é mínima se a densidade é uma densidade exata para o estado fundamental. Assim,

$$E_{EF} = E[\rho(r)], \qquad (2.31)$$

e

$$E_{EF} = \min_{\rho \in N} E_{V_0}[\rho(r)] = E_{V_0}[\rho_{V_0}(r)].$$
(2.32)

Em um sistema molecular, elétrons interagem um com outro e com um conjunto de núcleos fixos carregados positivamente. O campo exercido pelos núcleos é chamado de um campo "externo" e pode ser considerado para definir o Hamiltoniano. Agora considere que se tenha uma densidade de elétrons no estado fundamental ρ_0 . Se este potencial externo (arranjo do núcleo) for unicamente determinado, o Hamiltoniano é também determinado e assim a energia do estado fundamental é fixa. Assume-se o contrário que ρ_0 é consistente com os dois potenciais V_A e V_B . Então, existem dois Hamiltonianos \mathcal{H}_A e \mathcal{H}_B , tanto quanto duas funções de onda do estado fundamental ψ_A e ψ_B e associadas a autovalores E_A e E_B . Pelo teorema variacional tem-se:

$$E_A < [\langle \Psi_B | \mathcal{H}_A | \Psi_B \rangle = \langle \Psi_B | \mathcal{H}_A - \mathcal{H}_B + \mathcal{H}_B | \Psi_B \rangle].$$
(2.33)

Assim,

$$E_A < \left[E_B + \langle \Psi_B | \mathcal{H}_A - \mathcal{H}_B | \Psi_B \rangle = E_B + \int (V_A - V_B) \rho_0 \, d\mathbf{r} \right], \tag{2.34}$$

Pelo mesmo procedimento teríamos para B:

$$E_B < E_A + \int (V_B - V_A) \rho_0 d\mathbf{r}.$$
 (2.35)

Somando as Inequações (29) e (30) tem-se:

$$\mathbf{E}_A + \mathbf{E}_B < \mathbf{E}_A + \mathbf{E}_B. \tag{2.36}$$

A Equação (2.36) é uma contradição, logo não pode ser o caso que uma densidade simples com dois potenciais V_A e V_B . Assim, a densidade deve determinar o Hamiltoniano, e então a energia do estado fundamental. Enquanto ista dá garantia da existência de uma solução, nota-se que ela não diz como construir a solução (TRINDLE e SHILLADY, 2008).

Os teoremas originais referem-se ao estado fundamental (estacionário) independente do tempo, mas estão sendo estendidos para estados excitados e potenciais dependentes do tempo. Adicionalmente, HK agruparam todos os funcionais que não dependem do potencial externo $V_{ext}[\rho]$,

$$E[\rho] = V_{ext}[\rho] + F_{HK}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) \, d\mathbf{r} + F_{HK}[\rho].$$
(2.37)

O funcional F_{HK} opera somente na densidade e é universal, ou seja, sua forma não depende de um sistema particular sob alguma consideração (TAVERNELLI, 2013).

2.5 AS EQUAÇÕES DE KOHN-SHAM

A mais prática aplicação de cálculos de estrutura eletrônica usando a DFT envolve resolver as equações de Kohn-Sham (NALEWAJSKI, 1996).

Kohn e Sham introduziram a noção de que a densidade verdadeira para um sistema de elétrons interagente deve ser idêntica a densidade para um sistema de elétrons não interagentes, ou seja, dado um sistema eletrônico não interagente, existe um potencial fictício $v_s(\mathbf{r})$, tal que $\rho_s(\mathbf{r}) = \rho(\mathbf{r})$. Se essa afirmação é verdadeira, a equação de Schrödinger é separável e o determinante de Slater dos orbitais para os elétrons não interagentes é uma solução exata, definindo assim a exata densidade como:

$$\rho = \sum_{i}^{n} Ni \chi_{i}^{*} \chi_{i}; \ desde \ que \ E[\rho] = T_{n\tilde{a}o-int.} + V_{n\acute{u}c-ele.} + V_{ele.-ele.} + \Delta T.$$
(2.38)

Assim,

$$E[\rho] = \sum_{i}^{n} \langle \chi_{i} | t(i) | \chi_{i} \rangle - \sum_{i,A} \left\langle \chi_{i} \left| \frac{Z_{A}}{|r_{i} - R_{A}|} \right| \chi_{i} \right\rangle + \sum_{i} \left\langle \chi_{i} \left| \frac{1}{2} \int \frac{\rho(r')}{|r_{i} - r'|} dr' \right| \chi_{i} \right\rangle + E_{XC}. \quad (2.39)$$

Esta não é uma solução exata, desde que a energia cinética definida pelos orbitais não interagentes deve ser alterada pelas interações dos elétrons em uma quantidade ΔT . A energia total inclui a repulsão eletrostática entre as cargas nucleares, ou seja,

$$E_{tot} = E[\rho] + \sum_{A>B}^{\acute{o}tomos} \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{R}_A - \mathbf{R}_B|}.$$
(2.40)

As manipulações usuais SCF (do inglês, *Self-Consistent Field*), Campo autoconsistente – minimizar a energia com respeito à forma dos orbitais para os elétrons não interagentes mantendo a ortonormalidade deles – produz as equações de Kohn-Sham, e introduzem o problema central da DFT, a forma desconhecida do funcional de troca e correlação V_{XC} .

$$h_i^{KS}\chi_i = \mathcal{E}_i\chi_i, \tag{2.41}$$

$$h_i^{KS} = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum \frac{Z_A}{|r_i - R_A|} + \int \frac{\rho(r')}{|r_i - r'|} dr' + V_{XC}[\rho].$$
(2.42)

Se V_{XC} é conhecido, tem-se um caminho para calcular a energia exata. Porém, mesmo um V_{XC} aproximado deve ser melhor do que a teoria SCF. A formulação de Kohn-Sham procura um método preciso dentro da DFT sem abandonar os conceitos de orbitais de um elétron (TRINDLE e SHILLADY, 2008).

A energia total pode ser escrita em termos da energia dos orbitais de KS:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] + \int v(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r}.$$
(2.43)

A única quantidade desconhecida em um cálculo usando o funcional spin-densidade de Kohn-Sham é a energia de troca e correlação (e seu derivado funcional),

$$E_{XC} = T - T_s + V_{ee} - U, (2.44)$$

onde *T* é a energia cinética de interação, T_s é a energia cinética de não interação, V_{ee} é exatamente o potencial Coulomb de repulsão, e *U* é a energia clássica de Coulomb associada à densidade ρ (*r*) (NALEWAJSKI,1996).

A DFT reformula o problema eletrônico em termos da distribuição da densidade eletrônica, $\rho(r)$ e de um funcional da densidade $E_{XC}[\rho(r)]$. O problema da equação de Schrödinger de muitos elétrons é trocado pelo problema de encontrar aproximações precisas para o $E_{XC}[\rho(r)]$ e, então, resolver equações apropriadas de um elétron (GROSS e DREIZLER, 1995).

A mais simples aproximação é a chamada Aproximação da Densidade Local (do inglês, *Local Density Approximation*, ou LDA) que leva ao termo de Thomas-Fermi (Fermi, 1928; Thomas, 1927) para a energia cinética e o termo de Dirac (1930) para a energia de troca. O correspondente funcional é chamado de energia de Thomas-Fermi-Dirac (RAMACHANDRAN, DEEPA e NAMBOORI, 2008).

Nesta aproximação, LDA, as propriedades eletrônicas são determinadas como funcionais da densidade eletrônica ao se aplicar localmente relações apropriadas à um sistema eletrônico homogêneo (PARR e YANG, 1989). Na LDA a aproximação é

$$E_{XC}^{LDA}[\rho(r)] = \int n(r)\mathcal{E}_{XC}(n(r))dr, \qquad (2.45)$$

onde $\mathcal{E}_{XC}(n)$ é a tão precisamente conhecida energia de troca e correlação por partícula de um gás de elétrons uniforme de densidade *n* (GROSS e DREIZLER, 1995).

A LDA é, por definição, exata para um sistema homogêneo, e arbitrariamente precisa para um sistema de densidade lenta e suficientemente variante (GROSS e DREIZLER, 1995).

Thomas e Fermi (1920) perceberam que considerações estatísticas poderiam ser usadas para aproximar a distribuição de um elétron em um átomo. A hipótese de Thomas (1927) era que os elétrons estariam distribuídos uniformemente no espaço de fase hexadimensional na razão de dois para cada elemento h^3 do volume, e existe um campo potencial efetivo que é determinado pela carga nuclear e esta distribuição de elétrons. A fórmula de Thomas-Fermi para a densidade eletrônica foi derivada dessas afirmações. Porém, este método primitivo não era capaz de predizer ligações moleculares. Tal fato associado a baixa precisão para átomos em relação à outros métodos, fez com que o método fosse visto como um modelo simplificado de pouca importância para predições quantitativas em física atômica, molecular ou do estado sólido (PARR e YANG, 1989).

A grande vantagem da DFT consiste no fato de que ao usar a densidade como parâmetro para se obter os observáveis do sistema, a quantidade de equações a serem resolvidas diminui drasticamente. Isso ocorre, porque a densidade eletrônica é uma função real que depende somente de três variáveis, as coordenadas espaciais. No entanto, para a resolução da equação de Schrödinger para sistemas complexos, o número de variáveis de uma função de onda é igual ao número de graus de liberdade do sistema (3N variáveis – função de onda para cada elétron), e este cresce proporcionalmente ao número de elétrons (KLAUS KAPELLE, 2006).

Uma simples estimativa da complexidade desta tarefa é imaginar a representação de Ψ em 1 mesh (pontos de rede), em que cada coordenada é discretizada usando 20 mesh (o que não é muito). Para *N* elétrons, Ψ torna-se uma função de 3*N* coordenadas (ignorando spin, e tomando Ψ como sendo real), e 20^{3N} valores são requeridos para descrever Ψ em 1 mesh. A densidade, por sua vez, é uma função de três coordenadas, e requer 20³ valores para o mesmo mesh. Assim, para N = 10 elétrons, a função de onda de muitos corpos requer $20^{30}/20^3 \sim 10^{35}$ vezes mais espaço de armazenamento do que a densidade, e $20^{30}/(10 \times 20^3) \sim 10^{34}$ vezes mais do que o conjunto de orbitais de uma partícula simples. O uso de simetria pode reduzir estas relações, porém a completa função de onda de vários corpos permanece inacessível para sistemas reais com muito mais do que poucos elétrons (KLAUS KAPELLE, 2006).

2.6 DINÂMICA MOLECULAR

A palavra dinâmica prôvem do grego "dunamikós" e significa potente, forte (HOUAISS, VILLAR e FRANCO, 2009). As leis da dinâmica foram formuladas por Galileu e Newton. A Dinâmica como ciência é entendida, hoje, como o estudo sistemático dos movimentos dos corpos. A ideia de que para um corpo estar em movimento é necessário que uma força atue sobre ele, origina o nome de tal ciência. Assim dinâmica molecular é a parte da dinâmica onde os corpos estudados são átomos ou moléculas (agregados atómicos).

Basicamente, o comportamento de qualquer sistema de partículas pode ser descrito através da equação de Schrödinger dependente do tempo, que deve englobar as contribuições de todas as partículas do sistema, tais como prótons e elétrons. A dificuldade, ou mesmo impossibilidade, de se resolver essa equação para sistemas de muitos corpos, sendo um objeto macroscópico um sistema de muitos corpos quânticos, resulta na utilização de aproximações, permitindo assim obter a solução dessa equação (FIELD, 2007).

Com origem na equação de Schrödinger, dois métodos de estudo de sistemas químicos foram desenvolvidos, o método *ab initio* e o método semiempírico. Basicamente, no método *ab initio* são feitas aproximações para as integrais ou hamiltoniano eletrônico, enquanto que no método semiempírico são feitas simplificações na parte eletrônica utilizando parametrizações obtidas de informações experimentais (SZABO e OSTLUND, 1989).

Nesse sentido, surgem três vertentes de dinâmica molecular: a quântica, a semiquântica (semiclássica ou quanto-clássica) e a clássica. O gasto computacional varia para cada dinâmica a medida que o sistema tratado varia, assim a aplicação de cada tipo de dinâmica está associada ao tempo computacional que se gasta para realizar os cálculos (KOTELYANSKII e THEODOROU, 2004).

A dinâmica molecular clássica faz uso de potenciais pré-definidos, campos de força, baseados em dados experimentais ou em cálculos independentes da estrutura eletrônica (MARX e HUTTER, 2009). As equações utilizadas para se obter as posições e as velocidades dos átomos no sistema são baseadas nas leis de Newton. Essas equações são integradas numericamente e o resultado são as posições e as velocidades dos átomos. A DMC é uma importante ferramenta no estudo de sistemas de muitos corpos, uma vez que com a utilização de equações clássicas, relativamente simples quando comparadas as equações da mecânica quântica, permite o cálculo de propriedades dinâmicas e no equilíbrio de um sistema com vários corpos, tais como as proteínas. Essa aproximação (equações clássicas) é satisfatória se o espaçamento hv entre os sucessíveis níveis de energia for hv > K_bT. (KOTELYANSKII e THEODOROU, 2004).

Esse tipo de dinâmica permite o cálculo de propriedades de sistemas grandes em um tempo relativamente curto, o que com o uso de dinâmicas do tipo quântica ou semi-quântica é

impossível se realizar ou demanda de um alto custo computacional e uma espera bastante grande para simulações realística.

Porém a utilização da dinâmica molecular clássica possui alguns entraves. Quando se quer estudar fenômenos físicos essencialmente quânticos, como por exemplo o efeito de tunelamento de átomos de hidrogênio, não o é possível através da DMC. Outra dificuldade inerente a DMC é a determinação antecipada dos potenciais fixos que, por exemplo, para diferentes átomos ou vários tipos de moléculas, necessita da parametrização das diferentes interações interatômicas. Uma vez que definido os potenciais, de forma satisfatória, alterar uma única espécie leva a enormes esforços para padronizar novamente os novos potenciais (MARX e HUTTER, 2009).

Nesse sentido é necessária a utilização de um método mais refinado que permita bons resultados. Os métodos denominados de *ab initio* (do latim: primeiros princípios) são aqueles que não fazem uso de nenhum dado experimental. A dinâmica molecular *ab initio* procura calcular as forças que atuam sobre o núcleo a partir de cálculos de estrutura eletrônica executados em tempo real (*"on the fly"*) a medida que a trajetória da dinâmica é gerada. Diferentemente da DMC (método semiempírico), na dinâmica *ab initio* as variáveis eletrônicas são calculadas a cada passo da simulação e não mais definidos de antemão como potenciais de interação fixo (MARX e HUTTER, 2009).

Três métodos *ab initio* de dinâmica molecular são bastante conhecidos, são eles: a dinâmica molecular de Ehrenfest (EMD, do inglês *Ehrenfest Molecular Dynamic*), de Born-Oppenheimer (BOMD) e de Car-Parrinello (CPMD, do inglês *Car-Parrinello Molecular Dynamic*).

A EMD se baseia na resolução da solução das equações de Newton para os núcleos simultaneamente com a resolução da equação de Schrödinger para os elétrons. Nessa dinâmica o núcleo é considerado uma partícula clássica, pontual, sendo que a dinâmica newtoniana pode ser obtida derivando-se a função de onda de Schrödinger dependente do tempo. Essa mistura de elementos clássicos (equações clássicas) com elementos quânticos (equação de Schrödinger) é um exemplo de Dinâmica molecular quanto-clássica (MARX e HUTTER, 2009).

A BOMD consiste no cálculo da estrutura eletrônica em cada etapa da dinâmica, dado um conjunto de posições nucleares fixas naquele instante. Feito isso, a estrutura eletrônica é reduzida para a resolução de um problema quântico independente do tempo. Dessa forma a dependência do tempo da estrutura eletrônica é imposta e ditada pela sua dependência paramétrica a dinâmica clássica dos núcleos (MARX e HUTTER, 2009).

2.6.1 Dinâmica Molecular de Car-Parrinello

As dificuldades em se calcular as propriedades de um determinado no equilíbrio e no não-equilíbrio são várias ao se utilizar potenciais empíricos, pois os mesmos não conseguem descrever vários sistemas, como sistemas covalente e metálicos. Diante dessas dificuldades, em 1985, Roberto Car e Michele Parrinello apresentaram um novo método capaz de contornar alguns problemas das técnicas que o antecedem. Esse método ficou conhecido como dinâmica molecular de Car-Parrinello (CPMD). Através dele foi possível calcular as propriedades eletrônicas do estado fundamental de sistemas grandes e desordenados, utilizando para isso a teoria do funcional densidade, e foi possível também realizar simulações do tipo *ab initio* usando a validade da mecânica clássica para descrever o movimento iônico e a aproximação de Born-Oppenheimer para separar as coordenadas eletrônica e nuclear (CAR e PARRINELLO, 1985).

Dessa maneira a CPMD é uma otimização das vantagens da dinâmica molecular de Ehrenfest e de Born-Oppenheimer, de forma que o sistema eletrônico é conduzido exatamente ao seu estado fundamental durante todo o movimento iônico. Logo a abordagem de Car-Parrinello ampliou o conjunto de sistemas tratáveis, estudando sistemas grandes com um custo computacional baixo (BOENEMANN e SCHÜTTE, 1998).

A CPMD permite calcular o movimento atômico (forças e potenciais) diretamente a partir da estrutura eletrônica. A ideia básica dessa dinâmica é a introdução de uma dinâmica fictícia na função de onda eletrônica que é tratada da mesma forma que a dinâmica atômica pela integração da equação de movimento de Newton (HUTTER, TUCKERMAN e PARRINELLO, 1995). Para que os resultados obtidos pela teoria do funcional densidade sejam significativos, as funções de ondas devem ser as do estado fundamental para cada configuração atômica instantânea, devendo estar sobre a superfície de Born-Oppenheimer (BLÖCHL e PARRINELLO, 1992).

Assim, em seu método, Car e Parrinello (1985), visando a redução do custo computacional, superaram a necessidade de otimizar a função de onda a cada passo da

dinâmica molecular. Ao invés disso, a função de onda é dinamicamente propagada juntamente com o núcleo de acordo como as equações de movimento:

$$M_I \ddot{\mathbf{R}}_I = \nabla_I \langle \Psi_k | \widetilde{\mathcal{H}}_{el} | \Psi_k \rangle, \qquad (2.46)$$

$$\mu_{i} \ddot{\boldsymbol{\psi}}_{i} = -\frac{\delta}{\delta \psi_{i}^{*}} \langle \Psi_{k} | \widetilde{\mathcal{H}_{el}} | \Psi_{k} \rangle + \sum_{j} \lambda_{ij} \psi_{j}, \qquad (2.47)$$

onde ψ_i são os orbitais de KS de um elétron mantido ortogonal pelos multiplicadores de Lagrange λ_{ij} .

As Equações (2.46) e (2.47) são resultados da aplicação das equações de Euler-Lagrange (Equação (2.48)) na lagrangeana de Car-Parrinello (Equação (2.49)), que é formulada aqui para um estado eletrônico arbitrário, Ψ_k , um Hamiltoniano eletrônico arbitrário, $\widetilde{\mathcal{H}_{el}}$, e uma base arbitrária (DOLTSINIS e MARX, 2002).

$$\frac{d}{dt}\frac{\delta\mathcal{L}}{\delta\dot{q}} - \frac{\delta\mathcal{L}}{\delta q} = 0, \quad (q = \mathbf{R}_i, \dot{\psi}_k^*). \tag{2.48}$$

$$\mathcal{L}_{CP} = \sum_{i} \frac{\mu_{i}}{2} \langle \dot{\psi}_{i}(\boldsymbol{r}) | \dot{\psi}_{i}(\boldsymbol{r}) \rangle + \sum_{I} \frac{1}{2} M_{I} \dot{\boldsymbol{R}}_{I}^{2} - \underbrace{\langle \Psi_{k} | \widetilde{\mathcal{H}_{el}} | \Psi_{k} \rangle}_{E_{KS}} + \sum_{ij} \lambda_{ij} \left(\langle \dot{\psi}_{i}(\boldsymbol{r}) | \dot{\psi}_{j}(\boldsymbol{r}) \rangle - \delta_{ij} \right).$$
(2.49)

O método desenvolvido por Car e Parrinelo envolve uma equação de movimento de Lagrange extendida (Equação (2.49)) que conecta o tratamento clássico dos núcleos ao tratamento *ab initio* dos elétrons.

A lagrangeana de Car-Parrinello, Equação (2.49), apresenta dois termos de energia cinética, uma eletrônica e outra iônica, um termo de energia total eletrônica e uma restrição de ortonormalidade. O primeiro termo é a energia cinética eletrônica, onde μ é um parâmetro de massa fictícia para os graus de liberdade eletrônicos, o termo $\langle \dot{\psi}_i | \dot{\psi}_i \rangle$ é a integral do produto escalar para a função de onda eletrônica. M_I e R_I são, respectivamente, a massa e a coordenada do núcleo I (TANGNEY, 2006). A energia potencial de uma lagrangeana clássica dá lugar ao funcional de energia de Kohn-Sham (E_{KS}). Para que esse funcional tenha significado físico, na linguagem da DFT, somente o seu valor mínimo é que é importante, ou seja, o valor do estado fundamental do sistema de elétrons com íons nas posições R_I , que é quando os elétrons se encontram na superfície de Born-Oppenheimer. Assim é necessário que as funções de onda (ψ) encontradas minimizem o funcional de Kohn-Sham, de modo que os elétrons permaneçam na superfície de Born-Oppenheimer independente do movimento iônico (AGUIAR et al., 2011).

O segundo termo da Equação (2.47) é obtido derivando o potencial da energia de Kohn-Sham em relação ao orbital ψ_i^* ,

$$\frac{\delta E_{KS}}{\delta \psi_i^*} = -h_e^{KS} \Psi_i. \tag{2.50}$$

Desde que as restrições sejam holonômicas, deve haver uma quantidade de energia conservada, de acordo com a dinâmica clássica. Essa energia conservada (E_{cons}) pode ser expressa pela Equação (2.51):

$$E_{cons} = \frac{1}{2} \sum_{i} M_{i} \dot{\mathbf{R}}_{i}^{2} + \frac{\mu}{2} \sum_{k} \int d\mathbf{r} |\dot{\psi}_{k}(\mathbf{r})|^{2} + E_{KS}[\{\mathbf{R}_{i}\}, \{\psi_{k}\}].$$
(2.51)

De maneira contraria a E_{cons} , a energia eletrônica V_e , que é a energia potencial, varia consideravelmente em função do tempo:

$$V_e = \langle \Psi_k | \widetilde{\mathcal{H}_{el}} | \Psi_k \rangle. \tag{2.52}$$

A energia cinética fictícia dos elétrons, T_e , é uma medida dos desvios da superfície de BO.

$$V_e = \sum_{i} \frac{\mu_i}{2} \langle \dot{\psi}_i(\boldsymbol{r}) | \dot{\psi}_i(\boldsymbol{r}) \rangle.$$
(2.53)

A energia física total do sistema é defina pela subtração da energia cinética eletrônica da energia conservada:

$$E_{fis} = \frac{1}{2} \sum_{i} M_i \dot{\mathbf{R}}_i^2 + E_{KS}[\{\mathbf{R}_i\}, \{\psi_k\}].$$
(2.54)

Outro importante tópico em qualquer método de dinâmica e a eficiência do cálculo das forças atuando sobre o núcleo. Se a função de onda for uma autofunção exata de um determinado hamiltoniano ou uma função estacionária variacionalmente (DFT), então a força sobre o átomo I é

$$\boldsymbol{F}_{\boldsymbol{I}} = -\boldsymbol{\nabla}_{\boldsymbol{I}} \langle \Psi_0 | \mathcal{H}_e | \Psi_0 \rangle = -\frac{\partial}{\partial \boldsymbol{R}_i} E_{KS}[\{\boldsymbol{R}_i\}, \{\psi_k\}].$$
(2.55)

Assim, o método de Car-Parrinello resolve a densidade eletrônica para uma dada configuração do núcleo, e então, move o núcleo baseando-se nas forças resultantes, resolver o problema da estrutura eletrônica e assim por diante. Isto significa que se pode fazer simulações em tempo real sem o uso de quaisquer campos de força "criados". Esta técnica tem sido aplicada a muitos problemas em química e ciência dos materiais. Exemplos são a

água e os íons na água, o próton em água, superfícies de silício, reações químicas, etc.. Nos últimos anos, muitos trabalhos tem sido feito no desenvolvimento de métodos que aumenta linearmente com o tamanho do sistema.

Um detalhe importante na CPMD é a separação adiabática dos subsistemas eletrônico e iônico. Para garantir essa separação, a diferença entre a frequência eletrônica e a frequência nuclear deve ser grande. Os parâmetros que governam a adiabaticidade são a massa fictícia ou "parâmetro de adiabaticidade" e o tamanho do passo. Esses parâmetros devem ser escolhidos corretamente de forma que o tamanho do passo não seja nem muito grande, o que levaria a um resultado não-físico, nem muito pequeno, o que elevaria consideravelmente o custo computacional. Caso a separação adiabática não seja atingida, os resultados se tornam inválidos fisicamente, não podendo ser considerado para extrair informações de propriedades do sistema. Quando isso ocorrer diz-se que o subsistema eletrônico troca energia com o subsistema iônico, não permanecendo, no estado fundamental, as funções de onda (MARX e HUTTER, 2009).

Em uma análise harmônica, a frequência mínima de vibração da densidade de estado é

$$\omega_e^{min} \propto \left(\frac{E_{gap}}{\mu}\right)^{1/2},\tag{2.56}$$

onde $E_{gap} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \in \omega_e^{min}$ é a frequência mínima.

A frequência máxima é diretamente proporcional a energia de corte E_{cut} ,

$$\omega_e^{max} \propto \left(\frac{E_{cut}}{\mu}\right)^{1/2},\tag{2.57}$$

onde E_{cut} é a energia de corte que determinará o número de ondas planas que será empregado na expansão dos orbitais.

O tamanho do passo é inversamente proporcional à frequência máxima:

$$\Delta t^{max} = \frac{1}{\omega_e^{max}} \propto \left(\frac{\mu}{E_{cut}}\right)^{1/2}.$$
(2.58)

Na prática, ajusta-se μ de modo a ter um Δt grande e uma diferença $\omega_e^{min} - \omega_e^{max}$ razoável, garantindo, assim, a adiabaticidade do sistema.

CAPÍTULO 3 - PROCEDIMENTO COMPUTACIONAL

O estudo dos parâmetros geométricos e eletrônicos dos dissacarídeos foi realizado utilizando o método de simulação de Dinâmica Molecular de Car-Parrinello (CPMD) implementado no pacote de programa *CPMD versão 3.15.3* (CPMD, 2012).

Os quatros amino dissacarídeos (D1 – Figura 7, D2 – Figura 8, D3 – Figura 9, D4 – Figura 10) estudados foram:

- D1:
 - Nome segundo IUPAC (1996):
 - (2R,3R,4R,5S,6R)-3-amino-5-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3-amino-4,5dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-6-(hidroxymetil)tetrahidro-2H-piran-2,4-diol
 - Nomes usuais:
 - 2-amino-2-deoxi-β-D-glicopiranosil-(1→4)-2-amino-2-deoxi-β-D-glicopiranosil;
 - D-GlcpN- $(1\rightarrow 4)$ - β -D-GlcpN;
 - (GlcN)₂;
 - Quitobiose.

Figura 7 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D1



- D2:
 - Nome segundo IUPAC (1996):

- N-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-2,4-dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-3-il)acetamida
- o Nomes Usuais:
 - 2-acetamido-2-deoxi-β-D-glicopiranosil-(1→4)-2-acetamido-2deoxi-α-D-glicopiranosil;
 - D-GlcpNAc- $(1\rightarrow 4)$ - β -D-GlcpNAc;
 - (GlcNAc)₂;
 - Acetil-quitobiose;

Figura 8 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D2



- D3:
 - Nome segundo IUPAC (1996):
 - (2R,3R,4S,5S,6R)-3-amino-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3-amino-4,5-dihidroxi-6-(hidroxymetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-6-(hydroxymethil)tetrahidro-2H-piran-2,4-diol;
 - Nomes usuais:
 - α -D-GulN-(1 \rightarrow 4)- β -D-GulN;
 - (GulN)₂;





- D4:
 - Nome segundo IUPAC (1996):
 - N-((2R,3R,4S,5S,6R)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3-acetamido-4,5dihidroxi-6-(hidroxymetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-2,4dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-3-il)acetamida
 - Nomes usuais:
 - α -L-GulNAc-(1 \rightarrow 4)- β -D-GulNAc;
 - (GulNAc)₂;

Figura 10 – Representação da bidimensional do dissacarídeo D4



A representação tridimensional dos dissacarídeos D1, D2, D3 e D4 pode ser visualizadaa na Figura A1, no Apêndice A.

Na prática, os seguintes passos são adotados na dinâmica molecular de Car-Parrinello (os parâmetros dos cálculos estão indicados na Tabela 1 e suas escolhas foram discutidas nas seções posteriores):

- Geração das coordenadas do sistema a ser estudado;
- Escolha dos pseudopotenciais e do funcional de troca e correlação para os cálculos de estrutura eletrônica via DFT;
- Cálculos preliminares para determinar a massa fictícia que garante a adiabaticidade do sistema;
- Cálculos preliminares para determinar a quantidade de ondas planas necessária para descrever o sistema;
- Minimização da energia eletrônica do sistema, levando-o à superfície de Born-Oppenheimer;
- Equilibração do sistema;
- Geração das trajetórias, as quais serão usadas nos cálculos das propriedades estatísticas e dinâmicas do sistema sob estudo.

Resumidamente, para se executar um calculo de dinâmica molecular de Car-Parrinello é necessário, no mínimo, dois passos. São eles: a otimização da função de onda, levando o sistema à uma superfície de Born-Oppenheimer e a propagação dos átomos, ou seja, integração das equações de movimento.

A minimização das funções de onda dos sistemas foi feita no CPMD com o algoritmo DIIS (HUTTER, LÜTHI e PARRINELLO, 1994). Os principais parâmetros relativos a dinâmica estão especificados na Tabela 1. As integrações das equações de movimento foram feitas utilizando o algoritmo *Velocity Verlet* (SWOPE, et al., 1982; ANDERSEN, 1983). As trajetórias foram visualizadas usando o software *Visual Molecular Dynamics* (HUMPHREY, et al., 1996).

O funcional escolhido foi o de Perdew, Burke e Ernzerhof (1996), conhecido como PBE. Utilizou-se de pseudopotenciais *ultrasoft* de Vanderbilt (VANDERBILT, 1990). Testes foram feitos apriori para a determinação da energia de corte ideal a ser usado, os valores estão expressos na Tabela 1.

O termostato de Nosé-Hoover (NOSÉ 1984a, 1984b; HOOVER, 1985) foi empregado no controle da temperatura, a qual foi mantida em 300 K em todas as simulações.

As propriedades de interesse, tais como distâncias e ângulos de ligação, foram obtidas através da rotina computacional *gqtea* desenvolvida pelo Professor Dr. Ademir João Camargo.

Parâmetros	Simulações			
	D1	D2	D3	D4
Tempo de passo – <i>dt</i> (u.a.)	5	5	5	5
Massa Fictícia – μ (u.a.)	400	400	450	400
Temperatura (K)	300	300	300	300
Funcional	PBE	PBE	PBE	PBE
Energia de Corte da Função de Onda (Ry)	30	30	30	30
Energia de Corte para a expansão da densidade de cargas (Ry)	240	240	240	240
Dimensões da caixa (Å ³)	15x15x15	15x15x15	15x15x15	12x12x12

Tabela 1 – Parâmetros das Simulações.

3.1 ESCOLHA DO FUNCIONAL DE TROCA E CORRELAÇÃO

Dois funcionais do tipo gradiente corrigido (GGA) foram testados, sendo eles o funcional PBE e o funcional de Becke (1998) e Lee, Yang e Parr (1998), conhecido como BLYP. Ambos os funcionais são extensivamente usados em simulações de moléculas orgânicas, tais como carboidratos (ARDÈVOL et al., 2012; SUZUKI, 2007; QIAN, 2011; HAN et al. (2013; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2014).

Duas simulações foram feitas seguindo os parâmetros da Tabela 1 visando testar os dois funcionais em questão, PBE e BLYP. A molécula utilizada para as simulações foi o dissacarídeo D3. A Figura 11 apresenta a relação entre os comprimentos (a) e ângulos de ligação (b) obtidos usando os dois funcionais. A Tabela 2 mostra os valores calculados dos principais ângulos diedrais para o dissacarídeo utilizando os dois funcionais. Estes ângulos estão ilustrados na Figura 12 utilizando o dissacarídeo D1 como modelo. Percebe-se que em ambos, Figura 11 e Tabela 2, os valores calculados para os parâmetros geométricos são similares, podendo concluir-se que a escolha de qualquer um dos funcionais não interferirá no cálculo de tais parâmetros.





Figura 12 – Representação esquemática dos principais ângulos diedrais de um dissacarídeo (quitobiose).



Tabela 2 – Valores dos ângulos diedrais calculados por dois funcionais.

	Átomos	Ângulos Diedrais (PBE)	Ângulos Diedrais (BLYP)	Erro Relativo
Ψ	C3'—C4'—O1—C1	$107,753 \pm 12,587$	$106,\!672 \pm 17,\!779$	$1,\!00\pm0,\!28$
Φ	05—C1—O1—C4'	$-85,026 \pm 9,090$	$-89,905 \pm 13,582$	$5{,}74\pm0{,}27$
ω	O5—C5—C6—O6	$-77,886 \pm 9,905$	$-83,593 \pm 9,572$	$7,\!33\pm0,\!26$
ω'	05'—C5'—C6'—O6'	$-63,541 \pm 11,021$	$-64,568 \pm 10,796$	$1,\!62\pm0,\!35$

Optou-se pelo funcional PBE, pois diversos estudos na literatura (HAMANN, 1997; IRETA, NEUGEBAUER e SCHEFFLER, 2004) provaram que este funcional tem uma boa performance na descrição de ligações de hidrogênio, e visto que tais ligações desempenham um papel importante em moléculas biológicas, sua descrição se torna imprescindível neste estudo. Além disso, outros estudos tem apontado para a superioridade do funcional PBE em relação a outros funcionais (ZHANG, PAN, e YANG, 1997; KURTH, PERDEW, e BLAHA, 1999).

3.2 ESCOLHA DO PSEUDOPOTENCIAL

Testes com dois tipos de pseudopotenciais foram feitos. A molécula utilizada para os testes foi o dissacarídeo D3. Os pseudopotenciais usados foram o de Vanderbilt (1990), de norma não conservada, e o de Goedecker (GOEDECKER, TETER e HUTTER, 1996), de norma conservada. A Figura 13 ilustra a relação entre a energia de corte de ondas planas para o psedopotencial de Vanderbilt (Figura 13a) e o psedopotencial de Goedecker (Figura 13b). É possível perceber claramente que o pseudopotencial de Goedecker (Figura 13b) demanda uma maior energia de corte (aproximadamente 190 Ry) o que leva a um maior número de ondas

planas e, consequentemente, um maior tempo computacional. Enquanto que usando o pseudopotencial de Vanderbilt (Figura 13a) a demanda é menor (aproximadamente 30 Ry), o que levaria a utilização de um conjunto menor de ondas planas, consequentemente um menor tempo computacional. Aliado ao ganho de tempo computacional está o fato de que os pseudopotenciais de Vanderbilt descreve bem átomos como carbono, oxigênio e nitrogênio (átomos que formam as moléculas estudadas) (LAASONEN, et al. 1993). Por estas razões os pseudopotenciais *ultrasoft* de Vanderbilt foram escolhidos.

Figura 13 – Gráficos da Energia de Corte em função da Energia Total usando o pseudopotencial de Vanderbilt (a) e o de Goedecker (b).



3.3 ESCOLHA DA ENERGIA CINÉTICA DE CORTE DE ONDAS PLANAS

Testes foram realizados para a escolha do valor máximo da energia cinética das ondas planas (cutoff). Os testes são realizados minimizando a função de onda para diferentes valores *cutoff* e assim estabelecendo uma relação entre a energia do sistema e os diferentes valores de *cutoff* (Figura 13). Claramente pode ser observado na Figura 13a que a convergência da Energia Total ocorre a partir de um valor de *cutoff* de 30 Ry, para pseudopotenciais de Vanderbilt. Assim, este valor de *cutoff* foi utilizado para todas as simulações.

3.4 ESCOLHA DA MASSA FICTÍCIA - CONTROLE DA ADIABATICIDADE

O valor de massa fictícia (μ) deve ser escolhido de modo que o sistema não perca sua adiabaticidade. O valor de μ deve propiciar que a função de onda eletrônica se adapte rapidamente (transformação adiabática) às novas posições nucleares a medida que estas são propagadas dinamicamente, impedindo que ocorra transferência de energia entre subsistemas iônico e eletrônico, permanecendo o sistema na superfície de Born-Oppenheimer. O valor escolhido para μ está indicado na Tabela 1 e a Figura 14 ilustra o controle da adiabaticidade dos sistemas estudados, validando, assim, a escolha do valor de μ .

Figura 14 – Gráficos da Energia em função do tempo de simulação para as moléculas D1 (a), D3 (b), D2 (c) e D4 (d).



Os gráficos da Figura 14 representam as energias dos respectivos subsistemas em relação ao tempo de simulação. Pode-se observar que, durante toda a simulação, a separação adiabática ocorreu.

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 15 ilustra a estrutura da molécula de acetil-quitobiose (D2), bem como a numeração adotada para cada átomo, com exceção dos hidrogênios, objetivando referenciar os átomos das moléculas estudadas. Por motivo de clareza a numeração dos átomos de hidrogênio foi omitida. A numeração destes átomos pode ser visualizada na Figura A2, no Apêndice A. A Figura A1, no Apêndice A, ilustra os demais dissacarídeos estudados neste trabalho sem a numeração.

Figura 15 – Representação da estrutura e numeração da molécula D2.



4.1 COMPARAÇÃO ENTRE PARÂMETROS TEÓRICOS E EXPERIMENTAIS

Os valores médios de comprimento de ligação, ângulo de ligação, ângulo diedral, comprimento e ângulo de ligações de hidrogênio obtidos pelas simulações foram dispostos em Tabelas que se encontram no decorrer do texto ou no Apêndice B.

Não foi encontrado, na literatura, estudo cristalográfico de qualquer um dos dissacarídeos estudados. Para via de comparação e validação do modelo teórico, os dados cristalográficos do polímero β-quitina foram contrapostos aos dados da molécula de 2-acetil-quitobiose, que, em princípio é uma molécula formada por dois monômeros N-acetilglucosamina (monômero do polímero quitina). Optou-se, dentre os diversos modelos cristalográficos para a quitina encontrados na literatura (GARDNER e BLACKWELL, 1975; MINKE e BLACKWELL, 1978; ZAFER, 2001; YUI et al., 2007; SAWADA et al., 2012), pelo modelo mais recente disponível.

Essa mesma comparação foi realizada para a molécula de quitobiose. Esta foi comparada a um modelo cristalográfico do polímero quitosana (LERTWORASIRIKUL et al., 2004), que em essência é formado por unidades monoméricas de glucosamina. Os resultados para comprimentos e ângulos de ligação foram semelhantes aos encontrados para a molécula de acetil-quitobiose (D2) quando comparada com a quitina. Assim esses resultados foram omitidos, permanecendo apenas aqueles de maior relevância.

Os gráficos da Figura 16 apresentam a relação entre os comprimentos e ângulos de ligação teóricos e experimentais (SAWADA et al., 2012), respectivamente. Os dados presentes nos gráficos da Figura 16. (valores médios dos comprimentos (a) e ângulos de ligação (b) da molécula de 2-acetil-quitobiose, os valores experimentais, obtidos por difração, bem como o erro relativo entre duas medidas equivalentes) estão detalhados na Tabela 1 B e na Tabela 2 B, no Apêndice B. Como o estudo cristalográfico, a qual se baseou tal comparação, foi realizado para o polímero, as informações relacionadas aos átomos das extremidades (onde ocorre as ligações glicosídicas) não foram puderam ser analisadas.

Os pontos mais discordantes (aqueles que mais se afastam da reta identidade) da Figura 16 e de outras Figuras semelhantes foram pontuados para uma melhor compreensão do gráfico em questão.





(b)

Os cálculos de diferença percentual (DP) foram realizados utilizando a Equação (4.1):

$$DP = \left|\frac{X_i - Y_i}{X_i}\right| \times 100,\tag{4.1}$$

sendo X_i o valor obtido pelo modelo teórico, Y_i o valor utilizado como referência.

Analisando a Tabela 1 B, observa-se uma boa concordância entre os dois métodos. Apesar de valores relativamente altos para variações, chegando ao valor máximo de 15,01 % para uma ligação C—H, o erro absoluto médio percentual (calculado pela Equação 4.1) foi de 7,04%, ao se considerar todas as medidas (n=55).

$$EAMP = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} \left| \frac{X_i - Y_i}{X_i} \right| \times 100, \tag{4.2}$$

sendo X_i o valor obtido pelo modelo teórico, Y_i o valor utilizado como referência (no caso, o dado cristalográfico) e n o número de medidas.

As maiores variações entre os comprimentos de ligação foram aquelas a qual um átomo de hidrogênio está envolvido. Estas diferenças podem ser justificadas, pois nas determinações de distâncias de ligação utilizando o método de difração, o átomo de hidrogênio não é posicionado com base nos valores da densidade eletrônica, mas sim segundo um banco de dados. Ao desconsiderar as ligações, nas quais os átomos de hidrogênio participam, o valor do erro absoluto médio percentual reduz para 3,01%. Em outro estudo cristalográfico, Zafer (2001) encontrou valores de comprimento de ligação mais próximos ao encontrado neste trabalho. Por exemplo, a ligação O5'—C1' encontrada por Zafer (2001) foi de 1,390 Å, sendo a diferença percentual entre essa medida e a aqui encontrada de 4,77%, inferior à diferença entre Sawada et al. (2012) e este trabalho.

Analisando a Tabela 2 B, o erro absoluto médio percentual calculado foi de 2,83%, ao se considerar todas as medidas. A maior diferença encontrada foi a do ângulo formado pelos átomos C1—C2—N2, cujo valor foi de 11,65%. A dinâmica revelou, para esse ângulo, um valor máximo de 123,77° e mínimo de 94,22°. No decorrer da dinâmica percebeu-se uma grande variação no mesmo. Fato esse, que pode ser explicado pela formação de duas específicas ligações de hidrogênio que envolve indiretamente o átomo de nitrogênio. A primeira é formada entre o hidrogênio da hidroxila vizinha (O3-HO3) e o oxigênio do grupamento acetila (O7). A segunda forma-se entre o hidrogênio (HN2) ligado ao respectivo nitrogênio (N2) e um oxigênio (O6') do grupamento carboxílico do outro anel glicosídico. A variação desse ângulo é maior a medida que o comprimento destas duas ligações de hidrogênio se tornam maiores, ou seja, enquanto o comprimento das ligações de hidrogênio variam, de maneira equivalente o ângulo entre C1-C2-N2 também varia. Essa ligação de hidrogênio não está documentada nos dados cristalográficos e será discutida em outra sessão. Outro fator importante a se levar em conta é empacotamento dentro do cristal das cadeias de quitina, na qual foi realizado o estudo cristalográfico. A forma com que as cadeias se empacotam pode ter contribuído para o valor desse ângulo, e assim, acarretado a tal diferença.

Quanto ao ângulo da ligação glicosídica (C1—O1—C4'), o valor encontrado neste trabalho foi de 116,99° \pm 3.64°. Sawada et al. (2012) encontraram um valor de 119,06°, enquanto Gardner e Blackwell (1975) encontrarm um valor de 114,8° para esse mesmo ângulo de ligação. A diferença entre os dois valores experimentais e o obtido neste trabalho é de aproximadamente $\pm 2^{\circ}$. Esta diferença está dentro do desvio encontrado no cálculo desse ângulo, podendo assim, concluir que os valores estão em concordância. Essa diferença entre as medidas experimentais (aproximadamente 5°) é resultado da alta flexibilidade dessas moléculas.

Mesmo dentro da literatura existe grande divergência a respeito da estrutura cristalográfica da molécula de β -quitina. Zafer (2001), a partir de cálculos de refinamento desta molécula, encontrou um valor de 109,160° para esse mesmo ângulo (C1—O1—C4'). Tal valor aproxima-se muito do valor encontrado neste trabalho. O mesmo acontece para outros valores de ângulos que divergiram muito, como por exemplo, o ângulo O5'—C1'—C2', cujo valor encontrado por Zafer (2001) foi de 109,710°, muito próximo à 107,55° encontrado através da dinâmica.

A determinação das estruturas de carboidratos pelo método de cristalografia de raios-X está sujeita a diversas dificuldades, as quais estão associadas, em suma, a elevada flexibilidade de oligossacarídeos gerando assim uma série de modelos conformacionais que representam propriedades conformacionais médias dessas moléculas. Tal fato explica a quantidade de modelos para a quitina e quitosana que se encontra na literatura, como já anteriormente citado. Devido a essa dificuldade de determinação experimental da geometria e conformação de ligações glicosídicas, a modelagem molecular de sacarídeos tem se tornado uma fonte importante de informações estruturais.

As Tabelas 3 e 4 apresentam valores de alguns ângulos diedrais para as moléculas de acetil-quitobiose (D2) e quitobiose (D1), respectivamente. Dentre eles, estão os quatro principais ângulos diedrais estudados em dissacarídeos. Eles são nomeados por Ψ , Φ , $\omega \in \omega'$. A Figura 17 apresenta um dissacarídeo genérico com os principais ângulos pontuados.

Os valores para os ângulos diedrais apresentam uma boa concordância com os dados experimentais. Dentre os principais ângulos (Ψ , Φ , $\omega \in \omega'$), o ângulo Ψ foi o que mais variou. No estudo cristalográfico de Zafer (2001), o mesmo encontrou um valor de 120° para o ângulo Ψ . Yui et al. (2007) encontraram, semelhantemente ao modelo de Sawada et al. (2012), os valores de 92° para o ângulo Ψe -88° para o ângulo Φ . Esses valores, com exceção de Zafer (2001), concordam muito bem com os valores encontrados neste trabalho.





Tabela 3 – Valores médios de oito ângulos diedrais para a molécula de acetil-quitobiose. Comparação entre resultado teórico e experimental.

	Ângulos Diedrais (°)			D:f
	Átomos	CPMD – Este	Cristalografia –	A haoluto (⁰)
		Trabalho	Sawada e	Absoluta ()
			Colaboradores (2012)	
	C3—C2—O5'—C3'	-141,40	-151,86	10,46
Ψ	C1—C2—O5'—C3'	98,04	87,42	10,62
	C2'—C3'—O5'—C2	141,50	136,82	4,68
Φ	O7—C3'—O5'—C2	-82,99	-86,02	3,03
ω	O7—C1'—C5'—O3'	-66,94	-65,04	-1,90
ω'	01—C3—C6—O6	-70,71	-65,04	-5,67

Fernandes et al. (2010) estudaram a estrutura diversos dissacarídeos contendo uma unidade de acetil-glucosamina via dinâmica clássica. Um dos dissacarídeos era a acetilquitobiose. Para essa molécula em ambiente aquoso, três mínimos bem definidos foram encontrados, sendo a conformação mais abundante aquela cujos valores dos ângulos $\Psi e \Phi$ foram $115^{\circ} \pm 16^{\circ}$ e $-80^{\circ} \pm 24^{\circ}$, respectivamente. Segundo os autores esta conformação preferencial permanece inalterada mesmo quando o dissacarídeo está ligado a uma glicoproteína. Os valores para o dissacarídeo na glicoproteína foram de $108^{\circ} \pm 29^{\circ}$ e $-82^{\circ} \pm$ 27° para $\Psi e \Phi$, respectivamente. Estes valores estão em boa concordância com os encontrados neste trabalho.

		Ângulos Diedrais (°)		Diferença
	Átomos	CPMD – Este	Cristalografia – Yui e	Absoluta
		Trabalho	Colaboradores (1994a)	()
Ψ	C3'—C4'—O1—C1	89,69	92	2,31
Φ	05—C1—O1—C4'	-105,61	-98	7,61
ω	O5—C5—C6—O6	-67,30	-59,0	8,3
ω'	O5'—C5'—C6'—O6'	-82,09	-59,0	23,09

Tabela 4 – Valores médios de oito ângulos diedrais para a molécula de quitobiose. Comparação entre resultado teórico e experimental.

Lertworasirikul et al. (2004) encontraram valores distintos aos encontrados neste trabalho. Para o ângulo Ψ o valor de 126,9°, e para Φ o valor de -75,0°. O valor encontrado para o ângulo diedral ω foi de -52,10° e de -55,40° para ω' . Uma das diferenças entre os modelos de Yui et al. (1994a) e de Lertworasirikul et al. (2004) para a quitosana está na quantidade de resíduos na unidade de repetição cristalográfica. Enquanto para o primeiro a unidade de repetição é composta por apenas um resíduo de glucosamina, para o segundo dois resíduos (dímero) compõe a unidade de repetição. Por este motivo dois valores diferente de ângulo ω e ω' são apresentados por Lertworasirikul et al. (2004), enquanto que no outro modelo apenas um valor é encontrado para ω e ω' .

Os valores do ângulo glicosídico (C1—O1—C4') para a quitosana foram semelhantes em ambos os estudos cristalográficos. Em Yui et al. (1994a) um valor de 116,7° foi encontrado e em Lertworasirikul et al. (2004) um valor de 116,5. O valor encontrado neste trabalho para a molécula de quitobiose foi de 117,8 \pm 3.64, próximo aos valores experimentais.

A análise conformacional de aminoácidos é comumente feita através do diagrama de Ramachandran. Ramachandran, Ramakrishnan e Sasisekharan (1963) demonstraram que nem todas as combinações dos ângulos Ψ e Φ eram possíveis para aminoácidos. Algumas configurações não poderiam existir devido a superposição estérica dos grupamentos próximos. Os valores permitidos para Ψ e Φ formam graficamente expostos no diagrama de Ramachandran (Figura 18). Esse diagrama é um gráfico dos valores de Ψ *versus* os valores de Φ . As áreas em azul, da Figura 18 representam as conformações que não envolvem superposição estérica, sendo assim, conformações permitidas. As áreas em verde refletem conformações que são permitidas em determinados limites. Analogamente esta análise pode ser realizada para carboidratos.



Figura 18 – Diagrama de Ramachandran.

Fonte: Visual Molecula Dynamics (HUMPHREY, et al., 1996) editado.

Em geral, quando se trabalha com estruturas com longas cadeias poliméricas, dois tipos de dados a serem conhecidos são: a configuração da unidade monomérica e a orientação relativa das unidades ligadas a cada ligação. Estas informações estão relacionadas com os ângulos $\Psi e \Phi$. A Figura 19 apresenta os mapas de distribuição dos ângulos diedros $\Psi e \Phi$ para a acetil-quitobiose (a) e para a quitobiose (b). Valores experimentais obtidos por cristalografia de raios-X dos respectivos polímeros foram plotados por questão de comparação. Nos gráficos de mapas de distribuição, os mesmos dados foram plotados em duas escalas diferentes, para que, assim, possa ser feita uma análise mais detalhada dos dados em questão.
Figura 19 – Mapa de distribuição dos ângulos diedros $\Psi e \Phi$ para a molécula de acetilquitobiose (a) e para a molécula de quitobiose (b).



O mapa de Ψ/Φ mostra claramente que a distribuição dos ângulos é mais ampla para a molécula de quitobiose, mostrando uma maior mobilidade da mesma. Em relação ao polímero é de se esperar que o polímero formado pelo dissacarídeo D1, no caso a quitosana, seja mais flexível que o polímero formado por moléculas do dissacarídeo D2, no caso a quitina. Este comportamento pode ser entendido como a influência, principalmente eletrostática, do grupamento do C2 na rotação ao redor da ligação glicosídica, ou seja, na variação dos ângulos $\Psi \in \Phi$. Errington et al. (1993) estudando quitosana de diferentes graus de acetilação (teor de resíduos acetilados) chegaram a mesma conclusão, de que o grupo acetil deve restringir a rotação ao redor da ligação glicosídica, aumentando assim a rigidez da cadeia polimérica. Esta conclusão é ainda fortalecida pela quantidade de estruturas cristalina encontradas para os dois polímeros. A quitina (polímero acetilado), por possuir menor variabilidade conformacional (RINAUDO, 2006), permance em configuração do tipo hélice 2 (valores de Ψ e Φ em trono de 90° e -90°, respectivamente). Já a quitosana é encontrada em quatro tipos de conformação, sendo elas: hélice 2, hélice 2 relaxada, hélice 4/1 e hélice 5/3 (OGAWA, YUI e OKUYAMA, 2004). Análise semelhante foi feita por Mazeau, Perez e Rinaudo (2000) utilizando métodos de Monte Carlo. Com os resultados, os autores predisseram que quitosana pura deve ser mais enrolada do que cadeias de quitina pura, o que significa que quitosana possui uma maior flexibilidade.

Em relação às ligações de hidrogênio, os dados cristalográficos mostram a ocorrência de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o oxigênio do anel reduzido (O5) e um hidrogênio da hidroxila (HO3'—O3') do carbono 3 do anel não-reduzido. Tal ligação também foi identificada durante a dinâmica. A tabela 5 apresenta as características de tais ligações. O comprimento e o ângulo de tal ligação encontrado dinamicamente estão, dentro dos respectivos desvios, em acordo com os valores encontrados experimentalmente. Tal ligação é caracterizada por Scheiner (1997) como sendo uma ligação de hidrogênio do tipo moderada. Seguindo a definição de Scheiner (1997), outras ligações de hidrogênio também foram encontradas e serão discutidas em um tópico adiante.

Yui et al. (2007) e Gardner e Blackwell (1975), em seus estudos cristalográficos também identificaram a ligação de hidrogênio intermolecular O5—HO3'—O3', porém os valores encontrados pelos autores divergem dos valores apresentados aqui e por Sawada et al. (2012). Os valores encontrados pelos autores foram de 2,77 Å e 2,75 Å, respectivamente.

	Ligação de Hidrogênio	Comprimento da ligação (Å)	Ângulo de ligação (°)	Ocorrência (%)
CPMD	O5—HO3'—O3'	$1,9009 \pm 0,1690$	$154,65 \pm 11.18$	100,00
Sawada et al. (2012)	O5—HO3'—O3'	1,77(7)	171(9)	-

Tabela 5 – Ligação de Hidrogênio Intramolecular. Comparação entre resultado teórico e experimental para a molécula de acetil-quitobiose.

Analogamente ao dissacarídeo acetil-quitobiose, o dissacarídeo quitobiose apresenta a ligação de hidrogênio intermolecular O5—HO3'—O3'. Essa ligação é reportada na literatura e também foi descrita pela dinâmica utilizada aqui. A Figura 20 representa uma imagem instantânea (*snapshot*) da simulação do dissacarídeo D1 pontuando a ligação de hidrogênio O5—HO3'—O3'.

Figura 20 - Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D1 destacando uma ligação de hidrogênio



A Tabela 6 apresenta as características dessa ligação. O comprimento e o ângulo de tal ligação encontrado dinamicamente estão, dentro dos respectivos desvios, em acordo com os valores encontrados experimentalmente. Tal ligação é caracterizada como sendo uma ligação de hidrogênio do tipo moderada.

Yui et al. (1994a), em seus estudos cristalográficos também identificaram a ligação de hidrogênio intermolecular O5—HO3'—O3', sendo o comprimento da mesma igual a 2,79 Å.

	Ligação de Hidrogênio	Comprimento da ligação (Å)	Ângulo de ligação (°)	Ocorrência (%)
CPMD	O5—HO3'—O3'	$2,0360 \pm 0.2128$	$153,03 \pm 13.29$	100,00
Lertworasirikul et al. (2004)	O5—HO3'—O3'	2,60	-	-

Tabela 6 – Ligação de Hidrogênio Intramolecular. Comparação entre resultado teórico e experimental para o dissacarídeo quitobiose.

Nos cálculos dinâmicos foi encontrada também outras ligações de hidrogênio intermolecular do tipo moderada que não foram reportadas em nenhum dos estudos cristalográficos supracitados. Adicionalmente as ligações já citadas, mais duas ligações de hidrogênio foram encontradas para o dissacarídeo acetil-quitobiose e mais uma ligações foram O7—HO3—O3 (1,8530 Å e 152,86°) e O7'—HO1'—O1' (1,8373 Å e 153,58°) e para o segundo foi N2—HO6—O6 (2,1118 Å e 162,05°). Os valores de comprimento e ângulo estão respectivamente entre parênteses. Estas ligações não são encontradas nos dados cristalográficos, pois, nestes a molécula estudada é uma macromolécula, um polímero, sendo reportado, nos mesmos, que os átomos envolvidos (N2 e O6 para a quitosana e O7' e O1' para a quitina) participam de ligações de hidrogênio com outras cadeias poliméricas, o que deve ocasionar um rearranjo na densidade eletrônica dos átomos envolvidos, resultando assim em outras interações.

4.2 COMPARAÇÕES ENTRE OS PARÂMETROS GEOMÉTRICOS DOS DISSACARÍDEOS

Em seguida foram analisados, de forma comparativa, os parâmetros geométricos (comprimento, ângulo e ângulo diedral) e eletrônicos (ligações de hidrogênio) dos três dissacarídeos em estudo. Essa comparação foi feita aos pares, com o objetivo de não carregar o texto com muitos dados, visto a dimensão de cada parâmetro. Assim, dividiu-se a análise em quatro partes. Primeiro analisou-se o par D1 e D3. Em segundo lugar, analisou-se o par D2 e D4. Em terceiro lugar, o par D3 e D4. E, finalmente, analisou-se o par D1 e D2.

4.2.1 D-GlcpN-(1→4)-β-D-GlcpN (D1) e α-D-GulN-(1→4)-β-D-GulN (D3)

Os gráficos da Figura 21 ilustram a relação entre comprimentos e ângulos de ligação dos dissacarídeos D1 e D3. Dados detalhados são apresentados nas Tabelas 3 B e 4 B, no Apêndice B.

O gráfico da Figura 21a mostra uma grande concordância entre os comprimentos de ligação das duas moléculas. Da Figura 21b conclui-se que, apesar de alguns valores mais divergentes, a maioria das medidas está em bom acordo entre si.

Analisando a Tabela 3 B, não foram encontradas diferenças significativas. Os comprimentos de ligação foram bastante semelhantes, resultando em um erro absoluto médio percentual de 040%. Como a diferença entre os dois dissacarídeos é a posição das hidroxilas do carbono 3 e carbono 4, conclui-se que tal diferença não produz grandes alterações nos comprimentos de ligação das duas moléculas. A maior diferença encontrada foi de 2,17% está relacionada com o comprimento da ligação entre o carbono 1 do anel não redutor e o oxigênio da ligação glicosídica (C1—O1). Tal diferença pode ser explicada pela formação da ligação de hidrogênio O1—HO6—O6 na molécula de D3 que envolve, justamente, o oxigênio glicosídico. Tal ligação não acontece na molécula de D1. Essa ligação deve causar uma distorção na nuvem eletrônica do oxigênio glicosídico influenciando no tamanho da ligação do carbono do anel redutor.

A Tabela 4 B apresenta os valores de ângulo de ligação para os átomos das moléculas de D1 e da molécula de D3.

Analisando a Tabela 4 B, não se percebe grandes diferenças. Os ângulos de ligação calculados foram bastante semelhantes. O erro absoluto médio percentual calculado foi de 1,46%. As maiores diferenças encontradas entre os ângulos das duas moléculas estão relacionadas ao átomo de oxigênio do anel não-redutor (O5). Tais variações podem ser relacionadas a posição deste átomo nos dois dissacarídeos. Enquanto em D1 este átomo está voltado para o plano inferior ao do anel, em D3, o mesmo átomo está voltado para a parte superior, o que pressupõe diferentes interações para cada dissacarídeo.

Figura 21 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação do dissacarídeo D1 (abscissas) e do dissacarídeo D3 (ordenaadas).



(b)

A Tabela 7 apresenta uma comparação entre alguns dos valores de ângulos diedrais das moléculas de D1 e da molécula de D3. Analisando a Tabela 7, percebe-se algumas diferenças. Dentre os principais ângulos diedrais o que apresentou maior variação foi o ângulo Φ , cuja diferença absoluta foi de 20,58°. A Figura 22 apresenta os gráficos da função de distribuição desses ângulos diedrais. Em todos os quatro casos, os ângulos da molécula de quitobiose variam mais, indicando, assim, uma maior flexibilidade do dissacarídeo de quitobiose em relação ao dissacarídeo D3. As maiores diferenças encontradas entre os ângulos

diedrais das duas moléculas estão relacionadas a um átomo de hidrogênio, que pode ser justificada pelas diferentes ligações de hidrogênio intramolecular.

Figura 22 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais das moléculas de D1 e da molécula de D3.



	Átomos	D1	D3	Diferença	
		Ângulos Diedrais (°)	Ângulos Diedrais (°)	Absoluta (*)	
	C5'—C4'—O1—C1	-147,44	-130,22	17,22	
Ψ	C3'—C4'—O1—C1	89,69	107,75	18,07	
	C2—C1—O1—C4'	134,82	149,32	14,49	
Φ	05—C1—O1—C4'	-105,61	-85,03	20,58	
	N2-C2-C3-O3	62,64	51,48	11,17	
	C5-05-C1-01	10,02	-74,76	84,78	
ω	O5—C5—C6—O6	-67,30	-77,89	10,58	
ω'	05'—C5'—C6'—O6'	-82,09	-63,54	18,54	

Tabela 7 – Valores médios de ângulos diedrais para as moléculas de D1 e D3.

A Figura 23 ilustra o mapa de distribuição dos ângulos diedrais $\Psi e \Phi$. Percebe-se claramente que o dissacarídeo D1 possui uma distribuição mais ampla para o ângulo Φ do que o dissacarídeo D3, caracterizando assim uma maior mobilidade de D1 em relação a D3. Como a diferença entre as duas moléculas consiste em diferentes posições dos grupamentos dos carbonos C3 e C4 de cada anel glicosídico, e consequentemente, em diferentes interações dos mesmos, conclui-se que tais interações produzem essas variações conformacionais.

Um dos fatores que acarretam uma maior rigidez a molécula D3 é a formação de duas ligações de hidrogênio do tipo moderada: O1—HO6—O6 e O6—HO3'—O3' (Figura 24). Essas ligações formam uma rede circular de ligações de hidrogênio intramolecular. Assim, a interação eletrostática é maior na molécula de D3 do que em D1, restringindo, assim, a rotação ao redor da ligação glicosídica aumentando a rigidez. Apesar do dissacarídeo D1 também formar duas ligações de hidrogênio, como ilustrado na Figura 25 essas interações não envolvem os mesmos átomos, como acontece em D3. Este fato permite uma certa mobilidade para D1. Assim, em D1 não ocorre a formação de uma rede circular, não restringindo o movimento relativo dos dois ciclos.





Figura 24 – *Snapshot* da dinâmica do dissacarídeo D3 destacando duas ligações de hidrogênio do tipo moderada.





Figura 25 – Snapshot da dinâmica do dissacarídeo D1 destacando duas ligações de hidrogênio do tipo moderada.

A Tabela 8 apresenta uma comparação entre os valores (comprimento e ângulo de ligação) das ligações de hidrogênio intramoleculares das moléculas de D1 e da molécula de D3. Aqui entende-se por ligação de hidrogênio a ideia proposta por Scheiner (1997), onde um distância de até 3,2 Å e ângulo superior à 90° caracteriza uma ligação de hidrogênio.

Assim para ambas as moléculas foram caracterizadas 12 ligações de hidrogênio. Dentre elas, quatro ligações envolvem os mesmos átomos nas duas moléculas. Estas ligações e outras seis ligações são classificadas como fracas, segundo Scheiner (1997). Duas ligações, em ambas as moléculas, são caracterizadas como moderadas, sendo elas: O1—HO6—O6 (44% de ocorrência) e O6—HO3'—O3' (98% de ocorrência) para D3 e O5—HO3'—O3 (44% de ocorrência) e N2—HO6'—O6' (93% de ocorrência) para D1.

As ligações O5—HO3'—O3 e N2—HO6'—O6', na molécula de D1 (quitobiose), representam ligações de hidrogênio interresíduos, pois são interações entre os átomos de um resíduo com átomos do outro resíduo (redutor ou não redutor). Como já mencionado anteriormente a ligação O5—HO3'—O3 é a interação do hidrogênio da hidroxila do carbono 3 do resíduo redutor e o oxigênio do anel piranosídico do resíduo não-redutor. Esta ligação já foi retratada anteriormente por Yui et al. (1994b) em um estudo de mecânica molecular e constatada experimentalmente por Yui et al. (1994a) e por Lertworasirikul et al. (2004). A ligação N2—HO6'—O6' não é relatada em dados experimentais, pois em uma situação experimental a molécula de D1, ou o polímero quitasana, não são encontrados isoladamente,

mas sim envoltos por moléculas semelhantes ou por moléculas de solvente que interagem reciprocamente. Essas interações adicionais devem influenciar nas ligações de hidrogênio, principalmente as mais externas como a ligação N2—HO6'—O6', não sendo assim observada experimentalmente.

	D1	D3		D1	D3	
Ligação de	Comprimento	Comprimento	Erro	Ângulo	Ângulo	Erro
Hidrogênio	(Å)	(Å)	(%)	(°)	(°)	(%)
01—H <mark>O6</mark> —O6	-	1,9775	-	_	149,773	-
O3'—HO6—O6	-	2,6291	-	-	103,238	-
O5'—HO6'—O6'	2,5173	2,5193	0,08	100,309	101,790	1,48
O6—HO4—O4	-	2,5873	-	-	121,543	-
N2—HO3—O3	-	2,2486	-	-	115,332	-
O3—HN2B—N2	2,7169	2,7548	1,39	92,495	99,456	7,53
O3—HO4—O4	-	2,4959	-	-	104,457	-
O1—H <mark>O3</mark> '—O3'	-	2,6703	-	-	93,038	-
N2'—HO1'—O1'	2,7441	3,0608	11,5	90,532	76,372	15,6
01'—HN2A'—N2'	2,7764	2,6370	5,02	91,994	99,413	8,06
O6—HO3'—O3'	-	2,0410	-	-	154,997	-
O4—H <mark>O6</mark> —O6	-	2,4150	-	-	117,644	-
O5—HO3'—O3'	2,0360	-	-	153,030	-	-
N2'—HO3'—O3'	2,3037	-	-	113,237	-	-
N2—HO6'—O6'	2,1118	-	-	162,049	-	-
01—H <mark>O6</mark> '—O <mark>6</mark> '	2,8161	-	-	104,784	-	-
O5—HO6—O6	2,5718	-	-	100,047	-	-
O4—H <mark>O</mark> 3—O3	2,5302	-	-	101,836	-	-
O3—HN2A—N2	2,6875	-	-	92,285	-	-
O3'—HN2A'—N2'	2,5492	-	-	99,378	-	-

Tabela 8 – Análise das ligações de hidrogênio intramolecular das moléculas de D1 e D3.

4.2.2 D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc (D2) e α -D-GulNAc-(1 \rightarrow 4)- β -D-GulNAC (D4)

Os gráficos da Figura 26 mostram a relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação dos dissacarídeos D2 e D4. Os dados detalhados dos cálculos destes parâmetros estão apresentados nas Tabelas 5 B e 6 B, no Apêndice B.

O gráfico da Figura 26a mostra uma boa concordância entre os comprimentos de ligação das duas moléculas. Da Figura 26b conclui-se que, apesar de alguns valores mais divergentes, a maioria das medidas está em bom acordo entre si.

Analisando a Tabela 5 B, não foi encontrada diferenças significativa. Os comprimentos de ligação foram bastante semelhantes. O erro absoluto médio percentual foi de 0,41%. Assim como no caso anterior, a maior diferença (1,86%) pode ser relacionada, com a formação da ligação de hidrogênio O1—HO6—O6 na molécula D4. Esta ligação envolve o átomo de oxigênio glicosídico, influenciando o tamanho da ligação com o átomo de carbono do anel não-redutor.

Analisando a Tabela 6 B, não se percebe grandes diferenças. O erro absoluto médio percentual foi de 1,17%. Dentre as maiores variações estão os ângulos que envolvem o átomo de oxigênio do anel não redutor (O5). Por exemplo, a diferença entre o ângulo C1—O5—C5 de D2 e o correspondente ângulo de D4 foi de 5,90%. Essas diferenças estão relacionadas a posição deste oxigênio em relação ao anel glicosídico. Em D2, tal oxigênio está voltado para o plano inferior do anel, enquanto que, em D4 o mesmo está orientado para fora (parte superior) do anel glicosídico.

Outra grande diferença encontrada está na ligação que envolve o nitrogênio do anel redutor (N2'). A variação do ângulo C2'—N2'—C7' foi de 5,92%. Esta variação pode ser explicada pela formação da ligação de hidrogênio O7'—HO1'—O1' em D2. Tal ligação não ocorre na molécula de D4 e é responsável por um pequeno fechamento do ângulo C2'—N2'—C7' ocasionando a variação. A variação é menor para os ângulos que envolvem o outro átomo de nitrogênio (N2), visto que em ambas as moléculas se formam ligações de hidrogênio similares nesta região.

Figura 26 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação das moléculas de D2 e D4.



A Tabela 9 apresenta uma comparação entre alguns dos valores de ângulos diedrais das moléculas D2 e da molécula D4. Analisando a Tabela 9, percebe-se algumas diferenças. Dentre os principais ângulos diedrais o que apresentou maior variação foi o ângulo Ψ , cuja diferença absoluta foi de 23,37°. O ângulo Φ praticamente é o mesmo para as duas moléculas. A Figura 27 apresenta os gráficos da função de distribuição desses ângulos diedrais. O ângulo ω' apresenta, em um pequeno tempo da simulação, um valor próximo a 180° (valor médio de 174°) e na maioria da simulação apresenta valor próximo a 300° (ou -60°). Essa variação não é

percebida na molécula de acetil-quitobiose e configura a existência de dois tipos de confômeros.





		D2	D4	Diferença
	Átomos	Ângulos Diedrais (º)	Ângulos Diedrais (°)	Absoluta (°)
	C5'—C4'—O1—C1	-141,40	-117,24	24,16
Ψ	C3'—C4'—O1—C1	98,04	121,41	23,37
	C2-C1-O1-C4'	141,50	149,9	8,41
Φ	05—C1—O1—C4'	-83,00	-81,82	1,18
	N2—C2—C3—O3	69,54	58,08	11,46
	C5-05-C1-01	21,71	-77,11	98,82
ω	O5—C5—C6—O6	-66,94	-79,10	12,16
ω'	05'—C5'—C6'—O6'	-70,71	-54,38	16,33

Tabela 9 – Valores médios de ângulos diedrais entre os átomos da molécula de D2 e D4.

A Figura 28 ilustra o mapa de distribuição dos ângulos diedrais $\Psi e \Phi$. Percebe-se claramente que o comportamento de ambos os ângulos diedrais é semelhante para os dois dissacarídeos, D2 e D4. Apesar das diferenças entre as duas moléculas, que são as mesmas que D1 e D3, conclui-se que as diferentes interações não produzem grandes variações conformacionais.

De modo análogo a D3, na molécula D4 também se forma uma rede circular de ligações de hidrogênio intramolecular, sendo que os átomos envolvidos são os mesmos: O1—HO6-O6 = O6-HO3'-O3'. Porém, diferentemente de D3, essa rede formada em D4 não persiste durante toda a simulação, pois a ligação O1—HO6-O6 se rompe para dar lugar a outra ligação de hidrogênio, a ligação O4—HO6-O6 (Figura 29). A ocorrência da ligação O1—HO6-O6 é de 29,02% de toda a simulação. O resultado da quebra dessa rede é uma maior flexibilidade da molécula, quando comparada a D3 e D2, podendo ser percebida na maior amplitude do ângulo diedral Φ . Assim como na molécula D1, essa rede circular não é formada na molécula de D2.



Figura 28 – Sobreposição dos mapas de distribuição de Ψ e Φ para as moléculas D2 e D4.

Figura 29 – *Snapshot* da dinâmica do dissacarídeo D4 destacando duas ligações de hidrogênio (O6—HO3'—O3' e O4—HO6—O6).



A Tabela 10 apresenta uma comparação entre os valores (comprimento e ângulo de ligação) das ligações de hidrogênio intramoleculares da molécula de D2 e da molécula de D4.

Foram caracterizadas 12 ligações de hidrogênio para o dissacarídeo D4 e 11 ligações de hidrogênio para o dissacarídeo D2. Dentre elas, sete ligações são comuns às duas moléculas. Seis destas ligações são classificadas como fracas e uma é classificada como moderada, sendo esta: O7—HO3—O3, com 98% de ocorrência para D2 e 87% de ocorrência para D4.

A molécula de D4 apresenta, ainda, mais três ligações do tipo moderada, O7— HO6'—O6' (9% de ocorrência), O1—HO6—O6 (29% de ocorrência) e O6—HO3'—O3' (98% de ocorrência), totalizando quatro ligações moderadas. A Figura 30 ilustra estas quatro ligações de hidrogênio.

Figura 30 – *Snapshot* da dinâmica do dissacarídeo D4 destacando quatro ligações de hidrogênio do tipo moderada.



A molécula de D2 também apresenta mais duas ligações moderadas, O5—HO3'—O3' (100% de ocorrência) e O7'—HO1'—O1' (100% de ocorrência), totalizando três ligações moderadas. A Figura 31 ilustra estas três ligações de hidrogênio.

A ligação O5—HO3'—O3' (100% de ocorrência), na molécula de D2 (acetilquitobiose), representa um ligação de hidrogênio interresíduos, pois é a interação do hidrogênio da hidroxila do carbono 3 do resíduo redutor e o oxigênio do anel piranosídico do resíduo não-redutor. Esta ligação é registrada por Sawada et al. (2012) para o polímero quitina.

Figura 31 – *Snapshot* da dinâmica do dissacarídeo D2 destacando as três ligações de hidrogênio do tipo moderada.



Tabela 10 – Análise das Ligações de Hidrogênio intramolecular dos dissacarídeos D2 e D4.

	D2	D4		D2	D4	
Ligação de	Comprimento	Comprimento	Erro	Ângulo	Ângulo	Erro
Hidrogênio	(Å)	(Å)	(%)	(°)	(°)	(%)
01—H <mark>O6</mark> —O6	-	1,8844		-	155,58	
O3'—HO6—O6	-	2,6679		-	101,90	
O5'—HO6'—O6'	2,6645	2,5766	3,30	98,24	99,47	1,25
N2—HO3—O3	2,7568	2,7135	1,57	101,03	100,75	0,28
O5—HN2—N2	2,6179	2,8601	9,25	92,97	90,07	3,12
O3—HO4—O4	2,3981	2,3493	2,03	106,88	108,83	1,82
O1—HO3'—O3'	-	2,5838		-	91,04	
N2'—HO1'—O1'	2,6937	2,8798	6,91	99,86	84,18	15,7

	D2	D4		D2	D4	
Ligação de	Comprimento	Comprimento	Erro	Ângulo	Ângulo	Erro
Hidrogênio	(Å)	(Å)	(%)	(°)	(°)	(%)
O6—HO3'—O3'	-	2,0973		-	152,11	
04—H <mark>O6</mark> —O6	2,6863	2,2953	14,5	114,26	122,29	7,03
O7—HO3—O3	1,8373	1,8486	0,62	153,58	154,45	0,57
07—H <mark>O6</mark> '—O6'	-	2,0972		-	150,10	
O5—HO3'—O3'	1,9009	-		154,65	-	
O5'—HO6'—O6'	2,6645	-		98,24	-	
07'—H01'—01'	1,8530	-		152,86	-	
O6'—HN2—N2	2,5365	-		157,89	-	

4.2.3 a-D-GulN-(1 \rightarrow 4)- β -D-GulN (D3) e a-D-GulNAc-(1 \rightarrow 4)- β -D-GulNAc (D4)

Os gráficos da Figura 32 relacionam os comprimentos (a) e os ângulos (b) de ligação dos dissacarídeos D3 e D4. Dados detalhados são dados nas Tabelas 7 B e 8 B, no Apêndice B.

O gráfico da Figura 32a revela a concordância entre os comprimentos de ligação entre os átomos das suas moléculas. Na Figura 32b não observa-se grandes discrepâncias quanto aos valores de ângulos das duas moléculas.

Analisando a Tabela 7 B, não foram encontradas diferenças significativas. Os comprimentos de ligação, aqueles que são passíveis de comparação, foram bastante semelhantes. O erro absoluto médio percentual foi de 0,17%, considerando todos os comprimentos de ligação passíveis de comparação.

A Tabela 8 B apresenta os valores de ângulo de ligação para os átomos das moléculas de D3 e da molécula de D4. Analisando a Tabela 8 B, não se percebe grandes diferenças. Os ângulos de ligação, aqueles que são passíveis de comparação, foram bastante semelhantes. O erro absoluto médio percentual foi de 0,80%. As maiores diferenças encontradas entre os ângulos das duas moléculas estão relacionadas aos átomos de nitrogênio dos grupos acetamida na molécula de D4 e os átomos de nitrogênio dos grupos amino na molécula de D3.

Como estes grupamentos possuem vizinhanças diferentes é de se esperar que ocorram mudanças em tais parâmetros.



Figura 32 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação das moléculas D3 e D4.



A Tabela 11 apresenta uma comparação entre alguns dos valores de ângulos diedrais das moléculas de D3 e de D4.

Analisando a Tabela 11, percebe-se algumas diferenças. Os principais ângulos diedrais encontrados forma bastante semelhantes com exceção ao ângulo diedral Ψ , onde se percebe

maior variação (13,65°). As maiores diferenças encontradas entre os ângulos diedrais das duas moléculas estão relacionadas à um átomo de hidrogênio, que pode ser justificada pelas diferentes ligações de hidrogênio intramolecular.

A Figura 33 apresenta os gráficos da função de distribuição desses ângulos diedrais. O ângulo diedral Ψ é o ângulo que mais se diferencia, em termos de valores médios, entre D3 e D4. A conformação deste ângulo é dominada por efeitos estérico-eletrônicos (como o efeito anomêrico). Desse modo pode-se concluir que os grupamentos do carbono C2, diferentes nos dois dissacarídeos, D3 e D4, ocasiona essa variação neste ângulo diedral, ou seja, esses grupamentos provocam e sofrem efeitos estéricos diferentes fazendo com que as moléculas assumam diferentes configurações.

Qualitativamente, três rotâmeros são comumente definidos com respeito ao ângulo diedral ω (ou ω'), sendo eles: gauche-gauche (gg $\rightarrow \omega \sim 300$), gauche-trans (gt $\rightarrow \omega \sim 60$) e trans-gauche (tg $\rightarrow \omega \sim 180$). A população de tais rotâmeros é influenciada fortemente pela configuração do átomo de carbono C4 e da polaridade das vizinhanças (ambiente químico). Para o dissacarídeo D4 o ângulo ω' apresenta, em um pequeno tempo da simulação, um valor próximo a 180° (valor médio de 174°), o que condiz com um tipo de rotâmero (gauche-trans), e na maioria da simulação apresenta valor próximo a 300° (ou -60°, caracterizando o rotâmero trans-gauche). Para D3 apenas um rotâmero é percebido (trans-gauche).

		D3	D4	Diferença
	Átomos	Ângulos Diedrais	Ângulos Diedrais	Absoluta (°)
		(°)	(°)	
	C5'—C4'—O1—C1	-130,22	-117,24	12,98
Ψ	C3'—C4'—O1—C1	107,75	121,41	13,65
	C2—C1—O1—C4'	149,32	149,90	0,59
Φ	05—C1—O1—C4'	-85,03	-81,82	3,21
	N2-C2-C3-O3	51,48	58,08	6,60
	C5-05-C1-01	-74,76	-77,11	2,35
ω	O5—C5—C6—O6	-77,89	-79,10	1,21
ω'	O5'—C5'—C6'—	-63,54	-54,38	9,16

Tabela 11 – Ângulos diedrais entre os átomos das moléculas D3 e D4

350 D3 D3 250 Função de Distribuição 300 Função de Distribuição D4 D4 200 250 200 150 150 100 100 50 50 0 0 -50 50 100 150 200 250 300 350 400 -50 -50 ò -150 -100 ò 50 100 -200 . 150 200 Ângulo Diedrtal ψ Ângulo Diedrtal ϕ (a) **(b)** 350 350 D3 D3 Função de Distribuição Função de Distribuição 300 300 D4 D4 250 250 200 200 150 150 100 100 50 50 0 0 -50 · -50 0 50 100 150 200 250 300 . 350 400 50 100 150 200 . -50 ò . 250 . 300 350 400 Ângulo Diedrtal ω Ângulo Diedrtal ω' (c) (**d**)

Figura 33 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais D3 e da molécula de D4.

A Figura 34 ilustra o mapa de distribuição dos ângulos diedrais $\Psi \in \Phi$. Percebe-se claramente que o comportamento de ambos os ângulos diedrais é semelhante para os dois dissacarídeos, D3 e D4. A diferença entre os dois dissacarídeos é o grupamento do carbono C2, que na molécula D3 é um grupamento amino e na molécula D4 é um grupamento acetamida. A principal diferença que pode ser observada nas Figuras 33 e 34 e na Tabela 11 é o valor do ângulo Ψ e a possibilidade de dois confômeros para o ângulo ω' na molécula D4.



A Tabela 12 apresenta uma comparação entre os valores (comprimento e ângulo de ligação) das ligações de hidrogênio intramoleculares das moléculas D3 e D4.

Foram caracterizadas 12 ligações de hidrogênio para a molécula de D4 e 12 ligações de hidrogênio para a molécula de D3. Dentre elas, dez ligações são comuns às duas moléculas. Sete destas ligações são classificadas como fracas e duas são classificadas como moderada, sendo estas: O1—HO6—O6 (44% de ocorrência para D3 e 29% de ocorrência para D4) e O6—HO3'—O3' (98% de ocorrência tanto para D3 quanto para D4).

O dissacarídeo D4 apresenta, ainda, mais duas ligações do tipo moderada, O7— HO3—O3 (88% de ocorrência) e O7—HO6'—O6' (9% de ocorrência), totalizando quatro ligações moderadas. O dissacarídeo D3 apresenta no total, duas ligações de hidrogênio do tipo moderada e dez ligações do tipo fraca.

	D3	D4		D3	D4	
Ligação de	Comprimento	Comprimento	Erro	Ângulo	Ângulo	Erro
Hidrogênio	(Å)	(Å)	(%)	(°)	(°)	(%)
01—H <mark>O6</mark> —O6	1,9775	1,8844	4,71	149,77	155,58	3,88
O3'—HO6—O6	2,6291	2,6679	1,48	103,24	101,90	1,30
O5'—HO6'—O6'	2,5193	2,5766	2,27	101,79	99,47	2,28
N2—HO3—O3	2,2486	2,7135	20,6	115,33	100,75	12,64
O5—HN2B—N2	2,7548	2,8601	3,82	99,46	90,07	9,44
O3—HO4—O4	2,4959	2,3493	5,87	104,46	108,83	4,18
O1—HO3'—O3'	2,6703	2,5838	3,24	93,04	91,04	2,15
O1'—HN2A'—N2'	2,6370	2,8798	9,21	99,86	84,18	15,70
O6—HO3'—O3'	2,0410	2,0973	2,76	155,00	152,11	1,86
O4—H <mark>O6</mark> —O6	2,4150	2,2953	4,96	117,64	122,29	3,95
O7—HO3—O3	-	1,8486	-	-	154,45	-
O7—HO6'—O6'	-	2,0972	-	-	150,10	-
N2'—HO1'—O1'	3,0308	-	-	121,99	-	-
06—H <mark>O</mark> 4—O4	2,5873	-	-	121,54	-	-

Tabela 12 – Análise das Ligações de Hidrogênio intramolecular das moléculas D3 e D4.

4.2.4 D-GlcpN-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpN (D1) e D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc (D2)

Os gráficos da Figura 35 refletem a comparação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação dos dissacarídeos D1 e D2. Dados mais detalhados destes parâmetros encontram-se nas Tabelas 9 B e 10 B, no Apêndice B.

O gráfico da Figura 35a mostra uma boa concordância entre os comprimentos de ligação dos átomos das duas moléculas. Analisando a Tabela 9 B, não foram encontradas diferenças significativas. Os comprimentos de ligação foram bastante semelhantes, resultando em um erro absoluto médio percentual de 0,37%. Como a diferença entre os dois dissacarídeos é o grupamento ligado ao carbono 2 de cada anel, grupo amino em D1 e grupo acetamida em D2, conclui-se que tal diferença não produz grandes alterações nos comprimentos de ligação das duas moléculas.

Figura 35 – Relação entre os comprimentos (a) e ângulos (b) de ligação da molécula D1 e D2.



Na Figura 35b percebe-se algumas poucas variações entre os ângulos de ligação das duas moléculas. Analisando a Tabela 10 B, não se percebe grandes diferenças. Os ângulos de ligação calculados foram bastante semelhantes. O erro absoluto médio percentual calculado foi de 1,05%. As maiores diferenças encontradas entre os ângulos das duas moléculas estão relacionadas a vizinhança do grupamento do carbono 2, amino ou acetamida. Na molécula de D2 há a formação de ligações de hidrogênio com o átomo de oxigênio da carbonila (grupamento acetamida) que não ocorre na molécula de D1. Tais ligações podem ser

responsáveis pela alteração de ângulos entre átomos vizinhos ao grupamento acetamida, como por exemplo, o ângulo C2--C3--O3 (erro relativo de 4,41%).

A Tabela 13 apresenta a comparação entre os principais ângulos diedrais dos dissacarídeos D1 e D2. Analisando a Tabela 13, algumas diferenças podem ser percebidas. Dentre os principais ângulos diedrais o que apresentou maior variação foi o ângulo Φ , cuja diferença absoluta foi de 22,62°. A Figura 36 apresenta os gráficos da função de distribuição desses ângulos diedrais. É possível perceber que o ângulo diedral Ψ da molécula de D1 oscila em torno de dois valores médios, 77° e 104° aproximadamente. Esta oscilação não é observada na molécula de D2. Analogamente, o ângulo diedral Φ varia de forma mais intensa na molécula de quitobiose, visto que o gráfico da função de distribuição é mais alongado, enquanto, que para a molécula de D2 o resultado da função de distribuição é um pico mais acentuado. Tais resultados levam a conclusão de que a molécula de D1 é mais flexível do que a molécula de D2.

Os ângulos diedrais $\omega \in \omega'$ se comportam de maneira bastante semelhante em ambas as moléculas. Dentre eles, o ângulo ω' varia em torno de 10° de uma molécula para a outra.

		D1	D2	Diferença
	Átomos	Ângulos Diedrais (°)	Ângulos Diedrais (º)	Absoluta (°)
	C5'—C4'—O1—C1	-147,44	-141,40	6,04
Ψ	C3'—C4'—O1—C1	89,69	98,05	8,36
	C2—C1—O1—C4'	134,82	141,50	6,67
Φ	05—C1—O1—C4'	-105,61	-82,99	22,62
	N2-C2-C3-O3	62,64	69,54	6,90
	C5-05-C1-01	10,02	21,71	11,68
ω	O5—C5—C6—O6	-67,30	-66,94	0,36
ω'	05'—C5'—C6'—O6'	-82,09	-70,71	11,38

Tabela 13 – Valores de ângulos diedrais das moléculas D1 e D2.

Figura 36 – Gráficos da função de distribuição dos quatros principais ângulos diedrais da molécula D1 e da molécula D2.



A Figura 37 demonstra o mapa de distribuição dos ângulos diedrais $\Psi e \Phi$. Percebe-se claramente que o dissacarídeo D1 possui uma distribuição mais ampla para o ângulo Φ do que o dissacarídeo D2, caracterizando assim uma maior mobilidade de D1 em relação a D2. Como a diferença entre os dois dissacarídeos é o grupamento do carbono C2, que na molécula D1 é um grupamento amino e na molécula D2 é um grupamento acetamida, conclui-se que as diferentes interações provenientes desses diferentes grupamentetos produzem essas variações conformacionais. A principal diferença que pode ser observada nas Figuras 36 e 37 e na Tabela 13 está relacionada com os ângulos $\Psi e \Phi$, sendo que para o ângulo Ψ da molécula D1

tem-se dois valores médios possíveis, como ilustrado na Figura 35a, caracterizando a existência de dois confômeros desta molécula, enquanto que para a molécula D2 apenas um valor médio, ou seja, apenas uma conformação é possível. Quanto ao ângulo Φ, conclui-se que este possui uma amplitude maior para D1 do que para D2. Na Figura 35b, este resultado é visível na largura dos picos, sendo que em D1 o pico é largo e não é tão definido em um valor médio como é em D2. Na Figura 36, é possível perceber que dois estados, bem definidos, são semelhantemente populados para o dissacarídeo D1, enquanto que para D2 apenas um estado é definido, o que leva a conclusão de que o dissacarídeo D1 é mais flexível que D2. Como já citado anteriormente os grupos acetil provocam uma diminuição das interações eletrostáticas (fibras mais rígidas) resultando na restrição da rotação ao redor da ligação glicosídica aumentando a rigidez.

Figura 37 – Sobreposição dos mapas de distribuição dos ângulos diedros Ψ e Φ para as moléculas D1 e D2.



A Tabela 14 apresenta uma comparação entre os valores de comprimento e ângulo das ligações de hidrogênio intramoleculares das moléculas de D1 e de D2.

Foram caracterizadas 13 ligações de hidrogênio intramolecular para o dissacarídeo D1 e 11 ligações de hidrogênio para o dissacarídeo D2. Dentre elas, três ligações são comuns às duas moléculas. Duas destas ligações são classificadas como fracas e uma é classificada como moderada, sendo esta: O5—HO3'—O3', com 44% de ocorrência para D1, e com 100% de ocorrência para a D2. Esta ligação é importante, pois é responsável, em partes, pela conformação hélice 2 dos respectivos polímeros, quitosana e quitina (OKUYAMA et al., 1997; LERTWORASIRIKIL et al., 2004).

A molécula de D1 apresenta, ainda, mais uma ligação do tipo moderada, N2—HO6'— O6' (93% de ocorrência), totalizando duas ligações do tipo moderada e dez ligações do tipo fraca. A molécula de D2 também apresenta mais duas ligações moderadas, O7—HO3—O3 (99,06% de ocorrência) e O7'—HO1'—O1' (99,84% de ocorrência), totalizando três ligações moderadas. No total são três ligações de hidrogênio do tipo moderada e oito ligações do tipo fraca. As ligações moderadas da molécula de D2 que envolvem o oxigênio do grupo acetil (O7 e O7') não são encontradas em dados cristalográficos, assim, pode-se concluir que estas ligações devem ser quebradas e novas interações são feitas, provavelmente com outras cadeias adjacentes. De fato, a presença de grupos acetil pode favorecer a formação e a estabilização de interações intermoleculares ocasionando o aumento de estruturas em hélice 2 (FRANCA, 2008).

Tabela	14 –	Análise	das	Ligações	de	Hidrogênio	intramolecular	do	dissacarídeo	D1	e	do
dissacar	ídeo I	D2.										

	D1	D2		D1	D2	
Ligação de Hidrogênio	Comprimento (Å)	Comprimento (Å)	Erro (%)	Ângulo de ligação (°)	Ângulo de ligação (°)	Erro (%)
O5—HO3'—O3'	2,0360	1,9009	6,64	153,03	154,65	1,06
O5'—HO6'—O6'	2,5173	2,6645	5,85	100,31	98,24	2,06
N2'—HO1'—O1'	2,7441	2,6937	1,84	90,53	99,86	10,31
N2'—HO3'—O3'	2,3037	-		113,24	-	
N2—HO6'—O6'	2,1118	-		162,05	-	
01—H <mark>O6</mark> '—O <mark>6</mark> '	2,8161	-		104,78	-	
05—H <mark>06</mark> —O6	2,5718	-		100,05	-	
O5'—HO1'—O1'	2,4629	-		68,64	-	
O4—H <mark>O3</mark> —O3	2,5302	-		101,84	-	

	D1	D2		D1	D2	
Ligação de Hidrogênio	Comprimento (Å)	Comprimento (Å)	Erro (%)	Ângulo de ligação (°)	Ângulo de ligação (°)	Erro (%)
O3—HN2A—N2	2,6875	-		92,29	-	
O3—HN2B—N2	2,7169	-		92,50	-	
O1'—HN2A'—N2'	2,7764	-		91,99	-	
O3'—HN2A'—N2'	2,5492	-		99,38	-	
O1—HN2—N2	-	2,6179		-	92,97	
07'—H01'—O1'	-	1,8530		-	152,86	
O5'—HO6'—O6'	-	2,6645		-	98,24	
O3—HO4—O4	-	2,3981		-	106,88	
O7—HO3—O3	-	1,8373		-	153,58	
O6'—HN2—N2	-	2,5365		-	157,89	
04—H06—06	-	2,6863		-	114,26	
N2—HO3—O3	-	2,7568		-	101,03	

CAPÌTULO 5 - CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A principal contribuição feita por este trabalho é apresentar dados obtidos através de cálculos quânticos, a partir da Dinâmica Molecular de Car-Parrinello, de sistemas que jamais haviam sido analisados. Os resultados aqui obtidos visam prover informações suficientes para a compreensão da estrutura conformacional dos dissacarídeos estudados, bem como, de seus respectivos polissacarídeos.

Os dissacarídeos diferenciam-se principalmente em relação aos ângulos diedrais, especificamente aos ângulos $\Phi \in \Psi$, que são os ângulos responsáveis pela posição de um anel glicosídico em relação ao outro. É possível deduzir que o oligossacarídeo formado por cada um dos dissacarídeos apresentará, ligeiramente, propriedades conformacionais diferentes. Os resultados, aqui obtidos, podem ser muito importantes para o entendimento das propriedades físico-químicas e mecânicas dos polímeros, tais como rigidez, estabilidade e insolubilidade em água. Pelos resultados obtidos pode-se concluir, por exemplo, que como a molécula de quitobiose é mais flexível que a molécula de acetil-quitobiose o polímero formado pela quitobiose, a quitosana, deve ser mais flexível do que o polímero composto por moléculas de acetil-quitobiose, a quitina. Este resultado é validado experimentalmente pela quantidade de modelos diferentes para a quitosana, que uma vez mais flexível, acessa várias estruturas conformacionais (confômeros), permitindo, por exemplo, várias estruturas cristalinas.

No geral, as propriedades geométricas dos diferentes dissacarídeos não sofrem grandes influências, no que diz respeito a comprimento e ângulos de ligação, das posições relativas dos grupamentos analisados (posição axial ou equatorial dos grupamentos do carbono C3 e C4) e do tipo de grupamento no carbono C2 (amino ou acetamida), porém diferenças nas propriedades conformacionais (ângulos diedrais) e nas propriedades eletrônicas foram encontradas e caracterizam o dissacarídeo, no que diz respeito a sua flexibilidade e a quantidade de confômeros acessíveis. Assim, conclui-se que a alteração de grupos funcionais e da posição destes grupos influencia, principalmente, os ângulos diedrais e as ligações de hidrogênio intramolecular.

Apenas dois dissacarídeos, D1 e D4, apresentaram dois confômeros acessíveis. Para D2 e D3 não foi encontrado nenhuma evidência de mais de um confômero, ilustrada pelos mapas de distribuição e funções de distribuição dos principais ângulos diedrais para os diferentes dissacarídeos.

Os cálculos em fase aquosa estão sendo realizados para os quatro amino dissacarídeos. Espera-se, com o estudo em solução, tornar os dados mais realísticos e entender quais alterações são provocadas pela ação do solvente (água).

REFERÊNCIAS

AGBOH, O.C.; QIN, Y. Chitin and chitosan fibers. *Polymer for Advanced Technologies*, V. 8, p. 355–365, 1997.

AGUIAR, A.S.N.; OLIVEIRA, S.S.; CAMARGO, A.J. NAPOLITANO, H.B. Dinâmica Molecular. In: OLIVEIRA, S.S. (Org). *Ciências Moleculares*. Goiânia: UEG, p. 44-81, 2011.

ALDER, B. J. & WAINWRIGTH, T. E. Phase transition for a hard sphere system. *Journal of Chemical Physics*, V. 27, p. 1208-1209, 1957.

ALLEN, M.P. Introduction to Molecular Dynamics Simulation. *Computational Soft Matter: From Synthetic Polymers to Proteins*, NIC Series, V. 23, p. 1-28, 2004.

ANDERSEN, H. C. Rattle: A "Velocity" Version of the Shake Algorithm for Molecular Dynamics Calculations. *Journal of Computational Physics*, V. 52, p. 24-34, 1983.

ANDERSON, J.W.; NICOLOSI, R. J.; BORZELLECA, J. F. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food and Chemical Toxicology*. V. 43, p. 187–201, 2005.

ANTONINO, N.A. Otimização do Processo de Obtenção de Quitina e Quitosana de Exoesqueletos de Camarões Oriundos da Indústria Pesqueira Paraibana. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Inorgânica) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

ARDÈVOL, A.; BIARNÉS, X.; PLANAS, A.; ROVIRA, C. The Conformational Free-Energy Landscape of β -D-Mannopyranose: Evidence for a ${}^{1}S_{5} \rightarrow B_{2,5} \rightarrow {}^{O}S_{2}$ CatalyticItinerary in β -Mannosidases. *Journal of American Chemical Society*, V. 132, p. 16058–16065, 2010.

BASSLER, B. L.; YU, C.; LEE, Y. C.; ROSEMAN, S. Chitin utilization by marine bacteria. Degradation and catabolism of chitin oligosaccharides by Vibrio furnissii. *Journal of Biological. Chemistry*, V. 266, p. 24276–24286, 1991.

BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, V. 38, p. 3098-3100, 1988.

BECKHAM, G. T.; STÅHLBERG, J.; KNOTT, B. C.; HIMMEL, M. E.; CROWLEY, M. F.; SANDGREN, M.; SØRLIE, M.; PAYNE, C. M. Towards a molecular-level theory of carbohydrate processivity in glycoside hydrolases. *Current Opinion in Biotechnology*, V. 27, p. 96–106, 2014.

BERTHOU, J.; LIFCHITZ, A.; SAINT-BLANCARD, J.; JOLLES, P. On the binding of N-acetylglucosamine and chitobiose to hen lysozyme in the solid state at high temperature. *Febs Letters*, V. 108, p.10-12, 1979.

BIARNÉS, X.; ARDÈVOL, A.; PLANAS, A.; ROVIRA, C.; LAIO, A.; PARRINELLO, M. The Conformational Free Energy Landscape of α-D-Glucopyranose. Implications for

Substrate Preactivation in α-Glucoside Hydrolases. *Journal of American Chemical Society*, V. 129, p. 10686-10693, 2007.

BLÖCHL, P.E.; PARRINELLO, M. Adiabaticity in First-Principles Molecular Dynamics. *Physical Review B*, V. 45, p. 9413-9416, 1992.

BOENEMANN, F.A.; SCHÜTTE, C. A Mathematical Investigation of the Car-Parrinello Method. *Numerische Mathematik Eletronic Edition*, V.78, p. 359-376, 1998.

BOLOTIN, A. Computational Solution to Quantum Foundation Problems. *Physical Science International Journal*, V. 4, p. 1145-1157, 2014.

CAR, R.; PARRINELLO, M. Unified approach for molecular dynamics and density-functional theory. *Physical Review Letters*, V. 55, p. 2471-2474, 1985.

CASAGRANDE, D. A estrutura de moléculas, sólidos e superfícies. *Revista Intgração Ano XIII*, V. 52, p. 363-369, 2007.

CASTILHO-ALMEIDA, E. W. ; ALMEIDA, W. B.; SANTOS, H. F. Conformational analysis of lignin models: a chemometric approach. *Journal of Molecular Modelling*, V. 19, p. 2149–2163, 2013.

CHEN, A.-S.; TAGUCHI, T.; OKAMOTO, H.; DANJO, K.; SAKAI, K.; ATAHIRA, Y.; WANG, M.-W.; MIWA, I. Pharmacokinetics of Chitobiose and Chitotriose Administered Intravenously or Orally to Rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. V. 28, p. 545-548, 2005.

CHIELLINI E.; CHIELLINI F.; CINELLI P.; Polymers from renewable sources. In Degradable Polymers. Principles and Applications, 2^a ed., Ed. Scott C., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 174–178, 2003.

CPMD. Versão 3.15.3. Copyright IBM Corp. 1990-2008, Copyright MPI für Festkörperforschung Stuttgart 1997-2001. http://www.cpmd.org/. 2012.

DAUCHEZ, M.; DERREUMAUX, P.; VERGOTEN, G. Vibrational molecular force field of model compounds with biologic interest. II. Harmonic dynamics of both anomers of glucose in the crystalline state. *Journal of Computational Chemistry*, V. 14, p. 263, 1993.

DOLTSINIS, N. L.; MARX, D. First principles molecular dynamics involving excited states and nonadiabatic transitions. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, V. 1, p. 319-349, 2002.

DONG, H.; NIMLOS, M. R.; HIMMEL, M. E; JOHNSON, D. K.; QIAN, X. The Effects of Water on β -D-Xylose Condensation Reactions. *Journal of Physical.Chemistry A*, V. 113, p. 8577–8585, 2009.

DUMITRIU, S. Polysaccharides in Medicinal Applications. Library of Congress, 1996.

_____. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. New York – NY, Ed. CRC Press, 2^a edição, 2005.

DUO-CHUAN L. Review of fungal chitinases. Mycopathologia, V. 161, p. 345-360, 2006.

DUUS, J. Ø.; GOTFREDSEN, C. H.; BOCK, K. Structural Determination by NMR Spectroscopy: Modern Methods and Limitations. *Chemical Reviews*, V. 100, p. 4589-4614, 2000.

DWELTZ, N. E. The structure of chitin Biochimica et Biophysica Acta, V. 44, p. 416-435, 1960.

ERRINGTON, N.; HARDING, S. E.; VÅIRUM, K. M.; ILIUM, L. Hydrodynamic characterization of chitosans varying in degree of acetylation. *International Journal of Biological Macromolecular*, V. 15, p. 113-117, 1993.

FRANCA, E. F.; LINS, R. D.; FREITAS, L. C. G.; STRAATSMA, T. P. Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution. *Journal of Chemical Theory and Computation*, V. 4, p. 2141–2149, 2008.

FERNANDES, C. L.; SACHETT, L. G.; POL-FACHIN, L.; VERLI, H. GROMOS96 43a1 performance in predicting oligosaccharide conformational ensembles within glycoproteins. *Carbohydrate Research*, V. 345, p. 663–671, 2010.

FIELD, M.J. A Practical Introduction to the Simulation of Molecular Systems. Editora Cambridge University Press, 2 Ed., p. 170-171, 2007.

FIOLHAIS, C.; NOGUEIRA, F.; MARQUES, M. (Eds.). Density Functionals for Nonrelativistic Coulomb Systems in the New Century. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003.

GARDNER, K. H.; BLACKWELL, J. Refinement of the Structure of β –Chitin. *Biopolymers*, V. 14, p. 1581-1595, 1975.

GOEDECKER, S.; TETER, M.; HUTTER, J. Separable dual-space Gaussian pseudopotentials. Physical Review B, V. 54, p. 1703-1710, 1996.

GOKUL, B.; LEE, J.-H.;SONG, K.-B.; RHEE, S. K.; KIM, C.-H.; PANDA, T. Characterization and Applications of chitinases from *Trichoderma harzianum* – A Review. *Bioprocess Engineering*, V. 23, p. 691-694, 2000.

GOY, R.C., ASSIS, O.B.G., CAMPANA-FILHO, S.P. Produção de Esferas de Quitosana. *Biotecnologia Ciência e desenvolvimento*, v.33; p.30-34, Julho/Dezembro 2004.

GROSS, K. U.; DREIZLER, R. M. Density Functional Theory. Plenum Press, New York, 1995

GUINESI, L.S., ESTEVES, A.A., CAVALHEIRO, E.T.G. Adsorção de Íons Cobre (II) pela Quitosana usando Coluna em Sistema sob Fluxo Hidrodinâmico. *Química Nova*, V. 30, p. 809-814, 2007.

HAMANN, D. R. H2O hydrogen bonding in density-functional theory. *Physical Review B*, V.55, p. 10157-10160, 1997.

HAN, C.; ZHAO, J.; YANG, F.; WANG, J. Structural Dynamics of N-Propionyl-D-glucosamine Probed by Infrared Spectroscopies and Ab Initio Computations. *Journal of Physical Chemistry A*, V. 117, p-. 6105–6115, 2013.

HANSMANN, U. H. E.; OKAMOTO, Y. Prediction of Peptide Conformation by Multicanonical Algorithm: New Approach to the Multiple-Minima Problem. *Journal of Computional. Chemistry*, V. 14, p. 1333-1338, 1993.

HEYDEN, M.; BRÜNDERMANN, E.; HEUGEN, U.; NIEHUES, G.; LEITNER, D. M.; HAVENITH, M. Long-Range Influence of Carbohydrates on the Solvation Dynamics of WatersAnswers from Terahertz Absorption Measurements and Molecular Modeling Simulations. *Journal of American Chemical Society*, V. 130, p. 5773–5779, 2008.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. *Physical Reviews B*, V. 136, p. 864–71, 1964.

HOOVER, W. G. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Reviews A*, V. 31, p. 1695–1697, 1985.

HOUAISS, A.; VILLAR, M. de S.; FRANCO, F.M. de M. Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa. Rio de Janeiro: Objetiva, 2009.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, V. 14, p. 33-38, 1996.

HUTTER, J.; LÜTHI, H. P.; PARRINELLO, M. Electronic structure optimization in planewave-based density functional calculations by direct inversion in the iterative subspace. *Computational Materials Science*, V. 2, p. 244-248, 1994.

HUTTER, J.; TUCKERMAN, M.; PARRINELLO, M. Integrating the Car-Parrinello equations. *Journal of Chemical Physics*, V. 102, p. 859-871, 1995.

IGLESIAS-FERNÁNDEZ, J.; RAICH, L.; ARDÈVOL, A.; ROVIRA, C. The complete conformational free energy landscape of b-xylose reveals a two-fold catalytic itinerary for b-xylanases. *Chemical Science*, V.6, p. 1-11, 2014.

ILANKOVAN, P.; HEIN, S.; NG, C. H.; TRUNG, T. S.; STEVENS, W. F. Production of Nacetyl chitobiose from various chitin substrates using commercial enzymes. *Carbohydrate Polymers.* V. 63, p. 245–250, 2006.

INSTITUTE OF MEDICINE AND NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Prototype monograph on glucosamine*. In Dietary Supplements: a framework for evaluating safety. The National Academies Press, Washington -D.C. (USA), p. 363-366, 2004.

IRETA, J.; NEUGEBAUER, J.; SCHEFFLER, M. On the Accuracy of DFT for Describing Hydrogen Bonds: Dependence on the Bond Directionality. *Journal of Physical Chemistry A*, V. 108, p. 5692-5698, 2004.
I.U.P.A.C.-I.U.B. Commission on Biochemical Nomenclature. *Pure and Applied Chemistry*, V. 68, p. 1919–2008, 1996.

JAMIALAHMADI, K.; . BEHRAVAN, J.; NAJAFI, M. F.; M.; YAZDI, T.; SHAHVERDI, A.R.; FARAMARZI, M. A. Enzymatic Production of N-Acetyl-D-Glucosamine from Chitin Using Crude Enzyme Preparation of Aeromonas sp. PTCC1691. *Biotechnology*, V. 10, p. 292-297, 2011.

JAYAKUMAR, R., PRABAHARAN, M., MUZZARELLI, R.A.A. *Chitosan for Biomaterials II*. Berlin. Editora Springer. p. 1-22, 2011.

JEON, Y.-J.; SHAHIDI, F.; KIM, S.-K. Preparation of chitin and chitosan oligomers and their applications in physiological functional foods. *Food Rev. Int.*, V. 16, p. 159–176, 2000.

JOLLÈS, P.; MUZZARELLI, R.A.A. *Chitin and Chitinases*. Basel – Switzerland. Ed. Birkhäuser, 1^a Ed., V. 1, p. 1-47, 1999.

JIN, K.; FENG, X.; XU, Z. Mechanical Properties of Chitin–Protein Interfaces: A Molecular Dynamics Study. *BioNanoScience*, V. 3, p. 312–320, 2013.

KAMIYA, Y.; SATOH, T.; KATO, K. Recent advances in glycoprotein production for structural biology: toward tailored design of glycoforms. *Current Opinion in Structural Biology*, V. 26, p. 44–53, 2014.

KARPLUS, M.; LEVITT, M.; WARSHEL, A. Development of multiscale models for complex chemical systems. Kungl. Vetenskaps-Akademien, Box 50005 (Lilla Frescativägen 4 a), SE-104 05, Stockholm – Sweden, 2013.

KEYHANI, N. O.; ROSEMAN S. Physiological aspects of chitin catabolism in marine bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*, V. 1473, p. 108-122, 1999.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Reviews A*, V. 140, p. 1133–8, 1965.

KOTELYANSKII, M.; THEODOROU, D.N. Simulation Methods for Polymers. Marcel Dekker, New York – Basel, 2004.

KURITA K., Controlled functionalization of the polysaccharide chitin, *Progress in Polymer Science*, V. 26, p. 1921–1971, 2001.

KURTH, S.; PERDEW, J. P.; BLAHA. P. Molecular and Solid-State Tests of Density Functional Approximations: LSD, GGAs, and Meta-GGAs. *International Journal of Quantum Chemistry*, V. 75, p. 889-909. 1999.

LAASONEN, K.; PASQUARELLO, A.; CAR, R.; LEE, C.; VANDERBILT, D. Car-Parrinelo molecular dynamics with Vanderbilt utrasoft pseudopotentials. *Physical Review B*, V. 47, p. 10142-10153, 1993. LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, V. 37, p. 785-789, 1988.

LERTWORASIRIKUL, A.; NOGUCHI, K.; OGAWA, K.; OKUYAMA, K. Plausible molecular and crystal structures of chitosan/HI type II salt. *Carbohydrate Research*, V. 339, p. 835–843, 2004.

LIU, D.; NIMLOS, M. R.; JOHNSON, D. K.; HIMMEL, M. E.; QIAN, X. Free Energy Landscape for Glucose Condensation Reactions. *Journal of Physical.Chemistry A*, V. 114, p. 12936–12944, 2010.

MADHUPRAKASH, J.; TANNEERUZ, K.; KARLAPUDI, B.; GURUPRASAD, L.; PODILE, A. R. Mutagenesis and molecular dynamics simulations revealed the chitooligosaccharide entry and exit points for chitinase D from Serratia proteamaculans. *Biochimica et Biophysica Acta*, V. 1840, p. 2685–2694, 2014.

MARTÍNEZ, J. P.; FALOMIR, M. P.; GOZALBO, D. *Chitin: A Structural Biopolysaccharide*. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2009.

MARX, D.; HUTTER, J. Ab Initio Molecular Dynamics – Basic Theory and Advanced Methods. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.

MAZEAU, K.; PEREZ, S.; RINAUDO, M. Predicted influence of N-acetyl group content on the conformational extension of chitin and chitosan chains. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, V. 19, p. 1269–1284, 2000.

MEIER, K.; THIEL, W.; GUNSTEREN, W. F. V. On the Effect of a Variation of the Force Field, Spatial Boundary Condition and Size of the QM Region in QM/MM MD Simulations. *Journal of Computational Chemistry*, V. 33, p. 363-378, 2012.

MINKE, R.; BLACKWELL, J. The Structure of α-Chitin. *Journal of Molecular Biology*, V. 120, p. 167-181, 1978.

MOURYA, V. K.; INAMDAR, N. N.; CHOUDHARI, Y. M. Chitooligosaccharides: Synthesis, Characterization and Applications. *Polymer Science*, Ser. A, V. 53, No. 7, pp. 583–612, 2011.

MUSHRIF, S. H.; VARGHESEA, J. J.; VLACHOS, D. G. Insights into the Cr(III) catalyzed isomerization mechanism of glucose to fructose in the presence of water using ab initio molecular dynamics. *Physical Chemistry Chemical Physics*, V. 16, p. 19564-19572, 2014.

MUZZARELLI, R.A.A. Chitin. New York: Pergamon Press, p. 1-4, 1977.

NALEWAJSKI, R. F. Density Functional Theory I: Functionals and Effective Potencials. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1996.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. São Paulo-SP. Editora W.H. Freeman, 3.ed., p. 225-249, 2002.

NISHIMURA, S.-I.; KUZUHARA, H. Synthesis of a peripheral trisaccharide sequence of lutropin, a pituitary glycoprotein hormone; use of chitobiose as a key starting material. *Carbohydrate Research*, V. 206, p. 207-217, 1990.

NOSÉ, S. A unified formulation of the constant temperature molecular-dynamics methods. *Journal of Chemical Physics*, V. 81, p. 511–519, 1984a.

_____. A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. *Molecular Physics*, V. 52, p. 255-268, 1984b.

OGAWA, K.; YUI, T.; OKUYAMA, K. Three D Structures of Chitosan. International Journal of Biological Macromolecular, V. 34, p. 113-117, 2004.

OKUYAMA, K.; NOGUCHI, K.; MIYAZAWA, T.; YUI, T.; OGAWA, K. Molecular and Crystal Structure of hydrated Chitosan. *Macromolecules*, V. 30, p. 5849-5855, 1997.

PARR, R. G.; YANG, W. Density Functional Theory of Atoms and Molecules. New York, Oxford University Press, 1989.

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Physical Review Letters*, V. 77, p. 3865-3868, 1996.

PEREIRA, C. S.; KONY, D.; BARON, R.; MÜLLER, M.; GUNSTEREN, W. F. V.; HÜNENBERGER, P. H. Conformational and Dynamical Properties of Disaccharides in Water: a Molecular Dynamics Study. *Biophysical Journal*. V. 90, p. 4337-4344, 2006.

PINCU, M.; BRAUERB, B. GERBER, R. B. When a proton attacks cellobiose in the gas phase: *ab initio* molecular dynamics simulations. *Physical Chemistry Chemical Physics*, V. 15, p. 15382-15391, 2013.

PINCU, M.; GERBER, R. B. Hydration of cellobiose: Structure and dynamics of cellobiose – (H2O)n, n = 5–25. *Chemical Physics Letters*, V. 531, p. 52–58, 2012.

QIAN, X.; JOHNSON, D. K.; HIMMEL, M. E.; NIMLOS, M. R. The role of hydrogenbonding interactions in acidic sugar reaction pathways. *Carbohydrate Research*, V. 345, p. 1945–1951, 2010.

QIAN, X.; WEI, X. Glucose Isomerization to Fructose from ab Initio Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Physical.Chemistry B*, V. 116, p. 10898–10904, 2012.

QIAN, X. Mechanisms and Energetics for Acid Catalyzed β -D-Glucose Conversion to 5-Hydroxymethylfurfurl. *Journal of Physical. Chemistry A*, V. 115, p. 11740–11748, 2011.

RAMACHANDRAN, G. N,; RAMAKRISHNAN, C.; SASISEKHARAN, V.; Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *Journal of Molecular Biology*, V. 7, p. 95-99, 1963.

RAMACHANDRAN, K. I.; DEEPA, G.; NAMBOORI, K.. Computational Chemistry And Molecular Modeling Principles And Applications. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.

RAST, D. M.; BAUMGARTNER, D.; MAYER, C.; HOLLENSTEIN, G.O. Cell wall-associated enzymes in fungi. *Phytochemistry*, V. 64, p. 339–366, 2003.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, V. 31, p. 603–632, 2006.

RINO, J. P. e STUDART, N. Um Potencial de Interação para o Estudo de Materiais e Simulações por Dinâmica Molecular. *Química Nova*, V. 24, p. 838-845, 2001.

ROBERTS G.A.F., Chitin Chemistry, Macmillan, London, 1992.

RUNGNIMA, C.; RUNGROTMONGKOLB, T.; HANNONGBUAC, S.; OKUMURAD, H. Replica exchange molecular dynamics simulation of chitosan for drug delivery system based on carbon nanotube. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, V. 39, p. 183–192, 2013.

SASHIWA, H.; FUJISHIMA, S.; YAMANO, N.; KAWASAKI, N.; NAKAYAMA, A. Glucosamine from chitin: Degradation study of N-acetyl-chitooligosac charide and the effect of mixing of crude enzymes. *Carbohydrate Polymers*, V. 51, p. 391–395, 2002.

SAWADA, D.; OGAWA, Y.; KIMURA, S.; NISHIYAMA, Y.; LANGAN, P.; WADA, M. Solid–solvent molecular interactions observed in crystal structures of b-chitin complexes. *Cellulose*, V. 21, p. 1007–1014, 2014.

SAWADA, D.; NISHIYAMA, Y.; LANGAN, P.; FORSYTH, V. T.; KIMURA, S.; WADA, M. Direct determination of the hydrogen bonding arrangement in anhydrous β -chitin by neutron fiber diffraction. *Biomacromolecules*, V. 13, p. 288-291, 2012.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y.-J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, V. 10, p. 37-51, 1999.

SIGNINI, R. *Estudo das Relações Estrutura/Propriedades de Quitina e Quitosana. 2002.* 186f. Tese (Doutorado em Ciências – Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, 2002.

SILVIA, A.W. Estudo por Modelagem e Dinâmica Molecular da Protease de variantes do Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 resistentes a drogas antivirais. Dissertação de Doutorado, UFRJ, Rio de Janeiro, 2003.

STRINO, F. Computational analysis of oligosaccharide conformations - methodological development, applied studies, and design of glycomimetics. Geson Sverige AB, Göteborg, Sweden, 2010.

STUBBS, J. M.; MARX, D. Aspects of Glycosidic Bond Formation in Aqueous Solution: Chemical Bonding and the Role of Water. *Chemistry – A European Journal*, V. 11, p. 2651–2659, 2005.

SUGITA, Y.; OKAMOTO, Y. Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding. *Chemical Physics Letters*, V. 314, p. 141-151, 1999.

SUZUKI, T.; SOTA, T. Circular Hydrogen Bond Networks on the Surface of β -Ribofuranose in Aqueous Solution. *Journal of Physical Chemistry B*, V. 109, p. 12603-12611, 2005.

SUZUKI, T. The hydration of glucose: the local configurations in sugar-water hydrogen bonds. *Physical Chemistry Chemical Physics*, V. 10, p. 96–105, 2008.

SWOPE, W. C.; ANDERSEN, H. C.; BERENS, P. H. e WILSON, K. R. A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters. *Journal of Chemical Physics*, V. 76, p. 637-649, 1982.

SZABO, A.; OSTLUND, N.S. Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Eletronic Structure Theory. McGraw-Hill, 1^a Ed., 1989.

TANGNEY, P. On the Theory underlying the Car-Parrinello Method and the Role of the Fictitious Mass Parameter. *Journal of Chemical Physics*, V. 124, p. 044111 (1-14), 2006.

TAVERNELLI, I. Computational Methods in Molecular Quantum Mechanics. EPFL, Lausanne, 2013.

THOMPSON, D. L. Modern Methods for Multidimensional Dynamics Computations in Chemistry. World Scientific Publishing, Singapore, 1998.

TRINDLE, C.; SHILLADY, D. *Electronic Structure Modeling : Connections between Theory and Software*. CRC Press - Taylor & Francis Group. Boca Raton - FL, 2008.

TROULLIER, N.; MARTINS, J. L. Efficient pseudopotentials for plane-wave calculations *Physical Review B*, V. 43, p. 2006-1993, 1991.

VAN BUEREN, A. L.; ARDÈVOL, A.; FAYERS-KERR, J.; LUO, B.; ZHANG, Y.; SOLLOGOUB, M.; BLÉRIOT, Y.; ROVIRA, C.; DAVIES, G. J. Analysis of the Reaction Coordinate of α-L-Fucosidases: A Combined Structural and Quantum Mechanical Approach. *Journal of American Chemical Society*, V. 132, p. 1804–1806, 2010.

VANDERBILT, D. Soft self-consistent pseudopotentials in a generalized eigenvalue formalism. *Physical Review B*, V. 41, p. 7892-7895, 1990.

VLACHAKIS, D.; BENCUROVA, E.; PAPANGELOPOULOS, N.; KOSSIDA, S. Current State-of-the-Art Molecular Dynamics Methods and Applications. In Rossen Donev, editor: *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, V. 94, Burlington: Academic Press, p. 269-313, 2014.

WADA, M.; NISHIYAMA, Y.; BELLESIA, G.; FORSYTH, T.; GNANAKARAN, S.; LANGAN, P. Neutron crystallographic and molecular dynamics studies of the structure of ammonia-cellulose I: rearrangement of hydrogen bonding during the treatment of cellulose with ammonia. *Cellulose*, V. 18, p. 191–206, 2011.

WORMALD, M. R.; PETRESCU, A. J.; PAO, Y.-L.; GLITHERO, A.; ELLIOTT, T.; DWEK, R. A. Conformational Studies of Oligosaccharides and Glycopeptides: Complementarity of NMR, X-ray Crystallography, and Molecular Modelling. *Chemical*

Reviews, V. 102, p. 371-386, 2002.

XIA, W.; LIU P.; ZHANG, J.; CHEN, J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. *Food Hydrocolloids*, V. 25, p. 170-179, 2011.

YAMAMOTO, S.; ZHANG, Y.; YAMAGUCHI, T.; KAMEDAD, T.; KATO, K. Lanthanideassisted NMR evaluation of a dynamic ensemble of oligosaccharide conformations. *Chemical Commun*ication, V. 48, p. 4752–4754, 2012.

YOON, J. H. Enzymatic synthesis of chitooligosaccharides in organic cosolvents. *Enzyme* and *Microbial Technology*, V. 37, p. 663–668, 2005

YU, Z.; XU, Z.; LAU, D. Effect of Acidity on Chitin–Protein Interface: A Molecular Dynamics Study. *BioNanoScience*, V. 4, p. 207-215, 2014.

YUI, T.; IMADA, K.; OKUYAMA, K.; OBATA, Y.; SUZUKI, K.; OGAWA, K. Molecular and Crystal Structure of the Anhydrous Form of Chitosan. *Macromolecules*, V. 27, p. 7601-7605, 1994a.

YUI, T.; KOBAYASHI, H.; KITAMURA, S.; IMADA, K. Conformational Analysis of Chitobiose and Chitosan. *Biopolymers*, V. 34. p. 203-208, 1994b.

YUI, T.; TAKI, N.; SUGIYAMA, J.; HAYASHI, S. Exhaustive crystal structure search and crystal modeling of β -chitin. *International Journal of Biological Macromolecules*, V. 40, p. 336–344, 2007.

ZAFER, A. Computational Studies on the Structure of β -chitin and other Polysaccharides. 282 f. Tese (Doutor de Filosofia) – Universidade de Karachi (Departamento de Bioquímica, Universidade de Karachi, Paquistão, 2001.

ZHANG, Y.; PAN, W.; YANG, W. Describing van der Waals Interaction in diatomic molecules with generalized gradient approximations: The role of the exchange functional. *Journal of Chemical Physics*, V. 107, p. 7921-7925, 1997.

ZHANG, Y.; YAMAMOTO, S.; YAMAGUCHI, T.; KATO, K. Application of Paramagnetic NMR-Validated Molecular Dynamics Simulation to the Analysis of a Conformational Ensemble of a Branched Oligosaccharide. *Molecules*, V. 17, p. 6658-6671, 2012

ZHANG, Y.; YAMAGUCHI, T.; KATO, K. New NMR Tools for Characterizing the Dynamic Conformations and Interactions of Oligosaccharides. *Chemistry Letters*, V. 42, p. 1455-1462, 2013.

APÊNDICE A – Representação dos Dissacarídeos

Neste Apêndice encontra-se ilustrado a estrutura molecular dos quatro dissacarídeos estudados, D1, D2, D3 e D4 (Figura 1 A), bem como, o índice associado aos átomos de hidrogênio das moléculas estudadas, tendo como modelo o dissacarídeo D2 (Figura 2 A).

Figura 1 A – Representação da estrutura molecular dos dissacarídeos D1 (a), D3 (b), D2 (c) D4 (d).





Figura 2 A – Representação da estrutura da molécula D2 e numeração dos átomos de hidrogênio.

APÊNDICE B - Tabelas

Neste Apêndice encontram-se os dados referentes a comprimentos e ângulos de ligação das moléculas estudadas. Os dados foram dispostos em Tabelas.

Átomos	Comprimer	Comprimentos de ligação (Å)		
Atomos —	CPMD	Cristalografia – Sawada et al. (2012)	(%)	
C3'—C4'	$1,5418 \pm 0,0349$	1,5005(3)	2,75	
C3'—C2'	$1,5423 \pm 0,0349$	1,5049(3)	2,49	
C3'—O3'	$1,4324 \pm 0,0328$	1,4043(4)	2,00	
С3'—Н3'	$1,1173 \pm 0,0323$	0,9803(2)	13,98	
O <mark>3'</mark> —HO3'	$0,\!9915 \pm 0,\!0259$	0,97(6)	2,22	
C4'—C5'	$1,5460 \pm 0,0351$	1,5148(4)	2,06	
C4'—O1	$1,\!4576 \pm 0,\!0355$	1,4478(2)	0,68	
C4'—H4'	$1,\!1093\pm0,\!0316$	0,9801(2)	13,18	
C5'—C6'	$1,5334 \pm 0,0342$	1,4844(3)	3,30	
C5'—O5'	$1,\!4369 \pm 0,\!0334$	1,4658(3)	1,97	
C5'—H5'	$1,1171 \pm 0,0333$	0,9802(2)	13,97	
C <mark>6'—O6'</mark>	$1,\!4410\pm0,\!0320$	1,4191(3)	1,54	
C6'—H6A'	$1,\!1092\pm0,\!0317$	0,9702(2)	14,33	
С <mark>6'</mark> —Н <mark>6В'</mark>	$1,1046 \pm 0,0308$	0,9699(2)	13,89	
0 <mark>6'</mark> —H <mark>O6</mark> '	$0,\!9803 \pm 0,\!0247$	1,0(2)	1,97	
O5'—C1'	$1,\!4563 \pm 0,\!0379$	1,3196(3)	10,36	
C1'—C2'	$1,5532 \pm 0,0360$	1,4575(4)	6,57	
C1'—O1'	$1,3875 \pm 0,0306$	1,4661(3)	5,36	
C1'—H1'	$1,\!1186 \pm 0,\!0326$	0,9799(2)	14,15	
01'—H01'	$0,9999 \pm 0,0286$	-	-	
C2'—N2'	$1,4717 \pm 0,0333$	1,4320(3)	2,77	
C2'—H2'	$1,1104 \pm 0,0308$	0,9802(2)	13,28	

Tabela 1 B – Valores de comprimentos de ligação para a molécula de acetil-quitobiose. Comparação entre resultado teórico e experimental.

Átomos	Comprimer	Comprimentos de ligação (Å)		
Atomos —	CPMD	Cristalografia – Sawada et al. (2012)	(%)	
N2'—HN2'	$1,0229 \pm 0,0278$	0,95(4)	7,67	
N2'—C7'	$1,3728 \pm 0,0277$	1,3774(5)	0,33	
C7'—O7'	$1,2459 \pm 0,0210$	1,3083(4)	4,77	
C7'—C8'	$1,5201 \pm 0,0328$	1,4894(3)	2,06	
C8'—H8C'	$1,1034 \pm 0,0301$	0,9600(2)	14,94	
C8'—H8A'	$1,1035 \pm 0,0298$	0,9604(2)	14,90	
C8'—H8B'	$1,1036 \pm 0,0304$	0,9596(1)	15,01	
C1—01	$1,\!4077\pm0,\!0322$	1,4661(3)	3,98	
C1—C2	$1,\!5469 \pm 0,\!0358$	1,4575(4)	6,13	
C1—O5	$1,4428 \pm 0,0359$	1,3196(3)	9,34	
C1—H ₁	$1,\!1187 \pm 0,\!0326$	0,9799(2)	14,16	
C2—C3	$1,5525 \pm 0,0368$	1,5049(3)	3,16	
C2—N2	$1,4756 \pm 0,0325$	1,4320(3)	3,04	
C2—H2	$1,\!1092\pm0,\!0316$	0,9802(2)	13,16	
N2—HN2	$1,\!0242\pm0,\!0270$	0,95(4)	7,81	
N2—C7	$1,3722 \pm 0,0279$	1,3774(5)	0,38	
C7—O7	$1,\!2457 \pm 0,\!0214$	1,3083(4)	4,78	
C7—C8	$1,5216 \pm 0,0338$	1,4894(3)	2,16	
C8—H8A	$1,\!1037\pm0,\!0304$	0,9600(2)	14,97	
C8—H8B	$1,\!1035\pm0,\!0298$	0,9604(2)	14,90	
C8—H8C	$1,\!1036\pm0,\!0307$	0,9596(1)	15,01	
C3—C4	$1{,}5395 \pm 0{,}0349$	1,5005(3)	2,60	
C3—O3	$1,\!4289 \pm 0,\!0325$	1,4043(4)	1,75	
C3—H3	$1,1163 \pm 0,0333$	0,9803(2)	13,87	
O3—HO3	$0,\!9988 \pm 0,\!0280$	0,97(6)	2,97	
C4—C3	$1,\!5339 \pm 0,\!0339$	1,5148(4)	1,26	
C4—O4	$1,\!4378 \pm 0,\!0329$	1,4478(2)	0,69	
C4—H4	$1,\!1119 \pm 0,\!0310$	0,9801(2)	13,45	
O4—HO4	$0,\!9824 \pm 0,\!0246$	-	-	
C <mark>3</mark> —C6	$1,\!5346 \pm 0,\!0350$	1,4844(3)	3,38	
C3—O5	$1,4579 \pm 0,0355$	1,4658(3)	0,54	

Átomos	Comprimen	Comprimentos de ligação (Å)		
Atomos	CPMD	Cristalografia – Sawada et al. (2012)	(%)	
С3—Н5	$1,\!1148 \pm 0,\!0327$	0,9802(2)	13,73	
C <mark>6</mark> —O6	$1,\!4367\pm0,\!0322$	1,4191(3)	1,24	
C <mark>6</mark> —H <mark>6A</mark>	$1,\!1087\pm0,\!0312$	0,9702(2)	14,28	
C <mark>6</mark> —H <mark>6B</mark>	$1,\!1071\pm0,\!0312$	0,9699(2)	14,15	
0 <mark>6</mark> —H <mark>O6</mark>	$0,\!9791 \pm 0,\!0241$	1,0(2)	2,09	

Tabela 2 B – Valores de ângulos de ligação para a molécula de acetil-quitobiose. Comparação entre resultado teórico e experimental.

	Ângulos de Ligação (°)		Diferença
Atomos -	CPMD	Cristalografia – Sawada	relativa (%)
		et al. (2012)	
C3'—C4'—C5'	109,96	112,65	2,39
C3'—C4'—H4'	109,39	110,05	0,60
C3'—C2'—C1'	109,97	109,34	0,58
C3'—C2'—N2'	108,57	115,60	6,08
C3'—C2'—H2'	108,92	102,10	6,68
C3'—O3'—HO3'	107,71	107(6)	0,66
C4'—C3'—H3'	107,14	103,23	3,78
C2'—C3'—H3'	108,74	103,29	5,27
O3'—C3'—H3'	109,58	103,18	6,21
C4'—C5'—C6'	114,04	112,82	1,08
C4'—C5'—O5'	109,04	108,57	0,43
C4'—C5'—H5'	108,51	108,28	0,21
C4'—O1—C1	116,99	119,06	1,74
C5'—C4'—O1	107,71	103,02	4,56
C5'—C4'—H4'	109,18	110,02	0,77
C5'—C6'—O6'	113,69	107,28	5,98
C5'—C6'—H6A'	108,01	110,20	1,99
C5'—C6'—H6B'	109,22	110,26	0,95
C5'—O5'—C1'	112,82	114,38	1,36

,	Âng	Diferenca	
Atomos	CPMD	Cristalografia – Sawada	relativa (%)
		et al. (2012)	
C6'—O6'—HO6'	107,47	103(9)	4,34
C6'—C5'—O5'	107,22	110,47	2,94
O6'—C6'—H6A'	110,89	110,26	0,57
O6'—C6'—H6B'	106,33	110,31	3,61
O5'—C1'—C2'	107,55	120,88	11,03
05'—C1'—O1'	107,23	111,58	3,90
O5'—C1'—H1'	107,39	104,12	3,14
O5'—C5'—H5'	110,10	108,28	1,68
C1'—C2'—N2'	113,92	122,23	6,80
C1'—C2'—H2'	106,68	102,00	4,59
C1'—O1'—HO1'	108,71	-	-
C2'—N2'—C7'	122,51	128,35	4,55
C2'—N2'—HN2'	115,19	114(3)	1,05
C2'—C1'—H1'	110,29	-	-
N2'—C7'—C8'	115,97	118,32	1,99
N2'—C7'—O7'	122,23	116,54	4,88
С7'—С8'—Н8С'	109,77	109,47	0,27
C7'—C8'—H8A'	110,19	109,49	0,64
С7'—С8'—Н8В'	110,50	109,51	0,90
C7'—N2'—HN2'	116,98	117(3)	0,02
C8'—C7'—O7'	121,52	125,10	2,86
C1—C2—C3	109,83	109,34	0,45
C1—C2—N2	107,99	122,23	11,65
C1—C2—H2	107,76	102,00	5,65
C1—O1—C4'	116,99	119,06	1,74
C1—O5—C3	113,58	114,38	0,70
C2—C3—C4	111,01	115,87	4,19
C2—C3—O3	113,32	114,52	1,05
C2—C3—H3	108,27	103,29	4,82
C2—C1—H1	110,30	104,14	5,91
C2—N2—C7	124,95	128,35	2,65

,	Âng	Diferença	
Atomos	CPMD	Cristalografia – Sawada	relativa (%)
		et al. (2012)	
C2—N2—HN2	115,87	114(3)	1,64
N2—C7—C8	115,54	118,32	2,35
N2—C7—O7	123,02	116,54	5,56
C7—C8—H8A	109,82	109,47	0,32
C7—C8—H8B	110,06	109,49	0,52
C7—C8—H8C	110,63	109,51	1,02
C8—C7—O7	121,16	125,10	3,15
C7—N2—HN2	116,73	117(3)	0,23
C3—C4—C5	111,10	112,65	1,37
C3—C4—O4	110,59	110,82	0,21
C3—C4—H4	108,11	110,05	1,76
C3—O3—HO3	107,42	107(6)	0,39
C3—C2—H2	108,55	102,10	6,32
C4—C5—C6	114,17	112,82	1,19
C4—C5—O5	107,75	108,57	0,76
C4—C5—H5	109,31	108,28	0,95
C4—C3—H3	107,82	103,23	4,45
C4—O4—HO4	106,25	-	-
C5—C6—O6	113,55	107,28	5,84
C5—C6—H6A	108,70	110,20	1,36
C5—C6—H6B	107,67	110,26	2,35
C5—C4—H4	108,33	110,02	1,53
C6—C5—O5	108,26	110,47	2,00
C6—C5—H5	107,69	108,31	0,57
C6—O6—HO6	107,85	103(9)	4,70
O <mark>6—C6</mark> —H6A	108,66	110,26	1,45
O6—C6—H6B	109,54	110,31	0,70
0 <mark>5</mark> —C1—O1	108,03	111,58	3,18
O <mark>5</mark> —C1—H1	108,42	104,12	4,13
O5—C5—H5	109,24	108,28	0,88
01—C1—H1	110,36	104,11	6,01

,	Âng	Diferença	
Atomos –	CPMD	Cristalografia – Sawada	relativa (%)
		et al. (2012)	
01—C4'—H4'	109,21	110,10	0,81
01—C4'—C3'	110,98	110,82	0,14
01—C1—C2	108,84	110,16	1,20
O5—C1—C2	110,55	120,88	8,54
N2—C2—H2	108,79	102,06	6,59
N2—C2—C3	113,41	115,60	1,90
O3—C3—H3	109,27	103,18	5,90
C4—C3—O3	106,68	114,38	6,74
O4—C4—H4	110,21	110,10	0,10
O4—C4—C5	110,59	103,02	7,35
H6A—C6—H6B	108,13	108,53	0,37
H8A—C8—H8B	108,33	109,43	1,00
H8A—C8—H8C	108,60	109,49	0,81
H <mark>8B</mark> —C8—H8C	108,68	109,44	0,70
H1'—C1'—O1'	109,57	104,11	5,25
C2'—C1'—O1'	114,21	110,16	3,68
N2'—C2'—H2'	108,29	102,06	6,10
C4'—C3'—C2'	109,98	115,87	5,09
C2'—C3'—O3'	107,56	114,52	6,08
C4'—C3'—O3'	113,44	114,38	0,83
C3'—C4'—O1	110,98	110,82	0,14
C6'—C5'—H5'	107,56	108,31	0,69
H6A'—C6'—H6B'	108,15	108,53	0,35
H8C'—C8'—H8A'	108,48	109,43	0,87
H8C'—C8'—H8B'	108,54	109,49	0,87
H8A'—C8'—H8B'	108,64	109,44	0,74

	D1	D3	Diferença
Atomos	Comprimento de ligação (Å)	Comprimento de ligação (Å)	Relativa (%)
C3'—C4'	1,5353	1,5451	0,64
C3'—C2'	1,5424	1,5427	0,02
C3'—O3'	1,4393	1,4395	0,02
C3'—H3'	1,1163	1,1104	0,53
O3'—HO3'	0,9868	0,9887	0,19
C4'—C5'	1,5443	1,5455	0,08
C4'—O1	1,4542	1,4562	0,14
C4'—H4'	1,1089	1,1096	0,06
C5'—C6'	1,5432	1,5328	0,67
C5'—O5'	1,4465	1,4493	0,19
C5'—H5'	1,1166	1,1131	0,31
C <mark>6'—</mark> O <mark>6'</mark>	1,4301	1,4403	0,71
C <mark>6'</mark> —H <mark>6A</mark> '	1,1074	1,1102	0,26
C <mark>6'</mark> —H <mark>6B</mark> '	1,1091	1,1047	0,4
0 <mark>6</mark> '—H <mark>O6</mark> '	0,9935	0,9806	1,29
O5'—C1'	1,4368	1,4491	0,85
C1'—C2'	1,5414	1,5461	0,31
C1'—01'	1,414	1,4137	0,02
C1'—H1'	1,1189	1,1133	0,5
01'—H <mark>01</mark> '	0,9813	0,9804	0,09
C2'—N2'	1,4727	1,4673	0,37
C2'—H2'	1,1122	1,1112	0,09
N2'—HN2A'	1,0263	1,0266	0,03
N2'—HN2B'	1,0281	1,028	0,01
C1—01	1,4057	1,4361	2,17
C1—C2	1,5449	1,5483	0,22
C1—O5	1,4457	1,4324	0,92
C1—H1	1,1154	1,1092	0,55
C2—C3	1,5391	1,5433	0,27
C2—N2	1,4805	1,4784	0,14

Tabela 3 B – Valores de comprimento de ligação das moléculas D1 e D3.

	D1	D3	Diferença
Átomos	Comprimento de ligação (Å)	Comprimento de ligação (Å)	Relativa (%)
C2—H2	1,1095	1,1062	0,3
N2—HN2A	1,0292	1,0253	0,38
N2—HN2B	1,0271	1,0271	0
C3—C4	1,5331	1,5386	0,36
C3—O3	1,4421	1,4397	0,17
C3—H3	1,1162	1,1064	0,88
O3—HO3	0,9812	0,9881	0,71
C4—C5	1,5442	1,5513	0,46
C4—O4	1,4464	1,4441	0,16
C4—H4	1,1096	1,1119	0,2
O4—HO4	0,9792	0,9828	0,37
C5—C6	1,5347	1,5391	0,29
C5—O5	1,4474	1,4645	1,18
C5—H5	1,1157	1,1089	0,61
C <mark>6</mark> —O <mark>6</mark>	1,4386	1,4409	0,16
C6—H6A	1,1098	1,1078	0,18
C6—H6B	1,1058	1,1072	0,13
0 <mark>6</mark> —H <mark>O6</mark>	0,9799	0,9866	0,69

Tabela 4 B – Valores de ângulos de ligação para as moléculas D1 e D3.

Átomos	D1	D3	Diferença
	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (º)	relativa (%)
C3'—C4'—C5'	110,5	110,75	0,22
C3'—C4'—O1	112,05	111,12	0,83
C5'—C4'—O1	106,67	108,35	1,57
C3'—C4'—H4'	109,47	108,73	0,67
C3'—C2'—C1'	110,43	109,31	1,02
C3'—C2'—N2'	109,26	109,74	0,44
С3'—С2'—Н2'	107,46	107,9	0,41
С3'—О3'—НО3'	106,04	108,38	2,21

<i>.</i>	D1	D3	Diferenca
Atomos	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (º)	relativa (%)
H3'—C3'—O3'	109,42	110,06	0,58
H3'—C3'—C2'	108,89	108,13	0,7
H3'—C3'—C4'	107,94	109,01	0,99
C4'—C5'—C6'	113,59	114,14	0,49
C4'—C5'—O5'	109,11	108,97	0,13
C4'—C5'—H5'	108,64	108,63	0
C4'—O1—C1	117,08	116,4	0,58
O1—C4'—H4'	109,34	109,04	0,28
C5'—C6'—O6'	114,66	113,25	1,22
C5'—C6'—H6A'	107,21	108,33	1,04
C5'—C6'—H6B'	107,99	109,25	1,17
C5'—O5'—C1'	112,81	114,04	1,09
C6'—C5'—O5'	108,38	106,1	2,1
H5'—C5'—O5'	108,93	110,03	1,01
H5'—C5'—C6'	107,76	108,56	0,74
Сб'—Об'—НОб'	107,59	106,78	0,75
06'—C6'—H6A'	107,82	110,71	2,67
O6'—C6'—H6B'	110,63	106,64	3,61
O5'—C1'—C2'	110,45	110,42	0,03
05'—C1'—O1'	107,58	107,1	0,45
O5'—C1'—H1'	109,25	108,93	0,29
C1'—C2'—N2'	113,11	114,89	1,58
C1'—C2'—H2'	106,24	105,9	0,32
C1'—O1'—HO1'	107,33	107,94	0,57
01'—C1'—H1'	108,96	109,57	0,56
01'—C1'—C2'	109,96	109,74	0,21
C2'—N2'—HN2A'	110,09	110,13	0,04
C2'—N2'—HN2B'	110,55	109,54	0,92
N2'—C2'—H2'	109,74	108,49	1,15
O3'—C3'—C2'	108,45	107,62	0,77
05—C1—O1	106,96	113,54	6,16
C2—C1—O1	109,63	108,03	1,46
H1—C1—O1	110,49	108,93	1,42

Átomos	D1	D3	Diferença
Atomos	Ângulos de Ligação (°)	Ângulos de Ligação (°)	relativa (%)
C1—C2—C3	109,4	109,81	0,38
C1—C2—N2	109,92	113,05	2,84
C1—C2—H ₂	106,91	107,64	0,68
C1—O5—C5	113,57	119,87	5,55
H1—C1—O5	108,84	103,43	4,97
C2—C3—C4	111,61	110,54	0,96
C2—C3—O3	108,54	110,81	2,09
C2—C3—H3	108,6	109,22	0,57
C2—N2—HN2A	109,67	110,96	1,17
C2—N2—HN2B	109,31	111,26	1,79
N2—C2—H2	109,57	108,15	1,3
N2—C2—C3	112,04	109,53	2,24
H2—C2—C3	108,44	108,17	0,25
C3—C4—C5	110,22	113,5	2,97
C3—C4—O4	107,98	110,74	2,55
C3—C4—H4	108,92	107,26	1,52
C3—O3—HO3	106,94	104,99	1,82
O3—C3—H3	108,58	107,05	1,4
O3—C3—C4	111,36	109,54	1,63
C4—C5—O5	109,14	111,31	1,99
C4—C5—C6	113,53	115,46	1,7
C4—C5—H5	108,93	107,63	1,19
C4—O4—HO4	107,99	106,05	1,8
O4—C4—H4	109,86	108,01	1,68
O4—C4—C5	110,91	109,21	1,53
C5—C6—O6	112,88	116,2	2,94
C5—C6—H6A	108,42	107,81	0,56
C5—C6—H6B	109,15	107,55	1,47
H5—C5—C6	108,19	104,55	3,36
H5—C5—O5	109,86	102,4	6,79
C <mark>6</mark> —O6—H <mark>O6</mark>	107,34	106,89	0,41
O6—C6—H6A	110,94	108,36	2,32
O6—C6—H6B	106,91	108,47	1,46

	D2	D4	Frro relativo
Átomos	Comprimento de ligação (Å)	Comprimento de ligação (Å)	(%)
C3'—C4'	1,5418	1,5497	0,51
C3'—C2'	1,5423	1,5510	0,56
C3'—O3'	1,4324	1,4392	0,47
C3'—H3'	1,1173	1,1097	0,68
O3'—HO3'	0,9915	0,9898	0,17
C4'—C5'	1,546	1,5446	0,09
C4'—O1	1,4576	1,4513	0,43
C4'—H4'	1,1093	1,1093	0
C5'—C6'	1,5334	1,5339	0,03
C5'—O5'	1,4369	1,4499	0,9
C5'—H5'	1,1171	1,1133	0,34
C <mark>6'</mark> —O <mark>6</mark> '	1,441	1,4378	0,22
C6'—H6A'	1,1092	1,1105	0,12
C6'—H6B'	1,1046	1,1056	0,09
0 <mark>6</mark> '—H <mark>06</mark> '	0,9803	0,9807	0,04
O5'—C1'	1,4563	1,4402	1,12
C1'—C2'	1,5532	1,549	0,27
C1'—01'	1,3875	1,4094	1,55
C1'—H1'	1,1186	1,1151	0,31
01'—H01'	0,9999	0,9800	2,03
C2'—N2'	1,4717	1,4609	0,74
C2'—H2'	1,1104	1,1057	0,43
N2'—HN2'	1,0229	1,0256	0,26
N2'—C7'	1,3728	1,3806	0,56
C7'—O7'	1,2459	1,2434	0,2
C7'—C8'	1,5201	1,5203	0,01
C8'—H8C'	1,1034	1,1030	0,04
C8'—H8A'	1,1035	1,1027	0,07
C8'—H8B'	1,1036	1,1031	0,05
C1—O1	1,4077	1,4344	1,86
C1—C2	1,5469	1,5495	0,17

Tabela 5 B – Valores de comprimento de ligação da molécula D2 e da molécula D4.

	D2	D4	Enno volativo
Átomos	Comprimento de ligação (Å)	Comprimento de ligação (Å)	(%)
C1—05	1,4428	1,4266	1,14
C1—H1	1,1187	1,1088	0,89
C2—C3	1,5525	1,5455	0,45
C2—N2	1,4756	1,4752	0,03
C2—H2	1,1092	1,1068	0,22
N2—HN2	1,0242	1,025	0,08
N2—C7	1,3722	1,3718	0,03
C7—O7	1,2457	1,2475	0,14
C7—C8	1,5216	1,5173	0,28
C8—H8A	1,1037	1,1037	0
C8—H8B	1,1035	1,1031	0,04
C8—H8C	1,1036	1,1037	0,01
C3—C4	1,5395	1,5362	0,21
C3—O3	1,4289	1,4333	0,31
C3—H3	1,1163	1,1089	0,67
O3—HO3	0,9988	0,9974	0,14
C4—C3	1,5339	1,5493	0,99
C4—O4	1,4378	1,4449	0,49
C4—H4	1,1119	1,1116	0,03
O4—HO4	0,9824	0,9839	0,15
C3—C6	1,5346	1,5417	0,46
C3—O5	1,4579	1,4646	0,46
C3—H5	1,1148	1,1086	0,56
C <mark>6</mark> —O6	1,4367	1,443	0,44
С <mark>6</mark> —Н <mark>6А</mark>	1,1087	1,107	0,15
C <mark>6</mark> —H <mark>6B</mark>	1,1071	1,1076	0,05
0 <mark>6</mark> —H <mark>O6</mark>	0,9791	0,9866	0,76

Á tomos	D2	D4	Erro Relativo
Atomos	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (º)	(%)
C3'—C4'—C5'	109,96	111,20	1,12
C3'—C4'—H4'	109,39	109,12	0,25
C3'—C2'—C1'	109,97	109,88	0,08
C3'—C2'—N2'	108,57	108,63	0,05
C3'—C2'—H2'	108,92	108,88	0,03
С3'—О3'—НО3'	107,71	107,18	0,49
C4'—C3'—H3'	107,14	108,48	1,24
С2'—С3'—Н3'	108,74	108,18	0,52
O3'—C3'—H3'	109,58	109,59	0,01
C4'—C5'—C6'	114,04	114,52	0,42
C4'—C5'—O5'	109,04	108,46	0,53
C4'—C5'—H5'	108,51	108,59	0,07
C4'—O1—C1	116,99	117,03	0,03
C5'—C4'—O1	107,71	108,96	1,14
C5'—C4'—H4'	109,18	108,75	0,39
C5'—C6'—O6'	113,69	112,97	0,64
C5'—C6'—H6A'	108,01	108,12	0,11
C5'—C6'—H6B'	109,22	109,04	0,16
C5'—O5'—C1'	112,82	113,63	0,71
C6'—O6'—HO6'	107,47	107,6	0,12
C6'—C5'—O5'	107,22	106,23	0,93
O6'—C6'—H6A'	110,89	110,82	0,06
O <mark>6'—C6'—H6B'</mark>	106,33	107,47	1,06
O5'—C1'—C2'	107,55	109,98	2,21
05'—C1'—01'	107,23	107,34	0,10
O5'—C1'—H1'	107,39	108,96	1,44
O5'—C5'—H5'	110,10	110,01	0,08
C1'—C2'—N2'	113,92	112,33	1,41
C1'—C2'—H2'	106,68	106,59	0,09
C1'—01'—HO1'	108,71	108,21	0,46
C2'—N2'—C7'	122,51	130,22	5,92

Tabela 6 B – Ângulos de Ligação entre os átomos das moléculas D2 e D4.

Á 4	D2	D4	Erro Relativo
Atomos	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (º)	(%)
C2'—N2'—HN2'	115,19	113,58	1,42
C2'—C1'—H1'	110,29	110,27	0,02
N2'—C7'—C8'	115,97	118,55	2,18
N2'—C7'—O7'	122,23	119,69	2,12
C7'—C8'—H8C'	109,77	110,09	0,29
C7'—C8'—H8A'	110,19	110,06	0,12
C7'—C8'—H8B'	110,50	110,31	0,17
C7'—N2'—HN2'	116,98	113,71	2,87
C8'—C7'—O7'	121,52	121,43	0,07
C1—C2—C3	109,83	108,6	1,13
C1—C2—N2	107,99	109,11	1,03
C1—C2—H2	107,76	107,94	0,17
C1—O5—C5	113,58	120,7	5,90
C2—C3—C4	111,01	109,98	0,94
C2—C3—O3	113,32	114,53	1,06
C2—C3—H3	108,27	106,66	1,51
C2—C1—H1	110,30	110,55	0,23
C2—N2—C7	124,95	122,24	2,22
C2—N2—HN2	115,87	117,63	1,49
N2—C7—C8	115,54	116	0,40
N2—C7—O7	123,02	122,2	0,67
C7—C8—H8A	109,82	110,16	0,31
C7—C8—H8B	110,06	109,99	0,06
C7—C8—H8C	110,63	110,01	0,56
C8—C7—O7	121,16	121,5	0,28
C7—N2—HN2	116,73	117,39	0,56
C3—C4—C5	111,10	112,48	1,22
C3—C4—O4	110,59	110,47	0,11
C3—C4—H4	108,11	107,8	0,29
C3—O3—HO3	107,42	107,78	0,33
C3—C2—H2	108,55	108,46	0,08
C4—C5—C6	114,17	115,28	0,97

Átomos	D2	D4	Erro Relativo
	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (º)	(%)
C4—C5—O5	107,75	111,62	3,47
C4—C5—H5	109,31	107,82	1,38
C4—C3—H3	107,82	108,64	0,76
C4—O4—HO4	106,25	105,29	0,91
C5-C6-O6	113,55	116,57	2,59
C5—C6—H6A	108,70	107,83	0,81
C5—C6—H6B	107,67	107,4	0,25
C5—C4—H4	108,33	108,24	0,09
C6—C5—O5	108,26	113,51	4,63
C6—C5—H5	107,69	104,63	2,92
C <mark>6</mark> —O6—H <mark>O6</mark>	107,85	105,96	1,78
O <mark>6—C6—H6A</mark>	108,66	107,72	0,87
O <mark>6—C6—H6B</mark>	109,54	108,69	0,78
05—C1—O1	108,03	113,4	4,73
O5—C1—H1	108,42	103,66	4,59
O5—C5—H5	109,24	102,41	6,67
O1—C1—H1	110,36	109,24	1,03
O1—C4'—H4'	109,21	109,88	0,61
O1—C4'—C3'	110,98	108,55	2,24
01—C1—C2	108,84	106,37	2,32
O5—C1— C2	110,55	113,33	2,45
N2—C2—H2	108,79	107,61	1,10
N2—C2—C3	113,41	114,53	0,98
O <mark>3—C3—H3</mark>	109,27	107,71	1,45
C4—C3—O3	106,68	108,79	1,94
O4—C4—H ₄	110,21	108,96	1,14
O4—C4—C5	110,59	108,47	1,95
H <mark>6A</mark> —C <mark>6</mark> —H <mark>6B</mark>	108,13	107,92	0,19
H <mark>8A—C8—H8B</mark>	108,33	108,78	0,41
H <mark>8A—C8—H8C</mark>	108,60	108,52	0,07
H <mark>8B</mark> —C8—H8C	108,68	108,66	0,01
H1'—C1'—O1'	109,57	111,04	1,32

Átomos	D2	D4	Erro Relativo
Atomos –	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (°)	(%)
C2'—C1'—O1'	114,21	108,88	4,89
N2'—C2'—H2'	108,29	110,12	1,66
C4'—C3'—C2'	109,98	111,75	1,59
C2'—C3'—O3'	107,56	107,3	0,24
C4'—C3'—O3'	113,44	111,16	2,05
C3'—C4'—O1	110,98	108,55	2,24
С6'—С5'—Н5'	107,56	108,61	0,97
H6A'—C6'—H6B'	108,15	107,85	0,28
H8C'—C8'—H8A'	108,48	108,61	0,12
H8C'—C8'—H8B'	108,54	108,55	0,01
H8A'—C8'—H8B'	108,64	108,49	0,13
H ₁ —C1—O1	110,36	109,24	1,03
O <mark>3</mark> —C <mark>3</mark> —C4	106,68	108,79	1,94

Tabela 7 B – Comprimento de Ligação entre os átomos das moléculas de D3 e D4.

Á 4	D3	D4	Erro
Atomos -	Comprimento de	Comprimentos de	
	Ligação (Å)	Ligação (Å)	
C3'—C4'	1,5451	1,5497	0,30
C3'—C2'	1,5427	1,5510	0,54
C3'—O3'	1,4395	1,4392	0,02
С3'—Н3'	1,1104	1,1097	0,06
O3'—HO3'	0,9887	0,9898	0,11
C4'—C5'	1,5455	1,5446	0,06
C4'—O1	1,4562	1,4513	0,34
C4'—H4'	1,1096	1,1093	0,03
C5'—C6'	1,5328	1,5339	0,07
C5'—O5'	1,4493	1,4499	0,04
С5'—Н5'	1,1131	1,1133	0,02
C <mark>6'—</mark> O <mark>6'</mark>	1,4403	1,4378	0,18
С6'—Н6А'	1,1102	1,1105	0,02

,	D3	D4	Erro
Atomos	Comprimento de	Comprimentos de	 Relativo (%)
	Ligação (Å)	Ligação (Å)	
C6'—H6B'	1,1047	1,1056	0,09
0 <mark>6'—</mark> H <mark>O6</mark> '	0,9806	0,9807	0,01
O5'—C1'	1,4491	1,4402	0,62
C1'—C2'	1,5461	1,5490	0,18
C1'—O1'	1,4137	1,4094	0,30
C1'—H1'	1,1133	1,1151	0,16
01'—H01'	0,9804	0,9800	0,05
C2'—N2'	1,4673	1,4609	0,43
C2'—H2'	1,1112	1,1057	0,49
N2'—HN2A'	1,0266	1,0256	0,11
N2'—C7'	-	1,3806	-
C7'—O7'	-	1,2434	-
C7'—C8'	-	1,5203	-
C8'—H8A'	-	1,1030	-
C8'—H8B'	-	1,1027	-
C8'—H8C'	-	1,1031	-
N2'—HN2B'	1,0280	-	-
C1—O1	1,4361	1,4344	0,12
C1—C2	1,5483	1,5495	0,08
C1—O5	1,4324	1,4266	0,40
C1—H1	1,1092	1,1088	0,04
C2—C3	1,5433	1,5455	0,15
C2—N2	1,4784	1,4752	0,21
C2—H2	1,1062	1,1068	0,05
N2—HN2A	1,0253	1,0250	0,03
N2—C7	-	1,3718	-
C7—O7	-	1,2475	-
C7—C8	-	1,5173	-
C8—H8A	-	1,1037	-
C8—H8B	-	1,1031	-
C <mark>8</mark> —H <mark>8C</mark>	-	1,1037	-

Átomos	D3	D4	Erro
Atomos –	Comprimento de	Comprimentos de	
	Ligação (Å)	Ligação (Å)	
N2—HN2B	1,0271	-	-
C3—C4	1,5386	1,5362	0,16
C3—O3	1,4397	1,4333	0,44
C3—H3	1,1064	1,1089	0,23
O3—HO3	0,9881	0,9974	0,94
C4—C5	1,5513	1,5493	0,13
C4—O4	1,4441	1,4449	0,05
C4—H4	1,1119	1,1116	0,03
O4—HO4	0,9828	0,9839	0,12
C5—C6	1,5391	1,5417	0,17
C5—O5	1,4645	1,4646	0,00
C5—H5	1,1089	1,1086	0,03
C <mark>6</mark> —O6	1,4409	1,4430	0,14
C6—H6A	1,1078	1,1070	0,08
C6—H6B	1,1072	1,1076	0,04
O6—HO6	0,9866	0,9866	0,00

Tabela 8 B – Ângulos de Ligação entre os átomos das moléculas de D3 e D4.

	D3	D4	Erro
Atomos	Ângulos de Ligação (°)	Ângulos de Ligação (°)	Relativo
			(%)
C3'—C4'—C5'	110,75	111,20	0,40
C3'—C4'—O1	111,12	108,55	2,31
C5'—C4'—O1	108,35	108,96	0,56
C3'—C4'—H4'	108,73	109,12	0,36
C3'—C2'—C1'	109,31	109,88	0,52
C3'—C2'—N2'	109,74	108,63	1,01
C3'—C2'—H2'	107,90	108,88	0,91
C3'—O3'—HO3'	108,38	107,18	1,11
H3'—C3'—O3'	110,06	109,59	0,43

<u> </u>	D3	D4	Erro
Atomos	Ângulos de Ligação (°)	Ângulos de Ligação (°)	Relativo
			(%)
H3'—C3'—C4'	109,01	108,48	0,49
H3'—C3'—C2'	108,13	108,18	0,05
C4'—C5'—C6'	114,14	114,52	0,33
C4'—C5'—O5'	108,97	108,46	0,46
C4'—C5'—H5'	108,63	108,59	0,04
C4'—O1—C1	116,40	117,03	0,54
C5'—C6'—O6'	113,25	112,97	0,25
C5'—C6'—H6A'	108,33	108,12	0,19
C5'—C6'—H6B'	109,25	109,04	0,20
C5'—O5'—C1'	114,04	113,63	0,36
C6'—C5'—O5'	106,10	106,23	0,12
H5'—C5'—O5'	110,03	110,01	0,02
H5'—C5'—C6'	108,55	108,61	0,05
C6'—O6'—HO6'	106,78	107,60	0,77
O6'—C6'—H6A'	110,70	110,82	0,10
O6'—C6'—H6B'	106,64	107,47	0,79
O5'—C1'—C2'	110,42	109,98	0,40
05'—C1'—O1'	107,10	107,34	0,23
O5'—C1'—H1'	108,93	108,96	0,03
C2'—N2'—C7'	-	130,22	-
C1'—C2'—N2'	114,89	112,33	2,23
C1'—C2'—H2'	105,90	106,59	0,65
C1'—O1'—HO1'	107,94	108,21	0,25
01'	109,57	111,04	1,34
01'-C1'-C2'	109,74	108,88	0,78
C2'—C1'—H1'	110,69	110,27	0,38
C2'—N2'—HN2A'	110,13	113,58	3,14
C2'—N2'—HN2B'	109,54	-	-
N2'—C7'—C8'	-	118,55	-
N2'—C7'—O7'	-	119,69	-
C7'—C8'—H8A'	-	110,09	-
C7'—C8'—H8B'	-	110,06	-

Átomos	D3	D4	Erro
Atomos	Ângulos de Ligação (°)	Ângulos de Ligação (°)	Relativo
			(%)
C7'—C8'—H8C'	-	110,31	-
C7'—N2'—HN2'	-	113,71	-
C8'—C7'—O7'	-	121,43	-
N2'—C2'—H2'	108,49	110,12	1,51
C5'—C4'—H4'	108,45	108,75	0,28
C1—C2—C3	109,81	108,60	1,10
C1—C2—N2	113,05	109,11	3,48
C1—C2—H2	107,64	107,94	0,28
C1—O5—C5	119,87	120,70	0,70
C2—C3—C4	110,54	109,98	0,50
C2—C3—O3	110,81	114,53	3,36
C2—C3—H3	109,22	106,66	2,35
C2—C1—H1	109,95	110,55	0,54
N2—C2—H2	108,15	107,61	0,49
N2—C2—C3	109,53	114,53	4,57
C2—N2—HN2A	110,96	117,63	6,02
C2—N2—HN2B	111,26	-	-
C2—N2—C7	-	122,24	-
N2—C7—C8	-	116,00	-
N2—C7—O7	-	122,20	-
C7—C8—H8A	-	110,16	-
C7—C8—H8B	-	109,99	-
C7—C8—H8C	-	110,01	-
C8—C7—O7	-	121,50	-
C7—N2—HN2	-	117,39	-
C3—C4—C5	113,49	112,48	0,89
C3-C4-O4	110,73	110,47	0,24
C3—C4—H4	107,26	107,80	0,50
C3—O3—HO3	104,99	107,78	2,66
H2—C2—C3	108,17	108,46	0,27
C4—C5—C6	115,46	115,28	0,16
C4—C5—O5	111,31	111,62	0,27

Átomos	D3	D4	Erro
	Ângulos de Ligação (°)	Ângulos de Ligação (°)	Relativo
			(%)
C4—C5—H5	107,63	107,82	0,17
C4—C3—H3	109,27	108,64	0,58
C4—O4—H <mark>O</mark> 4	106,05	105,29	0,71
C5—C6—O6	116,20	116,57	0,32
C5—C6—H6A	107,81	107,83	0,02
C5—C6—H6B	107,55	107,40	0,14
C5—C4—H4	107,58	108,24	0,61
C6—C5—O5	113,86	113,51	0,31
H5—C5—C6	104,55	104,63	0,08
C6—O6—HO6	106,89	105,96	0,87
O <mark>6—C6—H6A</mark>	108,36	107,72	0,59
0 <mark>6—C6—H6B</mark>	108,47	108,69	0,20
0 <mark>5</mark> —C1—O1	113,54	113,40	0,13
H1—C1—O5	103,43	103,66	0,22
H5—C5—O5	102,40	102,41	0,01
H1—C1—O1	108,93	109,24	0,29
01—C4'—H4'	109,04	109,88	0,78
O3—C3—H3	107,05	107,71	0,61
C4'—C3'—C2'	109,99	111,75	1,60
O3'—C3'—C2'	107,61	107,30	0,29
C4'—C3'—O3'	111,64	111,16	0,43
O5—C1—C2	112,53	113,33	0,71
C2—C1—O1	108,03	106,37	1,54
O4—C4—C5	109,21	108,47	0,68
O <mark>3</mark> —C3—C4	109,54	108,79	0,68
O4—C4—H4	108,01	108,96	0,88

Átomos –	D1	D2	Erro
	Comprimento de	Comprimentos de	Relativo
	Ligação (Å)	Ligação (Å)	(%)
C3'—C4'	1,5353	1,5418	0,42
C3'—C2'	1,5424	1,5423	0,01
C3'—O3'	1,4393	1,4324	0,48
С3'—Н3'	1,1163	1,1173	0,09
O3'—HO3'	0,9868	0,9915	0,48
C4'—C5'	1,5443	1,546	0,11
C4'—O1	1,4542	1,4576	0,23
C4'—H4'	1,1089	1,1093	0,04
C5'—C6'	1,5432	1,5334	0,64
C5'—O5'	1,4465	1,4369	0,66
C5'—H5'	1,1166	1,1171	0,04
C6'—O6'	1,4301	1,441	0,76
C6'—H6A'	1,1074	1,1092	0,16
C6'—H6B'	1,1091	1,1046	0,41
O <mark>6'—HO6</mark> '	0,9935	0,9803	1,33
O5'—C1'	1,4368	1,4563	1,36
C1'—C2'	1,5414	1,5532	0,77
C1'—01'	1,414	1,3875	1,87
C1'—H1'	1,1189	1,1186	0,03
01'—H01'	0,9813	0,9999	1,90
C2'—N2'	1,4727	1,4717	0,07
C2'—H2'	1,1122	1,1104	0,16
N2'—HN2A'	1,0263	1,0229	0,33
N2'—C7'	-	1,3728	-
C7'—O7'	-	1,2459	-
C7'—C8'	-	1,5201	-
C8'—H8C'	-	1,1034	-
C8'—H8A'	-	1,1035	-
C8'—H8B'	-	1,1036	-
N2'—HN2B'	1,0281	-	-
C1—O1	1,4057	1,4077	0,14

Tabela 9 B – Valores de comprimento de ligação das moléculas de D1 e D2.

Átomos -	D1	D2	Erro
	Comprimento de	Comprimentos de	Relativo
	Ligação (Å)	Ligação (Å)	(%)
C1—C2	1,5449	1,5469	0,13
C1—05	1,4457	1,4428	0,20
C1—H1	1,1154	1,1187	0,30
C2—C3	1,5391	1,5525	0,87
C2—N2	1,4805	1,4756	0,33
C2—H2	1,1095	1,1092	0,03
N2—HN2A	1,0292	1,0242	0,49
N2—C7	-	1,3722	-
C7—O7	-	1,2457	-
C7—C8	-	1,5216	-
C8—H8A	-	1,1037	-
C <mark>8</mark> —H <mark>8B</mark>	-	1,1035	-
C <mark>8</mark> —H <mark>8C</mark>	-	1,1036	-
N2—HN2B	1,0271	-	-
C3—C4	1,5331	1,5395	0,42
C3—O3	1,4421	1,4289	0,92
C <mark>3</mark> —H3	1,1162	1,1163	0,01
O3—HO3	0,9812	0,9988	1,79
C4—C5	1,5442	1,5339	0,67
C4—O4	1,4464	1,4378	0,59
C4—H4	1,1096	1,1119	0,21
O4—HO4	0,9792	0,9824	0,33
C5—C6	1,5347	1,5346	0,01
C5—O5	1,4474	1,4579	0,73
C5—H5	1,1157	1,1148	0,08
C <mark>6</mark> —O6	1,4386	1,4367	0,13
С <mark>6</mark> —Н <mark>6А</mark>	1,1098	1,1087	0,10
C6—H6B	1,1058	1,1071	0,12
06—H <mark>06</mark>	0,9799	0,9791	0,08

Átomos	D1	D2	Erro relativo (%)
	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (°)	
C3'—C4'—C5'	110,50	109,96	0,50
C3'—C4'—O1	112,05	110,98	0,95
C5'—C4'—O1	106,67	107,71	0,98
C3'—C4'—H4'	109,47	109,39	0,07
C3'—C2'—C1'	110,43	109,97	0,42
C3'—C2'—N2'	109,26	108,57	0,63
C3'—C2'—H2'	107,46	108,92	1,36
C3'—O3'—HO3'	106,04	107,71	1,57
H3'—C3'—O3'	109,42	109,58	0,15
H3'—C3'—C2'	108,89	108,74	0,14
H3'—C3'—C4'	107,94	107,14	0,74
C4'—C5'—C6'	113,59	114,04	0,40
C4'—C5'—O5'	109,11	109,04	0,07
C4'—C5'—H5'	108,64	108,51	0,11
C4'—O1—C1	117,08	116,99	0,08
O1—C4'—H4'	109,34	109,21	0,12
C5'—C6'—O6'	114,66	113,69	0,84
C5'—C6'—H6A'	107,21	108,01	0,75
C5'—C6'—H6B'	107,99	109,22	1,14
C5'—O5'—C1'	112,81	112,82	0,01
C <mark>6'—</mark> C5'—O5'	108,38	107,22	1,07
H5'—C5'—O5'	108,93	110,10	1,08
H5'—C5'—C6'	107,76	107,56	0,19
C6'—O6'—HO6'	107,59	107,47	0,11
O <mark>6'—C6'—H6A'</mark>	107,82	110,89	2,84
O <mark>6'—C6'—H6B</mark> '	110,63	106,33	3,89
O5'—C1'—C2'	110,45	107,55	2,63
05'—C1'—O1'	107,58	107,23	0,32
O5'—C1'—H1'	109,25	107,39	1,70
C1'—C2'—N2'	113,11	113,92	0,72
C1'—C2'—H2'	106,24	106,68	0,42

Tabela 10 B – Valores de ângulos de ligação da molécula de D1 e da molécula de D2.

Átomos	D1	D2	Erro relativo
	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (°)	(%)
C1'—O1'—HO1'	107,33	108,71	1,29
01'—C1'—H1'	108,96	109,57	0,56
01'—C1'—C2'	109,96	114,21	3,86
C2'—N2'—HN2A'	110,09	115,19	4,64
C2'—N2'—HN2B'	110,55	-	-
C2'—N2'—C7'	-	122,51	-
C2'—C1'—H1'	-	110,29	-
N2'—C7'—C8'	-	115,97	-
N2'—C7'—O7'	-	122,23	-
C7'—C8'—H8C'	-	109,77	-
C7'—C8'—H8A'	-	110,19	-
C7'—C8'—H8B'	-	110,50	-
C7'—N2'—HN2'	-	116,98	-
H <mark>6A</mark> —C <mark>6</mark> —H <mark>6B</mark>	-	108,13	-
H8A—C8—H8B	-	108,33	-
H8A—C8—H8C	-	108,60	-
H <mark>8B</mark> —C <mark>8</mark> —H <mark>8C</mark>	-	108,68	-
N2'—C2'—H2'	109,74	108,29	1,33
O3'—C3'—C2'	108,45	107,56	0,82
O5—C1—O1	106,96	108,03	1,01
C2—C1—O1	109,63	108,84	0,73
H1—C1—O1	110,49	110,36	0,12
C1—C2—C3	109,40	109,83	0,40
C1—C2—N2	109,92	107,99	1,76
C1—C2—H ₂	106,91	107,76	0,79
C1—O5—C5	113,57	113,58	0,01
H1—C1—O5	108,84	108,42	0,39
C2—C3—C4	111,61	111,01	0,53
C2—C3—O3	108,54	113,32	4,41
C2—C3—H ₃	108,60	108,27	0,30
C2—N2—HN2A	109,67	115,87	5,66
C2—N2—HN2B	109,31	-	-

Átomos	D1	D2	Erro relativo
	Ângulos de Ligação (º)	Ângulos de Ligação (º)	(%)
C2—N2—C7	-	124,95	-
N2—C7—C8	-	115,54	-
N2—C7—O7	-	123,02	-
C7—C8—H8A	-	109,82	-
C7—C8—H8B	-	110,06	-
C7—C8—H8C	-	110,63	-
C <mark>8</mark> —C7—O7	-	121,16	-
C7—N2—HN2	-	116,73	-
H6A'—C6'—H6B'	-	108,15	-
H8C'—C8'—H8A'	-	108,48	-
H8C'—C8'—H8B'	-	108,54	-
H8A'—C8'—H8B'	-	108,64	-
N2—C2—H2	109,57	108,79	0,72
N2—C2—C3	112,04	113,41	1,22
$H_2 - C_2 - C_3$	108,44	108,55	0,10
C3—C4—C5	110,22	111,10	0,80
C3—C4—O4	107,98	110,59	2,41
C3—C4—H ₄	108,92	108,11	0,74
C3—O3—HO3	106,94	107,42	0,45
O3—C3—H3	108,58	109,27	0,64
O <mark>3</mark> —C3—C4	111,36	106,68	4,20
C4—C5—O5	109,14	107,75	1,27
C4—C5—C6	113,53	114,17	0,56
C4—C5—H5	108,93	109,31	0,35
C4—O4—HO4	107,99	106,25	1,61
O4—C4—H4	109,86	110,21	0,32
O4—C4—C5	110,91	110,59	0,29
C5—C6—O6	112,88	113,55	0,59
C5—C6—H6A	108,42	108,70	0,26
C5—C6—H6B	109,15	107,67	1,35
H5—C5—C6	108,19	107,69	0,46
H5—C5—O5	109,86	109,24	0,57

Átomos	D1	D2	Erro relativo
	Ângulos de Ligação (°)	Ângulos de Ligação (º)	(%)
C6—O6—HO6	107,34	107,85	0,48
O <mark>6—C6—H6A</mark>	110,94	108,66	2,05
O <mark>6—C6—H6B</mark>	106,91	109,54	2,46
C5'—C4'—H4'	108,34	109,18	0,77
C2—C1—H1	110,34	110,30	0,04
C4—C3—H3	107,74	107,82	0,08
C5—C4—H4	108,55	108,33	0,19
C <mark>6</mark> —C5—O5	106,81	108,26	1,36
C4'—C3'—C2'	110,59	109,98	0,56
C4'—C3'—O3'	111,17	113,44	2,04
O5—C1—C2	110,20	110,55	0,32